

EL SISTEMA KISSPEPTINA-GPR54 Y SU RELACIÓN CON EL CONTROL NEUROENDOCRINO DE LA REPRODUCCIÓN

Alejandro Mechaly,* Jordi Viñas, Francesc Piferrer

Departament de Recursos Marins Renovables, Institut de Ciències del Mar (CSIC)
Passeig marítim, 37-49. 08003 Barcelona. amechaly@icm.csic.es.

Resumen

El descubrimiento de la kisspeptina junto con su receptor, GPR54, y su relación con el control de la pubertad de los mamíferos, es uno de los hallazgos más relevantes en la biología reproductiva de los últimos años. La kisspeptina tiene un efecto directo sobre la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH), iniciando la cascada hormonal con efecto final en las gónadas con la liberación de los esteroides sexuales. En este artículo se describe la estructura de los genes (*Kiss-1* y GPR54) y de sus productos proteicos, así como también los mecanismos endocrinos de regulación endógena y los factores externos que afectan al complejo kisspeptina-GPR54. Finalmente, se describe los recientes hallazgos en este tema en peces teleósteos para proporcionar una perspectiva evolutiva.

Palabras clave Pubertad, GPR54, kisspeptina, GnRH, gonadotropinas.

Abstract

The discovery of kisspeptins together with their receptor, GPR54, and their relationships with puberty control in mammals has been described as one of the most important findings in reproductive biology in the last years. Kisspeptin stimulates GnRH initiating the hormonal cascade which ends in the gonads with the secretion of the sex steroids. This paper describes the gene structure of *Kiss-1* and GPR54 and their protein product organization. The endocrine regulation of the mechanism and the exogenous factor affecting the complex Kisspeptin-GPR54 are also discussed. Finally, we describe recent findings in this field concerning teleost fish to provide an evolutionary perspective.

Key words Puberty, GPR54, kisspeptin, GnRH, gonadotrophins.

INTRODUCCIÓN

La pubertad es el período del desarrollo que incluye la transición desde un sistema reproductor inmaduro a uno maduro y funcional. Este proceso comporta un control endocrino mediante la acción secuencial de varias hormonas que se originan en el hipotálamo y tienen su efecto final en las gónadas. En mamíferos, donde el proceso es más conocido, el hipotálamo libera la hormona liberadora de la gonadotropina (GnRH), que estimula la hipófisis o pituitaria, que a su vez libera otras dos hormonas mensajeras, las gonadotropinas propiamente dichas, la hormona foliculoestimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH). Estas gonadotropinas circulan por el sistema vascular hasta las gónadas, las cuales una vez recibida la señal a través de receptores específicos empiezan a madurar, proceso en el que los esteroides sexuales juegan un importante papel.

Durante el año 1996, se logró aislar el gen *kiss-1*,

el cual había sido considerado un gen tumoral debido a su capacidad de inhibir metástasis en melanomas, motivo por el cual la proteína codificada por este gen se denominó inicialmente *metastina*, (Lee *et al.*, 1996). Sin embargo, a partir de los estudios de su receptor (GPR54), se descubrió que mutaciones en el mismo provocaban hipogonadismo hipogonadotrópico, condición asociada a la no maduración sexual e infertilidad en humanos (de Roux *et al.*, 2003; Seminara *et al.*, 2003) y ratones (Funes *et al.*, 2003). Más tarde se comprobó en ratones que las mutaciones producidas por este gen podían corregirse mediante la administración exógena de GnRH (Seminara *et al.*, 2003). En cerebros de ratas, la administración central de kisspeptinas producían un efecto inductivo sobre la secreción de las LH (Matsui *et al.*, 2004; Navarro *et al.*, 2004) y de las FSH (Navarro *et al.*, 2005). Estos estudios revelaron el rol de la kisspeptina y su receptor, GPR54, como un sistema clave en la regulación de la pubertad, convir-

