

Giza antzutasunaren aurka, kanabinoideoak?

Ekaitz Agirregoitia eta Naiara Agirregoitia

Fisiologia Saila, Medikuntza eta Odontologia Fakultatea.
Leioa (UPV/EHU)

Laburpena: Gero eta gehiago dira lagunduriko ugalketa-guneen laguntza behar duten bikoteak. Kasu gehienetan, teknika horien bidez, haurdunaldia ondo bukatzeko probabilitateak gora egiten du. Hala ere, oraindik orain badaude konpondu gabeko antzutasun-arazoak. Izan ere, ez ditugu ezagutzen ugalkortasunik ezaren hainbat alor biokimiko eta fisiologiko.

Duela gutxi arte, irudikaezina zen sistema kanabinoideoaren parte hartzea ugalketan. Hala ere, ikerketa lerro zabal hori nahiko jorratu da azken urteetan eta arraren zein emearen ugaltza-aparatuetan, ia sistema osoaren deskribapena egin da (hartzaileak, estekatzaileak, entzimak...).

Lan honetan, kanabinoideoek ugalketan izan dezaketen eraginari buruz orain arte egin diren ikasketak gehienak batu ditugu; izan ere, ikerketetatik lortutako emaitzek lagundu egingo digute giza ugaltza-fisiologiari buruz dugun jakituria zabaltzen eta bestetik, lagunduriko ugaltza-tekniketan eraginkortasuna handitzeko aukera eman diezagukete. Eta ez hori bakarrik, kanabinoideo-sistema ondo ezagututa, agian aztarnaren bat aurkitu ahal izango dugu gure gizartean hain garrantzia handia duen antzutasun horren aurka egiteko.

Abstract: The number of couples with sterility problems attending fertility programs is arising lately. In most cases, a full term pregnancy percentage increase can be achieved thanks to these clinics. Nevertheless, success in fecundation is not totally accomplished and an important part of these problems remain unresolved. This is due to the fact that many biochemical and physiological aspects of the human reproduction are still unknown, what makes impossible to understand the etiology of many infertility cases.

There are some evidences about the cellular communication exerted by the different components of the endocannabinoid system in the reproduction. Thus, the cannabinoid system (receptors, endocannabinoids, enzymes...) has been described in both male and female reproduction tracts.

The aim of this work is to collect the most studies about the role of cannabinoids in reproduction since, the obtained data as now, will supply a deeper knowledge about the human reproduction physiology and will help us on the improvement of efficacy in assisted reproduction treatments. Learning about cannabinoid system could be other way to the solution of human sterility.

SARRERA

Kanabinoideoak kalamu landareak (*Cannabis sativa L.*) sintetizatutako metabolito sekundarioen multzo gisa definitzen dira. $\Delta 9$ -tetrahydrokannabinola (THC) da efektu bioaktiboak eragiten dituen faktore nagusia. Kanabinoideoen eragin kimikoa zientifikoki ulertzen hasi zen marihuanaren osagai aktiboak isolatutakoan. Dena den, bestelako sendabelarrekin alderatuta, kanabinoideoen purifikazioa berandu gertatu zen. Konposatu horien izaera lipofilikoa dela-eta, 1940ko hamarkadan lortu zen lehenengo kanabinoideo purua; geroago, 1960ko hamarkadan, THCa purifikatu eta haren egitura deskribatu zen [1]. THCa da kanabinoideo indartsuena eta ugariena, baina marihuanak dibenzopirinetik eratorritako 70 konposatu inguru ditu. Haien artean, $\Delta 9$ -tetrahydrokannabibarina (THCaren efektua antagonizatzen duena), kannabidiola (CBD) eta kannabinola (CBN) dira garrantzitsuenak [2].

Barne sistema kanabinoidea aurkitu zenetik, kanpo zein barne kanabinoideoen eraginari buruz asko ikertu da eta aurkikuntza oso garrantzitsuak egin dira. Izan ere, gaur egun, kanabinoideekin lotutako ikerketa lerro asko irekita daude eta, oso itxaropentsuak dira lortzen ari diren emaitzak, besteak beste minbizian, minean edota elikatze-arazoetan bereziki aritu direnak.

