

MECANISMOS REGULADORES DE LA PUBERTAD EN LA CABRA:
ACTUALIZACIÓN DE ALGUNOS CONCEPTOS
[REGULATORY MECHANISMS IN FEMALE GOAT: RECENT CONCEPTS]

C. A. Meza-Herrera*

Unidad Regional Universitaria de Zonas Áridas. Universidad Autónoma Chapingo.
Bermejillo, Durango, México. Email: cmeza2000@hotmail.com

*Corresponding author

RESUMEN

El mecanismo que desencadena la pubertad es un proceso sumamente complejo. Se ha propuesto que las neuronas de GnRH están razonablemente maduras al nacimiento, sin embargo, conforme inicia el proceso de crecimiento, se suprime la liberación pulsátil de GnRH. Mientras que los sistemas neuronales excitatorios más prevalentemente invocados utilizan al glutamato y las kisspepsinas y sus receptores GPR54 para procesos de neurotransmisión y neuromodulación, las más importantes señales inhibitoras incluyen los sistemas neuronales GABAérgicos y opiatérgicos. Conforme se acerca a la etapa prepuberal, las señales inhibitoras son disminuidas y posteriormente removidas, ocurriendo un incremento en la liberación pulsátil de GnRH debido a un incremento en las señales neuronales principalmente glutamatérgicas. Este incremento en la secreción pulsátil de GnRH resulta en una cascada de eventos que incluyen incrementos en la síntesis y liberación de LH y FSH, así como un incremento en la esteroidogénesis y la gametogénesis. Se ha demostrado también que la pulsatilidad de GnRH es significativamente reducida en condiciones de balance energético negativo observado bajo condiciones de subnutrición y condiciones metabólicas disturbantes. Al respecto, es de destacar el rol de ciertas hormonas metabólicas como la leptina, ghrelina, e insulina, como marcadores de reservas corporales y nivel energético adecuados, las cuales actúan positivamente sobre el CNS para incrementar la pulsatilidad y frecuencia de GnRH. Debido a que muchos genes son activados y desactivados en el cerebro, la serie de complejos eventos que determinan el tiempo de la pubertad deben estar regulados por cierto número de genes maestros. Actualmente se ha sugerido que el control neuroendocrino de la pubertad es operado por una red de genes de alta naturaleza jerárquica (Oct-2, TTF-1 & EAP-1). Este grupo de genes de alta jerarquía en el comando de la regulación génica, están estrechamente conectados y son altamente dominantes. Se ha propuesto también el empalme parcial de una segunda subred de genes de menor jerarquía, y finalmente un

gran número de nodos de genes subordinados, menos conectados entre sí, considerando, sin embargo, una notable redundancia y diversidad combinatoria en dicho sistema. La existencia de una red hipotalámica de genes situada en diferentes, pero interactuantes, niveles jerárquicos, es consistente con la idea de que el inicio de la pubertad está genéticamente determinado, y es neuromodulado mediante una estrategia poligénica altamente jeraquizada en el comando de expresión génica.

Palabras clave: Pubertad, eje reproductivo, neurotransmisores, estado metabólico, expresión génica.

SUMMARY

The mechanism that triggers puberty is an extremely complex process. It has been suggested that neurons of the GnRH are reasonable mature at birth, however, as growth process initiates, the pulsatory release of GnRH is suppressed. While the more prevailing excitatory neural systems invoked use the glutamate and the kisspepsines and their GPRS54 receptors for neuro-transmission and neuro-modulation processes, the more important inhibitory signals include to the neural GABAergics and opiopeptidergics systems. As the pre-pubertal phase approaches the inhibitory signals are reduced and later removed occurring an increment in the pulsatory release of GnRH due to an increment in the neural signals, predominantly the glutamatérgics. This increment in the pulsatory secretion of GnRH results in a cascade of events including increments in the synthesis and release of LH and FSH, as well as an increment in the esteroidogenesis and gametogenesis. It has been demonstrated, also, that the pulsatile characteristic of the GnRH is significantly reduced in conditions of negative energetic balance observed in undernutrition conditions and disturbing metabolic conditions. To this respect, it should be stressed the roll of certain metabolic hormones as leptin, ghrelin and insulin, as markers of corporal reserves and adequate energetic levels, which act positively on the CNS to increase the

pulsatile rhythm and frequency of the GnRH. Given that many genes are activated and deactivated in the brain, the sequence of complex events that determine the arrival of the puberty must be regulated by certain number of key genes. At present, it has been suggested that the neuroendocrine control of puberty is driven by a net of genes of a high hierarchic nature (Oct-2, TIF-1 & EAP-1). This group of genes of high hierarchy in the control of the genetic regulation is closely connected and is highly dominant. It has been proposed, also, the partial merging of a secondary subnet of genes of a lower hierarchy, and finally, a huge number of gene nodes subordinated, less