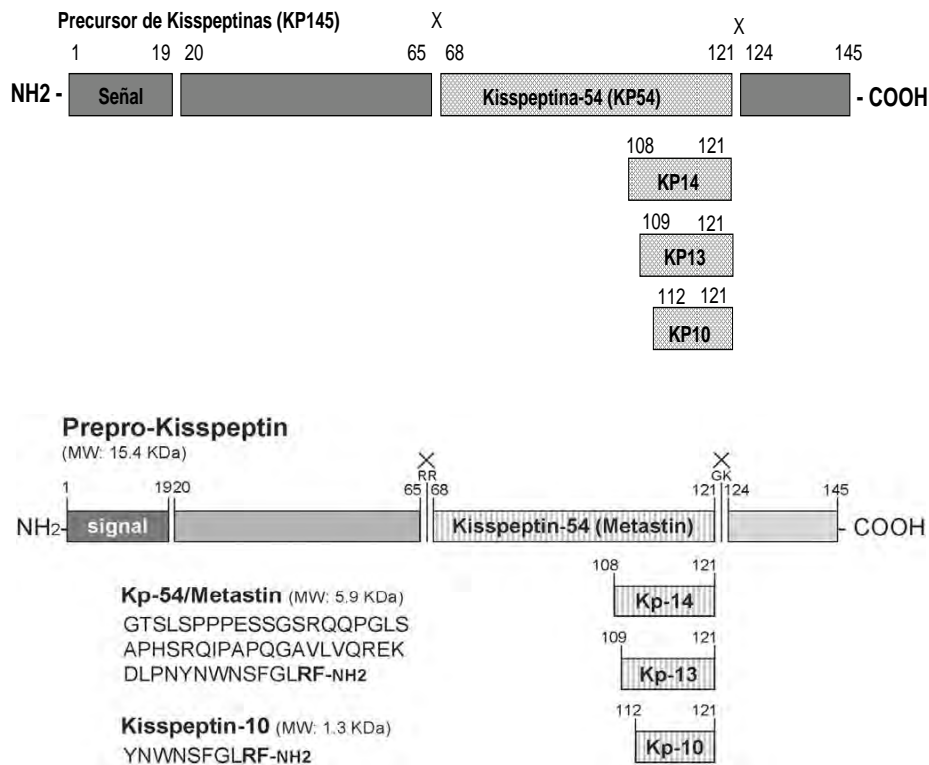


Figura 1 Estructura proteica de las kisspeptinas de humanos y del polipéptido precursor (KP145). Los aminoácidos 1 al 19 corresponden a la secuencia señal y las X marcan los sitios de clivaje que originan los productos (KP54, KP14, KP13 y KP10).

tiéndose en uno de los descubrimientos más relevantes realizados en el campo de la biología de la reproducción desde el hallazgo de la GnRH en la década de los setenta (Messenger, 2005). Sin embargo, actualmente los procesos fisiológicos asociados a la actuación de este complejo aún no están perfectamente establecidos.

Estructura molecular de la kisspeptina y la *gpr54*

El gen *kiss-1* está estructurado en tres exones, que en conjunto corresponden a 438 pb en humanos. El producto de este gen es un neuropéptido precursor de 145 aminoácidos (KP145). En esta preproteína existe una secuencia señal (aminoácidos 1 al 19), dos potenciales sitios de clivaje (aminoácidos 57 y 67), y un sitio terminal de clivaje o amidación (aminoácidos del 121-124) (Kotani *et al.*, 2001; Muir *et al.*, 2001; Ohtaki *et al.*, 2001). El mayor péptido producido por el gen *kiss-1* es la kisspeptina-54 (KP54), de 54 aminoácidos y también denominada metastina, pero existen otros polipéptidos derivados del precursor *Kiss-1*, como la kisspeptina-14 (KP14), kisspeptina-13 (KP13) y kisspeptina-10 (KP10) (Kotani *et al.*, 2001) (figura 1). Los últimos 10 aminoácidos de la KP54 parecen ser los más importantes para la activación del receptor GPR54 y son los más conserva-

dos a través de las especies (Stafford *et al.*, 2002). Actualmente la Kisspeptina solo se encuentra secuenciada en tres especies de mamíferos: rata (AY196983), ratón (AB162440) y humano (AY117143).

La unión del receptor GPR54 con el ligando Kiss1 permite la activación de la fosfolipasa C y un incremento intracelular de inositol trifosfato, seguido por movilización de Ca^{2+} , secreción de ácido araquidónico y activación de ERK1/2 y proteína quinasa mitocondrial (p38 MAP) (Kotani *et al.*, 2001).

La estructura del gen receptor GPR54 es más compleja (5 exones y 4 intrones), pero a su vez mucho más conservada, con un número cercano a los 1200 pb. La proteína GPR54 es un receptor asociado a una proteína G de la familia de las rodopsinas y con un alto porcentaje de identidad con los receptores de la familia de las galaninas (Funes *et al.*, 2003). La GPR54 tiene siete dominios transmembrana hidrofóbicos. La conservación del gen de la GPR54 ha permitido que a partir de su primera clonación en ratas en el año 1999 (Lee *et al.*, 1999), se hayan podido clonar genes ortólogos en otras especies de mamíferos (humano y ratón) (Muir *et al.*, 2001; Stafford *et al.*, 2002) y de peces (tilapia, múgil y cobia) (Parhar *et al.*, 2004; Nocillado *et al.*, 2007; Mohamed *et al.*, 2007).