Baina, azkeneko urteetan, ugalkortasunean eta haurdunaldian kanabinoideok duten parte hartzeari buruz lortu diren ebidentziak direla-eta, iruditu zaigu egokia izan litekeela sistema kanabinoidea eta ugal-prozesua uztartzen dituzten aurkikuntzei gainbegiratu bat egitea eta gaiaren dimentsio erreala agerian jartzea.

BARNE SISTEMA KANABINOIDEA

Kanabinoideo-hartzaileek, haien barne estekatzaileek (endokanabinoideoak) eta sintesi, andeakuntza eta berrartze prozesuetan parte hartzen duten molekulek barne-sistema kanabinoidea eratzen dute (1. irudia). *Cannabis Sativa* landaretik eratorritako kanabinoideoak (batez ere THC) eta barne kanabinoideoak zelulen mintzetako kanabinoideo-hartzaile espezifikoei lotzen zaizkie eta, horren ondorioz, batzuek zein besteek gaitasuna dute zeluletan aldaketa berdinsuak eragiteko. Hau da, modu naturalean gure barne kanabinoideok duten eginkizuna errepikatzen du kanpotik hartutako THC-ak eta, horregatik sortzen du gugan eragina, kannabisa kontsumitzean. Azter ditzagun barne sistema kanabinoideoaren konposatu nagusiak:

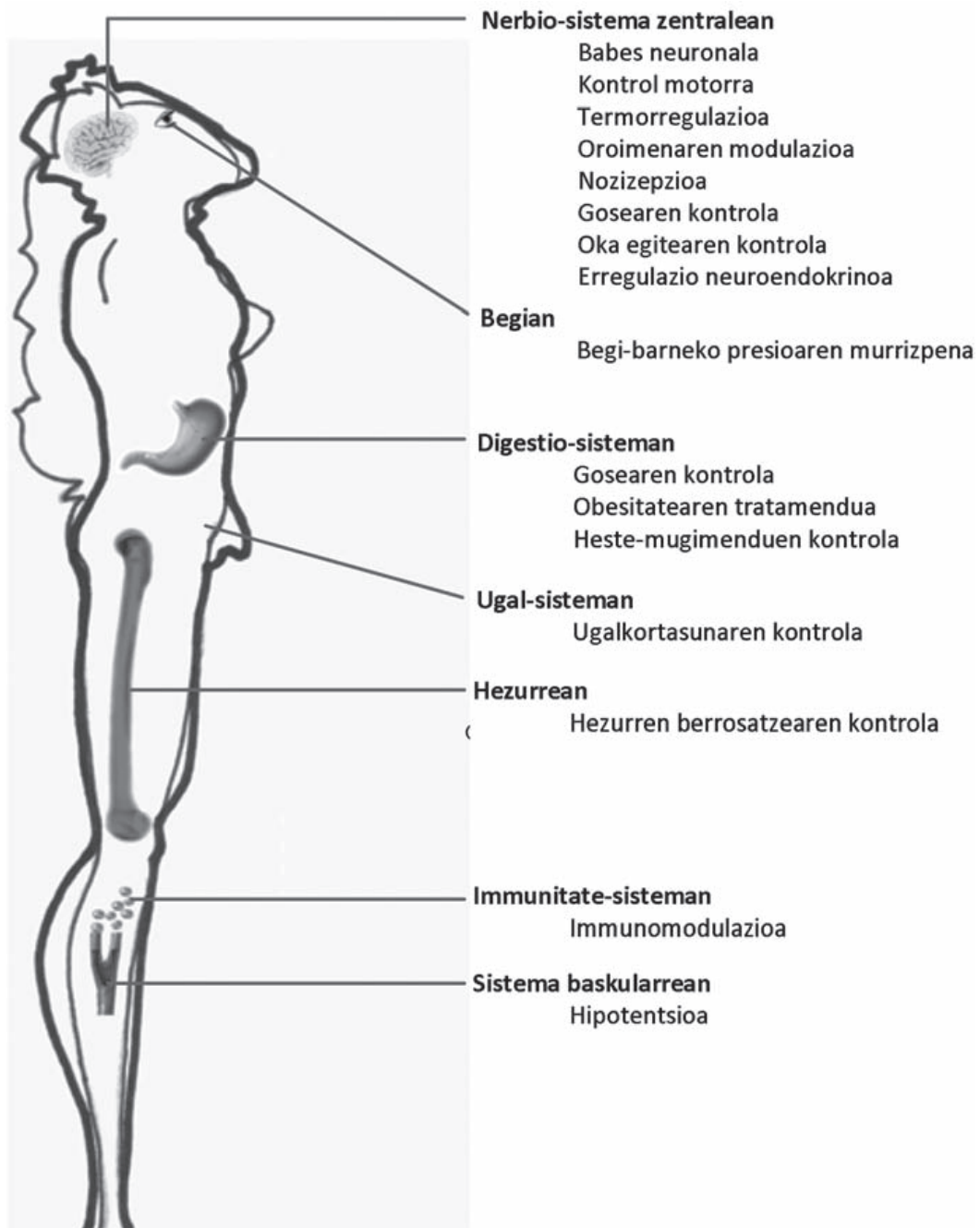
- *Endokanabinoideoak*: Kate luzeko gantz-azido poliasegabeetatik eratorriak dira (nagusiki, azido arakidonikotik eratorriak) eta talde

