

## Actualizaciones

### Kisspeptinas: las protagonistas del eje gonadal

*Kisspeptins: The protagonists of the gonadal axis*

Dres. Julieta Calé, María del Carmen Zalazar, Gabriel Faraj

Servicio de Endocrinología, Complejo Médico (PFA) Churruca Visca, Buenos Aires, Argentina.

E-mail: endochurruca@gmail.com

#### Resumen

El gen Kiss1 codifica una familia de péptidos llamada kisspeptinas, cuya expresión es alta en regiones cerebrales clave en la regulación de la secreción de GnRH. Su receptor GPR54 se expresa en placenta, páncreas, riñón, testículo, hipófisis y cerebro. Las kisspeptinas son un eslabón fundamental del eje hipotálamo-hipófiso-gonadal al activar la secreción de GnRH para iniciar la pubertad y mantener la función reproductiva del adulto. La acción de las kisspeptinas en el núcleo arcuato está principalmente vinculada con el *feedback* negativo que ejercen los esteroides gonadales regulando el eje gonadal. En el núcleo anteroventral periventricular (AVPV), en cambio, se vinculan con el *feedback* positivo de los estrógenos, responsable del inicio de la pubertad y de la generación del pico de LH preovulatorio. También se halló un aumento de la expresión de Kiss1 cerebral durante la pubertad independientemente de la concentración de hormonas sexuales, lo que sugiere que las kisspeptinas actúan como gatillo del despertar gonadal. Las kisspeptinas integran las vías metabólicas con el eje gonadal en su función reproductiva tanto en la obesidad y la diabetes como en la desnutrición y las enfermedades crónicas. En el embarazo, sus concentraciones aumentan y se sugiere que la placenta es su principal fuente. También se las vincula con la regulación de la invasión del tejido trofoblástico al útero, ya que persiste elevada en el coriocarcinoma y en la enfermedad trofoblástica gestacional. Su identificación amplía el conocimiento de la fisiología y fisiopatología de la reproducción y contribuirá a mejorar el entendimiento de patologías habituales de la práctica diaria, con lo cual probablemente se modifiquen en un futuro sus diversos enfoques terapéuticos.

**Palabras clave:** kisspeptinas, Kiss1, GPR54, metastatinas.

#### Abstract

*Kiss1 gene encodes a family of peptides called kisspeptins whose expression is higher in some regions of the forebrain, key of GnRH regulation. Its receptor GPR54 is expressed in placenta, pancreas, kidney, testis, pituitary and brain. Kisspeptins are a crucial link in*

*the hypothalamic-pituitary-gonadal secretion of GnRH to initiate puberty and maintain reproductive function in adulthood. Kisspeptin neurons in the arcuate nucleus may participate in the negative feedback regulation of gonadotropin secretion. In the anteroventral periventricular nucleus (AVPV) instead are linked to estrogen positive feedback responsible for the onset of puberty and the generation of preovulatory LH peak. There was also found an increase of expression of Kiss1 in the brain during puberty, regardless of the sex hormone levels, suggesting kisspeptin as the first step in gonadal awakening. The response to kisspeptin injection also appears to be dose-dependent and varies during different phases of the female cycle. Kisspeptins play a key role as a link between nutritional status and fertility in obesity, diabetes, malnutrition and chronic diseases. Concentrations increases during pregnancy involving the placenta as their main source. Kisspeptin is implicated in the regulation of cellular migration within placental trophoblastic tissue. Plasma levels of kisspeptins remain elevated in choriocarcinoma and gestational trophoblastic disease. The identification of kisspeptins expands knowledge of physiology and pathophysiology of reproduction, improving the understanding of common diseases in daily practice and will probably change their therapeutic approaches.*

**Key words:** kisspeptins, Kiss1, GPR54, metastatin.

#### Introducción

La capacidad reproductiva en el ser humano comienza en la pubertad con la activación de un complejo proceso de eventos neuroendocrinos. El control hormonal de la reproducción lo lleva a cabo el eje gonadotropo, que está compuesto por tres elementos fundamentales: la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH hipotalámica); las gonadotropinas hipofisarias: hormona luteinizante (LH) y foliculoestimulante (FSH); y los esteroides sexuales producidos en las gónadas. Estos últimos son los mayores reguladores de la secreción de GnRH a través de circuitos de retroalimentación o *feedback* positivos y negativos bien conocidos. A su vez este eje es muy

sensible a otras señales centrales y periféricas, como las provenientes del adipocito a través de la leptina, y otros neuropéptidos cerebrales y hormonas.

Lo que resulta un misterio es su verdadero gatillo de activación en el momento de la pubertad, pero desde el año 2001 ciertas investigaciones resultaron revolucionarias al poner a una familia de péptidos llamada kisspeptinas y su receptor GPR54 en el centro de las miradas<sup>1</sup>.

### Kisspeptinas

El gen Kiss1 fue descrito en el año 1996 como un gen supresor de metástasis por su alta expresión en células tumorales no metastáticas de melanoma y mama<sup>2</sup>. Las letras “ss” indican “secuencia supresora” y “Ki” fue agregado como prefijo, dado que la molécula fue descubierta en Hershey, Pensilvania, cuna del famoso chocolate Kiss<sup>3,4</sup>. Este gen codifica una proteína de 154 aminoácidos perteneciente a la familia de hormonas aminopeptídicas arginina fenilalanina. Es enzimáticamente clivada a un péptido de 54 aminoácidos conocido como kisspeptina 54 o “metastina”, así como en otros péptidos de 14, 13 y 10 aminoácidos (Figura 1)<sup>1</sup>. Todos comparten el decapeptido carboxilo-terminal requerido para su actividad biológica<sup>5-7</sup>. El gen está ubicado en varios tejidos periféricos como placenta, ovario, testículo, páncreas e hígado<sup>5,7-9</sup>.

