

GENS I ISOFORMES DEL RECEPTOR DE KISSPEPTINA (KISS1R) EN VERTEBRATS

Alejandro S. Mechaly, Jordi Viñas i Francesc Piferrer

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

Resum

Aquest treball se centra en la descripció del sistema de la kisspeptina i el seu receptor (KISS1R), ja que tenen una funció clau com a reguladors de l'inici de la pubertat en animals. Es descriu i es discuteix l'evolució dels gens i de les diferents isoformes del KISS1R trobades recentment. Aquests gens i isoformes són produïts per duplicacions gèniques o per mecanismes d'empalmament alternatiu dins d'un mateix gen. Finalment, es plantegen les possibles línies d'investigació sobre el sistema i es mencionen els possibles factors de transcripció que poden formar part del mecanisme regulador de KISS1R.

Paraules clau: pubertat, KISS1R, kisspeptina, duplicació gènica, empalmament alternatiu.

Abstract

This review focalizes on the kisspeptin and its receptor (KISS1R) because their relationship with the regulation of the initiation of puberty in animals. The evolution of the genes and isoforms of KISS1R is discussed. These different genes and isoforms are originated by gene duplication and by alternative splicing mechanisms. Finally, we present possible research avenues in the field of the kisspeptin-KISS1R system and introduce some transcription factors that appear to be involved in the regulation of KISS1R.

Key words: puberty, KISS1R, kisspeptin, gene duplication, alternative splicing.

INTRODUCCIÓ GENERAL

La pubertat és el procés de l'adquisició de la capacitat reproductiva d'un individu immadur i afecta tant els humans com tota la resta dels vertebrats (Dufour i Rousseau, 2007). Aquest procés comporta un control endocrí amb una acció seqüencial de diverses hormones que es produeixen al cervell i que tenen el seu efecte final a les gònades (Roux *et al.*, 2003). En vertebrats, el mecanisme comença a l'hipotàlem amb la secreció de l'hormona alliberadora de gonadotrofines (GnRH), que estimula la hipòfisi o pituitària i que, al seu torn, allibera dues hormones missatgeres, les gonadotrofines (GTH): l'hormona fol·liculoestimulant (FSH) i l'hormona luteïnitzant (LH). Les gonadotrofines circulen pel sistema vascular fins a les gònades, on una vegada s'ha rebut el senyal a través dels seus receptors específics comencen a madurar. En aquest procés de maduració els esteroides sexuals tenen un paper molt important (Funes *et al.*, 2003). En els invertebrats, i malgrat que no tenen un cervell pròpiament dit, l'acció seqüencial de les hormones és molt similar al descrit en els vertebrats (Burke *et*

al., 2006). Fins a finals del segle passat, les GnRH i els seus receptors (GnRHR) van ser considerats com l'escaló superior de l'eix reproductor i, per tant, un factor clau en el seu control. En els últims anys, però, nombrosos estudis genètics i moleculars han descrit un nou sistema, la kisspeptina-KISS1R, el qual controla l'alliberament de les GnRH, per la qual cosa s'ha assignat com a principal regulador del control neuroendocrí de la reproducció i, més concretament, de l'inici de la pubertat (Seminara *et al.*, 2005). En vertebrats, el procés hormonal té el seu inici a partir d'un pèptid, la kisspeptina, i de l'activació del seu receptor, el KISS1R (Seminara *et al.*, 2003). En invertebrats, malgrat que encara no ha estat identificat el lligand que activa el procés, se sospita de la seva existència, a causa de la presència de dos receptors de kisspeptina en un equinoderm, l'erizó de mar (*Strongylocentrotus purpuratus*) (Rosegui *et al.*, 2006). Pel que fa al sistema GnRH/GnRHR, està molt més estudiat i és present en tots els vertebrats (Kah *et al.*, 2007) i invertebrats (Tsai, 2006). També, les GTH/GTHR dels vertebrats tenen les seves hormones homòlogues a les dels invertebrats,

les GSS/GSSR (Mita *et al.*, 2007) (vegeu la figura 1).

