

# Función Neuroendocrina de la Pubertad: Rol del Kisspeptin

Cynthia Gonzales<sup>1</sup>.

## RESUMEN

La pubertad es un periodo de transición entre la niñez y la vida adulta, y se encuentra determinada a través del patrón de secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH). Existen diversos estímulos que activan o inhiben la secreción de GnRH durante el periodo puberal, y la ausencia de alguno de ellos puede llevar a diversas patologías en las cuales se puede adelantar o retrasar la pubertad. El objetivo de la presente revisión es señalar cómo se activa y desactiva el patrón de secreción de la GnRH y mostrar la función del receptor GPR54 y su ligando, el kisspeptin, en la activación de la GnRH para dar inicio a la pubertad.

**Palabras clave:** Pubertad, GnRH, GPR54, Kisspeptin

## ABSTRACT:

Puberty is a transition period between childhood and adulthood, and is determined throughout the secretion pattern of the gonadotropin releasing hormone (GnRH). There are different stimuli that activate or inhibit the GnRH secretion during the pubertal period, and the absence of one of them can lead to different pathologies in which there is an early onset of puberty or the delay of it. The aim of this review is to show how the secretion pattern of GnRH is activated or deactivated, and to explain the function of the GPR54 receptor and its ligand, the kisspeptin, in the activation of the GnRH to initiate puberty.

**Keywords:** Puberty, GnRH, GPR54, Kisspeptin

La pubertad es conocida como el periodo del desarrollo en donde se da la transición entre la niñez y la edad adulta. Sin embargo, existe una discrepancia entre lo que se refiere al término “pubertad” y al término “adolescencia”. Para los científicos, la pubertad se refiere a la activación del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal para poder llegar a la culminación de la maduración sexual. En cambio, adolescencia es el periodo de maduración del comportamiento de la adultez, social y de conocimientos. Y son estos dos términos juntos los que llevan a la adultez, mediante la producción de gametos y la aparición del comportamiento necesario para poder juntar los gametos femeninos y masculinos.

Durante el periodo de la pubertad es cuando la maduración sexual se completa mediante la

aparición de características sexuales secundarias, y con ello se alcanza la capacidad reproductiva mediante la producción de gametos maduros por las gónadas, que son capaces de fertilizar. Se conoce que el inicio de la pubertad está dado por el incremento de la liberación pulsátil de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), con su consecuente estímulo sobre la hipófisis para que libere la LH o FSH, lo cual es necesario para la maduración reproductiva. Sin embargo, lo que aun no se conoce es qué estímulo es aquél que actúa sobre las neuronas de GnRH para provocar este incremento en el momento en que se va a iniciar la pubertad.

Se conoce que existen diversos factores o estímulos tanto internos como externos que actuando de manera conjunta activan o inhiben

<sup>1</sup> Laboratorio de Reproducción y Endocrinología. Facultad de Ciencias y Filosofía. Universidad Peruana Cayetano Heredia.

el patrón de secreción de GnRH durante la pubertad. Sin embargo, estos factores claves son más consecuencias del inicio de una pubertad temprana o tardía. Para que se pueda dar el inicio de la pubertad es necesario que el reloj interno que llevamos dentro se active y de esa manera indique que es momento que las neuronas de GnRH se activen para actuar sobre la secreción de gonadotropinas. Para que este reloj actúe es necesario que exista un gen clave que se encuentre regulando este proceso del desarrollo.

El gen GPR54 es conocido como el gen de la pubertad ya que codifica un receptor asociado a proteína G, cuya mutación suprime el inicio de la pubertad. Este receptor fue encontrado en 1999 sin conocer aun su ligando. 2 años después, se encontró finalmente un ligando específico para este receptor, un gen al que llamaron KiSS1. El péptido de este gen, el kisspeptin, surgió como un candidato perfecto para la activación de la GnRH, y como modulador secundario de su secreción.

## Pubertad

La pubertad es el momento de transición entre la niñez y adultez, en donde se dan una serie de cambios en la mentalidad y comportamiento (Giedd 2006) para de esa manera poder suprir las demandas para la supervivencia del adulto (Romeo 2002). Es un periodo en donde se da la maduración neurológica y reproductiva a partir de mecanismos tanto dependientes como independientes de la acción de esteroides (Romeo 2003). Es en este momento cuando los circuitos neuronales, que se encontraban en dormancia, son activados para actuar en el SNC y activar el sistema reproductivo.

La función gonadal se encuentra regida por la acción del eje hipotálamo-hipófisis, tanto en hombres como en mujeres (Constanzo 2005). Los cambios tanto hormonales como físicos que se encuentran asociados a la pubertad se utilizan como signos para poder describir la maduración sexual.

Entre los cambios físicos encontrados tenemos la aparición del vello púbico y la aparición del botón mamario, entre los 8 a 10 años de edad. Luego empieza el crecimiento del vello axilar y púbico

por consecuencia del aumento de andrógenos adrenales, fenómeno conocido como adrenarquia. El crecimiento del pecho en mujeres ocurre debido al aumento de los estrógenos ováricos (Dorantes 2004).

En hombres, la pubertad se acompaña de la activación del eje hipotálamo-hipófisis, con la consecuente proliferación de células de Leydig en los testículos y con ello el aumento en la síntesis y secreción de testosterona (Terasawa 2001). El aumento del tamaño testicular ocurre entre los 10 y 14 años de edad, seguido por el crecimiento del vello púbico y del pene. El aumento del tamaño testicular está dado por el aumento del número de túmulos seminíferos, y la diferenciación y crecimiento de las células de Sertoli y Leydig (Dorantes 2004). Los órganos sexuales accesorios tales como la próstata, también aumentan su tamaño (Constanzo 2005).

En mujeres, al igual que en hombres, también existe una activación del eje hipotálamo-hipófisis, en donde predomina la síntesis de estradiol en los ovarios. El principal indicio de la maduración sexual en mujeres es la aparición del botón mamario, con el consecuente crecimiento de senos (Constanzo 2005). La menarquia, o el inicio del primer ciclo menstrual, ocurre entre los 11 y 13 años por consecuencia del aumento de estrógenos (Terasawa 2001). Y debido a que el estrógeno es aquel que permite y acelera el crecimiento de las epífisis, entonces es por eso que es notable el estirón acelerado en niñas antes que en niños.

En los cambios a nivel de comportamiento, se tiene el inicio del comportamiento sexual, conocida como la forma biológica más esencial del comportamiento reproductivo. En animales se conocen diversas fases de las relaciones sexuales, entre las cuales se tiene la percepción, la identificación del género, la motivación y el despertar sexual. Este último es el componente inicial del comportamiento sexual masculino que se da conjuntamente con una activación del eje hipotálamo-hipófiso-testicular (Amstislavskaya 2004).

Como se ha mencionado, para que se den tanto los cambios físicos como los de comportamiento, es necesario que primero

existen cambios hormonales, entre los cuales tenemos principalmente la liberación de GnRH para estimular a la hipófisis a liberar LH y FSH y consecuentemente permitir la síntesis y liberación de andrógenos (Kuohung 2007). Este proceso es conocido como adrenarquia, que es el inicio de la producción de andrógenos adrenales, en especial la dehidroepiandrosterona (DHEA) y dehidroepiandrosterona sulfato (DHEAS) (Campbell 2006), de lo cual se va a hablar más adelante.

## Hormonas en pubertad

### GnRH

La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) es un péptido hipotalámico de 10 aminoácidos (Kauffman 2004) secretado por las neuronas localizadas en el núcleo infundibular del hipotálamo, cuyas terminaciones se proyectan hacia la eminencia media para liberar esta hormona al sistema vascular porta-hipofisiario (Guyton 2006) para poder estimular la secreción de gonadotropinas. Tanto la hormona luteinizante (LH) como la hormona folículo estimulante (FSH) estimulan la función de las gónadas, incluyendo la gametogénesis y la síntesis de las hormonas esteroides (Kuohung 2007).

La GnRH fue aislada del hipotálamo de porcino y ovino, y a lo largo de los últimos años su estructura ha sido secuenciada en distintos vertebrados. Hasta la fecha existen nueve variantes moleculares de GnRH en vertebrados y dos en invertebrados. Su estructura se encuentra conformada por una cadena de diez aminoácidos (Soto 2001).

La secreción pulsátil de GnRH en el hipotálamo se da durante el periodo fetal tardío y en el desarrollo neonatal en humanos (Grumbach 2002). Durante la niñez esta secreción pulsátil se encuentra inactivada hasta el momento de la adolescencia, donde existe una reactivación de la liberación de GnRH, lo que inicia el desarrollo de la pubertad y la maduración reproductiva (Terasawa 2001).

Las células de GnRH representan una clase única dentro de todas las neuronas neuroendocrinas. Estas sirven como la vía final mediante la cual el

cerebro regula la secreción de gonadotropinas de la hipófisis (Han 2005). Es por tanto que para poder iniciar la pubertad, se necesita que las neuronas de GnRH se activen para poder actuar sobre la hipófisis para la liberación de LH y FSH (Plant 2004).

En las hembras, la liberación pulsátil de GnRH es regulada por la retroalimentación positiva y negativa de los esteroides gonadales (Smith 2006). Aunque las neuronas de GnRH expresan receptores de estrógeno ER- $\beta$  (Hrabovszky 2001), estos no expresan receptores de progesterona (Skinner 2001). Por lo tanto, deben existir otras neuronas sensibles a la acción de esteroides que estén mediando este efecto de retroalimentación de los esteroides sexuales sobre la secreción de GnRH.