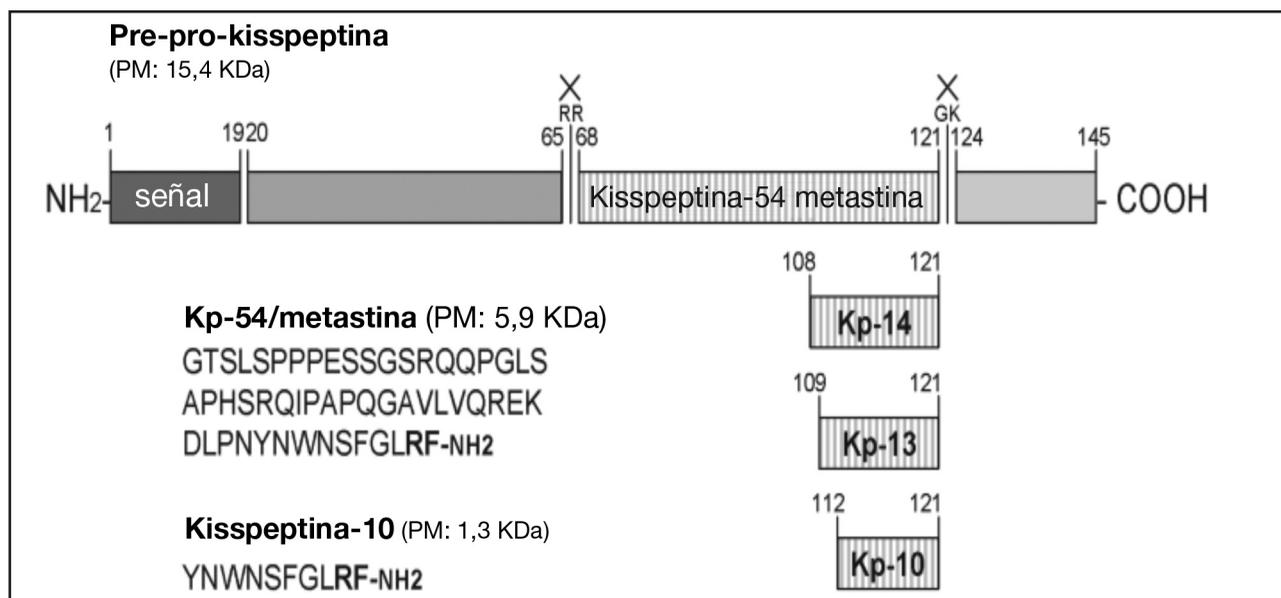
No solo se expresan en células tumorales, también se ha encontrado alta expresión de kisspeptinas en placenta, en neuronas y en regiones cerebrales que son

importantes en la regulación de la secreción de GnRH como en el núcleo arcuato (Arc), núcleo periventricular (PV), núcleo anteroventral periventricular (AVPV), área preóptica anterodorsal y en el núcleo de la estría terminal<sup>10</sup>. La expresión de neuronas kisspeptinas en el núcleo AVPV es sexualmente dimórfica y es mayor en mujeres, quizás porque esta área es de mayor volumen y contiene más neuronas<sup>11</sup>.

En el año 2001 se da a conocer su receptor GPR54 perteneciente a los ligados a la proteína G que media su acción al aumentar el calcio intracelular vía fosfatidilinositol y activación MAP-quinasa como los típicos procesos mediados por proteínas Gq<sup>5,12,7,13</sup>. Este receptor se expresa en varios tejidos periféricos como placenta, páncreas, riñón, testículo e hipófisis, así como en distintas áreas del sistema nervioso central como hipotálamo, área preóptica, cerebro medio, hipocampo amígdala y médula<sup>5,8,12</sup>.

Las kisspeptinas estimulan la secreción de gonadotrofinas por activación de su receptor en neuronas GnRH hipotalámicas, y aunque no hay pruebas inequívocas que demuestren contacto sináptico directo entre sus neuronas, el bloqueo con acyline (antagonista GnRH) en ratas, ratones y primates impide el aumento de LH y FSH asociado con la administración central o periférica de kisspeptinas<sup>14-16</sup>.

En el año 2004 se investigó la acción de las kisspeptinas exógenas en humanos como secretagogos de gonadotrofinas utilizando la vía intravenosa. Se comparó su acción con GnRH, el secretagogo más re-



**Figura 1.** Formas estructurales de kisspeptinas humanas, generadas del clivaje de un precursor común, la prepro-kisspeptina, una proteína de 154 aminoácidos que contiene un péptido señal de 19 aminoácidos y una región central de 54 aminoácidos, flanqueada por dos sitios de clivaje marcados con una X que dan lugar a kisspeptina 54 o metastina. Luego el clivaje de metastina genera kisspeptinas de menor peso molecular: kisspeptina 14 (Kp 14), kisspeptina 13 (Kp 13) y kisspeptina 10 (Kp 10). Todas las kisspeptinas son capaces de unirse y activar su receptor GPR54.