INTRODUCCIÓN

El cambio de un estado prepuberal a uno puberal considera marcados cambios en la función del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas. Previo a la pubertad, la secreción de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH) está significativamente inactiva. Al inicio de la pubertad, el gonadostato hipotalámico está deprimido y la amplitud de los pulsos de GnRH se incrementa. Los niveles de las hormonas gonadotrópicas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH) se incrementan gradualmente durante la pubertad estimulando la maduración de folículos y la producción de estrógenos en los ovarios (Huffman *et al.*, 1987; Apter, 1997; Roth *et al.*, 2001; Apter & Hermanson, 2002; Teresawa, 2005; Clarkson & Herbison, 2006; Messinis, 2006; Ojeda *et al.*, 2006ab).

Solamente previo a la pubertad, el altamente eficiente sistema de retroacción negativa de los esteroides ováricos es particularmente activo, sin embargo, conforme avanza el estado puberal la señal de retroacción positiva de los esteroides ováricos se torna activo y altamente eficiente, observándose, usualmente el establecimiento de una ciclicidad normal al final de dicha etapa. Por lo que la transición completa de un estado prepuberal a la maduración total de la pubertad será un prerrequisito indispensable para el establecimiento de la función reproductiva (Huffman *et al.*, 1987; Apter, 1997; Roth *et al.*, 2001; Apter & Hermanson, 2002; Teresawa, 2005; Clarkson & Herbison, 2006; Messinis, 2006; Ojeda *et al.*, 2006a).

El objetivo de la presente revisión, es el presentar una actualización de algunos conceptos endocrinos, fisiológicos, metabólicos y génicos que están involucrados en el proceso de establecimiento de la función de eje hipotálamo-hipofisiario-gonadal que da como resultado el inicio de la función reproductiva durante la pubertad. Para ello se abordarán aspectos básicos de la función del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, el control del eje mediante

connected among them considering, however, a noteworthy combinatorial redundancy and diversity in such system. The existence of a hypothalamic net of genes located in different but interacting hierarchic levels is consistent with the idea that the commencement of puberty is genetically determined, and is neuromodulated through a polygenic strategy highly hierarchical in the control of the genetic expression.

Key words: Puberty, reproductive axis, neurotransmitters, metabolic state, genetic expression

neurotransmisores, y la interacción de la función reproductiva y el estado metabólico. Finalmente, se abordarán el novel sistema kisspeptina y el GPR54 en la modulación de la pubertad así como la expresión jerárquica de genes principales reguladores del inicio de la pubertad: OCT-2, TTF-1 y EAP-1.

ASPECTOS BÁSICOS FUNCIONALES DE EJE HIPOTÁLAMO-HIPÓFISIS-GÓNADAS

El inicio de la pubertad es un proceso controlado centralmente y los mecanismos detallados de dicho proceso aun son desconocidos. Se reconocen, sin embargo, incrementos en la actividad del pulso generador de la hormona liberadora de las gonadotropinas (GnRH), y posteriormente en la secreción pulsátil de las hormonas gonadotrópicas folículo estimulante (FSH) y luteinizante (LH). En la pubertad, la secreción pulsátil de gonadotropinas se incrementa durante el día, y promueve el desarrollo y función gonadal normales, lo anterior gracias a la activación del pulso generador de GnRH (Huffman *et al.*, 1987; Apter, 1997; Roth *et al.*, 2001; Apter & Hermanson, 2002; Teresawa, 2005; Clarkson & Herbison, 2006; Messinis, 2006; Ojeda *et al.*, 2006a). Al respecto, el decapeptido GnRH es sintetizado en el área preóptica del hipotálamo, y es liberado, en animales adultos, en forma pulsátil cada 60 minutos dentro del sistema porta que conecta el hipotálamo a la pituitaria, y se enlaza a su receptor de alta afinidad (GnRH-R) sobre la superficie celular de los gonadotrófos. En animales jóvenes, el intervalo del pulso es mucho mayor, 90-120 minutos; la aceleración de la frecuencia del pulso acompañada por un incremento en la amplitud del pulso, y por lo tanto en el nivel total de liberación de GnRH, activa señales de transducción para promover tanto la síntesis como la liberación intermitente de las gonadotropinas, LH y FSH, dando inicio así al proceso puberal (Huffman *et al.*, 1987; Apter, 1997; Roth *et al.*, 2001; Apter & Hermanson, 2002; Teresawa, 2005; Clarkson & Herbison, 2006; Messinis, 2006; Ojeda *et al.*, 2006a).