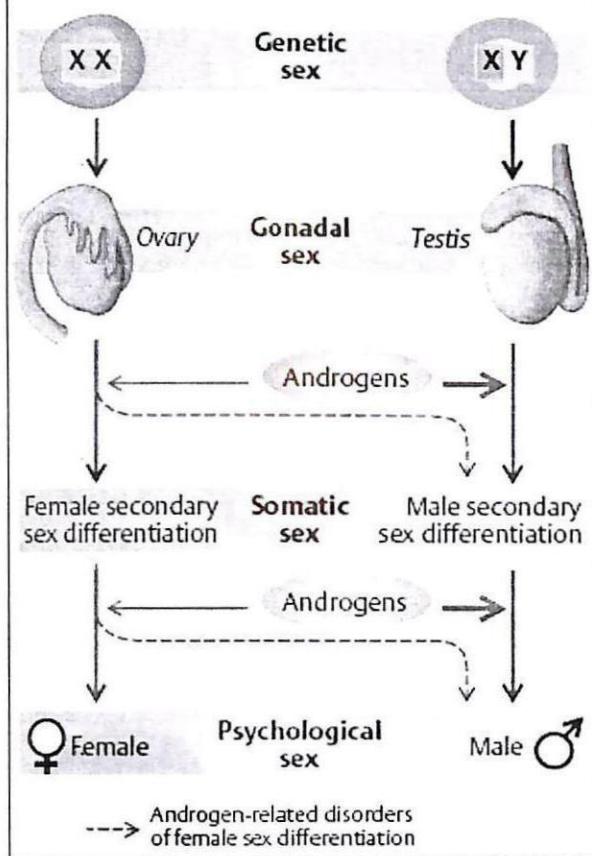
Hasta el momento se desconocía qué factor se encontraba estimulando al hipotálamo para la reactivación de la secreción de GnRH durante la pubertad. Recientes investigaciones están llevando a encontrar el factor clave en este proceso, el cual tiene que ver con la activación del receptor GPR54 por el producto del gen Kiss-1.

## Hormonas Esteroides

Durante el desarrollo prenatal las hormonas esteroides actúan en el sistema nervioso central para el desarrollo y función del cerebro (Karolczak 1998), a través de la organización de los circuitos neuronales para preparar su activación durante y luego de la pubertad (Ostatnikova 2006). Estos circuitos se mantienen inactivos durante toda la niñez hasta que reciben una estimulación hormonal para actuar nuevamente en el SNC para activar los fenómenos fisiológicos y de comportamiento reproductivos presentes en el adulto (Romeo 2003).

La interacción entre las hormonas esteroides y el cerebro adolescentes es un factor clave para la maduración del comportamiento social del adulto, y cualquier anomalía que afecte esta interacción tendrá consecuencias duraderas en el comportamiento del adulto (Schulz 2006). Las respuestas neuroendocrinas y de comportamiento a los esteroides son completamente distintas antes y después de la pubertad, indicando que

### C. Effect of androgens on sexual differentiation



la pubertad es un momento clave para que las hormonas esteroides puedan afectar de manera positiva el desarrollo neuronal (Romeo 2000).

La maduración del sistema reproductivo durante la pubertad se da siempre y cuando los niveles de las hormonas esteroides gonadales se encuentren elevados (Sisk 2005). Los mecanismos dependientes de las hormonas esteroides que regulan la liberación de GnRH se dan a partir de mecanismos de retroalimentación. Los esteroides sexuales juegan un rol esencial en la auto-regulación del eje gonadotrópico, actuando en los niveles hipotalámicos e hipofisiarios a través de los mecanismos de retroalimentación tanto negativa como positiva (Tena-Sempere 2005).

Durante el periodo prepuberal, las neuronas de GnRH son sensibles a la retroalimentación negativa para que de esa manera solo se liberen pocas cantidades de GnRH y así se mantengan las gónadas inmaduras (Sisk 2004). El estrógeno

actúa en el SNC para poder actuar en la retroalimentación negativa y positiva del eje hipotálamo-hipófisis y de esa manera poder controlar el ciclo reproductivo en hembras (Rønneklev 2005). En hombres, la exposición a testosterona o sus metabolitos durante el periodo postnatal sirve para alterar el circuito de generación de picos de GnRH/LH observado en mujeres en respuesta a estradiol (Morris 2004).

Durante la pubertad existen niveles elevados de hormonas esteroides provenientes de las gónadas, consecuencia de la maduración sexual (Sisk 2005) debido a que existe una disminución de la retroalimentación negativa sobre las neuronas de GnRH (Sisk 2004). Estas hormonas esteroides son vitales para el correcto funcionamiento de las gónadas y del comportamiento reproductivo, ya que en ellas estas hormonas participan para estimular la espermatogénesis en hombres y la maduración de los folículos en mujeres.

Los andrógenos juegan un rol importante durante la pubertad para el desarrollo de los órganos reproductivos masculinos, tales como el epidídimo, vesícula seminal, vasos deferentes, próstata y pene. Estos andrógenos además son necesarios para una correcta función sexual y fertilidad, ya que permiten que se dé la espermatogénesis (Dohle 2003).

Durante la ovulación, existe un flujo de GnRH/LH generado a través de la retroalimentación positiva ejercida por la acción de los estrógenos secretados de los folículos ováricos maduros (Kinoshita 2005). El área preóptica es el centro donde ocurre este mecanismo de aumento del flujo GnRH/LH ya que se ha observado que la administración de estrógenos en esa área induce el flujo de LH en hembras (Herbison 2001), además que cuenta con la expresión de receptores de estrógeno ER $\beta$ .

El sistema nervioso central ha sido considerado por bastante tiempo como el receptor de las hormonas esteroides sexuales que son producidas tanto por las gónadas como por la glándula adrenal. Sin embargo, a lo largo de los nuevos descubrimientos, se tiene la idea que el cerebro no solo es receptor de estas hormonas sino que también puede sintetizarlas independientemente,

conocimiento de gran importancia para encontrar la relación entre el comportamiento y los niveles de esteroides sexuales plasmáticos.

Las hormonas esteroides gonadales se encuentran implicados en varios aspectos del desarrollo y función del cerebro. Se sabe que la testosterona se eleva durante la pubertad a niveles moderados para poder mantener el comportamiento y los cambios reproductivos (Archer 2005). De la misma manera se tiene que la testosterona puede actuar de manera importante en el desarrollo del cerebro, en modificar el volumen de ciertas estructuras cerebrales, tener un patrón de secreción de gonadotropinas, y en el comportamiento de la cópula (Alexander 2001).

Sin embargo, muchas de estas funciones no son necesariamente medidas directamente por la testosterona, sino que se da a través de la acción de sus metabolitos. Esto a través de su conversión a estradiol mediante la acción de la enzima aromatasa, o su conversión a dihidrotestosterona mediante la acción de la enzima  $5\alpha$ -reductasa. El metabolismo intracelular hormonal es un evento importante en la diferenciación sexual. Varias células contienen la enzima aromatasa, y varios tejidos contienen la enzima  $5\alpha$  reductasa, cuya función es convertir la testosterona a su metabolito más potente, la dihidrotestosterona (Karolczak 1998) (Figura 1).

La aromatasa es una enzima que juega un rol en la biosíntesis tanto endocrina como paracrina

de estrógenos a partir de andrógenos (Lin 2006). Esta puede catalizar la conversión de androstenediona a estrona y la conversión de testosterona a estradiol (Figura 1). Inicialmente, se creía que la aromatasa se encontraba solo en el ovario, pero luego fue detectado en diversas áreas en mamíferos. El gen de la aromatasa, CYP19, se encuentra en el cerebro, en la próstata, glándula mamaria, hueso, hígado, y tejido adiposo (Federman 2006). También se encuentra localizada en las gónadas, cerebro, piel, y endotelio (Issa 2002). En el cerebro, se ha localizado a la aromatasa en las áreas preópticas, hipotalámicas y límbicas (Karolczak 1998).

En la mayoría de tejidos, la aromatasa tiene solo una función intracelular, convirtiendo andrógenos a estrógenos. Sin embargo, tanto la aromatasa del hígado como del adipocito tienen un rol más grande en la determinación de niveles sistémicos de estrógeno. Se ha observado que la actividad de la aromatasa tiene un comportamiento dimórfico, ya que durante el desarrollo del SNC, los niveles son mucho mayores en roedores machos que en hembras (Karolczak 1998). Existen en la actualidad una diversa lista de condiciones asociadas con el exceso de la actividad de la aromatasa, entre las cuales se tiene a la obesidad, el síndrome de Klinefelter, envejecimiento, hipertiroidismo, enfermedad al hígado, endometriosis, tumores a las células de Sertoli, etc. De la misma manera se tiene que la deficiencia de esta enzima puede llegar a causar que las niñas tengan ambigüedad genital y no presenten desarrollo puberal (Lin 2006).

La dehidroepiandrosterona y su sulfato DHEAS son andrógenos secretados de la corteza adrenal humana, y son las hormonas sexuales esteroides más abundantes en mujeres (Panjari 2007). Esta hormona es considerada como un andrógeno débil, sin embargo, eso no le quita importancia ya que es el precursor de varios potentes andrógenos o estrógenos (Labrie 2000), los cuales son metabolizados en tejidos periféricos no reproductivos. Sin embargo, también se ha encontrado que el metabolismo de estos esteroides sexuales también puede darse en el cerebro de roedores y humanos (Jellinck 2001). La falta del receptor específico para DHEAS

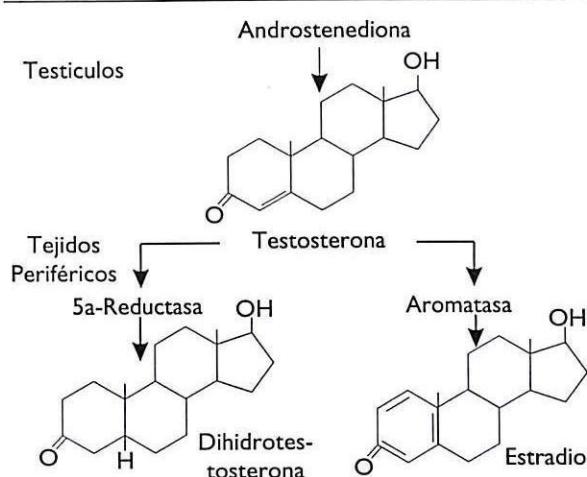


Figura 1. Hormonas esteroides y sus metabolitos en distintos órganos.

ha llevado a dificultar la identificación de la función exacta de esta hormona, lo que trunca la posibilidad de entender el proceso por el cual se da la adrenarquia (Labrie 1998). Sin embargo, se cree que la principal función de la DHEAS es a nivel neurológico ya que en roedores se ha encontrado a la DHEAS como un neuroesteroide, producido y usado en pequeñas cantidades por neuronas en el cerebro (Baulieu 1998), mientras que en humanos tiene efectos neurológicos y de estado de ánimo (Hunt 2000, Suzuki 2004).

