

Artículo del mes

El endocannabinoide 2-araquidonoilglicerol favorece la formación de espermatozoides a través de la activación de los receptores cannabinoides-2

Mauro Maccarrone

Departamento de Ciencias Biomédicas, Universidad de Teramo, 64100 Teramo, Italia, y Centro Europeo de Investigaciones sobre el Cerebro/Fundación Santa Lucía, 00143 Roma, Italia

Resumen

No está claro el papel exacto del sistema endocannabinoide (SEC) en la espermatogénesis. Científicos de la Universidad "Tor Vergata" de Roma (Italia) y del Grupo de Investigación Endocannabinoide - Consiglio Nazionale delle Ricerche (Pozzuoli, Italia) han utilizado preparados de células germinales purificadas representativas de todas las fases de la espermatogénesis y cultivos primarios de espermatogonias para demostrar que las células germinales del ratón macho poseen un SEIC completo y activo [Grimaldi et al. Proc Natl Acad Sci USA 2009;106:11131-6]. Descubrieron que durante la espermatogénesis podrían entrar en funcionamiento señales endocannabinoideas autocrinas y que el SEC modula durante la meiosis, con picos de niveles del endocannabinoide 2-araquidonoilglicerol previos a ésta. Han puesto de manifiesto, además, que la activación de los receptores del tipo 2 (CB2) favorece la progresión meiótica de las células germinales mediante un aumento de la expresión de los genes precoces de la profase meiótica.

Palabras claves: endocannabinoideas, reproducción humana, fertilidad masculina, meiosis, espermatogénesis.

Este artículo puede ser descargado, impreso y distribuido de forma gratuita con fines no lucrativos, siempre que el trabajo original sea correctamente citado (ver información sobre copyright más abajo). Disponible on-line en www.cannabis-med.org

Dirección del autor: Mauro Maccarrone, mmaccarrone@unite.it

Información previa

Durante el último medio siglo las tasas de fecundidad se han reducido a una velocidad sin precedente por lo que la infertilidad se ha convertido en un urgente problema de salud pública, especialmente en los países desarrollados donde afecta a una de cada seis parejas [2]. Aunque las tecnologías de reproducción asistida han superado muchas causas de infertilidad, las tasas de embarazo son aún relativamente bajas y no han aumentado en los últimos años [1]. Es de importancia prioritaria en este contexto que nuestra comprensión de los detalles moleculares de la reproducción, tanto masculina como femenina, mejoren y sean identificados marcadores fiables de diagnóstico de infertilidad y objetivos terapéuticos nuevos para combatir las enfermedades reproductivas.

En la última década un nuevo grupo de mediadores lipídicos, denominados en conjunto "endocannabinoideas" (eCBs), se han mostrado como señalizadores críticos en diversos aspectos de la reproducción humana (para una reciente y extensa revisión ver [7]). Cabe destacar que los eCBs, al igual que el componente del cannabis Δ^9 -tetrahidrocannabinol [11], regulan el transporte de los embriones por el oviducto, la implantación y el desarrollo fetal (en las mujeres), y la supervivencia, la motilidad, la capacitación y la reacción acrosómica de los espermatozoides (en los hombres) [7]. Los eCBs y el conjunto de proteínas a los que se acoplan, transportan y que los metaboliza (en conjunto conocido como "sistema endocannabinoide", SEC) está altamente conservado en el proceso evolutivo, apareciendo durante la época en la que divergieron protostomos y deuterostomos, regulando

Explicaciones

Reacción acrosómica	liberación del arsenal enzimático de la cabeza de los espermatozoides necesario para penetrar en la célula germinal femenina (óvulo o huevo).
Autocrina	relativo a un tipo de transmisión de una determinada señal en el que una célula secreta un mensajero químico concreto (en este caso un endocannabinoides) que se une a unos determinados receptores localizados en un mismo tipo de células.
Capacitación	compleja modificación de los espermatozoides que les permiten alcanzar y fertilizar un ovocito.
Epigenética	referente a un tipo de regulación de la expresión genética que no afecta a la secuencia de los nucleótidos pero modifica químicamente el ADN (por ejemplo, a través de la metilación o la acetilación).
Haploide	dícese de las células con un solo juego de cromosomas (óvulo o espermatozoide), en el caso de los humanos 23 cromosomas.
In vitro	relativo a sistemas celulares mantenidos mediante cultivo en un laboratorio.
In vivo	relativo a modelos animales que viven en un laboratorio.
Meiosis	proceso por el que una célula diploide (es decir, con doble juego de cromosomas) se divide para dar lugar a cuatro células haploides (cada una con un solo juego de cromosomas).
Mitosis	proceso de división celular por el que una célula (madre) da lugar a dos células con el mismo conjunto de cromosomas que la madre.
Ovocito	célula germinal femenina (óvulo o huevo).
Oviducto	tramo que conecta el ovario con el útero.
Paquiteno	una de las fases de la meiosis (fase paquiténica).
Placentación	referente a la formación, tipo, estructura y disposición de las placentas.
Espermatogénesis	proceso altamente coordinado de maduración de las células germinales masculinas (espermatozoides).