presentativo, teniendo en cuenta que su comparación biológica es limitada por la diferencia entre dosis, vías de administración, método de análisis y antigüedad de los estudios. Los diferentes fragmentos kisspeptinas mostraron todos potencia similar *in vitro*, pero *in vivo*, el más potente es la kisspeptina 54. En hombres sanos con 100 mcg de GnRH intravenoso en bolo, el pico de LH es el 700% mayor que el basal<sup>17</sup> con un aumento de FSH menor o igual al 100%<sup>17-19</sup>. En comparación, la infusión intravenosa de 50 nmol de kisspeptina 54 produce un pico de LH y FSH del 500% y 150% por encima del basal respectivamente<sup>20,21</sup>. En mujeres, ambos secretagogos presentan respuesta de gonadotropinas dosis-dependiente y variable en las diferentes fases del ciclo menstrual con una respuesta máxima de LH en la fase preovulatoria<sup>18,22-24</sup>. Sus potencias serían similares pero como se señaló anteriormente, los trabajos de infusión de kisspeptinas en mujeres utilizaron la vía subcutánea, lo que dificulta su comparación dada la distinta biodisponibilidad de la droga por esta vía. Su gran potencia puede ser explicada por su acción directa sobre su receptor GPR54 expresado en las neuronas GnRH y su rápida inducción de Fos en roedores (un marcador de activación neuronal)<sup>16</sup>.

### Kisspeptinas y pubertad

El inicio de la pubertad es gatillado por la activación de neuronas cerebrales que producen GnRH e inducen la liberación hipofisaria de LH y FSH para el despertar gonadal. Durante muchos años, en el intento de hallar el verdadero gatillo del eje gonadal, se investigaron neuropéptidos cerebrales como el neuropéptido Y (NPY), el ácido gamma-aminobutírico (GABA) y la leptina. Estas investigaciones solo sumaron ambigüedad hasta la aparición de las kisspeptinas<sup>1,25,26</sup>.

¿Cómo aparecen las kisspeptinas? Comienzan a surgir de estudios en ratas y humanos. En el año 2003, en Inglaterra, un grupo de investigadores logró inhibir el inicio de la pubertad en roedores al delectonar parte del gen GPR54<sup>27</sup>. El mismo año, se publicaron casos de mutaciones de este gen en humanos con hipogonadismo hipogonadotrófico idiopático<sup>28</sup>. Por otro lado, se halló en animales un aumento de la expresión del gen Kiss1 durante la pubertad independientemente de la concentración de hormonas sexuales como primer paso en este proceso<sup>29</sup>. Para GPR54, esto sería algo diferente, con aumento de su expresión en la pubertad en mujeres pero no en hombres castrados, lo que sugiere que en este caso su expresión sí dependería de los esteroides sexuales<sup>30</sup>.

La inyección crónica intermitente de kisspeptina induce la pubertad en ratas inmaduras y en monos rhesus, lo que sugiere que la activación de GPR54 es aparentemente suficiente para gatillar la liberación de

GnRH puberal<sup>31</sup>.

Lo que resulta un misterio es explicar el *feedback* positivo que inicia la pubertad y los picos preovulatorios de LH en el ciclo femenino y el *feedback* negativo que regula el eje en la adultez. Pero las kisspeptinas nos acercan una teoría que recién se empieza a develar.

Las neuronas hipotalámicas son blancos directos de los esteroides gonadales. La secreción de GnRH se encuentra regulada por esteroides sexuales a través de *feedback* positivos y negativos, pero se desconoce cuáles son los mecanismos celulares y moleculares subyacentes a esta regulación. Las neuronas GnRH no expresan receptor estrogénico alfa (ER $\alpha$ ) ni receptor de andrógenos (AR)<sup>32</sup>, lo que sugiere que otras neuronas esteroideas intermediarían este mecanismo.

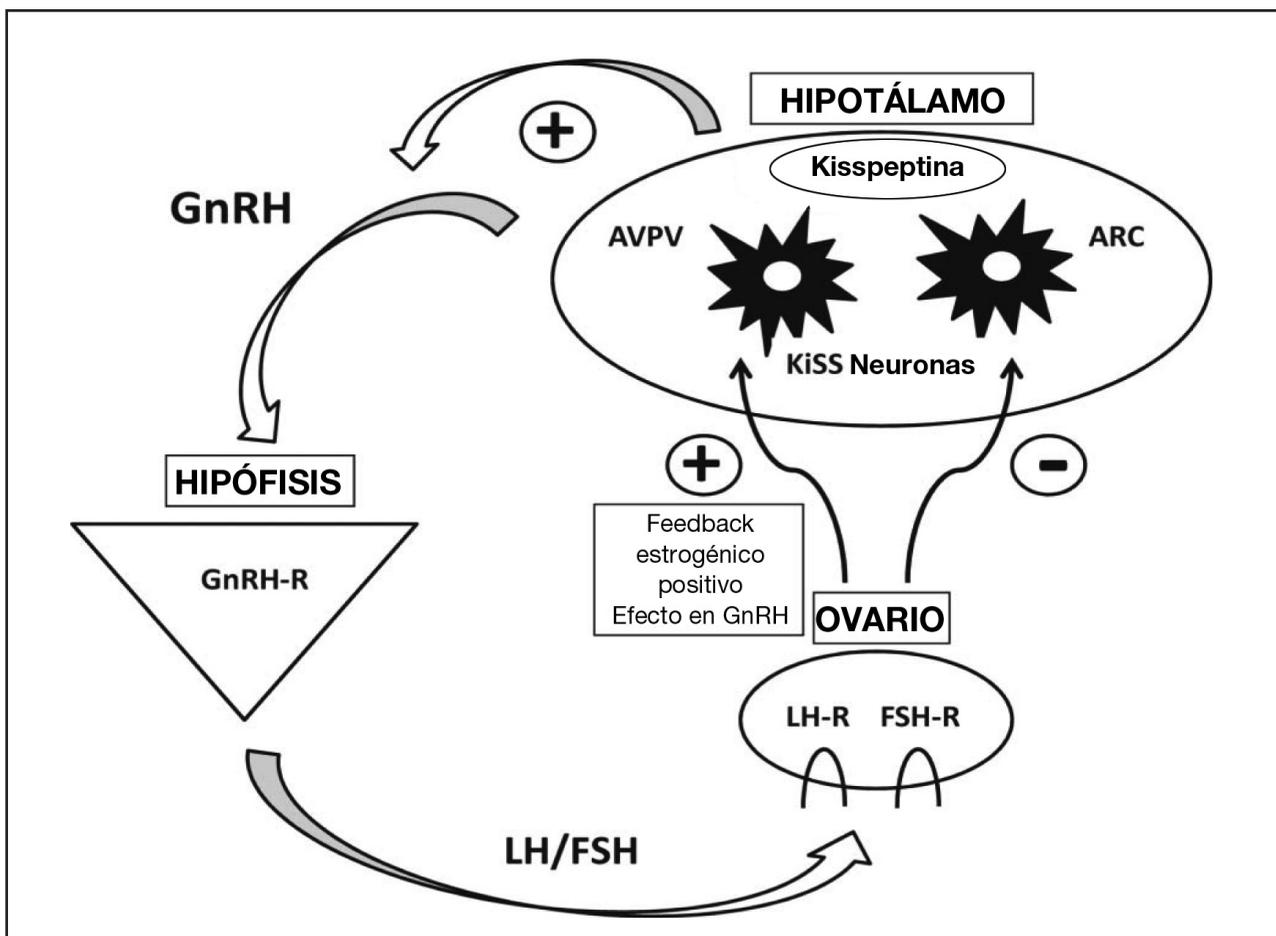
Estudios en animales en diferentes momentos del desarrollo, en ambos sexos y en diferentes núcleos del hipotálamo, han comenzado a pintar un verdadero cuadro de cómo las kisspeptinas pueden lograr su control regulatorio.

