

Artikel des Monats

Das Endocannabinoid 2-Arachidonoylglycerol fördert die Spermienentwicklung durch die Aktivierung von Cannabinoid-2-Rezeptoren

Mauro Maccarrone

Abteilung für Biomedizinische Wissenschaften, Universität Teramo, 64100 Teramo, Italien, & Europäisches Zentrum für Hirnforschung/Santa-Lucia-Stiftung, 00143 Rom, Italien

Zusammenfassung

Die genaue Rolle des Endocannabinoidsystems (ECS) während der Spermatogenese ist nicht geklärt. Wissenschaftler der Tor-Vergata-Universität von Rom (Italien) und der Endocannabinoid-Forschungsgruppe des Consiglio Nazionale delle Ricerche (Pozzuoli, Italien) haben gereinigte Keimzellfraktionen, die repräsentativ für alle Phasen der Spermatogenese sind, und Primärkulturen von Spermatogonien verwendet, um nachzuweisen, dass männliche Keimzellen von Mäusen ein aktives und vollständiges ECS besitzen [Grimaldi et al. Proc Natl Acad Sci USA 2009;106:11131-6]. Sie fanden, dass eine autokrine Endocannabinoid-Signalgebung während der Spermatogenese funktionsfähig sein könnte, und dass das ECS während der Meiose moduliert wird, mit maximalen Spiegeln des Endocannabinoids 2-Arachidonoylglycerol vor der Meiose. Zudem wurde gezeigt, dass das Endocannabinoid 2-Arachidonoylglycerol die Entwicklung der Meiose von Keimzellen durch eine Aktivierung von Typ-2-Cannabinoidrezeptoren (CB₂) und dadurch eine Zunahme der Expression von frühen meiotischen Prophase-Gene fördert.

Schlüsselwörter: Endocannabinoide, menschliche Reproduktion, männliche Fruchtbarkeit, Meiose, Spermatogenese

Dieser Artikel kann unter der Maßgabe, dass die Originalarbeit korrekt zitiert ist (siehe die unten stehenden Copyright-Informationen), für alle nicht-kommerziellen Zwecke frei aus dem Internet herunter geladen, gedruckt und verteilt werden. Verfügbar online unter www.cannabis-med.org

Adresse des Autors: Mauro Maccarrone, mmaccarrone@unite.it

Hintergrundinformationen

Im Verlauf des vergangenen halben Jahrhunderts haben die Fruchtbarkeitsraten mit einer noch nie dagewesenen Geschwindigkeit abgenommen, sodass Unfruchtbarkeit besonders in entwickelten Ländern zu einem dringenden Gesundheitsthema geworden ist, das eines von sechs Paaren betrifft [2]. Auch wenn unterstützende Reproduktionstechnologien viele Gründe für Unfruchtbarkeit überwunden haben, so sind die Geburtsraten weiterhin relativ niedrig und haben in den letzten Jahren nicht zugenommen [1]. Vor diesem Hintergrund ist es umso wichtiger, dass unser Verständnis der molekularen Details der Reproduktion sowohl auf der männlichen als auch auf der weiblichen

Seite verbessert wird, und dass zuverlässige diagnostische Marker der Unfruchtbarkeit und neue therapeutische Angriffspunkte zur Bekämpfung reproduktiver Erkrankungen identifiziert werden.

Im letzten Jahrzehnt hat sich eine neue Gruppe von Lipid-Signalstoffen, die zusammen "Endocannabinoide" (eCBs) als kritische Signalgeber bei verschiedenen Aspekten der menschlichen Reproduktion erwiesen (für eine aktuelle und ausführliche Übersicht siehe [7]). Bemerkenswerterweise regeln eCBs wie ihr aus Cannabis gewonnenes Gegenstück Δ^9 -Tetrahydrocannabinol [10] den Transport des Embryos im Eileiter, die Einnistung und die fetale Entwicklung (bei Frauen) und das Überleben von Spermien, ihre Beweglichkeit, Kapazitation und die Akrosomreaktion (bei Männern)

