

ENDOCRINE DISRUPTORS E TESTICOLO

Coordinatore

Vincenzo Toscano

Editors

Marco Caputo & Renato Cozzi

Con l'avvento della società industriale, dello sviluppo economico e dell'urbanizzazione delle aree rurali, l'ambiente e lo stile di vita sono rapidamente e drasticamente cambiati, anche in seguito alla produzione intensiva di prodotti utili, ma con potenzialità dannose. Molte sostanze usate nel ciclo produttivo vengono, infatti, rilasciate nell'ambiente, rendendo inevitabile l'esposizione per l'uomo e gli animali. Molti di questi "inquinanti" sono poi stati implicati nello sviluppo di varie affezioni, tra cui le patologie neoplastiche. Negli ultimi decenni si è, inoltre, assistito a un progressivo incremento dell'incidenza di disordini della sfera riproduttiva del maschio, quali infertilità, tumore testicolare a cellule germinali e difetti congeniti dello sviluppo come ipospadia e criptorchidismo.

Un ruolo determinante nella patogenesi di queste alterazioni sembra svolto dall'esposizione ai cosiddetti *endocrine disruptors* (ED), sia durante la vita fetale che neonatale che nell'età adulta. Numerosissimi studi, sia in *vitro* che in vivo su modelli animali, hanno evidenziato l'azione tossica e i meccanismi d'azione degli ED sulla funzione testicolare; tuttavia, gli studi condotti sull'uomo sono risultati non conclusivi per molteplici aspetti interferenti: fattori epigenetici, dose e tempo di esposizione, periodo di latenza tra esposizione ed effetti dei vari ED, esposizione contemporanea a più ED e mancanza di protocolli standardizzati (1).

Le evidenze più convincenti riguardanti gli effetti dei vari ED sulla vita riproduttiva derivano dall'**esposizione durante la vita pre-natale**, per la loro capacità di attraversare la placenta (2). L'esposizione nel periodo post-natale e durante l'età adulta avviene, invece, per passaggio nel latte materno, inalazione, contatto o ingestione di cibi e bevande (acqua compresa), ma non ci sono ancora evidenze sufficienti per un'associazione eziologica tra singolo ED e patologie dell'apparato riproduttore maschile.

Nel 2001 Skakkebaek ha proposto la **teoria della** cosiddetta "**Testicular Dysgenesis Syndrome**" (TDS), secondo cui criptorchidismo, ipospadia, neoplasie testicolari e alterazioni del liquido seminale possono essere considerate manifestazioni diverse di un unico processo provocato da determinati **fattori ambientali**, tra cui gli ED che, **in presenza di un background genetico favorevole, interferiscono con lo sviluppo della gonade maschile durante la vita fetale** (3). La formazione dell'apparato riproduttore maschile passa attraverso complessi meccanismi molecolari e cellulari, ben codificati a seconda delle varie fasi della vita, da quella fetale fino all'età adulta. La corretta **differenziazione della gonade in senso maschile** avviene a partire dall'attivazione della SRY (*Sex Determining Region* sul cromosoma Y), con la differenziazione delle cellule del Sertoli e della loro capacità di secernere AMH, contemporaneamente alla differenziazione delle cellule del Leydig e alla loro secrezione di testosterone e relativa trasformazione in DHT. Le cellule del Leydig, grazie alla capacità di secernere INSL-3, controllano la discesa trans-addominale dei testicoli, necessaria per un'adeguata spermatogenesi. Durante la **pubertà**, l'attivazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi garantisce la produzione testicolare di testosterone, inibina B e spermatozoi e la comparsa dei caratteri sessuali secondari maschili. Qualunque alterazione genetica o, più facilmente, disregolazione ormonale potrà condurre da alterazioni della spermatogenesi ad aberrazioni nella differenziazione sessuale, dall'ipospadia fino alla femminilizzazione dei genitali.

Gli **ED interferiscono** con l'azione degli ormoni endogeni attraverso **molteplici meccanismi** (4):

- somiglianza strutturale a quella degli ormoni endogeni: la maggior parte degli ED si comporta, almeno in parte, come un ligando recettoriale imperfetto, con attività simil-estrogenica e/o anti-androgenica;
- effetti epigenetici, che si esplicano attraverso la metilazione del DNA e la modifica degli istoni;
- *stress ossidativo*.