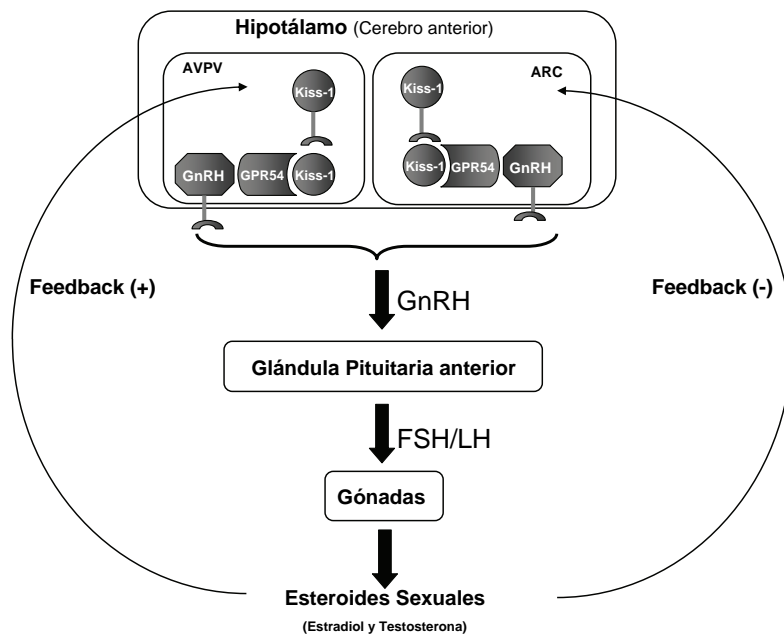


Figura 2a Esquema hipotético del mecanismo de regulación neuroendocrino del sistema kisspeptina-GPR54 y su relación con el eje hipotálamo-pituitaria-gónada (HPG). AVPV, núcleo anteroventral periventricular; ARC, núcleo arcuato del hipotálamo.

El sistema Kiss-1-GPR54 y el control neuroendocrino en la reproducción

Numerosos estudios genéticos y moleculares han sentado las bases del papel del sistema kisspeptina-GPR54 en la regulación de la GnRH y las gonadotropinas y el control neuroendocrino de la reproducción (Seminara *et al.*, 2005). La administración de kisspeptinas (KP54, KP14, KP13 y KP10) en mamíferos estimula marcadamente la secreción de LH, independientemente de la dosis, ruta de administración

y estado de desarrollo (Messenger *et al.*, 2005; Gottsch *et al.*, 2004; Irving *et al.*, 2004).

El receptor GPR54 se encuentra en el cerebro anterior junto a las neuronas hipotálamicas que secretan la hormona GnRH, lo que sugiere que las kisspeptinas, que a su vez se expresan altamente en el cerebro, y en particular en el hipotálamo y los ganglios de la base (Muir *et al.*, 2001), pueden actuar directamente sobre estas neuronas. El control neuroendocrino del sistema se regula por la expresión diferencial de mRNA de *kiss1* entre el núcleo anteroventral periventricular (AVPV) y en el núcleo arcuato (ARC). La kisspeptina estimula la liberación de GnRH provocando la secreción en el sistema vascular de las gonadotropinas (LH y FSH), las cuales tienen su efecto en las gónadas estimulando la producción de los esteroides sexuales. El ciclo se cierra con una regulación en *feedback* de los esteroides sexuales, los cuales inhiben la expresión de *Kiss1* en el ARC o inducen su expresión en el AVPV (figura 2a).

Entre los factores exógenos que afectan al complejo kisspeptina-GPR54 y al eje hipotálamo-pituitario-gonadal (HPG), cabe citar principalmente la temperatura y el fotoperíodo (factores medioambientales) y la nutrición y el estrés (factores fisiológicos) (figura 2b).