Finalment, el descobriment de nombroses formes i isoformes del KISS1R i la publicació de diversos treballs que relacionen el sistema amb altres funcions, com l'acció vasoconstrictora (Mead *et al.*, 2007), la secreció d'insulina (Haugue-Evans *et al.*, 2006) i el càncer (Ohtaki *et al.*, 2003) entre d'altres, han obert un important camp d'investigació. En aquest estudi ens centrarem en el KISS1R, en què recentment s'han descobert fins a tres gens i dues isoformes que poden ajudar a esclarir la diversitat de funcions del sistema kisspeptina-KISSR.

DUPLICACIÓ GÈNICA DEL RECEPTOR DE KISSPEPTINA (KISS1R) EN EL REGNE ANIMAL

La duplicació gènica es considera un dels principals motors de l'evolució, i permet la diversitat biològica i la creació de noves funcions amb gens ja existents.

El gen de la KISS1R no sembla una excepció, i recentment se n'han detectat duplicacions en nombroses espècies, tot i que encara es desconeix l'origen d'aquestes duplicacions (Lee *et al.*, 2009). La primera duplicació s'observa ja en invertebrats (1D), concretament en l'eriçó de mar, el qual presenta dos gens paràlegs. Una segona duplicació (2D) es produeix en vertebrats, en el grup dels peixos teleostis, en què s'originen dos gens paràlegs addicionals del *KISS1R-1*, el *KISS1R-1a*, que aparentment evoluciona envers els gens que després es troben en mamífers, però que possiblement es perd en teleostis, i un segon gen, el *KISS1R-1b*, també present en amfibis. Finalment, en peixos s'observa una tercera duplicació (3D), que origina dos gens, el *KISS1R-2a* i el *KISS1R-2b* (el primer es creu que està actualment extingit). Les relacions d'homologia dels gens del KISS1R en amfibis són les més complexes, amb tres gens diferents, dos gens originats a partir de la duplicació 2D i un tercer a partir de la duplicació 3D (vegeu la figura 2).

MECANISMES DE CONTROL DE L'EXPRESSIÓ EN EL KISS1R EN VERTEBRATS

L'empalmament alternatiu és el mecanisme pel qual a partir d'un transcrit primari de mRNA s'originen diverses variants de mRNA madures conseqüència de les diferents combinacions dels exons gènics. Aquest procés és clau en la regulació gènica i la diversificació de funcions d'un mateix gen (Izquierdo i Valcarcel, 2006). En un treball realitzat en el nostre laboratori s'han detectat, per primera vegada en vertebrats, dues isoformes de KISS1R en un peix teleosti, el llenguado senegalès (*Solea senegalensis*) (Mechaly *et al.*, 2009). En aquesta espècie, el mecanisme d'empalmament alternatiu es produeix per la retenció completa de l'intró 3, el qual provoca l'aparició de dos triplets d'aminoàcids amb un senyal d'aturada a dins de l'intró retingut. Aquest fet probablement genera la formació d'una proteïna truncada per a aquesta isoforma. A més, estudis d'expressió d'ambdues isoformes mostren un patró d'expressió diferent entre cervell i gònades. Mentre que els nivells d'expressió de la isoforma que no reté l'intró són més elevats al cervell en els diferents estadis i sexes, la isoforma que sí que reté l'intró té una expressió més alta en les gònades. D'altra banda, i basant-nos en les seqüències d'accés públic (GenBank NCBI), s'ha pogut observar un mecanisme d'empalmament alternatiu similar en l'ovella. En aquest dar-