Attualmente, non sono ancora convincenti le evidenze che correlano l'esposizione agli ED con tumore a cellule germinali del testicolo, criptorchidismo e ipospadia (tutti in discreto incremento negli ultimi anni), se non per alcuni studi su policloro-bifenili (PCB), pesticidi e ftalati.



Un recente studio osservazionale in due stati del Nord Europa ha evidenziato un significativo aumento di incidenza e prevalenza di criptorchidismo, cancro del testicolo, ipospadia e alterati parametri seminali in Danimarca rispetto alla Finlandia. Sempre in Danimarca si è osservata una maggiore concentrazione nel latte materno di ED quali PCB, dieldrina ed esacloro-benzene, ipotizzandone un ruolo nella TDS, data la capacità dei PCB di indurre apoptosi delle cellule del Leydig (5). Ulteriori studi hanno evidenziato come il rischio di sviluppare neoplasia testicolare sia significativamente più basso nella prima generazione di immigrati in Danimarca rispetto ai nativi danesi, ma diventa sovrapponibile già dalla seconda generazione (6).

Il **bisfenolo A (BPA)** è il principale costituente delle resine epossidiche, utilizzate come rivestimento interno di lattine per alimenti e bevande, e delle più comuni forme di policarbonato, usato in numerosi prodotti per bambini, bottiglie, attrezzature sportive, ecc. Il BPA è in grado di attraversare il rivestimento in plastica dei prodotti alimentari in scatola e di essere assorbito dall'uomo tramite la dieta. L'esposizione a BPA durante la fase gestazionale è in grado di ridurre il peso testicolare, la produzione giornaliera di spermatozoi e l'efficienza della spermatogenesi. Inoltre, studi sperimentali dimostrerebbero come possa alterare la funzionalità delle cellule del Sertoli, limitandone soprattutto le funzioni di barriera. Come altri ED, anche il BPA è in grado di modificare la steroidogenesi testicolare, inducendo apoptosi delle cellule del Leydig, inibendo l'attività dell'enzima P-450c17, consentendo l'espressione del gene di Nur 77 (un recettore nucleare orfano coinvolto nelle alterazioni della steroidogenesi) e riducendo i livelli di LH e FSH (7-9). A seguito di tali osservazioni, dal 2011 in Europa, Stati Uniti e Giappone è stato vietato l'utilizzo del BPA nella fabbricazione dei *biberon*, mentre è ancora consentito nei materiali e negli oggetti di materia plastica destinati a venire a contatto con gli alimenti. Nel 2014 l'Agenzia Europea per le sostanze chimiche ha classificato il BPA nella categoria 1b per la funzione riproduttiva, cioè come sostanza potenzialmente in grado di danneggiarla. Nel 2018 la Commissione Europea ha esteso il divieto totale di impiego del BPA per la produzione di tazze e bottiglie in policarbonato e rivestimenti di imballaggi destinati alla prima infanzia (latte artificiale, formule di proseguimento, alimenti a base di latte o cereali) e ha esteso il campo di applicazione della norma (finora riguardante solo i polimeri) anche a vernici e rivestimenti, riducendo da 0.6 mg/kg a 0.05 mg/kg la quantità massima di sostanza che può contaminare l'alimento partendo dagli imballaggi.

Gli **inquinanti organici persistenti** (*Persistent Organic Pollutants*, POP) sono sostanze chimiche resistenti alla decomposizione (alcune rimangono nel terreno fino a vent'anni prima di dimezzarsi), usate per la produzione di solventi, plastiche, pesticidi e PVC. I principali POP sono: aldrina, dicloro-difenil-tricloro-etano (DDT), dieldrina, diossine, endrina, esacloro-benzene, furano, policloro-bifenili (PCB).

I **PCB**, utilizzati nei trasformatori, negli inchiostri da stampa, nelle vernici, nei plastificanti e nelle carte per copiatrici, non vengono praticamente più utilizzati a causa della loro tossicità. È stato dimostrato come i PCB determinino incremento dell'apoptosi delle cellule del Leydig (10), riduzione dei principali parametri seminali (11,12) e siano presenti nel plasma seminale dei soggetti infertili e non di quelli fertili (13). È necessario monitorarne l'esposizione, vista l'emivita estremamente lunga e il fatto che un trasformatore industriale (con una vita media di 15-20 anni) può arrivare a contenerne anche quintali.