Según las investigaciones realizadas en animales, el núcleo Arc está principalmente vinculado al *feedback* negativo mediado por los estrógenos en hembras y por estrógenos y andrógenos en los machos<sup>33</sup>. El núcleo AVPV se vincula con el *feedback* positivo que los estrógenos ejercen sobre el eje, responsable del inicio de la pubertad y de la generación del pico de LH preovulatorio en hembras (Figura 2).

Este efecto opuesto de los esteroides gonadales sobre ambos núcleos hipotalámicos continúa siendo un interrogante. En el núcleo Arc se encontraron neuronas que coexpresan Kiss1 y el 65% de AR y el 88% de receptor de estrógenos (ER)<sup>33</sup>. Casi todos los ER en neuronas Kiss1 son ER $\alpha$  y solo el 25 al 30% son ER $\beta$ . Se postula que los estrógenos al actuar en sus receptores ER $\alpha$  logran reclutar coactivadores de transcripción de kisspeptinas en el AVPV y correpresores de su transcripción en el Arc<sup>34</sup>. De hecho, los ratones con mutaciones del receptor ER $\alpha$  pierden la acción de *feedback* negativo gonadal sobre kisspeptinas, mientras que las mutaciones del ER $\beta$  no lo hacen. Esto indica que la regulación de Kiss1 en el hipotálamo está principalmente ejercida por los receptores ER $\alpha$ <sup>35</sup>.

Los resultados de los estudios sobre la acción directa de las kisspeptinas en hipófisis son contradictorios.

Si las kisspeptinas son la llave maestra que regula la secreción de GnRH, entonces las anormalidades en este sistema receptor ligando podrían explicar ambos polos de los desórdenes en el espectro de la pubertad. Así como se han publicado mutaciones en menos en pacientes con hipogonadismo hipogonadotrófico idiopático, también se conocen mutaciones con ganancia de función en el receptor GPR54 en pacientes con pubertad



**Figura 2<sup>38</sup>.** AVPV: núcleo periventricular anteroventral. ARC: núcleo arcuato. GnRH-R: receptor de la hormona liberadora de gonadotropinas. LH-R: receptor de hormona luterinizante. FSH-R receptor de hormona foliculoestimulante.

precoz<sup>36</sup>.

La acción de las kisspeptinas es clave en el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal, como un eslabón más de esta cadena activando la secreción de GnRH para iniciar la pubertad y mantener la función reproductiva en la adultez<sup>37</sup>.

### Kisspeptinas y minipubertad

A pesar de que la actividad de GnRH está suprimida en la niñez, el eje se encuentra activo durante un período corto de tiempo luego del nacimiento. Esta minipubertad neonatal está asociada con un aumento de la población de células de Sertoli y células germinales en el hombre, y es una verdadera ventana crítica para el desarrollo del potencial espermatogénico de la gónada en el futuro<sup>39</sup>. En la literatura se hace referencia a un paciente con mutación del GPR54 que se presenta en la clínica con microfaló, criptorquidia, desarrollando un hipogonadismo hipogonadotrófico<sup>40</sup>. Una vez más esto vincularía a las kisspeptinas con la acción del eje en otro momento crítico del desarrollo gonadal<sup>41,42</sup>.

### Kisspeptinas y metabolismo

Según datos experimentales en seres humanos y animales, las kisspeptinas tendrían un rol integrador con las vías metabólicas en la función reproductiva.

#### • Kisspeptinas y leptina

Se sabe que existe una íntima relación entre el estatus nutricional y la fertilidad. La reproducción es un proceso de alta demanda energética. Durante una desnutrición o deprivación alimentaria, el eje se regula en menos como un mecanismo de defensa para preservar energía.