Abreviaturas

AEA	<i>N</i> -araquidonoiletanolamina
SEC	sistema endocannabinoides
FAAH	amida hidrolasa de ácidos grasos

los procesos reproductivos ya en invertebrados y, en menor medida, en vertebrados [10]. La mayoría de estas acciones se pueden atribuir al eCB anandamida

(*N*-araquidonoiletanolamina, AEA). Por tanto, ha sido reconocido como marcador de infertilidad humana un nivel bajo de la enzima degradadora de la AEA, la amida hidrolasa de ácidos grasos (FAAH), en los linfocitos circulantes maternos [5], y a la inversa, un nivel en sangre de AEA por encima de un cierto umbral es predicción de aborto involuntario en casi el 100% de mujeres de riesgo [4]. Por tanto, la creciente evidencia científica señala a la AEA con poder para dirigir la fertilidad humana hacia un final positivo o negativo, especialmente por la activación de los receptores cannabinoides tipo-1 (CB₁) [7]. Está demostrado además que el otro gran subtipo de receptores cannabinoides, los tipo-2 (CB₂), se expresan en varias células y tejidos reproductivos, donde ejercen diferentes acciones sobre la placentación, la señalización materno-fetal y el desarrollo del embrión, y en la supervivencia de las células de Sertoli y la interacción entre los espermatozoides y los ovocitos [6]. Hasta ahora resultaba un tanto sorprendente que se mantuviese oculto un posible papel del eCB 2-araquidonoilglicerol (2-AG) en la fecundidad, ya que éste está ampliamente aceptado como ligando endógeno real para los CB₂ actuando como agonista de manera mucho más eficaz que la AEA. El artículo del mes comentado aquí arroja luz sobre el capital papel del 2-AG y de los receptores CB₂ en la fertilidad masculina [3].

Resumen de artículo original

Ha sido descrita la importancia del SEC en las funciones reproductivas del hombre en textos anteriores (ver [7] y sus referencias). La AEA reduce la capacidad fertilizante de los espermatozoides en el esperma de erizo de mar, e inhibe funciones claves en la función de fertilización como es la motilidad de los espermatozoides, la capacitación y la reacción acrosómica en los mamíferos. La evidencia apoya la existencia de un papel del SEC también en el control de la producción de testosterona y otras funciones endocrinas reproductivas, aunque su participación en la espermiogénesis, sin embargo, ha sido sólo parcialmente explorada. La espermatogénesis es un proceso altamente coordinado que conduce a la maduración de las células germinales masculinas (espermatozoides); en ella se diferencian fases mitóticas (espermatogonia), meióticas (espermatozoides) y de diferenciación haploide (espermátidas). Grimaldi y su equipo de la Universidad "Tor Vergata" de Roma (Roma, Italia) y el Grupo de Investigación Endocannabinoides - Consiglio Nazionale delle Ricerche (Pozzuoli, Italia) han investigado la presencia y el papel funcional del SEC en las células germinales masculinas en diferentes etapas de diferenciación, usando preparados de células germinales purificada representativas de cada fase de la espermatogénesis, así como cultivos primarios de espermatogonias.

Este enfoque permitió la cuantificación precisa de los ligandos de los receptores CB, la AEA y el 2-AG, y de los niveles de ARNm y proteínas de sus enzimas metabolizadoras y de los receptores. Los datos indican que