Per quanto riguarda i **pesticidi**, i dati sono contrastanti. Alcuni studi associano l'esposizione a riduzione della fertilità, della qualità del liquido seminale e della secrezione ormonale. Il TCDD, composto simile alla diossina, è in grado di inibire la steroidogenesi testicolare. Lo stesso risultato viene ottenuto, attraverso meccanismi diversi, da insetticidi a base di piretro, quali la permetrina, o da altri insetticidi organo-clorati, come l'aldrina, in grado anche di alterare la secrezione ipofisaria di gonadotropine (14). L'esposizione al TCDD durante i primi anni di vita condizionerebbe negativamente la spermatogenesi, mentre avrebbe effetti diametralmente opposti e positivi durante la pubertà (15). È quindi ipotizzabile che **epoca di esposizione e successivo tempo di latenza siano elementi determinanti per gli effetti di alcuni ED.**

Il **fumo di sigaretta** contiene più di 4000 sostanze chimiche che possono alterare la fertilità. Considerando che circa il 35% dei maschi in età fertile fuma, si può comprendere l'importanza del problema. I fumatori tendono ad avere riduzione del numero di spermatozoi e della loro motilità (per alterazioni dei micro-tubuli dell'assonema e/o per alterazioni dell'enzima creatin-chinasi, responsabile della liberazione di energia proveniente dall'ATP), maggior percentuale di forme dismorfiche e riduzione dell'attività mitocondriale, con conseguente ridotta capacità di fecondazione. Vi sono anche osservazioni riguardanti alterazioni dell'integrità del DNA causate da eccesso di leucociti nel liquido seminale e conseguente accumulo di ossidanti (16). Tutte le alterazioni

seminologiche osservate nei fumatori sono reversibili dopo interruzione del fumo per almeno 3 mesi. Sono discordanti, invece, i dati riguardanti la secrezione di LH, FSH e testosterone (17).

Anche l'**alcol etilico** può essere annoverato tra gli ED: il consumo > 40 g/die può bloccare i processi di clivaggio che portano al GnRH attivo e inibire direttamente la secrezione di LH. A livello della spermatogenesi, i danni prodotti dall'alcol sono dose-dipendenti e per consumi protratti > 40 g/die possono comparire arresti maturativi e deplezione cellulare, fino alla sindrome a sole cellule del Sertoli. Non sono stati dimostrati invece effetti negativi per la spermatogenesi nei consumatori occasionali di bevande alcoliche (18).

La **marijuana** contiene il cannabinoide THC, in grado di alterare la secrezione di GnRH e direttamente anche di LH, con conseguente riduzione della produzione di testosterone, che anche in questo caso richiede almeno tre mesi di sospensione prima di ritornare alla normalità. Più di un terzo dei consumatori cronici sono oligospermici, per un blocco maturativo che avviene sia a livello di meiosi che di mitosi, e presentano aumento delle forme dismorfiche, riduzione della motilità e inibizione della reazione acrosomiale (19).

Effetti simili sulla spermatogenesi sono stati recentemente dimostrati anche a seguito dell'uso di **filtri solari** contenuti nelle creme protettive o di triclosano contenuto nei **dentifrici**.

Per quanto riguarda le **sostanze alimentari**, nonostante queste non possano ancora assurgere al ruolo di ED, osservazioni datate in modelli animali hanno dimostrato come la restrizione alimentare fosse in grado di modificare i principali parametri seminologici (20). A partire da questi dati sperimentali, vi è stata sempre maggiore attenzione alla relazione tra alimentazione e riproduzione umana, con aumento esponenziale dei lavori scientifici sull'argomento. È stato, infatti, osservato come la motilità degli spermatozoi peggiori con l'aumentare del consumo di bevande dolcificate (21), l'astenospermia si associ all'aumentato consumo di acidi grassi saturi e insaturi "trans", mentre la morfologia nemaspermica migliori con il consumo di omega-3 (22). Caffè e bevande energizzanti contenenti caffeina correlano negativamente con la capacità fecondante (23). Nei programmi di procreazione assistita, il tasso di fecondazione è correlato positivamente con il consumo di carni bianche (pollame) e negativamente con quello di carni lavorate (insaccati) (24). Anche la scarsa assunzione di frutta, verdura, cereali, pesce e formaggi a basso contenuto di grassi rappresenta un fattore di rischio per potenziali alterazioni della spermatogenesi. In buona sostanza, una dieta equilibrata può garantire anche la salute sessuale.