Los metabolitos de andrógenos sintetizados por la aromatasa y 5 $\alpha$ -reductasa neuronal, se encuentran implicados en varios aspectos del desarrollo cerebral en mamíferos (Sisk 2005), especialmente en la masculinización de estructuras y funciones del sistema nervioso central y del cerebro (Karolczak 1998). Por ende, la pubertad no es solo el periodo crítico mediante el cual el incremento de las hormonas esteroides activan los circuitos neuronales organizados durante el periodo prenatal, sino que también es el momento en el cual existe la organización del SNC para que exista un comportamiento apropiado que lleve a la adultez (Romeo 2003).

### Inicio de la pubertad

El inicio de la pubertad se encuentra basado en una serie de eventos neurosecretores influenciados por distintos factores geográficos, sociales, nutricionales, genéticos, y del estado de salud, lo que hará que ciertas personas inicien su pubertad antes o después que otras (Dorantes 2004). Se tiene que el inicio de la pubertad sigue un patrón familiar, por lo que parece estar controlado por el factor genético, sin embargo, no se descarta que el factor ambiental se encuentre influenciando y controlando a los factores genéticos. Estos factores ambientales suelen ser el status nutricional, enfermedades crónicas, migraciones a ambientes más saludables, enfermedades infecciosas frecuentes, polución y la exposición a plaguicidas (Delemarre-van de Waal 2005).

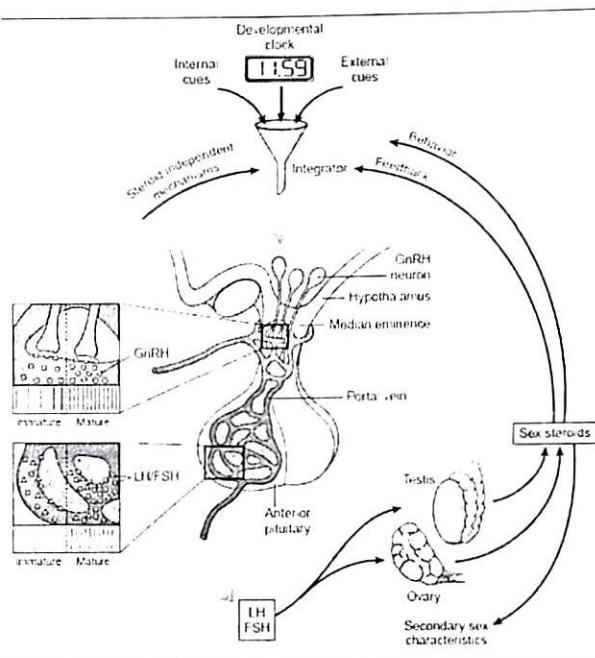
Estudios en Estados Unidos muestran que existe una disminución en la edad del inicio de la pubertad desde hace 40 años, siendo las

niñas negras las que maduran de medio a un año antes que las niñas blancas (Kaplowitz 2006). En Dinamarca, la edad de la menarquia ha caído rápidamente desde el siglo XIX. Estos cambios han permitido un aumento en la talla adulta en varios países Europeos. Estos cambios se encuentran influenciados por factores socioeconómicos, geográficos y étnicos, y por cambios nutricionales (Ong 2006). La edad de la menarquia en niñas ha ido disminuyendo al mismo tiempo que su salud ha ido mejorando. Actualmente existe evidencia que relaciona un retraso en la pubertad asociado con una mala nutrición en niños (Gluckman 2006).

Si bien se conoce que un indicio que una persona ha entrado en la pubertad es el incremento en la secreción pulsátil de GnRH/LH, paso necesario para que el cuerpo altere su status reproductivo durante el desarrollo (Greives 2006), lo que se sigue tratando de descubrir es cuál es el estímulo que está llevando a que se inicie este patrón de secreción. Hasta la fecha se han tenido diversos candidatos entre los cuales se tiene a la melatonina, la grasa corporal, la leptina y recientemente un nuevo gen asociado a la pubertad (Sisk 2004). Aún así, estas señales varían entre especies y sexos y se encuentran relacionados con el balance energético (Figura 2).

Para que se inicie la pubertad el individuo debe estar al tanto de: que ha crecido lo suficiente, cuál es su relación con otros individuos y, si las condiciones son óptimas para comenzar un proceso reproductivo. Esto lo logran a través de señales tanto internas como externas, como son las señales metabólicas, sociales y ambientales (Ebling 2005).

La nutrición es un importante regulador del tiempo de crecimiento, y la obesidad se encuentra asociada con la talla de niños y el desarrollo puberal temprano. Se observa que la ganancia de peso en la infancia se encuentra asociada con un mayor riesgo de tener obesidad a los 5 y 8 años, con probabilidad de tener resistencia a la insulina, una adrenarquia exagerada con niveles reducidos de globulina ligadora a hormonas sexuales (SHBG). Las consecuencias de la disminución de SHBG (aumento de IGF-1, niveles de andrógenos adrenales y aumento de



**Figura 2.** Neuronas de GnRH proyectadas hacia la eminencia media para permitir la secreción de gonadotropinas de la hipófisis y la secreción de hormonas esteroideas de las gónadas. Los esteroideos sexuales le permiten desarrollar características sexuales secundarias, regular las neuronas de GnRH vía retroalimentación y facilitar el comportamiento social. El aumento en la actividad neuronal de GnRH en la pubertad se da por un reloj interno que mide el desarrollo y la integración neuronal a través de señales internas y externas. Imagen tomada de Sisk, 2004)

aromatasa) llevan a promover la liberación del pulso de GnRH (Dunger 2006).

Una deficiencia de nutrientes va a llevar a que se desarrolle un mal funcionamiento del sistema reproductor y con ello se retrase el periodo de inicio de la pubertad. Esto se observa a partir de estudios en donde la deficiencia de nutrientes lleva a una disminución de la secreción pulsátil de GnRH/LH (Wójcik-Gladysz 2006). Otro caso se da durante el embarazo, en donde la disponibilidad de energía metabólica, insulina, glucosa y leptina, sirven como señales importantes para lograr el crecimiento somático suficiente para poder mantener el embarazo (Mann 2002). Existen sensores en el hipotálamo que monitorean estas señales y permiten que se de un aumento en la liberación de GnRH cuando estas señales alcanzan los niveles necesarios (Schneider 2004).

Existen datos en la relación entre la obesidad femenina y el hiperandrogenismo en la pubertad temprana, el cual es un periodo crítico cuando

se da la función reproductiva regida a través de las interacciones del eje hipotálamo-hipofisario. Estos estudios muestran que la obesidad peripuberal se encuentra asociada con hiperandrogenemia e hiperinsulinemia a través de la pubertad, especialmente marcada en el momento de inicio de la pubertad (McCartney 2006).

En un estudio en 17 mil adolescentes en un centro de salud familiar, se encontró que en niñas existía un desarrollo temprano de senos, crecimiento de vello púbico y menarquia. Estos marcadores de la pubertad temprana se encontraban directamente relacionados con una prevalencia de sobrepeso en estas niñas (Herman-Giddens 1997). Varios estudios comprueban esta asociación entre la obesidad y la maduración sexual temprana en niñas (Adair 2001, Wang 2002).

Esta hipótesis de la relación del peso corporal y la maduración sexual ha sido estudiada para observar si realmente existe esta interacción entre el metabolismo energético y el sistema de secreción de GnRH. Por ejemplo, en casos donde existe una malnutrición o una actividad física aumentada, se ha observado que los ciclos ovulatorios y el comportamiento reproductivo en hembras se encuentran suprimidos (Urbanski 2001). Sin embargo, si bien la disponibilidad de calorías es un elemento clave para determinar la función reproductiva (Schneider 2000), este almacenamiento de grasas es más una parte paralela al inicio de la pubertad pero no necesariamente el factor causal.

Estos factores tanto externos como internos son importantes para conocer cómo es que esta información llega a ser traducida al cerebro y permite que la pubertad se de antes o después en ciertas personas. Uno de los candidatos para el momento del inicio de la pubertad es la leptina, la cual puede servir como unión entre el status nutricional y el eje reproductivo, y de esta manera actuar en el momento de inicio de la pubertad (Zeinoaldini 2006). Esto surge a partir de estudios en donde mutaciones del gen de la leptina o de su receptor, muestra un patrón de un mal funcionamiento de la pubertad, efecto revertido por administración de leptina en ratones ob/ob, en el cual se aumenta la secreción

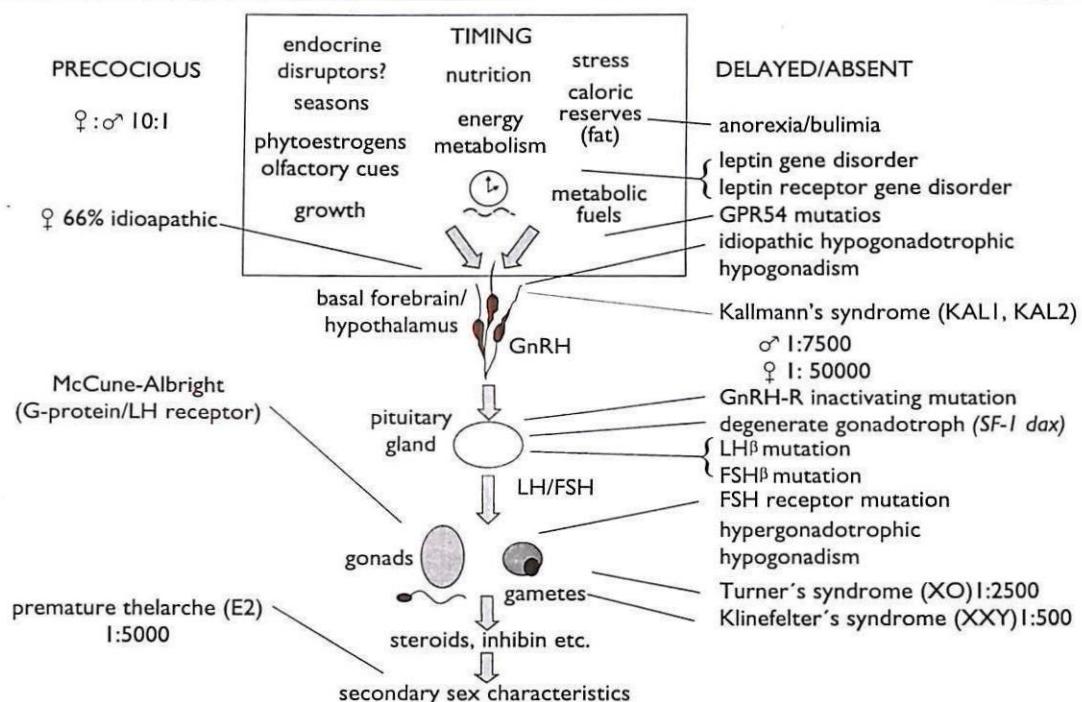


Figura 3. Señales internas y externas en el inicio de la pubertad. Algunos desórdenes del inicio de la pubertad reflejan disfunción en distintos niveles del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal. Imagen tomada de Ebling 2005)

de gonadotropinas (Farooqi 1999). Sin embargo, estudios en ratones *wild type* no tienen estos mismos resultados, aunque si puede revertir el efecto en el retraso de la pubertad inducido por un déficit de nutrientes (Gibb 2004). Esto indicaría que la leptina no es el factor que genera el inicio de la pubertad, sino que es un mecanismo de señalización que permite conocer si el cuerpo está preparado o no para el inicio de la pubertad.