El GnRH-R es una proteína-G ligada al receptor el cual activa la enzima fosfolipasa C, vía la generación de diversos segundos mensajeros como el diacilglicerol y el inositol, promoviendo la activación de la proteína kinasa C y la liberación de Ca del espacio intracelular, lo cual resulta en la síntesis y secreción de LH y FSH. La expresión de los GnRH-R está regulada por la propia GnRH así como por los esteroides gonadales (Apter, 1997; Roth *et al.*, 2001; Apter & Hermanson, 2002; Teresawa, 2005; Clarkson & Herbison, 2006; Messinis, 2006; Ojeda *et al.*, 2006a).

Previo a la pubertad, la secreción de GnRH es marcadamente suprimida, mientras que al inicio de la pubertad, el gonadostato hipotalámico esta deprimido y la amplitud de los pulsos de GnRH se incrementa. Los niveles de las hormonas LH y FSH se incrementan gradualmente durante la pubertad, estimulando la maduración folicular y la producción de estrógenos ováricos. La retroacción negativa de estradiol es poderosa solamente previo a la pubertad, mientras que el mecanismo de la retroacción positiva de estradiol se torna activo por primera vez al final de la pubertad. Como resultado, la ciclicidad normal de la función ovárica es establecida, de tal forma que hormonas esteroidales y no-esteroidales median el efecto de los ovarios sobre el sistema hipotalámico-hipofisiario. Tanto estradiol como progesterona son importantes reguladores de la secreción de FSH y LH, mientras que inhibina juega un rol preponderante en el control de la secreción de FSH (Apter, 1997; Clarkson & Herbison, 2006; Messinis, 2006).

Las neuronas liberadoras de GnRH representan el tipo celular crítico que, una vez activado, induce la pubertad en mamíferos (Clarkson & Herbison, 2006), por lo que una apropiada expresión del GnRH-R en los gonadotrópos es crítico para la señalización y secreción de gonadotropinas y mediar, de ésta forma, el posterior desarrollo sexual (Zapatero-Caballero *et al.*, 2004). Las neuronas de GnRH son importantes no solamente por estar involucradas en el inicio de la función reproductiva sino también por desarrollar funciones neuromoduladoras en el estado adulto (Whitlock *et al.*, 2006).

El descubrimiento de un ligando activador de una ruta de señalización "upstream" del GnRH ligada a un receptor de proteína G añade mayor significancia al rol central que el hipotálamo juega en la regulación de la pubertad (Clarkson & Herbison, 2006; Huges & Humanan, 2006). El inicio de la pubertad esta asociado a un incremento en la amplitud más que en la frecuencia de LH. Posteriormente ocurre un progresivo incremento en la pulsatilidad de LH durante el día, mientras que se observa una reducción progresiva de la amplificación que previamente ocurría durante la

noche. En hembras, las concentraciones prepuberales de FSH son relativamente altas, y un proceso continuo de desarrollo-atresia folicular ocurre, observando concentraciones relativamente altas de estradiol. Solamente después del incremento inicial de LH, la esteroidogénesis ovárica es activada, con incrementos en la secreción de estrógeno. Bajo una posterior estimulación de FSH, tanto el desarrollo como la maduración folicular ocurren (Apter, 1977; Suttie *et al.*, 1991).

Se ha propuesto que la primera fase folicular es iniciada cuando la respuesta de LH a la inhibición de estradiol decrece suficientemente para permitir la expresión de un ritmo pulsátil de LH cada 60 minutos. Este ritmo circahoral de LH se cree que promueve la producción de estradiol a niveles que inducen el primer pico preovulatorio de LH. Esta hipótesis está basada en varias consideraciones. Primero, la secreción pulsátil de LH invariablemente ocurre a bajas frecuencias en hembras prepúberes, mientras que los pulsos circahorales se manifiestan en animales postpuberales y maduros durante la fase folicular del ciclo estral. Segundo, la administración intravenosa de LH a intervalos de 60 minutos en hembras inmaduras resulta en un incremento en el tamaño folicular, en la inducción del pico preovulatorio de LH, en ovulación, y en la formación de cuerpo lúteo (Foster & Ryan, 1981).

