

Kisspeptyna – neurohormon o kluczowej roli w rozrodzie

BEATA KLOCEK-GÓRKA, DOROTA A. ZIĘBA

Katedra Hodowli Owiec i Kóz Wydziału Hodowli i Biologii Zwierząt AR, Al. Mickiewicza 24/28, 31-120 Kraków

Klocek-Górka B., Zięba D. A.

Kisspeptin – a neurohormone of the crucial role in reproduction

Summary

Kisspeptin is a newly-discovered neurohormone, which is secreted from the hypothalamus. Initially it was thought that kisspeptin takes part in metastasis suppression. However, nowadays it is known that this hormone plays an essential role in the modulation of the hypothalamus-pituitary-gonadal axis. It has been demonstrated that mutation in the gene encoding kisspeptin's receptor causes hypogonadotropic hypogonadism and infertility in animals and humans. It is well established that kisspeptin may directly stimulate hypothalamic neurons. In addition, this neurohormone directly affects the pituitary and gonads. In the current review the authors sum up all information about different ways of direct and indirect effects of kisspeptin on reproductive processes and also present a novel insight into the mechanism responsible for the feedback loop of estrogen and androgen in mammals.

Keywords: kisspeptin, reproduction, HPG axis

Kisspeptyna – ogólna charakterystyka

Sklonowanie w 1999 r. genu kodującego receptor GPR54 oraz odkrycie w roku 2001 odpowiadającego mu ligandu, którym okazał się białkowy neurohormon – kisspeptyna, zapoczątkowało badania nad rolą nowo poznanego związku w organizmie (17). Nazwa kisspeptyny pochodzi od nazwiska znanego producenta czekoladek Kissa, mieszkającego w Hershey (Pensylwania, USA), gdzie mieściła się siedziba instytutu badawczego, w której odkryto kisspeptynę (13). Początkowo kisspeptyna, nazywana metastyną, była uważana za czynnik hamujący migrację komórek rakowych w warunkach *in vitro* i utrudniający metastazę guza (6).

Obecnie nazwą kisspeptyny określa się grupę peptydów należących do rodziny RF-amidowej o charakterystycznej sekwencji (Arg-Phe-NH₂C), kodowanych przez gen KiSS-1. Podczas syntezy powstaje 145-aminokwasowy łańcuch, który następnie w wyniku enzymatycznych podziałów daje początek krótszym, biologicznie czynnym cząsteczkom kisspeptyn – są to: kisspeptyna-54, -14, -13 oraz kisspeptyna-10 (8). Ich obecność wykazano głównie w centralnym układzie nerwowym. Szczególnie duże skupisko neuronów produkujących kisspeptyny znajduje się na terenie jąder podwzgórza: jądra przykomorowo-przednio-brzusznego (AVPV – *nucleus periventricularis anteroventralis*), jądra przedwzrokowego (POA – *area preoptica*)

oraz jądra łukowatego (ARC – *nucleus aruatus*). Obecność mRNA tego hormonu stwierdzono także w strukturach ciała migdałowatego oraz jądrze promienistości końcowej (19). W mniejszym stopniu białko to jest obecne w trzustce, wątrobie, jelicie cienkim oraz w jajnikach i jądrach (10). Natomiast receptory kisspeptyny GPR54, znane także jako AXOR12 oraz hot7t175, zlokalizowano w wyższych strukturach mózgowia oraz w trzustce, sercu, mięśniach, nerkach, grasicy, płucach, jelitach, a także w jądrach i łożysku (12).

Warto również wspomnieć, że efekt działania kisspeptyn widoczny jest przy bardzo niskich ich stężeniach (1 fmol = 10⁻¹⁵ M), co świadczy o ogromnej aktywności tych hormonów (10). Okazuje się również, że podanie egzogennej kisspeptyny wywołuje zależną od dawki odpowiedź organizmu, aż do osiągnięcia efektu maksymalnego przy wielkości dawki równej 12 pmol/kg/min., kiedy działanie tego hormonu staje się bardziej trwałe i możliwe do zaobserwowania przez dłuższy okres, co potwierdza jego ogromny potencjał czynnościowy (3).