Entonces, sigue la interrogante de cuál es el factor principal que permite que se inicie la pubertad. Como ya se ha observado anteriormente, el momento clave del inicio de la pubertad es determinado mediante un aumento de la secreción de GnRH (Plant 2004). Esta secuencia se mantiene inactiva desde el periodo post-natal hasta el momento de la pubertad en que se activa para permitir la secreción de gonadotropinas (Sisk 2004). Entonces, ¿qué factor es aquel que está permitiendo que se activen las neuronas de GnRH en la pubertad?

Estudios neuroendocrinológicos en mamíferos utilizando fármacos activadores o inhibidores junto con técnicas de neuroanatomía y electrofisiología han

permitido observar diversos neurotransmisores que estimulan la secreción de GnRH (Terasawa 2001). De igual forma se han identificado varios neuropéptidos y hormonas peptídicas y esteroides sistémicos envueltas en la liberación de GnRH. Estudios de PCR-TR en neuronas de GnRH han permitido encontrar varios receptores para GABA y glutamato (Herbison 2001). Estudios de inmunocitoquímica permitieron encontrar gran cantidad de receptores en las neuronas de GnRH, un ejemplo son los receptores para péptidos involucrados en la regulación del balance energético, como NPY, VIP, CART y orexina (Li 1999, Smith 2000, Leslie 2001, Iqbal 2001).

Recientes investigaciones han encontrado un receptor expresado en las neuronas de GnRH, el receptor GPR54 (Messager 2005), cuya función es importante ya que mutaciones de éste bloquea la maduración puberal en roedores y humanos (Seminara 2003). Este efecto observado permite pensar en una interacción directa del péptido kisspeptin y su receptor GPR54 en la regulación del sistema secretor de GnRH en el momento de la pubertad.

## GPR54 y KiSS1

En 1999, un grupo de investigadores de Pensilvania, descubrieron un receptor asociado a proteína G, GPR54, familia de los receptores de rodopsina, en el hipotálamo de rata y en el de humano. Este receptor mostraba un 30-40 % de homología con la secuencia de la familia de receptores de galanina y somatostatina, sin embargo este no se unía con afinidad al GPR54 (Lee 1999). No fue sino hasta el 2001 cuando encontraron un ligando natural de 54 aminoácidos producto del gen Kiss1 (Kotani 2001, Muir 2001), aislado por primera vez de la placenta humana e identificado como un ligando natural del receptor GPR54, el cual fue llamado kisspeptin (Ohtaki 2001).

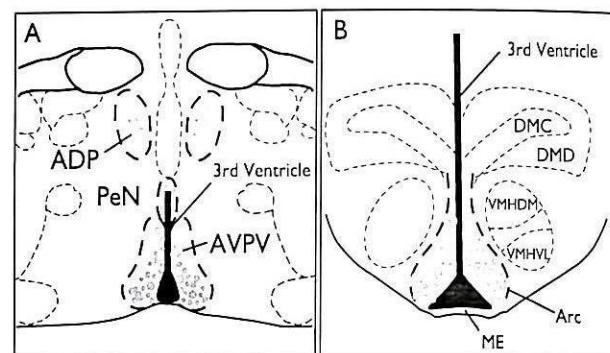
El gen KiSS-1 se encuentra ampliamente expresado en la placenta (Horikoshi 2003), y su expresión y sus niveles de mRNA también se encuentran elevados en los ovarios, testículos, páncreas, hígado, intestino delgado, y en el hipotálamo en el cerebro (Hinuma 2000, Ohtaki 2001). La expresión del gen y de su receptor en el hipotálamo tienen concordancia con su función en la regulación del eje reproductivo.

El gen KiSS-1 codifica una proteína de 145 aminoácidos que se separa enzimáticamente en péptidos más cortos, los cuales se encuentran biológicamente activos (Greives 2006). Uno de esos péptidos, el kisspeptin-54, corresponde a los residuos 68-121 del producto del gen KiSS-1 y fue identificado inicialmente como metastin por su habilidad en suprimir la metástasis de tumores (Kotani 2001). Fragmentos más cortos, como kisspeptin-14, kisspeptin-13 y kisspeptin-10 también se unen con afinidad al receptor GPR54 (Stafford 2002). Este último péptido, es un decapéptido que corresponde a los aminoácidos 112-121 del péptido precursor, y aun mantienen actividad biológica (Kuohung 2007).

## Localización

Se ha observado que el receptor GPR54 se encuentra ampliamente expresado en el cerebro, particularmente en el hipotálamo, médula, hipocampo y amígdala, así como en la hipófisis, placenta, páncreas y médula espinal (Clements 2001, Muir 2001, Ohtaki 2001). También se

las ha ubicado en el corazón, músculo, hígado, riñones, intestino, timo, pulmones y testículos. Las neuronas de KiSS-1 se localizan en varias regiones del cerebro en roedores, primates y ovejas (Shahab 2005). En estas últimas se han encontrado estas neuronas en el núcleo arcuato con una menor población en el área preóptica (Franceschini 2006, Pompolo 2006).



**Figura 4.** Localización de mRNA de Kiss-1 en el hipotálamo de rata. El panel A muestra la localización de mRNA (puntos rojos) en el núcleo periventricular anteroventral (AVPV), en el núcleo periventral (PeN), localizados cerca del tercer ventrículo, y en el área preóptica anterodorsal (ADP). En el panel B se observa la localización de mRNA de kiss-1 en el núcleo arcuato (ARC) cerca de la eminencia media (ME). Imagen tomada de Smith, 2006.

En roedores, los cuerpos celulares del kisspeptin se encuentran en el núcleo periventricular anteroventral (AVPV) y en núcleo arcuato del hipotálamo (ARC), y algunas células en los núcleos periventricular y preóptico anterodorsal (Gottsch 2004, Smith 2005, Smith 2006), cuyas proyecciones y fibras llegan al área preóptica medial (Brailoiu 2005) (Figura 4), en donde existe una gran concentración de cuerpos celulares de GnRH, en donde estas proyecciones neuronales parecen tener conexión (Kinoshita 2005).

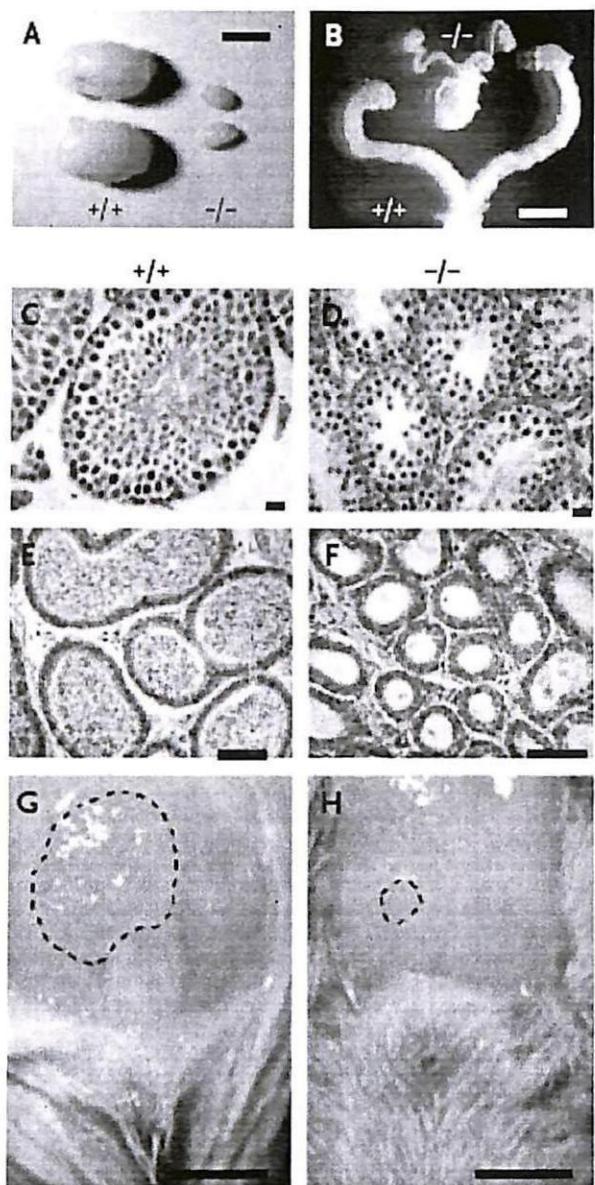
El gen Kiss-1 se encuentra también ampliamente expresado en la placenta (Horikoshi 2003), y sus niveles de mRNA se encuentran en ovario, testículos, páncreas, hígado, intestino delgado (Muir 2001), y a través del cerebro como ya se ha mencionado. Sin embargo, la localización de GPR54 y KiSS-1 en el hipotálamo es más importante, ya que de esa manera es como puede regular el eje reproductivo.