La leptina, hormona derivada del adipocito, es secretada en proporción a las reservas grasas del organismo y actúa como un factor de saciedad que regula principalmente el peso corporal. También interviene en la regulación de procesos fisiológicos como implantación, función inmune y reproducción<sup>43</sup>.

En hombres obesos, los andrógenos circulantes se correlacionan en forma inversa con los valores de leptina circulante<sup>44</sup> y se ha descrito en humanos obesos

una resistencia funcional a la leptina<sup>45</sup>. En humanos, se han descrito mutaciones del gen de la leptina y su receptor en pacientes con una rara enfermedad que asocia hipogonadismo hipogonadotrófico y obesidad mórbida<sup>43</sup>, lo que pone en evidencia la interrelación existente entre la leptina y el eje gonadal.

Se sospechaba que el hipogonadismo sobreviene por falta de regulación de la leptina en la secreción de GnRH, pero las neuronas secretoras de esta hormona no coexpresan receptores de leptina<sup>46</sup>. Sin embargo, el 40% de las neuronas del núcleo arcuato sí lo hacen, regulando de esta manera la expresión de Kiss1. También se demostró que el hipogonadismo resultante en ratas con deprivación alimentaria o leptinorresistentes se revierte con la administración de kisspeptina<sup>47,48</sup> y que ratones con delección de leptina (ratones ob/ob) o de su receptor (ratones db/db) desarrollan obesidad, insulinoresistencia, diabetes e hipogonadismo<sup>43</sup>. La expresión de ARNm Kiss1 hipotalámico está disminuida significativamente en el ratón ob/ob comparado con el salvaje y aumenta luego de la administración de leptina<sup>47,49</sup>. Mas aún la administración de leptina aumenta el ARNm Kiss1 hipotalámico así como las concentraciones de LH y testosterona (Te) en ratones machos diabéticos e hipogonádicos.

Las mujeres posmenopáusicas muestran aumento de la expresión del gen Kiss1 e hipertrofia de las neuronas kisspeptinas del núcleo infundibular hipotalámico<sup>50</sup>. Un análisis histológico post mórtem del hipotálamo de hombres obesos mostró hipotrofia de neuronas kisspeptinas y/o expresión disminuida de Kiss1.

#### • *Hipogonadismo en obesidad*

Se propusieron en obesos varias situaciones metabólicas patológicas y factores testiculares como contribuyentes de su estado hipogonádico<sup>51</sup>. Estos son: hiperglucemia, inflamación, estrés oxidativo y disminución de función en las células de Leydig testiculares.

En obesos se evidenció una respuesta normal de LH y FSH al estímulo con GnRH intravenoso, lo que sugiere un defecto hipotalámico más que hipofisario<sup>52</sup>. La disminución de la secreción de GnRH del hipotálamo sería entonces la llave que explicaría el hipogonadismo con una menor amplitud en el pulso y la masa secretoria de LH<sup>53</sup>. A su vez, el contenido hipotalámico de Kiss1 (ARNm) aumenta significativamente luego de la gonadectomía y disminuye con el reemplazo de esteroides sexuales<sup>54</sup> y el tratamiento con inhibidores de la aromatasa produce normalización de la Te sérica en obesos con hipogonadismo<sup>55</sup>.

#### • *Kisspeptinas e hiperglucemia*

El sensor de insulina en el cerebro es requerido para la actividad normal del eje hipotálamo-hipofísico-

gonadal. La Te plasmática está relacionada inversamente con el control glucémico en hombres con diabetes 2. En un trabajo en hombres diabéticos tipo 1 y 2 emparejados por edad e índice de masa muscular (IMC), los diabéticos 2 presentaron mayor prevalencia de hipogonadismo<sup>51</sup>. Esto sugiere que en un comienzo la insulinoresistencia y la hiperglucemia podrían jugar un rol en la patogenia del hipogonadismo.

En ratas diabéticas tipo 1 inducidas con estreptozotocina, el ARNm Kiss1 hipotalámico se encuentra disminuido y no aumenta posorquidectomía. Solo la administración de kisspeptinas produce una secreción importante de LH y Te en estos animales<sup>49</sup>. La administración repetida de kisspeptinas restaura parcialmente el peso de la próstata y los testículos<sup>52</sup>. Estos estudios aún no se han realizado en animales con diabetes tipo 2.

#### • *Kisspeptinas e inflamación*

Desde hace tiempo, la inflamación fue reconocida como supresora del eje reproductivo en enfermedades severas crónicas.

Se sabe que la obesidad y la diabetes tipo 2 están asociadas con inflamación y aumento del estrés oxidativo<sup>53</sup>. La proteína C reactiva (PCR) circulante y los marcadores de inflamación asociados con riesgo cardiovascular aumentado están elevados en hombres hipogonádicos con diabetes tipo 2, en comparación con hombres eugonádicos<sup>51</sup>.

Hay datos emergentes que unen kisspeptinas e inflamación, ya que la administración de un agente proinflamatorio (lipopolisacárido) disminuye la expresión del ARNm Kiss1 hipotalámico así como la LH plasmática en ratas ovariectomizadas<sup>54</sup> y la indometacina bloquea completamente estos dos efectos supresivos.