baino. CB₂-k banaketa oso desberdina dauka; izan ere, nerbio-sistema zentrolean ez da hain ugaria eta, batez ere, barean, amigdaletan, B eta T zeluletan, monozitoetan, zelula dendritikoetan, erretinan eta endotelio baskularrean kokatuta dago.

- *Sintesi-entzimak*: Kaltzioaren menpeko bi entzimaren ekintza delabide sintetizatzen da AEA: *N*-aziltransferasa (NAT) eta *N*-arakidonoilfosfatidiletanolamina-fosfolipasa D (NAPE-PLD). 2-AG kanabinoidea, aldiz, 1 eta 2 motako diazilglizerol lipasa (DAGL) entzimak sintetizatzen du. Estimulu baten erantzun gisa, zitoplasman kaltzioa metatzen denean, endokanabinoideoak sintetizatzeke makineria abian jartzen da eta konposatu horien sorkuntza areagotu egiten da. Behin lipido horiek sortuta, zelulatik kanpora garraiatzen dira, agian proteina garraiatzaile baten bidez; bi izan daitezke bideak: (1) hartzaille espezifikoek lotu eta efektua eragiten dute edo (2) berrartu eta andeatu egiten dira.
- *Andeakuntza-entzimak*: Kanabinoideoen efektua geldiarazteke irtenbide bat kanabinoideoak andeatzea da. Prozesu hori aurrera eramateke, bi entzima katalizatzaile daude batez ere: gantz-azidoen amida hidrolasa (FAAH) AEAra, eta monoazilglizerollipasa (MAGL), 2-AGrako.
- *Kanabinoideoen kanporatzea eta berrartzea*: Gai hau eztabaidagarria da, zeren eta, oraindik, kanabinoideorako proteina garraiatzailekerik ez baita klonatu, baina balizko proteina horren existentzia nola gabezia babesten duten datuak argitaratu dira.

KANABINOIDEOEN EKINTZA FISIOLOGIKOAK

Sistema kanabinoideoren funtzioak ikertu dira animalia-ereduetan, *in vitro* sistemetan eta kannabisaren erabilera ludikoak sortutako efektuetan. Neuromodulatzailearena da sistema horren funtzio garrantzitsuenetariko bat; izan ere, CB₁ hartzaillea G proteinei loturiko hartzailerik ugariena da nerbio-sistema zentrolean. Hala ere, 2. irudian ikus dezakegun bezala, sistema kanabinoideoren ekintza nerbio-sistema zentrolean eta ehun periferikoan deskribatu da [7]. Beraz, litekeena da kanabinoideok fisiologikoki lan egiten duten organo horietan kanabinoideoen bidezko aplikazio terapeutikoak ere agertzea. Guztien artean, kanabinoideok ugalketan duten funtzioa eta izan dezaketan aplikazio terapeutikoa dira interesatzen zaizkigunak.



