

Serum Concentrations of Estradiol and Free T₄ Are Inversely Correlated With Sperm DNA Damage in Men From an Infertility Clinic

J Androl 2008;29:379-388; DOI: 10.2164/jandrol.107.004416

JOHN D. MEEKER (1), NARENDRA P. SINGH (2) AND RUSS HAUSER (3,4)

(1) Department of Environmental Health Sciences, University of Michigan, Ann Arbor, Michigan; (2) Department of Bioengineering, University of Washington, Seattle, Washington; (3) Department of Environmental Health, Harvard School of Public Health, Boston, Massachusetts and (4) Vincent Memorial Obstetrics and Gynecology Service, Andrology Laboratory and In Vitro Fertilization Unit, Massachusetts General Hospital, Boston, Massachusetts.

Correspondence to: Dr John Meeker, Department of Environmental Health Sciences, University of Michigan School of Public Health, 6635 SPH Tower, 109 S Observatory St, Ann Arbor, MI 48109 (e-mail: meekerj@umich.edu)

Sperm DNA damage adversely affects male fertility and contributes to poorer embryo development and lower pregnancy rates. Endogenous hormones are critical to spermatogenesis and maintenance of male reproductive function and likely play an important role in human sperm DNA integrity, but this relationship is not fully understood. The present study measured serum hormone levels and sperm DNA damage with the neutral comet assay in 362 male partners of infertile couples. When sperm concentration and other potential confounding variables were included in multiple linear regression, serum estradiol and free T₄ levels were inversely associated with sperm DNA damage. Among other statistically significant associations that were observed, an interquartile range (IQR) increase in estradiol was associated with a 6.3% decline (95% confidence intervals: -9.7%, -2.9%) in comet extent and a 16.2% (-22.4%, -9.2%) decline in the percentage of DNA in the comet tail (Tail%), whereas an IQR increase in free T₄ was associated with a 24.4% (-31.5%, -17.4%) decline in Tail%. Likewise, in multiple logistic regression, men in the highest estradiol quartile had an 81% reduced risk of having a comet extent value in the highest quartile compared with men in the lowest estradiol quartile. Men in the highest free T₄ quartile had 92% decreased odds of being categorized in the highest Tail% quartile compared with men in the lowest free T₄ quartile. These results suggest that estradiol and free T₄ may have a protective effect against sperm DNA damage, but future mechanistic and epidemiologic studies are needed to confirm these findings.

Le concentrazioni nel siero dell'estradiolo e del T₄ libero sono inveramente correlate con il danno del DNA spermatico negli uomini valutati in una clinica per l'infertilità

Il danno del DNA spermatico influisce negativamente sulla fertilità maschile e contribuisce allo scadente sviluppo dell'embrione e alla minore frequenza della gravidanza. Gli ormoni endogeni hanno un ruolo critico nella spermatogenesi e nel mantenimento della funzione riproduttiva maschile e giocano un importante ruolo nell'integrità del DNA degli spermatozoi umani, ma tale relazione non è ancora completamente compresa. Questo studio ha misurato i livelli degli ormoni nel siero e il danno del DNA spermatico tramite l'esame della cometa in ambiente neutro in 362 partner maschili di coppie infertili. Quando furono incluse nell'analisi di regressione multipla lineare la concentrazione degli spermatozoi e delle altre variabili potenzialmente interferenti, i livelli dell'estradiolo e del T₄ libero erano inversamente associati al danno del DNA spermatico. Tra le altre associazioni statisticamente significative che furono osservate vi fu l'associazione tra l'incremento dell'intervallo interquartile (IQR) dell'estradiolo con la riduzione del 6.3% (intervallo di confidenza al 95%: -9.7%, -2.9%) dell'estensione della cometa e con la riduzione del 16.2% (-22.4%, -9.2%) della percentuale di DNA nella coda della cometa (Tail%), mentre un incremento dell'IQR del T₄ libero fu associato alla riduzione del 24.4% (-31.5%, -17.4%) nel Tail%. Similmente, nella regressione logistica multipla, negli uomini con l'estradiolo al quartile maggiore si rilevò un rischio ridotto del 81% di avere un valore di estensione della cometa nel quartile maggiore rispetto agli uomini appartenenti al quartile minore del livello di estradiolo. Gli uomini nel quartile maggiore del livello di T₄ libero ebbero una riduzione del 92% nonostante fossero localizzati nel quartile maggiore del Tail% rispetto agli uomini nel quartile minore del livello di T₄ libero. Questi risultati suggeriscono che l'estradiolo e il T₄ libero possono avere un effetto protettivo nei confronti del danno del DNA spermatico, ma sono necessari ulteriori studi sulla meccanica e l'epidemiologia per confermare questi aspetti.