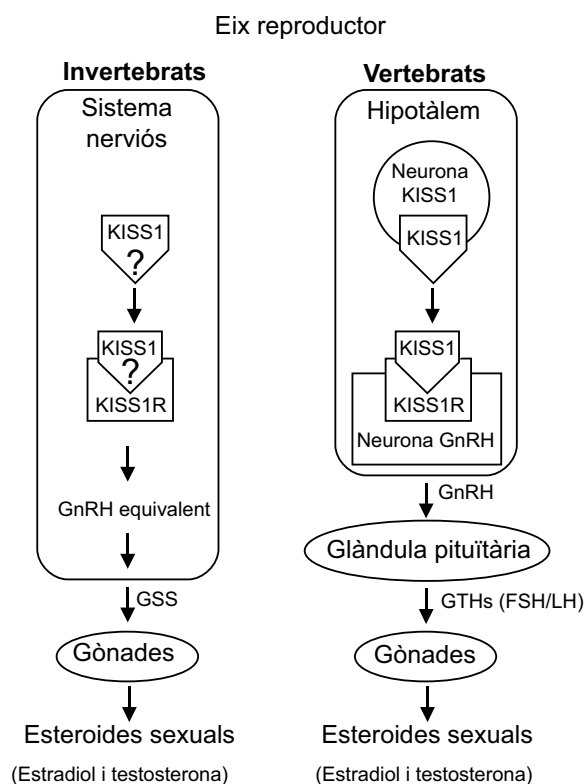


Figura 1. Esquema comparatiu de l'eix reproductor d'invertebrats i vertebrats. Kisspeptina (KISS1); receptor de kisspeptina (KISS1R); hormones alliberadores de gonadotrofines (GnRH); substància estimuladora de gònades (GSS); hormones gonadotrofines (GTH: LH, hormona luteïnitzant i FSH, hormona fol·liculoestimulant).

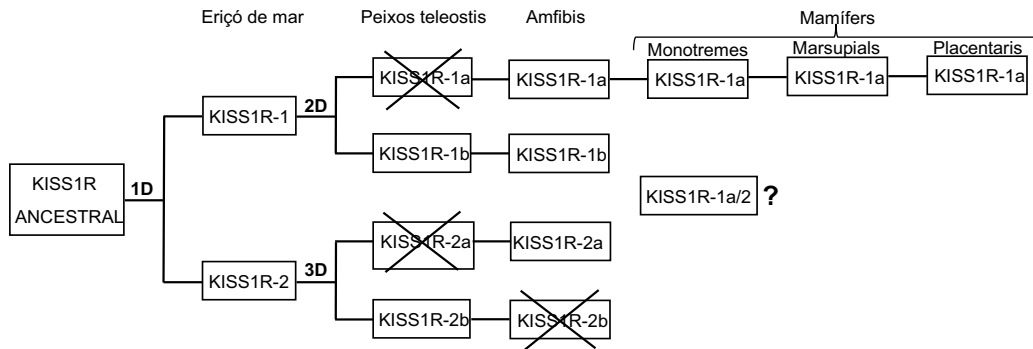


Figura 2. Proposta de la història evolutiva dels gens *KISS1R* originats a partir d'un gen ancestral comú. Duplicacions (D), modificacions i pèrdues de gens (modificat de Lee *et al.*, 2009).

rer cas, i a diferència del que passa en el llenguado senegalès, l'intró 1 és el que es reté. Finalment, s'ha observat en el ratolí un altre mecanisme d'empalmament alternatiu, provocat en aquest cas per una deleció de 51 aminoàcids, en què es perd el domini transmembranós 4 (TM4) i, per tant, possiblement la funció del receptor (vegeu la figura 3).

CONCLUSIÓ GENERAL I PERSPECTIVES

En els últims anys, s'han publicats nombrosos estudis sobre el sistema kisspeptina-KISS1R amb relació, principalment, al seu paper en la regulació de l'eix reproductiu. Existeixen gran quantitat d'espècies en què s'ha clonat, caracteritzat i localitzat el lligand i el receptor. Malgrat això, avui dia no existeix cap estudi dels promotors i dels mecanismes reguladors de la kisspeptina i el KISS1R. En un treball rea-

litzat en el nostre laboratori amb un peix teleostí com a model, l'halibut de l'Atlàntic (*Hippoglossus hippoglossus*), es va seqüenciar una regió de prop de 1000 bp del promotor, en què es va detectar la presència, entre d'altres, del factor de transcripció de la proteïna d'unió a l'octàmer (OCT1). Un factor de la mateixa família, l'OCT2, es va comprovar que té un paper fonamental en el control neuroendocrí de la pubertat en mamífers (Ojeda *et al.*, 1999). Aquesta observació obre moltes possibilitats de recerca en l'estudi del control de la pubertat. D'altra banda, estudis bioinformàtics han permès detectar en altres regions promotores de peixos (peix zebra, *fugu*, *pufferfish*, *medaka* i *stickleback*) la presència d'aquest factor (Mechaly *et al.*, dades no publicades).