Tercero, los pulsos circahorales de LH ocurrirán en hembras inmaduras si los ovarios son removidos, mientras que la frecuencia circahoral de LH en hembras inmaduras ovariectomizadas puede ser reducida mediante la administración exógena de estradiol. Cuarta, en corderas ovariectomizadas tratadas crónicamente con estradiol, la respuesta a la inhibición de estradiol en la secreción de LH se torna marcadamente reducida durante el periodo puberal mientras que se observa una marcada expresión del ritmo circahoral del pulso de LH (Foster & Ryan, 1981).

EL CONTROL DE LA PUBERTAD MEDIANTE LA MODULACIÓN DE DIFERENTES SISTEMAS NEUROTRANSMISORES

Como fue mencionado previamente, la GnRH es el mensajero primario involucrado en la maduración sexual y el inicio de la pubertad. La actividad de éste sistema neuronal es controlado a su vez por diferentes sistemas neurotransmisores. El inicio de la pubertad implica cambios de un tipo de secreción prepupal de gonadotropinas, caracterizado por una baja actividad en las neuronas GnRH, para promover, posteriormente, un incremento en la amplitud y frecuencia en los pulsos de GnRH. Durante el inicio de la pubertad, diversos sistemas neurotransmisores han

sido involucrados en los cambios en el patrón de secreción de GnRH, los cuales actúan mediante modificaciones cuantitativas y cualitativas sobre el patrón de secreción de GnRH (Ebling *et al.*, 1989; Dhandapani & Brann, 2000; Mahesh & Brann, 2005; Parent *et al.*, 2005; Clarkson & Herbison, 2006; Ojeda *et al.*, 2006a,b).

Tanto la serotonina (5-HT), como el ácido gama amino butírico (GABA), y las catecolaminas (CA) muestran diferencias cualitativas en los efectos sobre la secreción de GnRH y LH, más al inicio de la etapa prepuberal que en la pubertad tardía y la etapa adulta (Mouguilevsky & Wuttke, 2001). En el mismo sentido, se ha establecido que el principal evento excitatorio trans-sináptico que estimula el inicio de la pubertad es un incremento en la neurotransmisión glutamatérgica, ya que es el modo primario de comunicación trans-sináptica en el hipotálamo. Éste es un complejo proceso controlado por una plétora de genes requeridos para la síntesis, transporte y liberación de glutamato, así como para la expresión de varios receptores, tanto ionotrópicos como metabotrópicos, que median las acciones del glutamato (Ebling *et al.*, 1989; Dhandapani & Brann, 2000; Mahesh & Brann, 2005; Parent *et al.*, 2005; Clarkson & Herbison, 2006; Ojeda *et al.*, 2006a,b).

Las neuronas de LHRH en el hipotálamo femenino de primates están activas durante el período neonatal, pero subsecuentemente entran a un estado de dormancia en el período juvenil y prepuberal, debido a la presencia de altos niveles de GABA en la eminencia media (EM). La reducción que se observa en los niveles de GABA conforme se desarrolla el animal resulta en un incremento en la liberación de LHRH en la EM, dando inicio con el proceso puberal. Esta disminución en los niveles de GABA parecen permitir un incremento en los niveles de glutamato en la EM, lo cual parece contribuir para que ocurra el incremento puberal de LHRH (Teresawa, 2005).

Tanto la administración de 5-hydroxitriptófano, un precursor de serotonina, como la activación del sistema GABAérgico incrementan la liberación de GnRH y LH durante estados prepuberales, aunque dichos efectos positivos desaparecen en la pubertad tardía y causan una acción inhibitoria de las neuronas de GnRH en animales adultos. Como el glutamato, la producción de GABA requiere la participación de diferentes proteínas involucradas en la síntesis, metabolismo, transporte y liberación de GABA. Debido a que no se han detectado cambios en la expresión hipotalámica del mRNA de las enzimas responsables de la síntesis de GABA, GAD65 y GAD67 durante el desarrollo sexual en primates, pareciera que la regulación de la expresión de dichos genes no sea un evento relacionado al inicio de la

pubertad. Sin embargo, por analogía con el sistema glutamato, se infiere que otros posibles puntos de control en el metabolismo de GABA incluyen su transporte vesicular y(o) la expresión de los receptores a GABA. Al respecto se han descrito cuatro transportadores de GABA: GAT-1, GAT-2, GAT-3 y BGT-1; GAT-1 es el transportador predominante en el cerebro de mamíferos y contiene un elemento responsivo a estrógeno (Teresawa 2005; Ojeda, 2006b).