Wpływ kisspeptyny na procesy rozrodcze

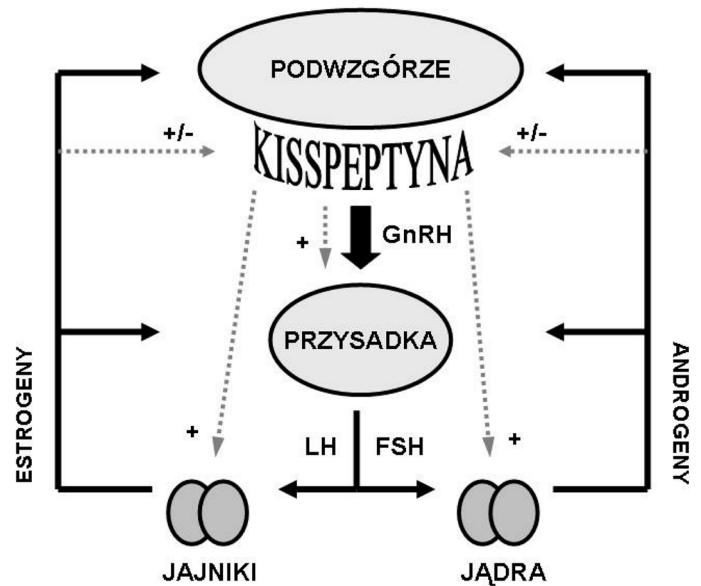
Badania ostatnich lat donoszą, że hormon ten jest prawdopodobnie największym, w ciągu ostatnich 30 lat, odkryciem z dziedziny biologii rozrodu. Pierwsze przesłanki o kluczowej roli kisspeptyny w rozrodzie pojawiły się, gdy stwierdzono, że mutacja genu kodującego ten hormon białkowy lub jego receptor, zarów-

no u zwierząt, jak i u ludzi powoduje powstanie zespołu chorobowego, który określono jako izolowaną wtórną niedoczynność gonad (IHH – isolated hypogonadotropic hypogonadism) (19). Dodatkowo wykazano, że objawy tego schorzenia są znacznie poważniejsze, gdy wiążą się z brakiem aktywności lub brakiem występowania receptorów dla kisspeptyny. Zarówno u ludzi dorosłych, jak i u zwierząt laboratoryjnych (myszy, szczury) obarczonych tym defektem występuje niski poziom gonadotropin, hormonów jajnikowych, pojawiają się także zmiany w budowie gonad. U osobników męskich dotkniętych chorobą obserwuje się znaczne zredukowanie wielkości jąder oraz hipoplazję komórek Leydiga. Pęcherzyki nasienne oraz gruczoły napletkowe są małe, czasem nawet trudne do wykrycia. Spermatogeneza zostaje zahamowana, co prowadzi do widocznego zmniejszenia ilości plemników, pojawia się także niedorozwój drugorzędowych cech płciowych.

U samic myszy IHH przejawia się znacznie słabszym otwarciem pochwy (świadczącym o osiągnięciu dojrzałości płciowej), zwężeniem światła rogów macicy i obniżoną masą jajników. Ponadto obserwuje się obecność jedynie pierwszo- i drugorzędowych pęcherzyków jajnikowych, przy braku pęcherzyków Graffa oraz ciałek żółtych (10). Pojawiają się natomiast liczne pęcherzyki atretyczne. Wymienione powyżej objawy prowadzą z czasem do bezpłodności zarówno u ludzi, jak i u badanych zwierząt.

Wykazano, że terapia polegająca na podawaniu egzogennej kisspeptyny jest efektywna u tych myszy, którym wyłączono jedynie gen kodujący kisspeptynę. W tym przypadku obserwuje się tylko częściowe objawy izolowanej wtórnej niedoczynności gonad, tj. niedorozwój narządów płciowych oraz obniżenie amplitudy pulsów LH (11). Wyraźnie widoczna podczas prowadzenia leczenia jest również skuteczność działania nowo odkrytego hormonu przy zastosowaniu bardzo niewielkich stężeń. Kisspeptyna jest w stanie wzbudzić aktywność układu rozrodczego nawet pomimo niekorzystnych warunków środowiskowych. Przykładem może być podawanie przez dłuższy okres tego neurohormonu, który przywracał aktywność jąder chomików w czasie krótkiego dnia, a więc poza sezonem aktywności płciowej (16). Dużą zaletą kisspeptyny jest również neutralność w przypadku zaburzeń jej sekrecji. Przy wystąpieniu mutacji w obrębie genów kodujących ten hormon nie obserwuje się zahamowania rozwoju narządów płciowych ani ich degeneracji (13). Brak kisspeptyny nie wpływa negatywnie na funkcjonowanie podwzgórza, przysadki oraz gonad, które przy odpowiedniej stymulacji hormonalnej w dalszym ciągu mogą prawidłowo funkcjonować.