En resum, s'ha descrit la presència d'un pèptid, la kisspeptina, i el seu receptor, KISS1R, en moltes espècies de vertebrats i almenys en un invertebrat, l'eriçó de mar. Ara bé, el control de la pubertat amb

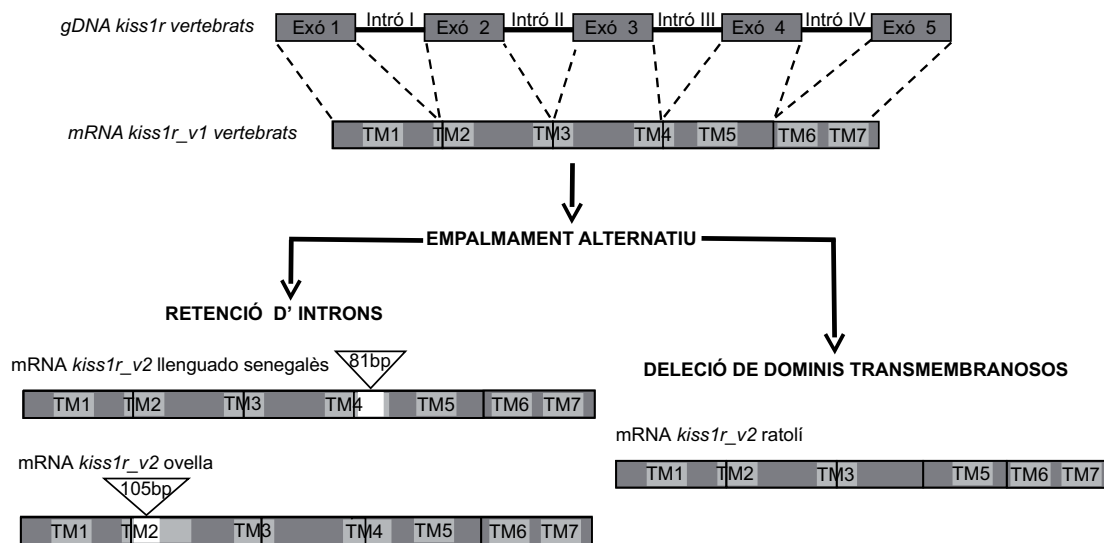


Figura 3. Model esquemàtic dels diferents tipus de mecanismes d'empalmament alternatiu del receptor de kisspeptina (KISS1R) detectats en vertebrats.

el sistema kisspeptina-KISS1R en els vertebrats implica una combinació de diferents gens i isoformes. Això implica que el control de la pubertat en animals pot ser més complex del que inicialment es preveia. Així, en una mateixa espècie l'inici de la pubertat pot estar controlada per més d'un gen, amb les seves corresponents isoformes. Aquest fet també explicaria l'acció pleotròpica del sistema kisspeptina-KISS1R, amb acció en moltes funcions fisiològiques. Queda clar que el sistema kisspeptina-KISS1R seguirà sent, de ben segur, objecte d'una intensa activitat de recerca arreu del món en els propers anys.