## Efectos sobre la reproducción

La premisa de que la señalización kisspeptin-GPR54 sea necesario para la maduración sexual tanto en roedores como en humanos surge a partir de investigaciones en donde mutaciones del GPR54 se encontraban asociados con fallas en el desarrollo a través de la pubertad, inmadurez sexual, infertilidad y presencia de hipogonadismo hipogonadotrópico (de Roux 2003, Seminara 2003).

Como se ha observado previamente, para que se dé un desarrollo puberal normal se necesita del factor genético. Existen casos en donde se observa un retraso en la madurez sexual debido a una falta de respuesta hipofisiaria debido a mutaciones en el gen del receptor de GnRH que evitan que las neuronas de GnRH migren. Sin embargo, en el caso del hipogonadismo hipogonadotrópico aislado, el defecto a nivel hipotalámico se da más por un defecto funcional en vez de estructural. Y esto se observa a través de mutaciones de genes que incluyen el GPR54 (Roth 2005). Se estudiaron casos de familias consanguíneas, en donde sus hijos mostraban hipogonadismo hipogonadotrópico aislado, con una pérdida de desarrollo puberal, bajos niveles de esteroides y de gonadotropinas. Los análisis en estos pacientes mostraron que estos tenían mutaciones con pérdida de la función del receptor GPR54, característica que no ocurría en aquellos familiares sin hipogonadismo y en personas controles (de Roux 2003).

En la imagen de la derecha se puede observar los resultados encontrados por Seminara y colaboradores en el 2003 sobre la función reproductiva en ratas. Se utilizaron animales wildtype para el receptor GPR54 (+/+) y animales knockout para este receptor (-/-). En el panel A y B se puede observar claramente como una delección de este gen puede provocar una disminución en el tamaño de las gónadas (A = testículos; B = ovarios y útero). En el panel C y D se observa el número de espermatozoides en el túbulo seminífero tanto en animales wildtype como en animales knockout respectivamente. Claramente se observa como en ratones con delección de este gen disminuye el número de espermatozoides, efecto que también se



observa en el panel F comparado al panel E en el epidídimo de ratas. Y finalmente, se observa una disminución de la glándula prepucial en el panel H comparado a los animales wildtype en el panel G (Seminara 2003).

La administración central de kisspeptin produce un efecto inductor en la liberación de GnRH y consecuentemente la secreción de LH y FSH de la hipófisis (Gottsch 2004, Irwig 2004). Para poder comprobar este efecto, en otros experimentos en roedores y monos, se utilizó un antagonista de la GnRH, el cual bloqueó el efecto del kisspeptin en la liberación de LH y FSH (Matsui 2004). De esta manera se puede

comprobar que la liberación de gonadotropinas estimulada por el kisspeptin, es dependiente de la actividad directa en las neuronas de GnRH en el hipotálamo, y no sobre la hipófisis. Shahab y colaboradores confirman esto en el 2005, al utilizar otro antagonista de la GnRH, y observar que nuevamente se bloqueaba el efecto de la liberación de LH y FSH inducida por el kisspeptin (Shahab 2005). Además, el tratamiento *in vitro* de tejidos o células de la hipófisis por kisspeptin falla en estimular la secreción de gonadotropinas (Thompson 2004). Esto nos vuelve a indicar que la acción del kisspeptin es solo a través de la hipófisis para actuar sobre la GnRH y no sobre la hipófisis para estimular directamente la secreción de gonadotropinas.

### Estimulación de Secreción de GnRH

Como ya se ha observado, el sistema neurosecretor de la GnRH se encuentra activo durante el periodo fetal y neonatal, sin embargo entra en un estado inactivo durante la niñez mediante un proceso de inhibición central. Para que se de el paso hacia la pubertad es necesario que exista un aumento en la sensibilidad de las gonadotropinas por la GnRH, la cual debe activarse nuevamente (Teinturier 2002). Para que exista este aumento de la acción de la GnRH en el momento de la pubertad es necesario de la activación de neuropéptidos, neurotransmisores y neuroesteroideos (Genazzani 2000).

Se ha observado que la administración tanto periférica como central de kisspeptin puede aumentar los niveles plasmáticos de LH, FSH, y testosterona en hombres adultos (Dhillo 2005), efecto observado previamente en roedores y primates (Thompson 2004), teniendo un efecto mucho más potente en la liberación de LH que sobre la de FSH (Matsui 2004). Estos descubrimientos demuestran que el sistema de activación de receptor de GPR54 por kisspeptin actúa en el hombre para poder estimular el inicio de la pubertad.

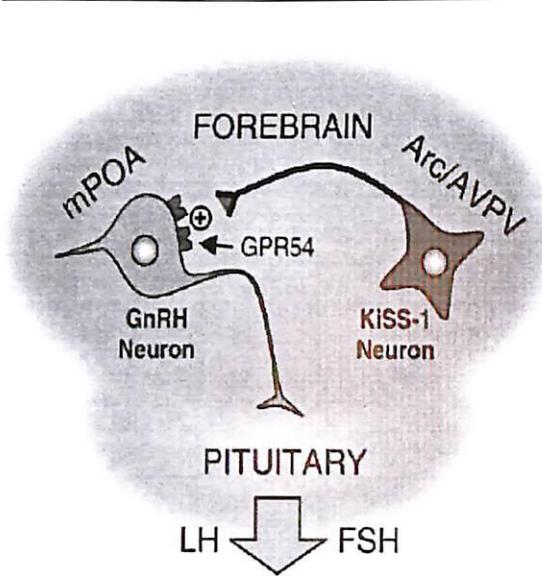
Las neuronas de GnRH se encuentran localizadas en el área preóptica media (mPOA) con proyecciones axonales hacia la eminencia media, para que pueda ser liberada hacia la circulación

hipofisial (Messager 2005). Dado que las neuronas de kisspeptin presentan proyecciones hacia el área preóptica media (Brailoiu 2005) es posible pensar que los efectos estimuladores del kisspeptin en el eje reproductivo se encuentran mediados a través del sistema de liberación de GnRH en el hipotálamo. Esto se confirma a partir de estudios en los cuales el efecto central y periférico en la secreción de gonadotropinas se encuentra inhibida por antagonistas de GnRH (Matsui 2004).

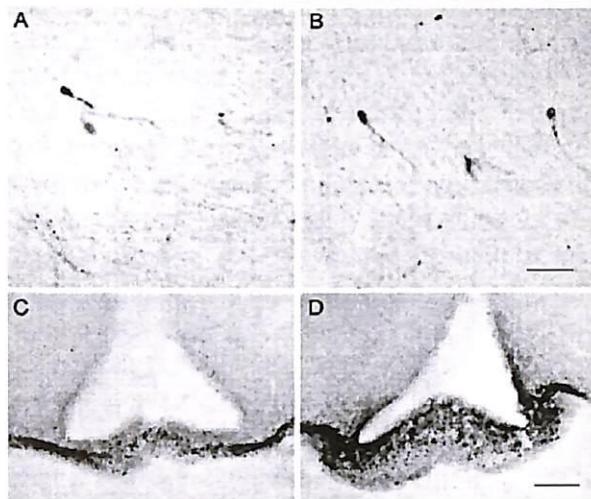
Estudios con inmunoreactividad demuestran que la administración de kisspeptin ya sea central como periférica, induce inmunoreactividad en las neuronas de GnRH en el hipotálamo de rata (Irwig 2004). El kisspeptin permite que exista una mayor despolarización de la membrana de las neuronas de GnRH, siendo mayor en hombres comparado a las mujeres. Se ha observado que el porcentaje de neuronas de GnRH que responden a kisspeptin aumenta un 25% en juveniles a 50% en ratones prepuberales, y más del 90% en adultos (Han 2005).

Debido a que las proyecciones y fibras neuronales de kisspeptin se encuentran en contacto con los cuerpos celulares de GnRH, es posible que estas neuronas también presenten receptores GPR54. En el 2004, un grupo de investigadores encontró tanto en peces como en ratas, ratones y monos, que aproximadamente el 60% de las neuronas de GnRH expresaban el receptor GPR54 (Parhar 2004, Irwig 2004, Messager 2005, Shibata 2005). Además, las neuronas que expresan kisspeptin se encuentran inervando directamente a las neuronas de GnRH (Han 2005). Esto confirmaría que kisspeptin está actuando de manera directa sobre las neuronas de GnRH a través de su receptor GPR54 para estimular la liberación de gonadotropinas (Figura 5).

Estudios *in vivo* demuestran que kisspeptin estimula la liberación de LH en diferentes vías de administración, distintas dosis, y en distintos periodos de desarrollo, ya sea prepuberal, durante la pubertad, o en la adultez (Navarro 2004, Shahab 2005). Inyecciones intracerebroventriculares (i.c.v.) de kisspeptin demuestra que esta hormona puede potenciar la liberación de LH (Gottsch



**Figura 5.** Interacción entre las neuronas de kisspeptin y las de GnRH. En este modelo las neuronas de kisspeptin en el ARC y AVPV actúan directamente sobre las neuronas de GnRH en el POA a través de su receptor GPR54. Imagen tomada de Smith, 2006.



**Figura 6.** Morfología y localización de neuronas de GnRH. El panel de la izquierda muestra la anatomía y localización de las neuronas de GnRH (en marrón) en ratones GPR54 -/- comparado al panel de la derecha que son los ratones wildtype. El cuadro A y B son cuerpos celulares en el área preóptica media, mientras que el cuadro C y D muestran las terminaciones nerviosas en la eminencia media. Imagen tomada de Messager, 2005.

2004) y aumentar sus niveles plasmáticos a los 10 minutos de la inyección, y mantener esos niveles elevados hasta cuatro horas después (Thompson 2004). Estos efectos también se observaron en los niveles de FSH aunque el aumento de FSH fue más pausado, es decir, tomó más tiempo en elevar sus valores (Irwig 2004, Matsui 2004, Thompson 2004). Además, la administración intraperitoneal de kisspeptin a ratones macho con delecciones del gen del receptor GPR54 no pueden aumentar los niveles plasmáticos de LH y FSH. Esto demuestra nuevamente que los efectos de kisspeptin en las gonadotropinas se encuentran mediados por la acción de su receptor GPR54 (Messager 2005).