2. irudia. Barne sistema kanabinoideoaren funtzioa hainbat organotan (Arkaitz Carracedo Doktoreak utzitako irudia)

SISTEMA KANABINOIDEOAREN ZEREGINA UGALKETAN

Kanabinoideoak eta sexua

Kalamua, azken milurtekoetan, helburu espiritualekin edota dibertimendurako erabili izan da medikuntzan. Marihuana eta sexuaren arteko harremanaz, Dioscorides erromatarrek (70 K.o.), idatzi zuen kalamuak sexu-grinaren jaitsiera sortzen zuela eta Galenok baieztatu zuen landarearen gehiegizko erabilerak antzutasuna zekarrela. *Mila gau eta bat gehiago* ipuin bilduman (1450-1500) aldiz, marihuanak neskatxa batengan sortutako sexu-gosea aipatzen da.

Gaur egungo ikerketetako datuek esaten dute kannabisaren kontsumoak, oro har, desira zein funtzio sexuala areagotzen duela emakumeengan. Eta, gizonezkoengan, desira handitu arren, funtzio sexuala oztopatzen omen du, batez ere zakilaren erektzioa zailtzen duelako. Hori bai, kannabisaren efektua hartutako dosiaren arabera gertatzen da, hots, dosi txikiekin efektu positiboak eman arren, dosia handitzean efektuak kontrakoak dira. Efektu horien zergatia azaltzeko hipotesi bat baino gehiago proposatu da. Alde batetik, kanabisaren kontsumoak ukipen-sentsibilitatea areagotzen du, gainera, kanabisa sexu-kontrolerako guneak zuzenean estimulatzeko gai da, eta horretaz guztiaz gain, bere kontsumoak denboraren pertzepzioa motel-tzen duenez, luzeagoak dirudite koitoa bezalako ekintza atsegingarriek [8].