BIBLIOGRAFIA

- BURKE, R. D.; ANGERER, L. M.; ELPHICK, M. R.; HUMPHREY, G. W.; YAGUCHI, S.; KIYAMA, T.; LIANG, S.; MU, X.; AGCA, C.; KLEIN, W. H.; BRANDHORST, B. P.; ROWE, M.; WILSON, K.; CHURCHER, A. M.; TAYLOR, J. S.; CHEN, N.; MURRAY, G.; WANG, D.; MELLOTT, D.; OLINSKI, R.; HALLBOOK, F.; THORNDYKE, M. C. (2006). «A genomic view of the sea urchin nervous system». *Dev. Biol.*, 300: 434-460.
- DUFOUR, S.; ROUSSEAU, K. (2007). «Neuroendocrinology of fish metamorphosis and puberty: Evolutionary and ecophysiological. evolutionary and ecophysiological perspectives». *J. Marine Sci. Technol.*, 15: 55-68.
- 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 regulation of gonadotropin secretion in the mouse». *Endocrinology*, 145: 4073-4077.
- HAUGE-EVANS, A. C.; RICHARDSON, C. C.; MILNE, H. M.; CHRISTIE, M. R.; PERSAUD, S. J.; JONES, P. M. (2006). «A role for kisspeptin in islet function». *Diabetologia*, 49: 2131-2135.
- IZQUIERDO, J. M.; VALCÁRCEL, J. (2006). «A simple principle to explain the evolution of pre-mRNA splicing». *Genes Dev.*, 20: 1679-1684.
- KAH, O.; LETHIMONIER, C.; SOMOZA, G.; GUILGUR, L. G.; VAILLANT, C.; LAREYRE, J. J. (2006). «GnRH and GnRH receptors in metazoa: A historical, comparative, and evolutive perspective». *Gen. Comp. Endocrinol.*, 153: 346-364.
- LEE, Y. R.; TSUNEKAWA, K.; MOON, M. J.; UM, H. N.; HWANG, J. I.; OSUGI, T.; OTAKI, N.; SUNAKAWA, Y.; KIM, K.; VAUDRY, H.; KWON, H. B.; SEONG, J. Y.; TSUTSUI, K. (2009). «Molecular evolution of multiple forms of kisspeptins and GPR54 receptors in vertebrates». *Endocrinology*. [En premsa]
- MEAD, E. J.; MAGUIRE, J. J.; KUC, R. E.; DAVENPORT, A. P. (2007). «Kisspeptins are novel potent vasoconstrictors in humans, with a discrete localization of their receptor, G protein-coupled receptor 54, to atherosclerosis-prone vessels». *Endocrinology*, 148: 140-147.
- MECHALY, A. S.; VIÑAS, J.; PIFERRER, F. (2009). «Identification of two isoforms of the kisspeptin-1 receptor (kiss1r) generated by alternative splicing in a modern teleost, the Senegalese sole (*Solea senegalensis*)». *Biol. Reprod.*, 80: 60-69.
- MITA, M.; YAMAMOTO, K.; YOSHIKUNI, M.; OHNO, K.; NAGAHAMA, Y. (2007). «Preliminary study on the receptor of gonad-stimulating substance (GSS) as a gonadotropin of starfish». *Gen. Comp. Endocrinol.*, 153: 299-301.
- 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.; FUJINO, M. (2001). «Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor». *Nature*, 411: 613-617.
- OJEDA, S. R.; HILL, J.; HILL, D. F.; COSTA, M. E.; TAPIA, V.; CORNEA, A.; YING, J. M. A. (1999). «The Oct-2 POU domain gene in the neuroendocrine brain: A transcriptional regulator of mammalian puberty». *Endocrinology*, 140: 3774-3789.
- ROA, J.; VIGO, E.; CASTELLANO, J. M.; NAVARRO, V. M.; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, R.; CASANUEVA, F. F.; DIEGUEZ, C.; AGUILAR, E.; PINILLA, L.; TENASEMPERE, M. (2006). «Hypothalamic expression of KiSS-1 system and gonadotropin-releasing effects of kisspeptin in different reproductive states of the female rat». *Endocrinology*, 147: 2864-2878.
- ROUX, N. DE; 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.
- SEMINARA, S. B.; KAISER, U. B. (2005). «New gatekeepers of reproduction: GPR54 and its cognate ligand, KiSS-1». *Endocrinology*, 146: 1686-1688.
- SEMINARA, S. B.; MESSENGER, 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.
- TSAI, P. S. (2006). «Gonadotropin-releasing hormone in invertebrates: Structure, function, and evolution». *Gen. Comp. Endocrinol.*, 148: 48-53.