Si bien las neuronas de kisspeptin ejercen un efecto estimulador de las neuronas de GnRH a través de su receptor GPR54, éste receptor no es necesariamente el determinante de la migración de las neuronas de GnRH o de su maduración. Esto se vio confirmado en estudios de ratones GPR54 -/- en donde el contenido de GnRH se encontraba normal tanto en ratones wildtype como en los ratones mutantes tal como se observa en la Figura 6 (Messager 2005).

### Regulación Hormonal

Como ya se ha observado anteriormente, el flujo de GnRH/LH en hembras está dado por el mecanismo de retroalimentación positiva ejercida por la acción de los estrógenos liberados de los folículos ováricos maduros para poder estimular la ovulación. Sin embargo, este efecto no se observa en machos aun con administración de altos niveles de estrógeno (Adachi 2007). Si bien los estrógenos ejercen una acción sobre la liberación de GnRH, estas neuronas no presentan receptores ER $\alpha$  (Herbison 2001), por lo que debe existir otro mecanismo que presente estos receptores de estrógeno para mediar la señal de estrógeno sobre las neuronas de GnRH.

Existen varios candidatos para el mecanismo de retroalimentación positiva ejercida por los estrógenos, tales como el área preóptica, el hipotálamo mediobasal y el núcleo arcuato (Herbison 2001, Ohtaki 2001, Kotani 2001). Actualmente se sabe que el gen KiSS-1 se encuentra ampliamente expresado en las neuronas del núcleo arcuato (ARC) y núcleo anteroventral periventricular (AVPV), cuyas proyecciones

llegan hacia el área preóptica, en donde residen los cuerpos celulares de GnRH (Simonian 1999, Simerly 2002). Por lo tanto, estas poblaciones neuronales ubicadas en estos dos núcleos son los blancos de acción del mecanismo tanto de retroalimentación positiva como negativa, ejercida por la acción de los esteroides gonadales (Smith 2005a).

Por lo tanto se tiene que la expresión hipotalámica de KiSS-I en el cerebro se va a encontrar regulada hormonalmente y a través del desarrollo, principalmente durante la pubertad, por los esteroides sexuales (Tena-Sempere 2005), y la naturaleza de esta regulación va a estar dada según el núcleo donde se encuentre (Smith 2005b). Y esta regulación es un punto clave y necesario para mediar el sistema KiSS-I/GPR54 durante el inicio de la pubertad y para controlar la retroalimentación del eje gonadotrópico.

Inicialmente se había observado que el contenido de mRNA de KiSS-I hipotalámico aumentaba luego de la gonadectomía y disminuía luego del reemplazo con esteroides sexuales (Navarro 2004). Sin embargo, estudios posteriores han dejado en claro que este mecanismo de regulación va a depender del núcleo hipotalámico en donde se encuentren las neuronas de kisspeptin. En el ARC, la gonadectomía eleva los niveles de mRNA de Kiss-I, efecto revertido mediante el tratamiento con esteroides sexuales. Sin embargo, en el AVPV y núcleo periventricular (PeN) sucede lo opuesto, en donde la gonadectomía va a disminuir los niveles de mRNA de KiSS-I, mientras que el reemplazo con esteroides sexuales va a revertir este efecto, aumentando los niveles de mRNA de KiSS-I (Smith 2005b). Por lo tanto, los esteroides sexuales van a inhibir a las neuronas del Kisspeptin en el ARC mientras que en el AVPV van a estimularlas.

Las neuronas en el ARC ejercen una estimulación tónica en las neuronas de GnRH, por lo que el hecho que las neuronas de kisspeptin ejerzan un efecto de retroalimentación negativa en la secreción de GnRH parece obvio. De esa manera pueden activar las neuronas de GnRH cuando los niveles de esteroides sexuales disminuyan, e inhibir a las neuronas de GnRH cuando los esteroides sexuales aumenten.

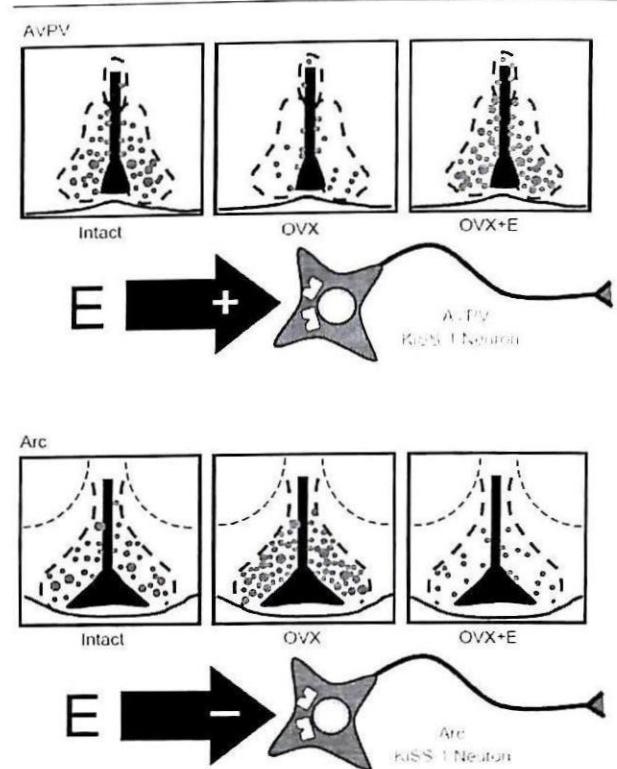


Figura 7. Regulación de los niveles de mRNA de KiSS-I. Los puntos rojos muestran la expresión de mRNA de Kisspeptin. Imagen tomada de Smith, 2006.

El AVPV es un núcleo sexualmente dimórfico, siendo más grande en hembras que en machos (Simerly 1998), y con un mayor número de neuronas de kisspeptin localizadas en mayor densidad en ese núcleo en hembras comparado a los machos (Adachi 2007). Esta región se encuentra involucrada en la activación de las neuronas de GnRH para activar el flujo de GnRH/LH preovulatorio en hembras (Simerly 2002). Se ha observado que del AVPV se liberan grandes cantidades de kisspeptin que llegan a residir en las neuronas de GnRH durante el desarrollo post-natal, lo cual podría llevar al mecanismo de activación durante la pubertad (Han 2005). Por lo tanto se tiene que los estrógenos van a estimular los niveles de mRNA de KiSS-I en el AVPV y en el PeN, efectos que son mediados por ER $\alpha$  (Smith 2005b).

Para que los esteroides sexuales puedan ejercer efecto sobre los mecanismos de retroalimentación sobre las neuronas de GnRH, estas necesitan actuar sobre sus receptores ER $\alpha$ .

(Dorling 2003), sin embargo las neuronas de GnRH presentan ER $\beta$  mas no ER $\alpha$  (Smith y col 2005a). Los receptores de los esteroides sexuales se encuentran expresados en el cerebro en el ARC y AVPV, que como ya se ha visto, son áreas que mandan sus proyecciones hacia el POA con acceso a las neuronas de GnRH (Simerly 2002, Petersen 2003).

En ratones macho, más del 60% de neuronas de KiSS-I en el ARC expresan receptores de andrógenos y cerca del 90% expresa ER $\beta$ . En ratones hembras se ha observado que aproximadamente todas las neuronas de KiSS-I expresan ER $\alpha$ , y cerca del 30% expresa ER $\alpha$  (Smith 2005a). Entonces, los efectos de los estrógenos a través del kisspeptin se dan a través de sus receptores de estrógeno en estas mismas. Sin embargo, la testosterona puede actuar tanto a nivel del receptor de andrógenos como indirectamente en el receptor de estrógenos, luego de su aromatización a estradiol. Los efectos de la DHT se dan solo en el ARC mientras que la aromatización a estradiol actúa tanto en el ARC como en el AVPV (Smith 2006).

En ratones macho, las mutaciones tanto del receptor ER $\alpha$  y AR alteran la respuesta de KiSS-I a la testosterona tanto en el ARC como en el AVPV. En los machos, la ausencia tanto de ER $\alpha$  o de AR no tiene mucho efecto ya que cualquiera de ellos puede llegar a compensar la falta del otro. Sin embargo, este efecto no es el mismo en hembras, donde la pérdida del ER $\alpha$  bloquea la habilidad del estradiol de regular la expresión de KiSS-I tanto en el ARC como en el AVPV. ER $\beta$  no tuvo ningún efecto en la regulación de estradiol sobre KiSS-I (Smith 2005a).

Por lo tanto se tiene que los esteroides sexuales van a jugar un rol importante en la autorregulación del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal, regulando diferencialmente los niveles de mRNA de KiSS-I en los distintos núcleos, y siendo el ER $\alpha$  aquel que va a mediar los efectos de los estrógenos en la expresión de KiSS-I.

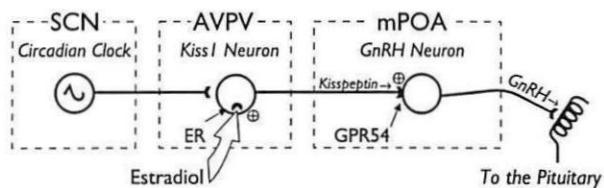
## CONCLUSIONES

Tenemos entonces que para que se pueda dar inicio a la pubertad es necesario que se activen

las neuronas de GnRH y se mantenga un control de su secreción para que de esa manera se tenga una buena maduración reproductiva. Para que se activen las neuronas de GnRH se han propuesto diversos tipos de mecanismos y candidatos, siendo el más efectivo el del sistema Kisspeptin/GPR54. Se postula que el kisspeptin es aquel péptido que va a permitir el inicio de la pubertad ya que se ha encontrado que es un importante secretagogo de la GnRH, permitiendo la secreción de LH en ratas y ratones, machos y hembras, animales prepúberes, puberales y adultos, y en monos machos sin gónadas. De igual manera, el kisspeptin va a ejercer un efecto dosis dependiente, ejerciendo acción sobre la liberación de gonadotropinas a dosis de 1 fmol, y actuando a los 10 minutos de ser inyectado.

El efecto de kisspeptin se va a observar luego de la administración central como de la administración periférica, actuando en las terminales nerviosas de GnRH en el núcleo arcuato y la eminencia media; y su administración va a ser efectiva tanto con el kisspeptin-54 como con el kisspeptin-10.