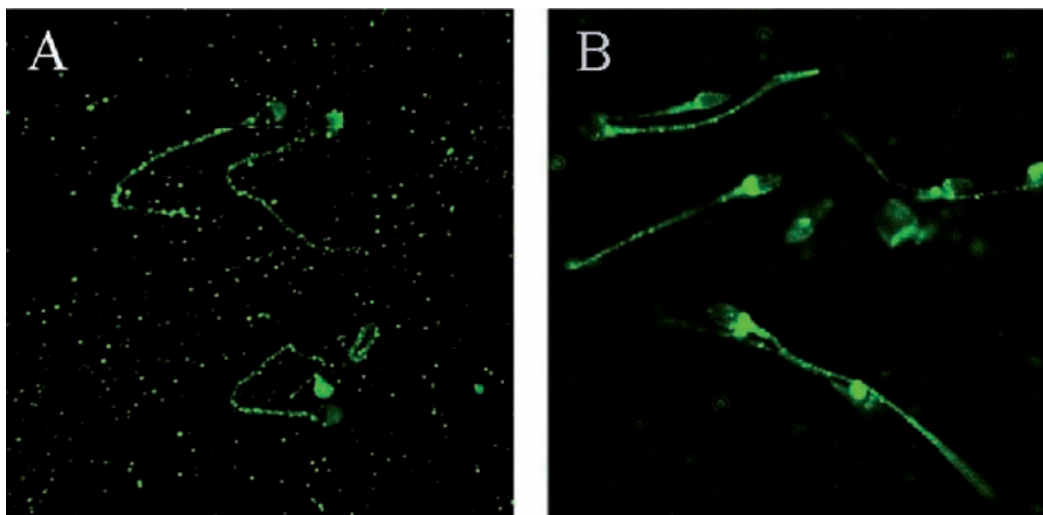
Kanabinoideoak eta ugalketa

Kanabinoideoek, maila desberdinetan arituz, ugal-sistemari eragiten diote. Kanabinoideoek ugal-funtzioa inhibitzen dute: hipotalamoko hormona gonadotropina-askatzailea (GnRH) eta hipofisiko prolaktina eta hormona luteinizatzaileen (LH) mailak jaisten dute eta, ondorioz, Leydig zeluletan sortutako testosterona maila ere jaisten da. Baina, badirudi testosteronaren jaitsiera zuzenean gertatzen dela Leydig zeluletan dauden CB₁ hartzaileen bidez. Horretatik at, substantzia kanabinoideo exogenoen (THC) kontsumoak, ezegonkortasunak sortzen ditu emakumezkoen hilekoan eta haurdunaldian [9], baina gainera, kalteak sortzen ditu hazi-parametroetan eta, bereziki, espermatogenesisian eta espermatozoideen mugikortasunean ere. Beraz, ikertzen hasi ziren ea kanabinoideoek ugalkortasunean nerbio-sistema zentralaren bidez edota ehun periferikoen bidez zeharka eragiteaz gainera ugal-aparatuan zuzenean eragina ere ba ote zuten.

Alde horretatik, badakigu saguen umetokian eta emakumezkoen umetoki-tronpan eta arratoien testikuluetan agertzen dela AEA. Bestalde, giza espermatozoideek zeharkatu behar dituzten likido batzuetan ere deskribatu da AEA: likido seminalean, umetoki-tronpako likidoan eta likido folikularrean [10]. 2-AGari dagokionez, gaur arte, saguen epididimoan [11] eta uteroan [12] deskribatu da. Beraz, aurkitu zuten substantzia kanabinoideoe-

kin topatzen direla espermatozoidea, oozittoa eta enbrioia zeharkatu behar dituzten ehunetan, eta horregatik, gametoetan zein enbrioietan kanabinoideo horiek ezagutzeko makinariaren existentzia ikertzeari ekin zioten.