Erklärungen

Akrosomreaktion	Freisetzung eines enzymatischen Arsenal vom Kopf der Spermien, das benötigt wird, um in die weibliche Keimzelle (Oozyte) einzudringen.
Autokrin	bezogen auf eine Art der Signalgebung, bei der eine Zelle einen chemischen Überträgerstoff abgibt (hier ein Endocannabinoid), der an Rezeptoren des gleichen Zelltyps bindet.
Kapazitation	eine komplexe Veränderung der Spermatozoen, die es ihnen ermöglicht, eine Oozyte zu erreichen und zu befruchten.
Epigenetisch	eine Art der Regulierung der Genexpression, die nicht die Nukleotid-Sequenz beeinflusst, sondern die DNS chemisch verändert (z. B. durch Methylierung oder Azetylierung).
Haploid	die Zahl der Chromosomen in einer Keimzelle (Oozyte oder Spermie), die beim Menschen 23 beträgt.
In vitro	auf Zellsystemen in Kulturen im Labor beruhend.
In vivo	auf Tiermodellen im Labor beruhend.
Meiose	Zellteilungsprozess, der dazu führt, dass eine diploide Zelle (das ist eine Zelle mit einem doppelten Chromosomensatz) vier aploide Zellen (von denen jeder einen einzelnen Chromosomensatz enthält) bildet.
Mitose	Zellteilungsprozess, der dazu führt, dass eine Zelle (Mutter) zwei Zellen mit dem gleichen Chromosomensatz wie die Mutter bildet.
Oozyte	weibliche Keimzelle (Oozyte oder Ei)
Oviduktal	bezogen auf den Eileiter, der den Eierstock mit der Gebärmutter verbindet.
Pachytän	bezogen auf ein bestimmtes Stadium der Meiose (Pachytän-Stadium).
Plazentation	ein Prozess, der sich auf die Bildung, Art, Struktur oder Anordnung der Plazenta bezieht.
Spermatogenese	ein hoch koordinierter Prozess, der zur Reife männlicher Keimzellen (Spermatozoen) führt.

Abkürzungen

AEA	<i>N</i> -Arachidonylethanolamin
ECS	Endocannabinoidsystem
FAAH	Fettsäureamidhydrolase

[7]. Die meisten dieser Wirkungen können dem eCB Anandamid (*N*-Arachidonylethanolamin, AEA) zugeschrieben werden. In Übereinstimmung damit wurde ein reduzierter Spiegel des AEA abbauenden Enzyms Fettsäureamidhydrolase (FAAH) in zirkulierenden mütterlichen Lymphozyten als ein Marker für menschliche Unfruchtbarkeit erkannt [5], und umgekehrt sagt ein AEA-Blutspiegel über einer bestimmten Schwelle in nahezu 100 % eine Fehlgeburt bei Frauen mit die-

sem Risikofaktor voraus [4]. Alles in allem gibt es zunehmende Erkenntnisse, nach denen AEA das Potenzial besitzt, die menschliche Fruchtbarkeit in eine positive oder negative Richtung zu beeinflussen, überwiegend durch Aktivierung von Typ-1-Cannabinoidrezeptoren (CB₁) [7]. Zudem wurde gezeigt, dass der andere wichtige Subtyp von Cannabinoidrezeptoren, d. h. Typ-2-Rezeptoren (CB₂) in verschiedenen reproduktiven Zellen und Geweben exprimiert wird, wo er einige umschriebene Wirkungen auf die Plazentation, die Signalgebung zwischen Mutter und Fetus und die embryonale Entwicklung oder das Überleben von Sertoli-Zellen und Wechselwirkungen zwischen Spermien und Eizelle ausübt [6]. Bisher war es etwas überraschend, dass eine Rolle für das herausragende eCB 2-Arachidonoylglycerol (2-AG) bei der Fruchtbarkeit unentdeckt blieb, weil 2-AG allgemein als eigentlicher endogener Ligand für CB₂ akzeptiert und ein besserer Agonist als AEA am CB₂-Rezeptor ist.

Der Artikel des Monats, der hier kommentiert wird, beleuchtet die entscheidende Rolle von 2-AG bei der männlichen Fruchtbarkeit durch Aktivierung von CB₂-Rezeptoren [3].

Zusammenfassung des Originalartikels

Die Bedeutung des ECS bei männlichen reproduktiven Funktionen wurde in früheren Artikeln dargestellt (siehe [7] und Literaturstellen darin). AEA reduziert die Befruchtungsfähigkeit von Seeigel-Spermien und hemmt Schlüsselfunktionen der Fruchtbarkeit wie die Spermienbeweglichkeit, Kapazitation und Akrosomreaktion bei Säugetieren. Zunehmende Erkenntnisse unterstützen eine Rolle für das ECS auch bei der Kontrolle der Testosteron-Produktion und anderer hormoneller reproduktiver Funktionen. Allerdings wurde seine Beteiligung an der Spermatogenese nur zum Teil aufgeklärt. Die Spermatogenese ist ein hoch koordinierter Prozess, der zur Reifung männlicher Keimzellen (Spermatozoen) führt. Er ist durch mitotische (Spermatogonien), meiotische (Spermatozyten) und differenzierende haploide (Spermatiden) Phasen charakterisiert. Grimaldi und Kollegen an der Tor-Vergata-Universität von Rom (Italien) und der Endocannabinoid-Forschungsgruppe des Consiglio Nazionale delle Ricerche (Pozzuoli, Italien) untersuchten das Vorkommen und die funktionelle Rolle des ECS bei männlichen Keimzellen in verschiedenen Stadien der Differenzierung. Sie verwendeten dabei gereinigte Keimzell-Fractionen, die für jede Phase der Spermatogenese repräsentativ sind, sowie primäre Kulturen von Spermatogonien.