El flujo de GnRH/LH va a ser generado por las neuronas sensibles a estrógenos cuyos cuerpos celulares residen en el AVPV y se van a encontrar activados por una señal circadiana en el núcleo supraquiasmático. El ER $\alpha$  va a mediar los efectos de estrógeno en el flujo GnRH/LH, así como los efectos de estrógenos en la expresión de KiSS-I, esto gracias a que las neuronas de KiSS-I expresan ER $\alpha$ .



Gracias a todos estos datos es posible proponer al kisspeptin como el mecanismo por el cual se estimula a las neuronas de GnRH para que se activen en el momento de la pubertad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Adachi S, Yamada S, Takatsu Y, Matsui H, Kinoshita M, Takase K, Sugiura H, Ohtaki T, Matsumoto H, Uenoyama Y, Tsukamura H, Inoue K, Maeda KI. Involvement of

- Anteroventral Periventricular Metastin/Kisspeptin Neurons in Estrogen Positive Feedback Action on Luteinizing Hormone Release in Female Rats. *J Reprod Dev.* 2007. Article in press.
2. Adair LS, Gordon-Larsen P. Maturational timing and overweight prevalence in US adolescent girls. *American Journal of Public Health.* 2001. 91:642-644.
  3. Alexander GM, Peterson BS. Sex steroids and human behavior: implications for developmental psychopathology. *CNS Spectr.* 2001. 6:75-88.
  4. Amstislavskaya T, Popova N. Female-induced sexual arousal in male mice and rats: behavioral and testosterone response. *Hormones and Behavior.* 2004. 46:544- 550
  5. Baulieu EE. Neurosteroids: a novel function of the brain. *Psychoneuroendocrinology.* 1998. 23:963-987.
  6. Brailou GC, Dun SL, Ohsawa M, Yin D, Yang J, Chang JK, Brailou E, Dun NJ. KiSS-1 expression and metastin-like immunoreactivity in the rat brain. *Journal of Comparative Neurology.* 2005. 481:314-329.
  7. de Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain JL & Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54. *PNAS.* 2003. 100:10972-10976.
  8. Delemarre-van de Waal HA. Secular trend of timing of puberty. *Endocr Dev.* 2005. 8:1-14.
  9. Dhillo WS, Chaudhri OB, Patterson M, Thompson EL, Murphy KG, Badman MK, McGowan BM, Amber V, Patel S, Ghatei MA, Bloom SR. Kisspeptin-54 stimulates the hypothalamic-pituitary gonadal axis in human males. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005. 90:6609-
  10. Dorantes AY. *Endocrinología Clínica.* 2004. México. Pg: 427-440.
  11. Dorling AA, Todman MG, Korach KS, Herbison AE. Critical role for estrogen receptor in negative feedback regulation of gonadotropin-releasing hormone mRNA expression in the female mouse. *Neuroendocrinology.* 2003. 78:204-209.
  12. Dunger DB, Ahmed ML, Ong KK. Early and late weight gain and the timing of puberty. *Mol Cell Endocrinol.* 2006. 254-255:140-5.
  13. Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, Lawrence E, Cheetham CH, Prentice AM, Hughes IA, McCamish MA, O'Rahilly S. Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency. *New England Journal of Medicine.* 1999. 341:879-884.
  14. Franceschini I, Lomet D, Cateau M, Delsol G, Tillet Y, Caraty A. Kisspeptin immunoreactive cells of the ovine preoptic area and arcuate nucleus co-express estrogen receptor alpha. *Neurosci Lett.* 2006. 401:225-230
  15. Genazzani AR, Bernardi F, Monteleone P, Luisi S, Luisi M. Neuropeptides, neurotransmitters, neurosteroids, and the onset of puberty. *Ann N Y Acad Sci.* 2000. 900:1-9.
  16. Giedd JN, Clasen LS, Lenroot R, Greenstein D, Wallace GL, Ordaz S, Molloy EA, Blumenthal JD, Tossell JW, Stayer C, Samango-Sprouse CA, Shen D, Davatzikos C, Merke D, Chrousos GP. Puberty-related influences on brain development. *Mol Cell Endocrinol.* 2006. 254-255:154-62.
  17. Gottsch ML, Cunningham MJ, Smith JT, Popa SM, Acohido BV, Crowley WF, Seminara S, Clifton DK, Steiner RA. A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. *Endocrinology.* 2004. 145:4073- 4077.
  18. Greives TJ, Mason AO, Scotti MA, Levine J, Ketterson ED, Kriegsfeld LJ, Demas GE. Environmental Control of Kisspeptin: Implications for Seasonal Reproduction. *Endocrinology.* 2006. Article in press.
  19. Grumbach MM. The neuroendocrinology of human puberty revisited. *Horm Res.* 2002. 57:2-14.
  20. Han SK, Gottsch M, Lee KJ, Popa SM, Smith JT, Jakawich SK, Clifton DK, Steiner R, Herbison AE. Activation of Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons by Kisspeptin as a Neuroendocrine Switch for the Onset of Puberty. *J. Neurosci.* 2005. 25:11349-11356.
  21. Herbison AE, Pape JR, Simonian SX, Skynner MJ, Sim JA. Molecular and cellular properties of GnRH neurons revealed through transgenics in the mouse. *Molecular and Cellular Endocrinology.* 2001a. 185:185-194.
  22. Herbison AE, Pape JR. New evidence for estrogen receptors in gonadotropin-releasing hormone neurons. *Front Neuroendocrinol.* 2001b. 22:292-308.
  23. Herman-Giddens ME, Slora EJ, Wasserman RC, Bourdon CJ, Bhapkar MV, Koch GG, Hasemeier CM. Secondary sexual characteristics and menses in young girls seen in office practise: a study from the pediatric research in office settings network. *Pediatrics.* 1997. 99:505-512.
  24. Hinuma S, Shintani Y, Fukusumi S, Iijima N, Matsumoto Y, Hosoya M. New neuropeptides containing carboxy-terminal RFamide and their receptor in mammals. *Nat Cell Biol.* 2000. 2:703-8.
  25. Horikoshi Y, Matsumoto H, Takatsu Y, Ohtaki T, Kitada C, Usuki S, et al. Dramatic elevation of plasma metastin concentrations in human pregnancy: metastin as a novel placenta-derived hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003. 88:914-9.
  26. Hrabovszky E, Steinhauser A, Barabas K, Shughrue PJ, Petersen SL, Merchenhthal I, Lipsitz Z. Estrogen receptor-beta immunoreactivity in luteinizing hormone-releasing hormone neurons of the rat brain. *Endocrinology.* 2001. 142:3261-3264
  27. Hunt PJ, Gurnell EM, Huppert FA, Richards C, Prevost AT, Wass JAH, Herbert J, Chatterjee KK. 2000. Improvement in mood and fatigue after dehydroepiandrosterone replacement in Addison's disease and in a randomized, double blind trial. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998. 85:4650-4656.
  28. Iqbal J, Pompolo S, Sakurai T, Clarke IJ. Evidence that orexin-containing neurones provide direct input to gonadotropin-releasing hormone neurones in the ovine hypothalamus. *Journal of Neuroendocrinology.* 2001. 13:1033-1041.
  29. Irwig MS, Fraley GS, Smith JT, Acohido BV, Popa SM, Cunningham MJ, Gottsch ML, Clifton DK, Steiner RA. Kisspeptin activation of gonadotropin releasing hormone neurons and regulation of KiSS-1 mRNA in the male rat. *Neuroendocrinology.* 2004. 80:264 -272.
  30. Issa S, Schnabel D, Feix M, Wolf L, Schaefer HE, Russell DW, Schweikert HU. Human osteoblast-like cells express predominantly steroid 5 $\alpha$ -reductase type I. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 2002. 87:5401-5407.
  31. Jellinck PH, Lee SJ, McEwen BS. Metabolism of dehydroepiandrosterone by rat hippocampal cells in culture: possible role of aromatization and 7-hydroxylation in neuroprotection. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2001. 78:313-317.
  32. Kaplowitz P. Pubertal development in girls: secular trends. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2006. 18:487-91.
  33. Karolczak M, Kuppers E, Beyer C. Developmental expression and regulation of aromatase- and 5 $\alpha$  reductase type I mRNA in the male and female mouse hypothalamus. *J Neuroendocrinol.* 1998. 10:267-74.
  34. Kauffman AS, Rissman EF. A critical role for the evolutionarily conserved gonadotropin-releasing hormone II: mediation of energy status and female sexual behavior. *Endocrinology.* 2004. 145:3639-46.
  35. Kinoshita M, Tsukamura H, Adachi S, Matsui H, Uenoyama Y, Iwata K, Yamada S, Inoue K, Ohtaki T, Matsumoto H, Maeda KI. Involvement of central metastin in the regulation of preovulatory LH surge and estrous cyclicity in female rats. *Endocrinology.* 2005. 146 4431-4436.