Kisspeptyna jest wprawdzie neurohormonem obecnym przede wszystkim w centralnych strukturach mózgowia, ale rezultaty najnowszych badań wskazują na jego istotną rolę w regulacji pracy pozostałych elementów osi podwzgórze–przysadka–gonady. Wpływ tego



Ryc. 1. Ogólny schemat przedstawiający wpływ kisspeptyny na funkcjonowanie osi podwzgórze–przysadka–gonady

neurohormonu w modulowaniu procesów rozrodczych przedstawiono schematycznie na ryc. 1.

Podwzgórze

Najwyższa ekspresja mRNA kisspeptyny została stwierdzona, między innymi, w jądrze przykomorowo–przednio-brzusznym, jądrze przykomorowym (PVN – *nucleus paraventricularis*) oraz jądrze łukowatym (7, 13). Neurony produkujące kisspeptynę występują w grzbietowo–przysrodkowych (*nucleus dorsomedialis hypothalami*), brzuszno–przysrodkowych (*nucleus ventromedialis hypothalami*) i przykomorowych jądrach podwzgórza (15). Natomiast wypustki neuronów sięgają do wielu okolic mózgowia, w tym do rejonu trzeciej komory mózgowej (14).

Zwrócono uwagę, że około 90% neuronów podwzgórza wydzielających gonadoliberynę (GnRH) wykazuje jednocześnie obecność kisspeptyny (14). Potwierdzają to wyniki uzyskane przez Irwina i wsp. (9), którzy ustalili, że u około 86% neuronów GnRH następuje wzrost ekspresji białka Fos, dwie godziny po potraktowaniu komórek kisspeptyną. Tymczasem 77% tych komórek wykazuje również ekspresję mRNA GPR54. Duża koncentracja mRNA receptora kisspeptyny w regionach przodomózgowia, charakterystycznych również dla obecności gonadoliberyny świadczy o wysokim stopniu powiązania nowo odkrytego neurohormonu z procesami odpowiedzialnymi za wystąpienie aktywności płciowej.

Stwierdzono ponadto, że podawanie szczurom (centralnie lub obwodowo) kisspeptyny-54 powoduje wzrost aktywności neuronów GnRH, zaś u owiec widoczny jest znaczący wzrost koncentracji gonadoliberyny w płynie mózgowo–rdzeniowym po podaniu kisspeptyny-10. Dodatkowo eksplanty podwzgórza potraktowane tym hormonem wydzielają znaczne ilości GnRH (20).

Przysadka

Zaobserwowano, że defekt w funkcjonowaniu receptora GPR54 nie wywołuje zaburzeń związanych z uwalnianiem gonadotropin z części przedniej przysadki. Przy odpowiedniej stymulacji egzogennym GnRH, zarówno hormon luteinizujący, jak i folikulotropowy są wydzielane bez przeszkód. Wobec tego pojawiły się przypuszczenia, że kisspeptyna może bezpośrednio oddziaływać na ten gruczoł endokryny, z pominięciem podwzgórza. Potwierdziły to badania przeprowadzone na owcach, u których podanie kisspeptyny do trzeciej komory mózgowej powoduje widoczny wzrost sekrecji LH (12). Podobnie u ludzi, przy zastosowaniu dożylniej iniekcji tego neurohormonu u mężczyzn następuje wzrost stężenia zarówno hormonu luteinizującego, jak i folikulotropowego (4).