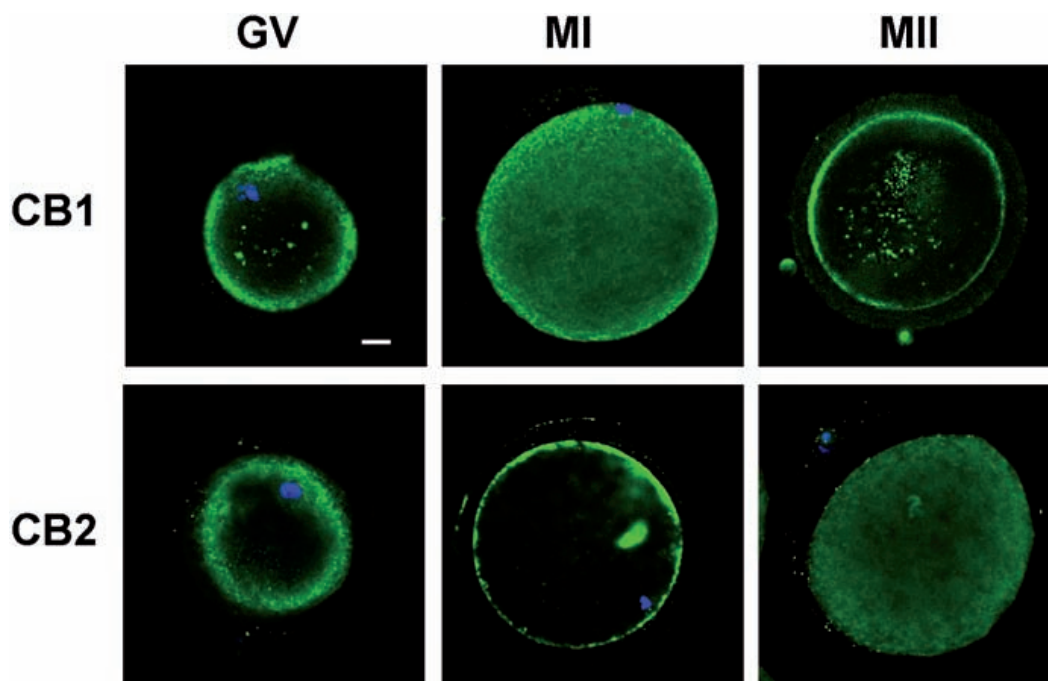
Arren ugaltze-sisteman, CB₁ hartzailea prostata, testikulu eta Lyedig zeluletan deskribatu da, eta CB₂ hartzailea prostata, testikulu eta Sertoli zeluletan. Espermatozoideetan, CB₁ kanabinoideo-hartzailearen lehenengo ebidentziak itsas trikuan deskribatu ziren eta, geroago, giza, txerri-, sagu-, arratoi- eta igel-espermatozoideetan. Datu horiekin guztiekin, pentsatzen zen gerta zitekeela kanabinoideoek zuzeneko efektua eragitea espermatozoideetan. Ikerketek baieztatu dute kanabinoideoek, itsas trikuen espermatozoideen ugaltzeko gaitasuna inhibi dezaketela erreazio akrosomikoaren blokeoaren bidez. Era berean, hainbat kanabinoideorekin egindako esperimentuetan ikusi da espermatozoideen mugikortasuna eta erreazio akrosomikoa inhibitzeko gaitasuna dutela CB₁ hartzailearen aktibazioa dela bide [13]. Gainera, deskribatua dago makinaria biokimiko guztia dutela txerri-espermatozoideek AEA sintetizatu (NAPE-PLD), lotu (CB₁, TRPV1) eta andeatu (FAAH) ahal izateko [14]. Duela gutxi, gure ikerketa-taldeak ikusi du gizakietan CB₂ hartzailea ere adierazten dela (3. irudia) eta gainera, modulatu den hartzailearen arabera (CB₁ edo CB₂) espermatozoideen mugikortasuna era batean edo beste batean motelduko dela [15].



3. irudia. Kannabinoideo-hartzaileen kokapen immunozitokimikoa giza espermatozoideetan. A) CB₁ kannabinoide-hartzailearen kokapena B) CB₂ kannabinoide-hartzailearen kokapena. [15]

Emeen ugaltze-sistemari dagokionez, CB₁ kanabinoideo-hartzailea umetokian eta umetoki-tronpan deskribatu da. Kasu honetan, oozitoei buruz oso ikerketa gutxi daude, baina gure ikerketa-taldearen azkeneko aurkikuntzen

arabera, CB₁ eta CB₂ hartzaileak giza oozitoetan agertzen dira eta oozitoaren heltze prozesuan (meiosian) haien kokalekua aldatzen dute (4. irudia). Hipotesi gisa plazaratu da hartzaileen kokapen-aldaketa hori kanabinoideoen eraginaren ondorio bat izan litekeela [16]; izan ere, El-Talatini eta lankideek [17] ikusi berri dute AEAREN kontzentrazioa igotzen doala folikulogenesiak aurrera egiten duen heinean.



4. irudia. Kanabinoideo-hartzaileen kokapen immunozitokimikoa giza oozitoetako heltze prozesuaren faseetan. **GV**: Besikula germinala; oozittoa meiosiko profase I-ean dagoenean. **MI**: metafase I; oozittoa meiosiko lehenengo metafasean dagoenean. **MII**: metafase II; oozittoa meiosiko bigarren metafasean dagoenean. [16]

Azkenik, espermatozoidea eta oozittoa elkartzean sortzen den enbrioiari dagokionez, badirudi bi motako hartzaileak (CB₁ eta CB₂) eta FAAH adierazten dituztela. Gainera, aipatzekoa da saguen enbrioiari eta umetoki-tronpan, «AEA-tonu» desberdinak ezarriko direla, AEAREN sintesi eta andeakuntzagatik (FAAHgatik), espermatozoideak eta obuluak elkarrekin topo egiten duten gunean (umetoki-tronpan). Horretaz gain, badirudi «AEA-tonu» hori oso garrantzitsua izan daitekeela espermatozoideek ernal-gaitasuna eskuratzeko, enbrioiari umetoki-tronpatik garraiatzeko, enbrioiari garatzeko eta enbrioiari umetokian ezartzeko (berri-kuspenerako [18, 13]). Oraingoan, ez dago ikerketarik 2-AGren funtzioari buruz.