36. Kotani M, Dethieux M, Vandenbogaerde A, Communi D, Vanderwinden JM, Le Poul E, Brezillon S, Tyldesley R, Suarez-Huerta N, Vandeput F, Blanpain C, Schiffmann SN, Vassart G, Parmentier M. The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *Journal of Biological Chemistry*. 2001; 276:34631–34636.
37. Kuohung W, Kaiser UB. GPR54 and KiSS-1: Role in the regulation of puberty and reproduction. *Rev Endocr Metab Disord*. 2007. Article in press.
38. Labrie F, Belanger A, Luu-The V, Labrie C, Simard J, Cusan L, Gomez JL, Candas B. DHEA and the intracrine formation of androgens and estrogens in peripheral target tissues: its role during aging. *Steroids*. 1998; 63:322–328.
39. Labrie F, Luu-The V, Lin SX, Simard J, Labrie C. Role of 17 beta-hydroxysteroid dehydrogenases in sex steroid formation in peripheral luteinizing tissues. *Trends Endocrinol Metab*. 2000; 11:421–7.
40. Lee DK, Nguyen T, O'Neill GP, Cheng R, Liu Y, Howard AD, Coulombe N, Tan CP, Tang-Nguyen AT, George SR, O'Dowd BF. Discovery of a receptor related to the galanin receptors. *FEBS Letters*. 1999; 446:103–107.
41. Leslie RA, Sanders SJK, Anderson S, Schuhler S, Horan TL, Ebling FJP. Appositions between CART- and GnRH-immunoreactive neurons in the hypothalamus. *Neuroscience Letters*. 2001; 314:111–114.
42. Li C, Chen PL, Smith MS. Morphological evidence for direct interaction between arcuate nucleus neuropeptide Y (NPY) neurons and gonadotropin-releasing hormone neurons and the possible involvement of NPY1 receptors. *Endocrinology*. 1999; 140:5382–5390.
43. Lin L, Ercan O, Raza J, Burren CP, Creighton SM, Auchus RJ, Dattani MT, Achermann JC. Variable phenotypes associated with aromatase (CYP19) insufficiency in humans. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006. Article in press.
44. Mann DR, Plant TM. Leptin and pubertal development. *Semin Reprod Med*. 2002; 20:93–102.
45. Matsui H, Takatsu Y, Kumano S, Matsumoto H, Ohtaki T. Peripheral administration of metasin induces marked gonadotropin release and ovulation in the rat. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2004; 320:383–388.
46. McCartney CR, Blank SK, Prendergast KA, Chhabra S, Eagleson CA, Helm KD, Yoo R, Chang RJ, Foster CM, Caprio S, Marshall JC. Obesity and Sex Steroid Changes Across Puberty: Evidence for Marked Hyperandrogenemia in Pre- and Early Pubertal Obese Girls. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006. Article in press.
47. Messager S, Chatzidaki EE, Ma D, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, Thresher RR, Malinge I, Lomet D, Carlton MB, Colledge WH, Caraty A, Aparicio SA. Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. *PNAS*. 2005; 102:1761–1766.
48. Morris JA, CL Jordan, SM Breedlove. Sexual differentiation of the vertebrate nervous system. *Nat Neurosci*. 2004; 7:1034–1039.
49. Muir AI, Chamberlain L, Elshourbagy NA, Michalovich D, Moore DJ, Calamari A, Szekeres PG, Sarau HM, Chambers JK, Murdock P, Steplewski K, Shabon U, Miller JE, Middleton SE, Darker JG, Larminie CG, Wilson S, Bergsma DJ, Emson P, Faull R, Philpott KL, Harrison DC. AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1. *Journal of Biological Chemistry*. 2001; 276:28969–28975.
50. Navarro VM, Castellano JM, Fernandez-Fernandez R, Barreiro ML, Roa J, Sanchez-Criado JE. Developmental and hormonally regulated messenger ribonucleic acid expression of KiSS-1 and its putative receptor, GPR54, in rat hypothalamus and potent luteinizing hormone-releasing activity of KiSS-1 peptide. *Endocrinology*. 2004; 145:4565–74.
51. Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, Matsumoto H, Hori A, Kanehashi K, Terao Y, Kumano S, Takatsu Y, Masuda Y, Ishibashi Y, Watanabe T, Asada M, Yamada T, Suenaga M, Kitada C, Usuki S, Kurokawa T, Onda H, Nishimura O, Fujino M. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature*. 2001; 411:613–617.
52. Ong KK, Ahmed ML, Dunger DB. Lessons from large population studies on timing and tempo of puberty (secular trends and relation to body size): the European trend. *Mol Cell Endocrinol*. 2006; 254–255:8–12.
53. Ostatnikova D, Celeg P, Putz Z, Hodosy J, Schmidt F, Laznibatova J, Kudela M. Intelligence and salivary testosterone levels in prepubertal children. *Neuropsychologia*. 2006. Article in press.
54. Panjari M, Davis SR. DHEA therapy for women: effect on sexual function and wellbeing. *Hum Reprod Update*. 2007. Article in press.
55. Parhar IS, Ogawa S, Sakuma Y. Laser-captured single digoxigenin-labeled neurons of gonadotropin-releasing hormone types reveal a novel G protein-coupled receptor (Gpr54) during maturation in cichlid fish. *Endocrinology*. 2004; 145:3613–3618.
56. Petersen SL, Ottem EN, Carpenter CD. Direct and indirect regulation of gonadotropin-releasing hormone neurons by estradiol. *Biol Reprod*. 2003; 69:1771–1778.
57. Plant TM, Barker-Gibb ML. Neurobiological mechanisms of puberty in higher primates. *Hum Reprod Update*. 2004; 10:67–77.
58. Pompolo S, Pereira A, Estrada KM, Clarke IJ. Colocalization of kisspeptin and gonadotropin-releasing hormone in the ovine brain. *Endocrinology*. 2006; 147:804–810.
59. Romeo RD, Diedrich SL, Sisk CL. Effects of gonadal steroids during pubertal development on androgen and estrogen receptor-alpha immunoreactivity in the hypothalamus and amygdala. *J Neurobiol*. 2000; 44:361–8.
60. Romeo RD, Richardson HN, Sisk CL. Puberty and the maturation of the male brain and sexual behavior: recasting a behavioral potential. *Neurosci Biobehav Rev*. 2002; 26:381–91.
61. Romeo RD. Puberty: a period of both organizational and activational effects of steroid hormones on neurobehavioural development. *J Neuroendocrinol*. 2003; 15:1185–92.
62. Rønnekleiv O, Kelly MJ. Diversity of ovarian steroid signaling in the hypothalamus. *Frontiers in Neuroendocrinology*. 2005; 26:65–84.
63. Roth CL, Ojeda SR. Genes involved in the neuroendocrine control of normal puberty and abnormal puberty of central origin. *Pediatr Endocrinol Rev*. 2005; 3:67–76.
64. Schneider JE, Zhou D, Blum RM. Leptin and metabolic control of reproduction. *Hormones and Behavior*. 2000; 37:306–326.
65. Schneider JE. Energy balance and reproduction. *Physiol Behav*. 2004; 81:289–317.
66. Schulz KM, Sisk CL. Pubertal hormones, the adolescent brain, and the maturation of social behaviors: Lessons from the Syrian hamster. *Mol Cell Endocrinol*. 2006; 254–255:120–6.
67. Seminara SB, Messager S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno JS Jr, Shagoury JK, Bo-Abbas Y, Kuohung W, Schwino KM, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, Kaiser UB, Slaugenhaupt SA, Gusella JF, O'Rahilly S, Carlton MBL, Crowley WF, Aparicio AJR, Colledge WH. The GPR54 gene as a regulator of puberty. *New England Journal of Medicine*. 2003; 349:1614–1627.
68. Shahab M, Mastronardi C, Seminara SB, Crowley WF, Ojeda SR, Plant TM. Increased hypothalamic GPR54 signaling: a

- potential mechanism for initiation of puberty in primates. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102:2129-34.
69. Simerly RB. Organization and regulation of sexually dimorphic neuroendocrine pathways. *Behaviour and Brain Research*. 1998; 92:195-203.
70. Simerly RB. Wired for reproduction: organization and development of sexually dimorphic circuits in the mammalian forebrain. *Annu Rev Neurosci*. 2002; 25:507-536
71. Sisk CL, Zehr JL. Pubertal hormones organize the adolescent brain and behavior. *Front Neuroendocrinol*. 2005; 26:163-74.
72. Skinner DC, Caraty A, Allingham R. Unmasking the progesterone receptor in the preoptic area and hypothalamus of the ewe: no colocalization with gonadotropinreleasing neurons. *Endocrinology*. 2001; 142:573-579
73. Smith JT, Cunningham MJ, Rissman EF, Clifton DK, Steiner RA. Regulation of Kiss1 gene expression in the brain of the female mouse. *Endocrinology*. 2005a; 146:3686-3692.
74. Smith JT, Dungan HM, Stoll EA, Gottsch ML, Braun RE, Eacker SM, Clifton DK, Steiner RA. Differential regulation of Kiss1 mRNA expression by sex steroids in the brain of the male mouse. *Endocrinology*. 2005b; 146:2976-2984
75. Smith JT, Clay CM, Caraty A, Clarke IJ. Kiss1 mRNA Expression in the Hypothalamus of the Ewe is Regulated by Sex Steroids and Season. *Endocrinology*. 2006a. Article in press.
76. Smith JT, Clifton DK, Steiner RA. Regulation of the neuroendocrine reproductive axis by kisspeptin-GPR54 signaling. *Reproduction*. 2006b; 131:623-630
77. Stafford LJ, Xia C, Ma W, Cai Y, Liu M. Identification and characterization of mouse metastasis-suppressor KiSS1 and its G-protein-coupled receptor. *Cancer Res*. 2002; 62:5399-5404.
78. Suzuki M, Wright LS, Marwah P, Lardy HA, Sevendsen CN. Mitotic and neurogenic effects of dehydroepiandrosterone (DHEA) on human neural stem cell cultures derived from the fetal cortex. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004; 101:3202-3207.
79. Teinturier C. Neuroendocrine mechanisms of puberty onset. *Gynecol Obstet Fertil*. 2002; 30:809-13.
80. Terasawa E, Fernandez DL. Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates. *Endocr Rev*. 2001; 22:111-51.
81. Thompson EL, Patterson M, Murphy KG, Smith KL, Dhillon WS, Todd JF, Ghatei MA, Bloom SR. Central and peripheral administration of kisspeptin-10 stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *J Neuroendocrinol*. 2004; 16:850-858
82. Urbanski HF. Leptin and puberty. *Trends Endocrinol Metab*. 2001; 12:428-429
83. Wang Y. Is obesity associated with early sexual maturation? A comparison of the association in American boys versus girls. *Pediatrics*. 2002; 110:903-910
84. Wójcik-Gładysz A, Nowak KW, Pierzchała-Kozieć K, Wańkowska M, Misztal T, Polkowska J, Nowak M, Kaczmarek P, Górska T, Szczepankiewicz D, Zubel J. Aspects of central and peripheral regulation of reproduction in mammals. *Reproductive Biology*. 2006; 6:89-103.
85. Zeinoaldini S, Swarts JJ, Van de Heijning BJ. A signaling role for leptin in puberty onset in female rats? *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2006; 19:1239-47.

Correspondencia: dah\_182@yahoo.com

Recibido: 24 de abril de 2008  
Aceptado: 06 de julio de 2008