Różnica w działaniu kisspeptyny pomiędzy osobnikami męskimi i żeńskimi jest niedostrzegalna. Warto jednak zwrócić uwagę, że efekt działania tego neurohormonu w komórkach gonadotropowych jest znacznie silniejszy w przypadku sekrecji LH (25-krotny) niż przy wydzielaniu FSH i utrzymuje się jeszcze przez okres 2 do 3 godzin po iniekcji (4). Kolejnym dowodem na udział kisspeptyny w regulacji wydzielania gonadotropin jest obecność jej receptorów na terenie przysadki (7). Niemniej jednak, w dalszym ciągu rola tego hormonu nie została sprecyzowana. Z jednej strony, badania przeprowadzone pozaustrojowo przez Dungan i wsp. (5) na hodowlach eksplantów przysadki samic szczura świadczą o stymulującej roli kisspeptyny w uwalnianiu hormonu luteinizującego i folikulotropowego. Z kolei, w doniesieniach Thompsona i wsp. (20) oraz Greivesa i wsp. (8) przy zastosowaniu różnej wielkości dawek kisspeptyny-10 (od 100 do 1000 nM) nie potwierdzono wpływu tego neurohormonu na sekrecję LH i FSH w warunkach *in vitro*.

Na podstawie przytoczonych wyników badań za pierwotne miejsce działania kisspeptyny można uznać podwzgórzowe neurony GnRH, natomiast jej wpływ na poziomie przysadki jest prawdopodobny, aczkolwiek w dalszym ciągu budzi pewne wątpliwości.

Gonady

Wykazanie ekspresji zarówno mRNA genu kodującego kisspeptynę (KiSS-1), jak i samego hormonu białkowego w komórkach osłonki pęcherzyka jajnikowego, ciała żółtego oraz komórkach śródmiąższowych jajnika szczura pozwoliło wysunąć tezę, że kisspeptyna działa również na obwodzie organizmu – w gonadach (2). Ponadto u myszy z mutacją receptora kisspeptyny (GPR54 *-/-*) zaobserwowano obniżony poziom testosteronu oraz 17- β -oestradiolu (4). Przesłanki te pozwalają na stwierdzenie, że kisspeptyna wpływa w sposób bezpośredni na proces steroidogenezy w jajnikach oraz jądrach.

Kolejnym dowodem na całkowitą integrację kisspeptyny z osią PPG jest udział tego hormonu w me-

chanizmach sprzężeń zwrotnych. Do tej pory w neuronach GnRH nie wykryto ekspresji receptorów dla estrogenów oraz androgenów (zlokalizowano jedynie receptory estrogenowe β – ER β), chociaż dobrze znany jest stymulujący lub hamujący efekt działania tych hormonów w podwzgórzu oraz przysadce. Dopiero wraz z odkryciem kisspeptyny pojawiła się możliwość dokładnego wyjaśnienia mechanizmu sprzężeń zwrotnych. Okazało się, że w neuronach wydzielających kisspeptynę na terenie jądra łukowatego szczurów i myszy zlokalizowane są receptory estrogenowe (ER α oraz ER β). Stwierdzono także, że 64% tych neuronów posiada także receptory androgenowe (18).

W systemie sprzężeń zwrotnych podkreślana jest obecnie rola dwóch regionów podwzgórza – jądra łukowatego oraz jądra przykomorowo-przednio-brzusznego. Usunięcie gonad u gryzoni wywołuje wzrost ekspresji mRNA KiSS-1 w neuronach znajdujących się w rejonie ARC podwzgórza (5). Podobnie reagują szczury po kastracji, u których na terenie jądra łukowatego wzrasta (65%) poziom mRNA kisspeptyny (9). Podanie zwierzętom egzogenego testosteronu przywraca normalne funkcjonowanie neuronów kisspeptynowych (18). Dlatego też sugeruje się, że kisspeptyna na terenie ARC jest odpowiedzialna za kształtowanie ujemnych sprzężeń zwrotnych osi PPG, niezależnie od płci badanego zwierzęcia.

Natomiast informacje na temat roli jądra przykomorowo-przednio-brzusznego wciąż nie są pewne. Z jednej strony, brak hormonów jajnikowych powoduje znaczny spadek komórek wykazujących ekspresję mRNA KiSS-1, a podanie estradiolu przywraca ich liczbę do wyjściowego poziomu (5). Wiadomo także, że na tym obszarze estrogeny działają stymulująco na neurony kisspeptyny (15). Wobec tego uważa się, że kisspeptyna na terenie jądra przykomorowo-przednio-brzusznego w przypadku samic generuje przedowulacyjny wyrzut gonadotropin, a tym samym stanowi element dodatniego sprzężenia zwrotnego (5).