las células germinales de los ratones machos poseen un SEC completo y activo que modula durante la meiosis, lo que sugirió la presencia de una señal endocannabinoide en la espermatogénesis. Vieron que las células mitóticas poseen mayores niveles de 2-AG, los cuales disminuyen en los espermatocitos (~ 2 veces) y en las espermátidas (~ 20 veces). Como consecuencia, las espermatogonias expresaron niveles más altos y más bajos de las enzimas biosintetizadoras y degradadoras, respectivamente, en comparación con las células meiótica y postmeiótica. Durante la meiosis se observó además un incremento del nivel de ARNm de ambas enzimas, biosintéticas y degradadoras, de la AEA; posiblemente como resultado, los niveles de la AEA se mantienen constantes durante la espermatogénesis. Sobre esta base, los autores especulan que la regulación al alza de las enzimas implicadas en el metabolismo de la AEA, podrían servir para mantener un adecuado "tono AEA" durante la meiosis, como el que se observa en los embriones de ratón [7]. Además, el hecho de que la AEA sea un agonista de los canales TRPV1 mientras que el 2-AG no, sugiere que un tono AEA garantizaría la acción protectora mediada por los TRPV1 contra el aumento de la temperatura de las células germinales masculinas en el paquitenio, previamente propuesto por otros autores [8]. Se ha sugerido por otra parte que el 2-AG desempeña un papel fundamental mediante el favorecimiento de la progresión meiótica de las células germinales mediante la activación de los receptores CB₂. De hecho los autores encontraron que un agonista selectivo de los receptores CB₂, el JWH133, induce la cascada de fosforilación Erk 1/2 MAPK (proteínquinas activadas por mitógenos) en las espermatogonias, un efecto atenuado por un antagonista selectivo de los CB₂, el AM630. Sorprendentemente, el JWH133 también favoreció la meiosis de las espermatogonias, aumentando el número de células positivas al marcador de la profase meiótica complejo proteico sinaptonémico 3 (SCP3), y la expresión de genes precoces de la profase meiótica como los *c-Kit*, *Dmcl1*, *Stra8*, *Lhx8* y *Spo11*. Los datos en conjunto demuestran que las células germinales del ratón poseen un SEC completo y activo, y que modula durante la espermatogénesis. También sugirieron la participación de una señalización endocannabinoide autocrina favorecida por el 2-AG en las fases mitótica y meiótica de la espermatogénesis, y apuntan a un papel fundamental de los receptores CB₂ en este proceso.

Comentario

El papel de la "pareja" AEA-CB₁ en distintos aspectos reproductivos ha encontrado apoyo experimental sólido, tanto en estudios *in vitro* como *in vivo*. Mientras que ya se han sugerido distintas funciones para el CB₂, aún no ha comenzado a hacerse con el 2-AG. El artículo del mes comentado aquí ha venido a llenar este vacío documentando un papel fundamental de la "pareja" 2-AG - CB₂ en la espermatogénesis, importante evento

en la reproducción masculina. En general, los nuevos datos añaden complejidad a las redes hormonas/citoquinas que regulan la fertilidad en los mamíferos a través de señales endocannabinoides. Además, la observación de que el SEC modula durante la meiosis, nos advierte de la posible interferencia entre los eCBs y la homeostasis de la cromatina. En este contexto, hemos demostrado recientemente que la AEA puede controlar la metilación del ADN [9] y futuros estudios nos dirán si el control de la fecundidad por parte de los eCBs puede provocar modificaciones epigenéticas de la cromatina por alteración de la expresión de genes claves de la reproducción.

Referencias

1. Andersen AN, Goossens V, Ferraretti AP, Bhattacharya S, Felberbaum R, de Mouzon J, Nygren KG. Assisted reproductive technology in Europe, 2004: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2008;23:756–71.
2. Gnoth C, Godehardt E, Frank-Herrmann P, Friol K, Tigges J, Freundl G. Definition and prevalence of subfertility and infertility. *Hum Reprod* 2005;20:1144–7.
3. Grimaldi P, Orlando P, Di Siena S, Lolicato F, Petrosino S, Bisogno T, Geremia R, De Petrocellis L, and Di Marzo V. The endocannabinoid system and pivotal role of the CB₂ receptor in mouse spermatogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2009;106:11131–6.
4. Habayeb OM, Taylor AH, Finney M, Evans MD, Konje JC. Plasma anandamide concentration and pregnancy outcome in women with threatened miscarriage. *JAMA* 2008;299:1135–6.
5. Maccarrone M, Valensise H, Bari M, Lazzarin N, Romanini C, Finazzi-Agrò A. Relation between decreased anandamide hydrolase concentrations in human lymphocytes and miscarriage. *Lancet* 2000;355:1326–9.
6. Maccarrone M. CB₂ receptors in reproduction. *Br J Pharmacol* 2008;153:189–98.
7. Maccarrone M. Endocannabinoids: friends and foes of reproduction. *Prog Lipid Res* 2009;48:344–54.
8. Mizrak SC, van Dissel-Emiliani FM. Transient receptor potential vanilloid receptor-1 confers heat resistance to male germ cells. *Fertil Steril* 2008;90:1290–1293.
9. Pasquariello N, Oddi S, Malaponti M, Maccarrone M. Regulation of gene transcription and keratinocyte differentiation by anandamide. *Vitam Horm*. 2009;81:441–67.
10. Pierantoni R, Cobellis G, Meccariello R, Cacciola G, Chianese R, Chioccarelli T, Fasano S. CB₁ activity in male reproduction: mammalian and nonmammalian animal models. *Vitam Horm* 2009;81:367–87.
11. Piomelli D. THC: moderation during implantation. *Nat Med* 2004;10:19–20.