

Disturbed testicular expression of the estrogen-metabolizing enzymes CYP1A1 and COMT in infertile men with primary spermatogenic failure: possible negative implications on Sertoli cells

Andrology 2017;5:486-494; DOI: 10.1111/andr.12346

A. PARADA-BUSTAMANTE (1), C. MOLINA (1), C. VALENCIA (1), M. FLÓREZ (1), M.C. LARDONE (1), F. ARGANDOÑA (1), A. PIOTTANTE (2), M. EBENSPERGUER (3), P.A. ORIHUELA (4) AND A. CASTRO (1)

(1) Institute of Maternal and Child Research, School of Medicine, University of Chile, Santiago, (2) Pathology Department, Clínica Las Condes, Santiago, (3) Urology Department, San Borja-Arriár an Clinical Hospital, Santiago, and (4) Laboratory of Reproductive Immunology, University of Santiago and CEDENNA, Santiago, Chile

Correspondence to: Alexis Parada-Bustamante, Institute of Maternal and Child Research, School of Medicine, University of Chile, Santa Rosa 1234, Postal code 8360160, Santiago, Chile. E-mail: aparadab@med.uchile.cl

Estradiol (E2) is normally metabolized to hydroxyestradiols and methoxyestradiols by CYP1A1, CYP1B1 and COMT. However, an altered production of these metabolites by a disturbed expression of these enzymes is associated with reproductive and non-reproductive pathologies. In vitro studies suggest that increased hydroxyestradiols and methoxyestradiols intratesticular generation is related to male infertility, but no studies have explored whether infertile men have a disturbed testicular expression of the enzymes that generate these E2 metabolites. The aim of this study was to assess CYP1A1, CYP1B1 and COMT testicular expression at mRNA and protein level in men with spermatogenic impairment. Seventeen men with primary spermatogenic failure (13 with Sertoli cell only syndrome and four with maturation arrest) and nine controls with normal spermatogenesis were subjected to testicular biopsy. mRNA was quantified using real-time RT-PCR and protein expression was evaluated using western blot and immunohistochemistry followed by integrated optic density analysis. Besides, the effects of hydroxyestradiols and methoxyestradiols on testosterone induced transcriptional activity were evaluated in TM4 cells using a luciferase reporter assay system. Our results show that patients with Sertoli cell only syndrome had significantly elevated COMT expression at the mRNA level, higher COMT immunoreactivity in their seminiferous tubules and increased protein expression of the soluble COMT isoform (S-COMT), whereas patients with maturation arrest had significantly elevated CYP1A1 mRNA levels and higher CYP1A1 immunoreactivity in interstitial space. Finally, 2-hydroxyestradiol decreased testosterone-induced transcriptional activity in Sertoli cells in vitro. In conclusion, male infertility is related to disturbed testicular expression of the enzymes responsible for producing hydroxyestradiols and/or methoxyestradiols. If these changes are related with increased intratesticular hydroxyestradiols and methoxyestradiols concentrations, they could elicit an impaired Sertoli cell function. Our results suggest CYP1A1 and COMT as new potential targets in treating male infertility.

Il disturbo dell'espressione testicolare degli enzimi per il metabolismo degli estrogeni CYP1A1 e COMT negli uomini infertili con insufficienza spermatogenica primaria: le possibili implicazioni negative sulle cellule di Sertoli