Z drugiej jednak strony, funkcja pełniona przez kisspeptynę w jądrze przykomorowo-przednio-brzusznym pozostaje nadal niejasna w przypadku osobników męskich. Z doniesień wynika, że liczba komórek wykazujących ekspresję kisspeptyny spada o około 61% u wykastrowanych samców myszy (18). Niektórzy autorzy sugerują, że kisspeptyna w tym jądrze podwzgórza może brać udział w kształtowaniu zachowań rozrodczych. Przemawia za tym fakt, że wypustki neuronów w regionie AVPV mają zakończenia w obszarze jądra przedwzrostkowego, który jest powszechnie uznawany za okolicę mózgu związaną z behawiorem seksualnym (18).

Możliwości zastosowania kisspeptyny w leczeniu zaburzeń płodności

Odkrycie kisspeptyny wzbudziło nadzieje na możliwość pełniejszego zrozumienia mechanizmów sterujących rozrodem. Zaobserwowana antagonistyczna

funkcja nowo poznanego neurohormonu w rejonie podwzgórza, w stosunku do steroidów wydzielanych przez gonady uzupełnia dotychczasowe niejasności dotyczące funkcjonowania procesów rozrodczych. Można pokusić się o stwierdzenie, że kisspeptyna stanowi poszukiwane ogniwo łączące poszczególne poziomy osi podwzgórza–przysadka–gonady w jedną, spójną i funkcjonalną całość.

Prowadzone liczne badania rzucają nowe światło na rolę, jaką pełni ten hormon w rozrodzie zwierząt oraz ludzi. Obecnie wiadomo, że kisspeptyna powoduje, między innymi, przyspieszenie momentu osiągnięcia dojrzałości płciowej oraz wznawia zahamowaną we wczesnym etapie rozwoju prenatalnego aktywność układu rozrodczego (6). Pomimo nie do końca wyjaśnionej kwestii, dotyczącej stopnia i sposobu, w jaki kisspeptyna wpływa na regulację procesów związanych z implantacją zarodka i utrzymaniem ciąży, pojawiają się również przypuszczenia poparte wynikami badań świadczące o możliwym jej wpływie na te procesy. Między innymi stwierdzono, że u ludzi poziom obwodowej kisspeptyny w trzecim trymestrze ciąży rośnie spektakularnie – jest 7000 razy wyższy w porównaniu z wcześniejszymi jej stadiami (20). Dodatkowo zlokalizowano wysoki poziom ekspresji zarówno mRNA kisspeptyny, jak i jej receptora na terenie trofoblastu w pierwszym trymestrze ciąży (1). Obecność tego hormonu w najbardziej kluczowych momentach rozwoju zarodka pozwala przypuszczać, że bierze on udział w procesach hamowania aktywności osi podwzgórza–przysadka–gonady, zabezpieczając płód i umożliwiając mu prawidłowy rozwój (4).

Coraz częściej rozważa się potencjalną przydatność kisspeptyny w leczeniu bezpłodności zarówno u kobiet, jak i mężczyzn, a także w regulowaniu zaburzeń owulacji. Istnieje również szansa na pomyślne jej zastosowanie w hamowaniu rozwoju raka piersi, raka prostaty oraz nabłonniaka kosmówkowego złośliwego (4), inne doniesienia mówią o braku efektów ubocznych takich terapii.

Piśmiennictwo

1. Bilban M., Ghaffari-Rabrizi N., Hintermann E., Bauer S., Molzer S., Zoratti C., Malli R., Sharabi A., Hiden U., Graier W., Knofler M., Andreae F., Wagner O., Quaranta V., Desoye G.: Kisspeptin-10, a KiSS-1/metastatin-derived decapeptide, is a physiological invasion inhibitor of primary human trophoblasts. *J. Cell. Sci.* 2003, 117, 1319-1328.
2. Castellano J. M., Gaytan M., Roa J., Vigo E., Navarro V. M., Bellido C., Dieguez C., Aguilar E., Sanchez-Criado J. E., Pellicer A., Pinilla L., Gaytan F., Tena-Sempere M.: Expression of Kiss-1 in rat ovary: putative local regulator of ovulation? *Endocrinology* 147, 4852-4862.
3. Dhillon W. S., Chaudhri O. B., Patterson M., Thompson E. L., Murphy K. G., Badman M. K., McGowan B. M., Amber V., Patel S., Ghatei M. A., Bloom S. R.: Kisspeptin-54 stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in human males. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005, 90, 6609-6615.
4. Dhillon W. S., Murphy K. G., Bloom S. R.: The neuroendocrine physiology of kisspeptin in the human. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2007, 8, 41-46.
5. Dungan H. M., Clifton D. K., Steiner R. A.: Minireview: kisspeptin neurons as central processors in the regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion. *Endocrinology* 2006, 147, 1154-1158.
6. Fernandez-Fernandez R., Martini A. C., Navarro V. M., Castellano J. M., Dieguez C., Aguilar E., Pinilla L., Tena-Sempere M.: Novel signals for the