Bibliografia

1. Bliatka D, et al. Effect of endocrine disruptors on male reproduction in humans: why the evidence is still lacking? *Andrology* [2017, 5: 404-7](#).
2. Bonde JP, et al. The epidemiologic evidence linking prenatal and postnatal exposure to endocrine disrupting chemicals with male reproductive disorders: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update* [2016, 23: 104-25](#).
3. Skakkebaek NE, et al. Testicular dysgenesis syndrome: an increasingly common developmental disorder with environmental aspects. *Hum Reprod* [2001, 16: 972-8](#).
4. Schug TT, et al. Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. *J Steroid Biochem Mol Biol* [2011, 127: 204-15](#).
5. Krysiak-Baltyn K, et al. Country specific chemical signatures of persistent environmental compounds in breast milk. *Int J Androl* [2010, 33: 270-8](#).
6. Myrup C, et al. Testicular cancer in first and second generation immigrants to Denmark. *J Natl Cancer Inst* [2008, 100: 41-7](#).
7. Nakamura D, et al. Bisphenol A may cause testosterone reduction by adversely affecting both testis and pituitary systems similar to estradiol. *Toxicol Lett* [2010, 194: 16-25](#).
8. Song KH, et al. Endocrine disrupter bisphenol A induces orphan nuclear receptor Nur 77 gene expression and steroidogenesis of rat Leydig cells. *Endocrinology* [2002, 143: 2208-15](#).
9. Hanaoka T, et al. Urinary bisphenol A and plasma hormone concentrations in male workers exposed to bisphenol A diglycidyl ether and mixed organic solvents. *Occup Environ Med* [2002, 59: 625-8](#).
10. Oskam IC, et al. Effects of PCB99 and PCB153 exposure on spermatogenesis in young adult C57BL6 mice. *Reprod Toxicol* [2008, 24: 190-7](#).

11. Aneck-Hahn NH, et al. Impaired semen quality associated with environmental DDT exposure in young men living in a malaria area in the Limpopo Province, South Africa. *J Androl* [2007, 28: 423–34](#).
12. Dallinga JW, et al. Decreased human semen quality and organochlorine compounds in blood. *Hum Reprod* [2002, 17: 1973–9](#).
13. Rozati R, et al. Role of environmental estrogens in the deterioration of male factor fertility. *Fertil Steril* [2002, 78: 1187–94](#).
14. Chatterjee S, et al. Suppression of testicular steroidogenesis in rats by organochlorine insecticide Aldrin. *Environ Pollut* [1988, 51:87-94](#).
15. Mocarelli P, et al. Dioxin exposure, from infancy through puberty, produces endocrine disruption and affects human semen quality. *Environ Health Perspect* [2008, 116: 70–7](#).
16. Pacifici R, et al. Nicotine, cotinine, and trans-3-hydroxycotinine levels in seminal plasma of smokers: effects on sperm parameters. *Ther Drug Monit* [1993, 15: 358–63](#).
17. Pasqualotto FF, et al. Cigarette smoking is related to a decrease in semen volume in a population of fertile men. *BJU Int* [2006, 97: 324-6](#).
18. Farkas I, et al. Retrograde endocannabinoid signaling reduces GABAergic synaptic transmission to gonadotropin-releasing hormone neurons. *Endocrinology* [2010, 151: 5818–29](#).
19. Ricci E, et al. Semen quality and alcohol intake: a systematic review and meta-analysis. *Reprod Biomed Online* [2017, 34: 38–47](#).
20. Blank JL, et al. Spermatogenesis is modified by food intake in mice. *Biol Reprod* [1984, 30: 410-5](#).
21. Chiu YH, et al. Sugar-sweetened beverage intake in relation to semen quality and reproductive hormone levels in young men. *Hum Reprod* [2014, 29: 1575–84](#).
22. Attaman JA, et al. Dietary fat and semen quality among men attending a fertility clinic. *Hum Reprod* [2012, 27: 1466–74](#).
23. Wesselink AK, et al. Caffeine and caffeinated beverage consumption and fecundability in a preconception cohort. *Reprod Toxicol* [2016, 62: 39–45](#).
24. Xia W, et al. Men's meat intake and treatment outcomes among couples undergoing assisted reproduction. *Fertil Steril* [2015, 104: 972–9](#).