Diese Vorgehensweise erlaubte die genaue Quantifizierung der CB-Rezeptorliganden AEA und 2-AG und der Expression der transkriptionalen und translationalen Spiegel ihrer metabolischen Enzyme und Rezeptoren. Ihre Daten zeigten, dass männliche Keimzellen von Mäusen ein aktives und vollständiges ECS besitzen, das während der Meiose moduliert wurde, und legten das Vorkommen einer Endocannabinoid-

signalgebung während der Spermatogenese nahe. Es wurde gezeigt, dass mitotische Zellen höhere Spiegel an 2-AG besitzen, die bei Spermatozyten (~2-fach) und Spermatiden (~20-fach) abnehmen. Entsprechend wiesen Spermatogonien verglichen mit meiotischen und postmeiotischen Zellen höhere bzw. niedrigere Spiegel an Enzymen für die Biosynthese und den Abbau von 2-AG auf. Zudem wurde eine transkriptionale Zunahme sowohl der biosynthetischen als auch der hydrolytischen Enzyme für AEA beobachtet, und möglicherweise als Folge davon blieben die AEA-Spiegel während der Spermatogenese konstant. Auf dieser Grundlage vermuteten die Autoren, dass die Heraufregulierung von metabolischen Enzymen für AEA dazu dient, einen angemessenen "AEA-Tonus" während der Meiose aufrechtzuerhalten, wie dies in Mäuse-Embryonen festgestellt worden war [7]. Da AEA zudem ein Agonist für TRPV1-Kanäle ist, während 2-AG dies nicht ist, schlugen sie vor, dass der AEA-Tonus die schützende Wirkung von TRPV1 gegen eine Temperaturzunahme von männlichen Keimzellen im Pachytän-Stadium sicherstellt, wie es zuvor von anderen vorgeschlagen worden war [8]. Auf der anderen Seite wurde herausgefunden, dass 2-AG durch Aktivierung von CB₂-Rezeptoren eine entscheidende Rolle bei der Förderung der meiotischen Entwicklung von Keimzellen spielt. In der Tat fanden die Autoren, dass der selektive CB₂-Rezeptoragonist JWH133 die Phosphorylierungskaskade der Erk-1/2-Mitogen-aktivierten Proteinkinase (MAPK) bei Spermatogonien induziert, eine Wirkung, die durch den selektiven CB₂-Antagonisten AM630 abgeschwächt wurde. Bemerkenswerterweise induzierte JWH133 das Fortschreiten der Spermatogonien zur Meiose, weil es die Zahl der Zellen, die positiv auf das synaptonemale Komplexprotein 3 (SCP3), ein Marker der meiotischen Prophase, und auf die Expression der frühen meiotischen Prophase-Gene wie *c-Kit*, *Dmcl1*, *Stra8*, *Lkx8* und *Spo11* reagierte, erhöhte. Zusammengefasst zeigten diese Daten, dass Keimzellen von Mäusen ein aktives und vollständiges ECS besitzen, das während der Spermatogenese moduliert wird. Sie legten auch die Beteiligung einer autokrinen Endocannabinoid-Signalgebung nahe, die in den mitotischen und meiotischen Phasen der Spermatogenese durch 2-AG aufrechterhalten wird, und zeigten eine entscheidende Rolle von CB₂-Rezeptoren bei diesem Prozess auf.

Kommentar

Die Rolle des AEA - CB₁-"Paares" bei einigen reproduktiven Ereignissen hat sowohl in *in vitro* als auch in *in vivo* Studien eine solide experimentelle Unterstützung gefunden. In der Zwischenzeit wurde auch eine definierte Rolle von CB₂ vorgeschlagen, während die Scheinwerfer bisher nicht auf 2-AG gerichtet waren. Der Artikel des Monats, der hier kommentiert wird, füllt diese Lücke, indem er eine entscheidende Rolle für das 2-AG - CB₂-"Paar" bei der Spermatogenese, ein wichtiges reproduktives Ereignis auf der männlichen

Seite, dokumentiert. Insgesamt fügen die neuen Daten ein weiteres komplexes Element zu den Hormon-Zytokin-Netzwerken, die die Fruchtbarkeit von Säugetieren durch eine Endocannabinoid-Signalgebung regulieren, hinzu. Zudem beleuchtet die Beobachtung, dass das ECS während der Meiose moduliert ist, eine mögliche Wechselwirkung von eCBs mit der Chromatin-Homöostase. In diesem Zusammenhang haben wir jüngst gezeigt, dass AEA die DNS-Methylierung kontrollieren kann [9], und weitere Studien werden uns zeigen, ob die Kontrolle der Fruchtbarkeit durch eCBs eine epigenetische Modifikation des Chromatins triggern kann und so die Expression reproduktiver Schlüsselgene verändert.

Literaturliste

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.