Il commento – il lavoro presenta una ricerca certamente tecnica, con aspetti di non semplice comprensione, ma molto importante nell'inquadrare il ruolo degli equilibri endocrini nella funzione genitale maschile. Dobbiamo premettere le conclusioni degli autori relativamente alle modificazioni endocrine che si rilevano in molte problematiche relative alle disfertilità maschili; tali conclusioni aprono la questione se siano le modificazioni endocrine a indurre le alterazioni strutturali degli spermatozoi o se siano altre condizioni (tra cui viene rilevato lo stress ossidativo e/o metabolico) che siano sempre sottostanti a due classi di eventi: le modificazioni degli equilibri endocrini (meglio neuro-immuno-endocrini) e i danni strutturali e funzionali della

spermiogenesi e degli spermatozoi. In tale ottica le modificazioni delle regolazioni sono un segnale parallelo o a volte di più agevole rilevazione rispetto alle alterazioni spermatiche di eventi e fattori stressogeni e/o dismetabolici che invece sono la causa comune delle modificazioni delle regolazioni neuro-immuno-endocrine e delle alterazioni spermatiche. Il problema è aperto e la sua soluzione darà luogo ai corretti comportamenti terapeutici per ritornare alle normali funzioni in condizioni di stabilità. Come molto spesso abbiamo sottolineato, invece, l'inseguire i segnali senza correggere le ragioni non potrà mai dare luogo alla soluzione del problema. Gli autori sottolineano particolarmente il ruolo dell'estradiolo (ormone considerato tipicamente femminile, ma che sempre più si scopre avere ruoli fondamentali nella struttura maschile) e della frazione libera dell'ormone tiroideo tiroxina (T_4) che svolge un ruolo fondamentale nella regolazione del metabolismo, ovviamente con l'adeguata funzione dei relativi recettori cellulari. Adeguati livelli di tali ormoni sono risultati concorrenti alla conservazione della integrità del DNA degli spermatozoi e alla loro adeguata produzione: ovviamente non basta ciò a dare adeguata spermatogenesi in quantità e qualità, ma le attuali conoscenze dimostrano che essi sono fondamentali anche più della quantità di testosterone circolante. Ancora una volta si dimostra quanto sia delicato agire sull'assetto endocrino con la somministrazione di ormoni e quanto sia importante non somministrare ormoni se non sia strettamente indispensabile e con un attento e ben eseguito monitoraggio preterapia, intraterapia e postterapia. Agire diversamente rischia sempre di indurre alterazioni non semplici da riequilibrare nell'equilibrio neuro-immuno-endocrino. Ci sembra necessario, infine, dare alcune spiegazioni tecniche relative alla metodologia impiegata nello studio che così potrà essere meglio compreso. Gli ormoni sono stati dosati con le consuete tecniche. Più complessa per strumentazione l'analisi della frammentazione del DNA degli spermatozoi; è stato impiegato il "comet assay" che deriva il suo nome dalla forma che assume la distribuzione dei nuclei degli spermatozoi (che contengono il DNA intero o frammentato e quindi danneggiato) isolati e sottoposti a un campo elettrico (elettroforesi); tale distribuzione assume la forma di una cometa con la testa contenente i nuclei sani e la coda tanto più lunga e consistente quanto più i nuclei abbiano del DNA frammentato e quindi danneggiato, che così si spostano maggiormente e più rapidamente nel campo elettrico; quindi misurando la densità delle parti di tale coda si ha la misura del danno del DNA; L'analisi statistica usa l'analisi di regressione lineare multifattoriale, ovvero impiega le variazioni rilevate nei diversi uomini (analizzati e raggruppati per intervalli fissati di valori) di un dato (nel caso la quantità di DNA danneggiato) nei confronti delle variazioni contemporanee di altri dati (nel caso i diversi livelli ormonali rilevati nel sangue).