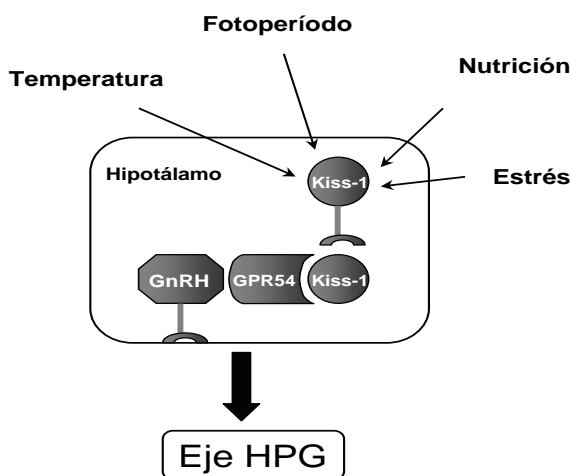


Figura 2b Modelo esquemático simplificado del control de la reproducción por diversos factores que estimulan al eje hipotálamo-pituitario-gonadal (HPG) vía el receptor GPR54.

Actualidad del sistema Kiss-1-GPR54 en peces teleósteos

En los últimos dos años, tras haberse reconocido el sistema kiss1/GPR54 como clave en la regulación del eje reproductivo, han aparecido estudios describiendo la clonación del receptor GPR54 en varias especies de peces. Sin embargo hasta la fecha no existe ningún estudio sobre el gen *Kiss-1*, seguramente a causa de su poca conservación. Por otro lado, el gen de la GPR54 en peces comparte la estructura de 5 exones y 4 intrones. Asimismo, a la estructura proteica deducida a través de la secuencia de DNA también se le pueden identificar los siete dominios transmembrana con un grado de conservación muy elevado (Parhar *et al.*, 2004).