Kanabinoideoak eta haurdunaldia

THC gisako kanpo-kanabinoideoen kontsumoak ezegonkortasunak sortzen ditu emakumezkoen hilekoan eta haurdunaldian. Haurdunaldiari dagokionez, alde batetik, THC-k plazenta zeharkatzen du eta enbrioarentzat kaltegarria da, baina gainera, aurrean aipatu dugun bezala, lehenengo faseetan, enbrioia umetokian ezarri behar denean, barne kanabinoideo kontzentrazio oso zehatza egon behar da enbrioia modu zuzenean ezartzeko. Bestaldetik, duela gutxi ikusi da AEAREN kontzentrazioa igotzen doala haurdunaldiak aurrera egiten duen heinean, eta badirudi, AEA garrantzitsua izan daitekeela haurdunaldiaren mekanismo fisiologikoak ondo funtzionatzeko [19].

ONDORIOAK

Agerikoa da sistema kanabinoideoaren funtzioa nahiko garrantzitsua dela ugaltze-prozesuan eta, oraindik asko ikertzeko badago ere, hainbat ondorio begiztatzen dira. Alde batetik, barne kanabinoideoen kontzentrazioa ikusi dugun bezain ondo erregulatua badago, garbi dago kanpotik kanabinoideo gehiago sartzen badugu (porroak errez adibidez), kanabinoideo-kontzentrazio «naturala» desorekatu egingo dugula eta ugalkortasun-prozesua zein haurdunaldia arrisku pean jar dezakegula. Bestaldetik, badakigu gaur egun gero eta bikote gehiagok behar dutela laguntza haurdun lotzeko, baina badakigu era berean lagunduriko ugalketa-guneetako eraginkortasuna ez dela ehuneko ehunekoa. Beraz, gune horietan erabiltzen diren hazkuntza-inguruneak kanabinoideokin aberastuz gero lortuko diren emaitzak oso garrantzitsuak izango dira. Badu beraz etorkizun erakargarria kanabinoideoen ikasketak ugaltze-prozesuetan; izan ere, antzutasunaren lagun zein etsai bilakaraz dezakegu sistema hori berorren jokamoldea ondo ezagutuz gero.

ERREFERENTZIAK

- [1] GAONI, Y., MECHOULAM, R. (1964). «Isolation Structure + Partial Synthesis of Active Constituent of Hashish». *J Am Chem Soc.* 86(8): 1646-1647
- [2] ELSOHLY, M.A., SLADE, D. (2005). «Chemical constituents of marijuana: The complex mixture of natural cannabinoids». *Life Sciences.* 78(5): 539-548.
- [3] DEVANE, W.A., HANUS, L., BREUER, A., PERTWEE, R.G., STEVENSON, L.A., GRIFFIN, G., GIBSON, D., MANDELBAUM, A., ETINGER, A., MECHOULAM, R. (1992). «Isolation and Structure of a Brain Constituent That Binds to the Cannabinoid Receptor». *Science.* 258(5090): 1946-1949.
- [4] MECHOULAM, R., BENSABAT, S., HANUS, L., LIGUMSKY, M., KAMINSKI, N.E., SCHATZ, A.R., GOPHER, A., ALMOG, S., MARTIN, B.R., COMPTON, D.R., PERT-