L'estradiolo (E2) è normalmente metabolizzato in idrossiestradiolo e metossiestradiolo da CYP1A1, CYP1B1 e COMT. Tuttavia una produzione alterata di questi metaboliti da disturbo dell'espressione di questi enzimi è associata con le patologie riproduttive e non-riproduttive. Gli studi in vitro suggeriscono che l'aumento della generazione intratesticolare di idrossiestradiolo e di metossiestradiolo è correlata all'infertilità maschile, ma nessuno studio ha esplorato se gli uomini infertili avessero una espressione testicolare disturbata degli enzimi che generano i metaboliti dell'E2. Lo scopo di questo studio fu di valutare l'espressione testicolare di CYP1A1, CYP1B1 e COMT a livello del mRNA e della proteina negli uomini con disfunzione spermatogenica. Diciassette uomini con insufficienza spermatogenica primaria (13 con sindrome a sole cellule di Sertoli e quattro con arresto della maturazione) e nove controlli con spermatogenesi normale furono sottoposte a biopsia testicolare. Il mRNA fu quantificato tramite RT-PCR real-time e l'espressione delle proteine fu valutata tramite il western-blot e l'immunoistochimica seguiti da analisi della densità ottica integrata. Inoltre furono valutati gli effetti dell'idrossiestradiolo e del metossiestradiolo sull'attività trascrizionale indotta da testosterone nelle cellule TM4 impiegando il sistema di analisi con il reporter luciferasi. I nostri risultati mostrano che i pazienti con sindrome a sole cellule di Sertoli avevano una espressione di COMT significativamente aumentata a livello del mRNA, una più alta immunoreattività per COMT nei tubuli seminiferi e una espressione della proteina aumentata della isoforma solubile di COMT (s-COMT), mentre i pazienti con arresto della maturazione avevano livelli significativamente aumentati del mRNA di CYP1A1 e una più alta immunoreattività per CYP1A1 nello spazio interstiziale. In fine, il 2-idrossiestradiolo diminuì l'attività trascrizionale indotta da testosterone nelle cellule di Sertoli in vitro. In conclusione, l'infertilità maschile è correlata al disturbi dell'espressione testicolare degli enzimi responsabili della produzione dell'idrossiestradiolo e/o del metossiestradiolo. Se queste modificazioni sono correlate con l'aumento intratesticolare delle concentrazioni di idrossiestradiolo e di metossiestradiolo, queste potrebbero accentuare

una alterata funzione delle cellule di Sertoli. I nostri risultati suggeriscono che il CYP11A1 e il COMT siano nuovi potenziali obbiettivi nel trattamento dell'infertilità maschile.

Il commento - Per quanto diversi studi svolti negli anni abbiano tentato di identificare il ruolo degli estrogeni nella corretta ed equilibrata spermatogenesi, troppo spesso se non sempre tutta l'attenzione è stata prevalentemente posta alla azione del testosterone e del DHT, il suo metabolita attivo, con la conseguenza che tutte le indagini di laboratorio e le successive terapie sono state e sono svolte per la sola correzione del livello del testosterone e/o del DHT. Solo i più attenti andrologi si sono posti la questione delle regolazioni della maturazione degli spermatozoi in sede epididimale da parte dell'estradiolo. Lo studio ora svolto dagli Autori mette in evidenza un aspetto molto importante in quanto coinvolge gli estrogeni (in particolare i due metaboliti attivi dell'estradiolo) nella regolazione della funzione spermatogenica nella sede dei tubuli seminiferi ed evidenzia altresì come il corretto equilibrio tra l'estradiolo ed i suoi metaboliti sia connesso alla azione delle regolazioni svolte dal testosterone in tale sede. Sottolineiamo che la relazione tra testosterone, estradiolo e diidrotestosterone sono fortissime e debbono essere in adeguato equilibrio ai fini della funzione genitale complessiva e della spermatogenesi in particolare. Lo studio inserisce in tale equilibrio il ruolo dei due metaboliti dell'estradiolo che mantengono una significativa attività regolativa, tanto che il loro aumento altera tali equilibri e di conseguenza riduce la produzione di spermatozoi. In sintesi abbiamo a disposizione un nuovo elemento da valutare nei quadri di disfertilità e ciò ridurrà le possibili infertilità o disfertilità idiopatiche, elemento che i laboratori dovranno mettere a disposizione in aggiunta a quanto già disponibile per l'analisi con il dosaggio del testosterone, dell'estradiolo e del DHT spermatico: è fondamentale che i livelli siano determinabili nello sperma in modo inequivocabile ed efficace in quanto sarebbe poco praticabile nella gestione clinica ordinaria in quanto la determinazione a seguito di una biopsia testicolare sarebbe praticabile solo per ragioni severe di disfertilità. Ovviamente un utile studio clinico sarà quello di definire i livelli dei due metaboliti nello sperma, così da disporre dei necessari parametri di riferimento, magari inserendo tutti i parametri in un unico piccolo sistema di analisi.