BIBLIOGRAFÍA

- DE ROUX, N.; GENIN, E.; CAREL, J.C.; MATSUDA, F.; CHAUSSAIN, J. L.; MILGROM, E. (2003). «Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KiSS1-derived peptide receptor GPR54». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 100: 10972-10976.
- FUNES, S.; HEDRICK, J. A.; VASSILEVA, G.; MARKOWITZ, L.; ABBONDANZO, S.; GOLOVKO, A.; YANG, S.; MONSMA, F. J.; GUSTAFSON, E. L. (2003). «The KiSS-1 receptor GPR54 is essential for the development of the murine reproductive system». *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 312: 1357-1363.
- GOTTSCH, M. L.; CUNNINGHAM, M. J.; SMITH, J. T.; POPA, S. M.; ACOHIDO, B. V.; CROWLEY, W. F.; SEMINARA, S.; CLIFTON, D. K.; STEINER, R. A. (2004). «A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse». *Endocrinology*, 145: 4073-4077.
- IRWIG, M. S.; FRALEY, G. S.; SMITH, J. T.; ACOHIDO, B. V.; POPA, S. M.; CUNNINGHAM, M. J.; GOTTSCH, M. L.; CLIFTON, D. K.; STEINER, R. A. (2004). «Kisspeptin activation of gonadotropin releasing hormone neurons and regulation of KiSS-1 mRNA in the male rat». *Neuroendocrinology*, 80: 264-272.
- KOTANI, M.; DETHEUX, M.; VANDENBOGAERDE, A.; COMMUNI, D.; VANDERWINDEN, J. M.; LE POUL, E.; BREZILLON, S.; TYLDESLEY, R.; SUAREZ-HUERTA, N.; VANDEPUT, F.; BLANPAIN, C.; SCHIFFMANN, S. N.; VASSART, G.; PARMENTIER, M. (2001). «The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54». *J. Biol. Chem.*, 276: 34631-34636.
- LEE, J. H.; MIELE, M. E.; HICKS, D. J.; PHILLIPS, K. K.; TRENT, J. M.; WEISSMAN, B. E.; WELCH, D. R. (1996). «KISS-1, a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene». *J. Natl. Cancer I.*, 88: 1731-1737.
- LEE, D. K.; NGUYEN, T.; O'NEILL, G. P.; CHANG, R.; LIU, Y.; HOWARD, A. D.; COULOMBE, N.; TAN, C. P.; TANG-NGUYEN, A. T.; GEORGE, S. R. [*et al.*] (1999). «Discovery of a receptor related to the galanin receptors». *FEBS Lett.* 446: 103-107.
- MATSUI, H.; TAKATSU, Y.; KUMANO, S.; MATSUMOTO, H.; OHTAKI, T. (2004). «Peripheral administration of metastatin induces marked gonadotropin release and ovulation in the rat». *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 320: 383-388.
- MESSAGE, S.; CHATZIDAKI, E. E.; MA, D.; HENDRICK, A. G.; ZAHN, D.; DIXON, J.; THRESHER, R. R.; MALLINGE, I.; LOMET, D.; CARLTON, M. B.; COLLEDGE, W. H.; CARATY, A.; APARICIO, S. A. (2005). «Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 102: 1761-1766.
- MOHAMED, J. S.; BENNINGHOFF, A. D.; HOLT, G. J.; KHAN, I. A. (2001). «Developmental expression of the G protein-coupled receptor 54 and three GnRH mRNAs in the teleost fish cobia». *J. Mol. Endocrinol.*, 38 (2): 235-244
- MUIR, A. I.; CHAMBERLAIN, L.; ELSHOURBAGY, N. A.; MICHALOVICH, D.; MOORE, D. J.; CALAMARI, A.; SZEKERES, P. G.; SARAU, H. M.; CHAMBERS, J. K.; MURDOCK, P.; STEPLEWSKI, K.; SHABON, U.; MILLER, J. E.; MIDDLETON, S. E.; DARKER, J. G.; LARMINIE, C. G.; WILSON, S.; BERGSMAN, D. J.; EMSON, P.; FAULL, R. [*et al.*] (2001). «AXOR12, a novel human G protein-coupled receptor, activated by the peptide KiSS-1». *J. Biol. Chem.*, 276: 28969-28975.
- NAVARRO, V. M.; CASTELLANO, J. M.; FERNANDEZ-FERNANDEZ, R.; BARREIRO, M. L.; ROA, J.; SANCHEZ-CRIADO, J. E.; AGUILAR, E.; DIEGUEZ, C.; PINILLA, L.; TENA-SEMPERE, M. (2004). «Developmental and hormonally regulated messenger ribonucleic acid expression of KiSS-1 and its putative receptor GPR54 in rat hypothalamus and potent LH releasing activity of KiSS-1 peptide». *Endocrinology*, 145: 4565-4574.
- NAVARRO, V. M.; CASTELLANO, J. M.; FERNANDEZ-FERNANDEZ, R.; TOVAR, S.; ROA, J.; MAYEN, A.; BARREIRO, M. L.; CASANUEVA, F. F.; AGUILAR, E.; DIEGUEZ, C. [*et al.*] (2005). «Effects of KiSS-1 peptide, the natural ligand of GPR54, on follicle-stimulating hormone secretion in the rat». *Endocrinology*, 146:1689-1697.
- NOCILLADO, J. N.; LEVAVI-SIVAN, B.; CARRICK, F.; ELIZUR, A. (2007) Temporal expression of G-protein-coupled receptor 54 (GPR54), gonadotropin-releasing hormones (GnRH), and dopamine receptor D2 (drd2) in pubertal female grey mullet, *Mugil cephalus*». *Gen. Comp. Endocrinol.*, 150 (2): 278-287.
- OHTAKI, T.; SHINTANI, Y.; HONDA, S.; MATSUMOTO, H.; HORI, A.; KANEHASHI, K.; TERAOKA, 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. [*et al.*] (2001). «Metastasis sup-

- pressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor». *Nature*, 411: 613-617.
- PARHAR, I. S.; OGAWA, S.; SAKUMA, Y. (2004). «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*, 145:3613-3618.
- SEMINARA, S. B.; MESSEGER, S.; CHATZIDAKI, E. E.; THRESHER, R. R.; ACIERNO JR, J. S.; SHAGOURY, J. K.; BO-ABBAS, Y.; KUOHUNG, W.; SCHWINOF, K. M.; HENDRICK, A. G.; ZAHN, D.; DIXON, J.; KAISER, U. B.; SLAUGENHAUPT, S. A.; GUSELLA, J. F.; O'RAHILLY, S.; CARLTON, M. B.; CROWLEY JR, W. F.; APARICIO, S. A.; COLLEDGE, W. H. (2003). «The GPR54 gene as a regulator of puberty». *N. Engl. J. Med.*, 349: 1614-1627.
- SEMINARA, S. B., KAISER, U. B. (2005). «New gatekeepers of reproduction: GPR54 and its cognate ligand, KiSS-1». *Endocrinology*, 146: 1686-1688.
- STAFFORD, L. J.; XIA, C.; MA, W.; CAI, Y.; LIU, M. (2002). «Identification and characterization of mouse metastasis-suppressor *Kiss1* and its G-protein-coupled receptor». *Cancer Res.*, 62: 5399-5404.