- WEE, R.G., GRIFFIN, G., BAYEWITCH, M., BARG, J., VOGEL, Z. (1995). «Identification of an Endogenous 2-Monoglyceride, Present in Canine Gut, That Binds to Cannabinoid Receptors». *Biochem Pharmacol.* 50(1): 83-90.
- [5] MATSUDA, L.A., LOLAIT, S.J., BROWNSTEIN, M.J., YOUNG, A.C., BONNER, T.I. (1990). «Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA». *Nature.* 346(6284): 561-564.
- [6] MUNRO, S., THOMAS, K.L., ABU-SHAAR, M. (1993). «Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids». *Nature.* 365(6441): 61-65.
- [7] PERTWEE, R. (2005). *Cannabinoids, Handbook of Experimental Pharmacology*. Springer argitaletxea, Germany.
- [8] ABEL, E.L. (1986). *Marihuana, tabaco, alcohol y reproducción*. Díaz de Santos argitaletxea, Spain.
- [9] SMITH, C.G., ASCH, R.H. (1987). «Drug-Abuse and Reproduction». *Fertil Steril*, 48(3): 355-373.
- [10] SCHUEL, H., BURKMAN, L.J., LIPPES, J., CRICKARD, K., FORESTER, E., PIOMELLI, D., GIUFFRIDA, A. (2002). «N-Acylethanolamines in human reproductive fluids». *Chem Phys Lipids.* 121(1-2): 211-227.
- [11] COBELLIS, G., RICCI, G., CACCIOLA, G., ORLANDO, P., PETROSINO, S., CASCIO, M.G., BISOGNO, T., DE PETROCELLIS, L., CHIOCCARELLI, T., ALTUCCI, L., FASANO, S., MECCARIELLO, R., PIERANTONI, R., LEDENT, C., DI MARZO, V. (2010). «A gradient of 2-arachidonoylglycerol regulates mouse epididymal sperm cell start-up». *Biol Reprod.* 82(2): 451-8.
- [12] WANG, H., XIE, H., SUN, X., KINGSLEY, P.J., MARNETT, L.J., CRAVATT, B.F., DEY, S.K. (2007). «Differential regulation of endocannabinoid synthesis and degradation in the uterus during embryo implantation». *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* Feb;83(1-2): 62-74.
- [13] WANG, H., DEY, S.K., MACCARRONE, M. (2006). «Jekyll and hyde: two faces of cannabinoid signaling in male and female fertility». *Endocr Rev.* 27(5): 427-448.
- [14] MACCARRONE, M., BARBONI, B., PARADISI, A., BERNABO, N., GASPERI, V., PISTILLI, M.G., FEZZA, F., LUCIDI, P., MATTIOLI, M. (2005). «Characterization of the endocannabinoid system in boar spermatozoa and implications for sperm capacitation and acrosome reaction». *J Cell Sci.* 118(Pt 19): 4393-4404.
- [15] AGIRREGOITIA, E., CARRACEDO, A., SUBIRAN, N., VALDIVIA, A., AGIRREGOITIA, N., PERALTA, L., VELASCO, G., IRAZUSTA, J. (2010). «The CB(2) cannabinoid receptor regulates human sperm cell motility». *Fertil Steril.* 93(5): 1378-87.
- [16] PERALTA, L., AGIRREGOITIA, E., MENDOZA, R., EXPÓSITO, A., CASIS, L., MATORRAS, R., AGIRREGOITIA, N. (2011). «Expression and localization of cannabinoid receptors in human immature oocytes and in unfertilized metaphase II oocytes». *Reprod BioMed Online.* 23: 372-379.
- [17] EL-TALATINI, M.R., TAYLOR, A.H., ELSON, J.C., BROWN, L., DAVIDSON, A.C., KONJE, J.C. (2009). «Localisation and function of the endocannabinoid system in the human ovary». *PLoS One.* 4(2):e4579.

- [18] SCHUEL, H. (2006). «Tuning the oviduct to the anandamide tone». *J Clin Invest.* 116(8): 2087-2090.
- [19] NALLENDRAN, V., LAM, P.M., MARCZYLO, T.H., BANKART, M.J., TAYLOR, A.H., TAYLOR, D.J., KONJE, J.C. (2010). «The plasma levels of the endocannabinoid, anandamide, increase with the induction of labour». *BJOG.* 117(7): 863-9.