#### **Kisspeptinas y placenta**

Hay bajos niveles de kisspeptinas en la circulación periférica (1,3 nmol/l) en hombres y mujeres no embarazadas. En embarazadas, la concentración plasmática de kisspeptinas aumenta a medida que transcurre el embarazo partiendo de valores de 1230 pmol/l hasta 9590 pmol/l en el último trimestre, y sus niveles descienden al quinto día posparto<sup>56</sup>. Esto involucraría a la placenta como fuente principal de este péptido. De hecho se ha encontrado en abundancia en la interfase materno-fetal del sincitiotrofoblasto, cercano al sistema vascular, lo que permite su pasaje a la sangre materna.

Este mecanismo podría mantener el eje suprimido durante el embarazo. Si bien es un agonista de éste, al igual que con GnRH, las concentraciones altas y permanentes tendrían un efecto desensibilizador de su receptor GPR54 y disminuiría los valores de gonadotropinas.

También se vincula a la kisspeptina 10 en especial

en la regulación de la invasión del tejido trofoblástico al tejido uterino materno. La más alta expresión de Kiss1 y su receptor en placenta coincide con el momento de invasión trofoblástica cuando la regulación de este proceso es de crítica importancia<sup>57</sup>. En el coriocarcinoma o en la enfermedad trofoblástica gestacional en la que hay retención placentaria posparto, los niveles de kisspeptina al igual que la gonadotropina coriónica humana (HCG) persisten elevados luego del parto y bajan a niveles indetectables luego del tratamiento exitoso con quimioterapia<sup>58,59</sup>.

### Conclusiones

La identificación de las kisspeptinas y su receptor GPR54 amplió el entendimiento de la fisiología y la fisiopatología de la reproducción.

Las kisspeptinas cumplen un rol fundamental en el efecto estimulador de la liberación de GnRH del hipotálamo, como se demostró tras la administración de kisspeptina 54 en hombres y mujeres.

Muchos desórdenes reproductivos que se ven en la práctica clínica se caracterizan por alteraciones en la secreción de GnRH. La más severa ocurre en el hipogonadismo hipogonadotrófico idiopático, caracterizado por falla en iniciar la pubertad, infantilismo sexual e infertilidad y en el otro extremo, la pubertad precoz. Otras patologías que cursan con pubertad normal como el síndrome de ovario poliquístico y la amenorrea hipotalámica secundaria a estrés, ejercicio o anorexia, también presentan una alteración en la frecuencia y amplitud de los pulsos de GnRH.

Se sabe que la leptina influye en el eje gonadal a través de las kisspeptinas y logra interrelacionar los trastornos metabólicos, tan comunes de la práctica cotidiana, y la fertilidad.

También actúan en el embarazo regulando la invasión del sinciotrofoblasto, tal vez inhibiendo el eje gonadal en las embarazadas.

Las kisspeptinas abren de esta manera un sinnúmero de implicancias terapéuticas.

Son de utilidad como marcador de seguimiento en la enfermedad trofoblástica gestacional o coriocarcinoma. Podrían ser utilizadas en tratamientos de fertilidad por su acción agonista sobre el eje hipotálamo-hipofiso-gonadal, y representan una alternativa a la inyección de gonadotropinas exógenas, quizás con menor riesgo al tan temido síndrome de hiperestimulación ovárica. El diseño de agonistas de GPR54 por vía oral ofrecería un avance muy práctico para la paciente y con menos complicaciones a las cuales enfrentarse.

Otra herramienta podría ser el desarrollo de superagonistas GPR54 que desensibilicen el eje como una

opción terapéutica alternativa a la inyección de agonistas de GnRH de larga duración (depot), como el leuprolide utilizado actualmente para la castración farmacológica en pacientes oncológicos con cáncer de mama o próstata. Antagonistas de GPR54 en casos de pubertad precoz, etcétera.

Las diversas opciones terapéuticas todavía están siendo estudiadas. El tiempo y las distintas investigaciones médicas a nivel mundial quizás cambien el proceder de pediatras, endocrinólogos, ginecólogos y oncólogos y se logren nuevos tratamientos con menos complicaciones, mejores vías de administración y mejores resultados para nuestras pacientes.

### Referencias

1. Tena-Sempere M. GPR54 and kisspeptin in reproduction. *Human Reproduction Update* 2006; 12(5):631-639.
2. West A, Votja PJ, Welch DR, Weissman BE. Chromosome localization and genomic structure of the Kiss-1 metastasis suppressor gene (Kiss1). *Genomics* 1998; 54:145-148.
3. Lee JH, Welch DR. Identification of highly expressed gene in metastasis-suppressed chromosome 6/human malignant melanoma hybrid cells using subtractive hybridization and differential display. *Int J Cancer* 1997; 71:1035-1041.
4. Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, Phillips KK, Trent JM, Weissman BE, Welch DR. Kiss1 a novel human malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88:1731-1737.
5. Kotani M, Detheux M, Vanderbogaerde 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. *J Biol Chem* 2001; 276:34631-34636.
6. Harms JF, Welch DR, Miele ME. Kiss 1 metastasis suppression and emergent pathways. *Clin Exp Metastasis* 2003; 20:11-18.
7. Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, Mutsumoto H, Hori A, Kaneshashi K, Terao Y, Kumano S, Takatsu Y, Masuda Y. Metastasis suppressor gene Kiss1 encodes peptide ligand of a G protein coupled receptor. *Nature* 2001; 411:613-617.
8. Lee JH, Nguyen T, O'Neil GP, Cheng R, Liu Y, Howard AD, Coulombe N, Tan CP, Tang-Nguyen AT, George SR. Discovery of a receptor related to the galanin receptors. *Febs Letters* 1999; 446:103-107.
9. Hameed S, Jayasena CHN, Dhillon WS. Review: Kisspeptin and fertility. *Journal of Endocrinology* 2001; 208:97-105.
10. Dungan HM, Clifton DK, Steiner RA. Minireview:

- Kisspeptin neurons as central processors in the regulation of gonadotropin releasing hormone secretion. *Endocrinology* 2006; 147(3):1154-1158.
11. Bleier R, Byne W, Siggelkow I. Cytoarquitectonic sexual dimorphisms of the medial preoptic and anterior hypothalamic areas in guinea pig, rat, hamster and mouse. *J Comp Neurol* 1982; 212:118-130.
  12. Muir A, Chamberlain L, Elshourbagy NA, Michalovich D, Moore DJ, Calamari A, Szekeres PG, Sarau HM, Chambers JK, Murdock P. AXOR12 a novel human G protein coupled receptor, activated by the peptide Kiss1. *Journal of Biological Chemistry* 2001; 276:28969-28975.
  13. Liu X, Lee K, Herbison AE. Kisspeptin excites gonadotropin releasing hormone neurons through a phospholipase C/calcium dependent pathway regulating multiple ion channels. *Endocrinology* 2008; 149:4605-4614.
  14. Gottsch ML, Cunningham MJ, Smith JT, Pops 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.
  15. Shahab M, Mastronardi C, Seminara S, Crowley WF, Ojeda SR, Clant TM. Increased hypothalamic GPR 54 signaling: a potential mechanism for initiation of puberty in primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102:2129-2134.
  16. Irwig MS, Fraley GS, Smith JT, Acohido BV, Pops SM, Cunningham MJ, Gottsch ML, Clifton DK, Steiner RA. Kisspeptin activation of gonadotrophin releasing hormone neurons and regulation of Kiss1 mRNA in the male rat. *Neuroendocrinology* 2004; 80(4):264-272.
  17. Hashimoto T, Miyai K, Izumi K, Kumahara Y. Gonadotropin response to synthetic LH-RH in normal subjects: correlation between LH and FSH. *J Clin Endocrinol Metab* 1973; 37:910-6.
  18. Aono T, Minogawa J, Kinuyasa T, Tanisova O, Kurachi K. Response of pituitary LH and FSH to synthetic LH releasing hormone in normal subjects and patients with Sheehan's syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 1973; 117:1046-52.
  19. Wollesen F, Swerdloff RS, Odell WD. LH and FSH responses to luteinizing releasing hormone in normal adult, human males. *Metabolism* 1976; 25:845-63.
  20. Dhillon WS, Chaudhri OB, Petterson M, Thompson EL, Murphy KG, Badman MK. Kisspeptina 54 stimulates the hypothalamic pituitary gonadal axis in human males. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:6609-15.
  21. Jayasena CN, Dhillon WS, Bloom SR. Kisspeptins and the control of gonadotropin secretion en humans. *Peptides* 2009; 30:76-82.
  22. Nakano R, Kotsuji F, Tojo S. Pituitary responsiveness to synthetic luteinizing releasing hormone (LHRH) during the menstrual cycle and in female hypogonadism. *Br J Obstet Gynecol* 1975; 82:805-811.
  23. Wollesen F, Swerdloff RS, Odell WD. LH and FSH responses to luteinizing releasing hormone in normal fertile women. *Metabolism* 1976; 25:1275-85.
  24. Yen SS, Vandenberg G, Rebor R, Ehara Y. Variation of pituitary responsiveness to synthetic LRF during different phases of the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 1972; 35:931-4.
  25. Cunningham MJ, Clifton DK, Steiner RA. Leptin's action on the reproductive axis: perspectives and mechanism. *Biol Reprod* 1999; 60:216-222.
  26. Terasawa E, Luchansky LL, Kasuya E, Nyberg CL. An increase in glutamate release follows a decrease in gamma-aminobutyric acid and the pubertal increase in luteinizing hormone releasing hormone release in the female rhesus monkeys. *J Neuroendocrinol* 1999; 11:275-282.
  27. Seminara SB, Messenger S, Chatzidaki EE, Thresher RR, Acierno Jr JS, Shagoury JK, Bo-Abbas Y, Kuo-hung W, Schwino KM, Hendrick AG, Zahn D, Dixon J, Kaiser UB, Slaugenhaupt SA, Gusella JF, O'Rahilly S, Carlton MB, Crowley Jr WF, Aparicio SA, Colledge WH. The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med* 2003; 349:1614-1627.
  28. De Roux N, Genin E, Carel JC, Matsuda F, Chaussain JL, Milgrom E. Hypogonadotropic hypogonadism due to loss of function of the KISS-1 Derived peptide receptor GPR54. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003; 100(19):10972-10976.
  29. 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* 2005; 146:2976-2984.
  30. Clarkson J, Herbison AE. Postnatal development of kisspeptin neurons in mouse hypothalamus: sexual dimorphism and projections to gonadotropin releasing hormone neurons. *Endocrinology* 2006; 147(12):5817-5825.
  31. 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.
  32. Herbison AE. Physiology of the gonadotropin releasing hormone neural network. En: Neil JD (ed.). *Knobil and Neill's physiology of reproduction* (3ª edición). Boston: Elsevier. 2006:1415-82.
  33. Smith JT, Cunningham MJ, Rissman EF, Clifton DK, Steiner RA. Regulation of Kiss1 gene expression in the brain of female mouse. *Endocrinology* 2005; 146:3686-3692.
  34. Klinge CM, Jerningam SC, Smith SL, Tyulmenkov VV, Kulakosky PC. Estrogen response element sequence impacts the conformation and transcriptional activity of estrogen receptor  $\alpha$ . *Mol Cell Endocrinol* 2001; 174:151-166.