Por el contrario, la inhibición de la síntesis de catecolaminas (adrenalina y noradrenalina) por alfa-metil-p-tirosina promueve un incremento en la secreción de LH en la etapa prepuberal temprana y un efecto inhibitorio en la etapa puberal tardía y el estado adulto, resaltando el efecto inhibitorio que muestran las CA sobre la función del eje hipotálamo-hipofisiario, cambiando a un efecto estimulador en la pubertad tardía y estado adultos (Mouguilevsky & Wuttke, 2001).

Uno de los más importantes factores orexigénicos es el neuropéptido Y (NPY). Este péptido conformado por 36 amino ácidos, es un miembro de la familia de polipéptidos pancreáticos y es muy abundante en el CNS, incluido el hipotálamo, así como en el sistema nervioso somático periférico (Wojcik-Gladysz & Polkowska, 2006). Wankowska *et al.* (2002). al evaluar la infusión intracerebroventricular de NPY sobre la actividad secretora de los gonadotrófos hipofisiarios, concluyeron que el NPY puede ser un componente importante en los mecanismos que promueven la síntesis y almacenamiento de LH en los gonadotrófos de la pituitaria anterior, sin cambios observables en los niveles séricos de LH, concluyendo que el NPY no afecta la liberación de LH en corderas preúberes. En el mismo sentido, dicho efecto fue específico para LH sin mostrar cambios aparentes en FSH.

Por su parte, los sistemas opiodérgicos y de aminoácidos neuroexcitadores muestran diferencias cuantitativas en la secreción GnRH-LH durante etapas prepuberales, peripuberales y el estado adulto. Los opioides muestran un marcado efecto inhibitorio en estados de prepubertad temprana decreciendo durante la maduración sexual hasta alcanzar la pubertad. En efecto, los opioides endógenos son importantes neurotransmisores inhibitorios que controlan la liberación pulsátil de LH en estado peripuberales (Ebling *et al.*, 1989). Los péptidos opioides como grupo no parecen inhibir el inicio de la pubertad, pero es posible que su tono inhibitorio sea ejercido por un subset neuronal que selectivamente utilice para la neurotransmisión a la B-endorfina, la dinorfina o la Met/Leu-encefalina (Teresawa, 2005; Ojeda *et al.*, 2006b).

Por el contrario, los aminoácidos excitadores (EAA) incrementan su efecto estimulador sobre la secreción de GnRH-LH durante la maduración sexual mediante el incremento en la liberación de aspartato y glutamato, aminoácidos excitadores involucrados en la liberación de GnRH, así como aumentando la sensibilidad de los receptores NMDA a dichos aminoácidos (Mouguilevsky & Wuttke, 2001). Según Mahesh y Brann (2005) y Parent *et al.* (2005), los aminoácidos excitadores, glutamato en particular, ejercen un marcado efecto estimulador sobre el eje reproductivo, particularmente al momento de la pubertad. En efecto, la administración de glutamato y sus agonistas promueven la liberación pulsátil de LH en animales que han sido expuestos a los esteroides. Por el contrario, antagonistas de receptores ionotrópicos a glutamato inhiben la liberación de LH, aboliendo tanto la secreción de LH inducida por E2, así como el pico preovulatorio de LH. Según Teresawa (2005), la reducción puberal de inhibición GABAérgica es seguida por un incremento en el tono glutamatérgico.

Ojeda *et al.* (2006a) reportaron que el inicio de la pubertad requiere una comunicación recíproca neurón-células gliales, la cual involucra aminoácidos excitadores, principalmente glutamato y aspartato, y factores de crecimiento, además de la acción coordinada de un grupo de neuroreguladores que representan un elevado nivel de control que gobiernan el proceso de la pubertad. En el mismo sentido Dhandapani & Brann (2000) y Mahesh & Brann (2005), destacan que tanto el neuromodulador glutamato como el óxido nítrico han mostrado un papel esencial en el establecimiento del pico preovulatorio de GnRH en mamíferos.