- integration of energy balance and reproduction. *Mol. Cell. Endocrinol.* 2006, 254-255, 127-132.
7. 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.: A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the mouse. *Endocrinology* 2004, 145, 4073-4077.
 8. Greives T. J., Mason A. O., Scotti M.-A. L., Levine J., Ketterson E. D., Kriegsfeld J., Demas G. E.: Environmental control of kisspeptin: implications for seasonal reproduction. *Endocrinology* 2007, 148, 1158-1166.
 9. Irwing M. S., Fraley G. S., Smith J. T., Acohido B. V., Popa S. M., Cunningham M. J., Graier W., Clifton D. K., Steiner R. A.: Kisspeptin activation of gonadotropin releasing hormone neurons and regulation of KiSS-1 mRNA in the male rat. *Neuroendocrinology* 2004, 80, 264-272.
 10. Kuohung W., Kaiser U. B.: GPR54 and KiSS-1: role in the regulation of puberty and reproduction. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2006, 7, 257-263.
 11. Lapatto R., Pallais J. C., Zhang D., Chan Y.-M., Mahan A., Cerrato F., Le W. W., Hoffman G. E., Seminara S. B.: Kiss1 -/- mice exhibit more variable hypogonadism than Gpr54 -/- mice. *Endocrinology* 2007, 148, 4927-4936.
 12. Messenger S., Chatzidaki E. E., Ma D., Handrick A. G., Zahn D., Dixon J., Thresher R. R., Malinge I., Lomet D., Carlton M. B. L., Colledge W. H., Caraty A., Aparicio S. A. J. R.: Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2005, 102, 1761-1766.
 13. Plant T. M.: The role of KiSS-1 in the regulation of puberty in higher primates. *Eur. J. Endocrinol.* 2006, 155, 11-16.
 14. Pompolo S., Pereira A., Estrada K. M., Clarke I. J.: Colocalization of kisspeptin and gonadotropin-releasing hormone in the ovine brain. *Endocrinology* 2006, 147, 804-810.
 15. Revel F. G., Saboureau M., Masson-Pevet M., Pevet P., Mikkelsen J. D., Simonneaux V.: Kiss-1: a likely candidate for the photoperiodic control of reproduction in seasonal breeders. *Chronobiol. Int.* 2006, 13, 277-287.
 16. Revel F. G., Saboureau M., Masson-Pevet M., Pevet P., Mikkelsen J. D., Simonneaux V.: Kisspeptin mediates the photoperiodic control of reproduction in hamster. *Curr. Biol.* 2006, 16, 1730-1735.
 17. Seminara S. B.: We all remember our first kiss: kisspeptin and the male gonadal axis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005, 90, 6738-6740.
 18. Smith J. T., Dungan H. M., Stoll E. A., Gottsch M. L., Braun R. E., Eacker S. M., Clifton D. K., Steiner R. A.: Differential regulation of KiSS-1 mRNA expression by sex steroids in the brain of the male mouse. *Endocrinology* 2005, 146, 2976-2984.
 19. Sztuka A., Zdrojewicz Z.: Kisspeptin – Hormon of puberty? *Adv. Clin. Exp. Med.* 2006, 15, 949-952.
 20. Thompson E. L., Patterson M., Murphy K. G., Smith K. L., Dhillon W. S., Todd J. F., Ghatei M. A., Bloom S. R.: Central and peripheral administration of kisspeptin-10 stimulates the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *J. Neuroendocrinol.* 2004, 16, 850-858.

Adres autora: mgr inż. Beata Klocek-Górka, ul. Mogińska 17a/1, 31-542 Kraków; e-mail: beata_klocekgorka@interia.pl