35. Gottsch ML, Clifton DK, Steiner RA. Kisspeptin GPR54 signaling in the neuroendocrine reproductive axis. *Molecular and Cellular Endocrinol* 2006; 254:91-96.
36. Teles MG, Bianco SD, Brito VN, Trabach EB, Kuohung W, Xu S, Seminara SB, Mendonca BB, Kaiser UB, Latronico AC. A GPR54 activating mutation in a patient with central precocious puberty. *NEJM* 2008; 358:709-715.
37. Stephenie B, Seminara MD. Kisspeptin in reproduction. *Seminars in Reproductive Medicine* 2007; 25:337-343.
38. Meczekalski B, Podfiguma-Stopa A, Genazzani AR. Why kisspeptin is such important for reproduction? *Gynecological Endocrinology* 2011; 27(1):8-13.
39. Grumbach MM, Styne DM. Puberty: ontogeny, neuroendocrinology, physiology and disorders. En: **Kronenberg HM, Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR** (eds). *Williams Textbook of Endocrinology* (11ª edición). Philadelphia: Saunders Elsevier. 2008:969-1166.
40. Grumbach MM. A window of opportunity: the diagnosis of gonadotropin deficiency in the male infant. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:3122-7.
41. Kauffman A. Sexual differentiation and the Kiss1 system: hormonal and developmental considerations. *Peptides* 2009; 30:83-93.
42. Chan Y, Broder Fingert S, Seminara S. Reproductive functions of kisspeptin and GPR 54 across the life cycle of mice and men. *Peptides* 2009; 30:42-48.
43. Farooqui IS, O'Rahilly S. Leptin: a pivotal regulator of human energy homeostasis. *Am J Clin Nutr* 2009; 89:980-984.
44. Isidori AM, Caprio M, Strollo F, Moretti C, Frajese G, Isidori A, Fabbri A. Leptin and androgens in male obesity: evidence for leptin contribution to reduced androgen levels. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:3673-3680.
45. Rasouli N, Kern PA. Adipocytokines and the metabolic complications of obesity. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93:S64-S73.
46. Finn PD, Cunningham MJ, Pau KY, Spies HG, Clifton DK, Steiner RA. The stimulatory effect of leptin on the neuroendocrine reproductive axis of the monkey. *Endocrinology* 1998; 139:4652-4662.
47. Castellano JM, Navarro VM, Fernandez R. Changes in hypothalamic Kiss1 system and restoration of pubertal activation of the reproductive axis by kisspeptin in undernutrition. *Endocrinology* 2005; 146:3917-3925.
48. George J, Millar R, Anderson R. Hypothesis: Kisspeptin mediates male hypogonadism in obesity and type 2 diabetes. *Neuroendocrinology* 2010; 91:302-307.
49. Castellano JM, Navarro VM, Fernández-Fernández R y cols. Expression of hypothalamic KiSS-1 system and rescue of defective gonadotropic responses by kisspeptin in streptozotocin-induced diabetic male rats. *Diabetes* 2006; 55:2602-2610.
50. Rometo AM, Krajewski SJ, Lou Voytko M, Rance NE. Hypertrophy and increased kisspeptin gene expression in the hypothalamic infundibular nucleus of postmenopausal women and ovariectomized monkeys. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:2744-2750.
51. Chandel A, Dhindsa S, Topiwala S, Chaudhuri A, Dandona P. Testosterone concentration in young patients with diabetes. *Diabetes Care* 2008; 31:2013-2017.
52. Castellano JM, Roa J, Luque RM, Dieguez C, Aguilar E, Pinilla L, Tena Sempere M. KiSS-1/kisspeptins and the metabolic control of reproduction: physiologic roles and putative physiopathological implications. *Peptides* 2009; 30:139-145.
53. Sattar N, Perry CG, Petrie JR. Type 2 diabetes as an inflammatory disorder. *Br J Diabetes Vasc Dis* 2003; 3:36-41.
54. Iwasa T, Matsuzaki T, Murakami M, Shimizu F, Kuwahara A, Yasui T, Irahara M. Decreased expression of kisspeptin mediates acute immune/inflammatory stress-induced suppression of gonadotropin secretion in female rat. *J Endocrinol Invest* 2008; 31:656-659.
55. Loves S, Ruinemans-Koerts J, de Boer H. Letrozole once a week normalizes serum testosterone in obesity-related male hypogonadism. *Eur J Endocrinol* 2008; 158:741-747.
56. Horikoshi Y, Matsumoto H, Takatsu Y, Ohtaki T, Kitada C, Usuki S, Fujino M. Dramatic elevation of plasma metastatin concentrations in human pregnancy: metastatin as a novel placenta derived hormone in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88(2):914-919.
57. Bilban M, Ghaffari Tabrizi N, Hintermann E, Bauer S, Molzer S, Zoratti C, Malli R, Sharabi A, Hiden U, Graier W. Kisspeptin 10, a Kiss1/metastatin derived decapeptide, is a physiological invasion inhibitor of primary human trophoblasts. *Journal of Cell Science* 2004; 117:1319-1328.
58. Dhillon WS, Savage P, Murphy KG, Chaudhuri OB, Patterson M, Nijher GM, Foggo VM, Dancey GS, Mitchell H, Seckl MJ. Plasma kisspeptin is raised in patients with gestational trophoblastic neoplasia and falls during treatment. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism* 2006; 291:878-884.
59. Reynolds R, Logie J, Roseweir A, McKnight A, Millar RP. A role for Kisspeptins in pregnancy: facts and speculations. *Reproduction* 2009; 138:1-7.