Al respecto, se ha reportado que glutamato, N-metil-D-aspartato (NMDA) y kainato estimulan la secreción de GnRH en mamíferos inmaduros, mientras que la estimulación del receptor NMDA (NMDA-R) genera una pubertad precoz en ratas y monos. La pubertad es caracterizada por un incremento en la sensibilidad de GnRH a glutamato, así como un incremento en la actividad de la enzima glutamasa en el hipotálamo. La secreción de GnRH mediante neuronas glutamatérgicas y GABAérgicas parece ocurrir en forma estrictamente independiente en etapas peripuberales. Además, de la activación en la regulación transináptica glutamatérgica de GnRH, una coordinada actividad de las neuronas glutamatérgicas y células astrogliales han mostrado jugar un rol activo durante la pubertad (Parent *et al.*, 2005).

Glutamato desarrolla diferentes acciones en el mecanismo hipotalámico de la pubertad como ha sido demostrado en diferentes modelos animales (Parent *et*

al., 2005). El área preóptica ha sido implicada como el sitio primario de acción de NMDA, mientras que agonistas de NMDA se ha sugerido que actúen principalmente al nivel de la eminencia media y el núcleo arqueado (Mahesh & Brann, 2005). La participación de los receptores de kainato en la inducción precoz de la pubertad-dependiente de estradiol, sugieren que esos receptores pueden estar involucrados en la activación de la secreción de GnRH mediada por estradiol y observada en la pubertad. Además, paralelo a la elevación de liberación de glutamato en hipotálamo durante el proceso de pubertad, los receptores AMPA están también incrementados y desarrollan un importante rol en mediar los efectos reguladores de glutamato durante el establecimiento de la pubertad (Zamorano *et al.*, 1998).

Como fue referido previamente, el glutamato ha sido implicado en los procesos críticos del establecimiento de la pubertad, pulsatilidad hormonal y comportamiento sexual. Se ha sugerido que glutamato puede promover muchos de estos efectos mediante la activación de la liberación del neurotransmisor gaseoso óxido nítrico (NO). Este neurotransmisor estimula la liberación de GnRH mediante la activación de la enzima guanilato ciclasa, quien a su vez promueve un incremento en la producción de cGMP y la posterior liberación de GnRH. Investigaciones recientes se han abocado a identificar las proteínas de anclaje que alinean los receptores de glutamato a las sinapsis y enlazan el sistema de neurotransmisión glutamato-óxido nítrico (Dhandapani & Brann, 2000).

Poco es lo que se sabe del control transcripcional de los genes que codifican las enzimas involucradas en la síntesis, metabolismo y transporte de glutamato (Ojeda *et al.*, 2006b). Sin embargo, la importancia de estos sistemas homesotáticos ha sido evaluada recientemente mediante el uso de técnicas cuantitativas proteómicas. En efecto, Roth *et al.* (2006), analizando algunas de las proteínas involucradas en la síntesis y degradación del glutamato en células astrogliales, reportaron que la enzima glutamato dehidrogenasa (GDH) cataliza la síntesis de glutamato y su más alto contenido en hipotálamo se observó durante el proestro, mientras que la enzima glutamina sintetasa (GS), la cual cataliza el metabolismo de glutamato a glutamina, decreció su contenido durante el proestro. Se observó una incrementada producción de glutamato y LHRH hipotalámico previo al pico preovulatorio de LH.

Lo anterior sugiere que el incremento en el efecto excitador generado por las señales glutamatérgicas de origen glial sobre las redes neuronales de LHRH, es un evento que contribuye a la activación de la secreción puberal de LHRH. La regulación transcripcional de la

expresión de los transportadores vesiculares de glutamato puede representar un más importante punto de control de la homeostasis del glutamato, dado que los transportadores vesiculares de glutamato son extremadamente importantes en el control minuto-a-minuto de la liberación de dicho neurotransmisor (Ojeda, 2006b).

LA MODULACIÓN DE LOS SISTEMAS NEUROENDOCRINOS Y EL ESTADO METABÓLICO

Tanto el estado metabólico como la disponibilidad de nutrientes son algunos de los principales factores ambientales necesarios para el establecimiento de la función reproductiva. El déficit de nutrientes en muchas especies animales causa disturbios en la secreción de hormonas gonadotópicas tanto en animales inmaduros como en mamíferos adultos. Se ha propuesto que el decremento en la secreción pulsátil de GnRH genera una disminución en la síntesis y liberación de LH por las células gonadotrópicas y que dicho escenario ha sido uno de los principales factores etiológicos para la supresión de la función hipofisario-gonadal inducida nutricionalmente (Wojcik-Gladysz & Polkowska, 2006).

Se ha propuesto que las neuronas de GnRH están razonablemente maduras al nacimiento, sin embargo, conforme inicia el proceso de crecimiento, se suprime la liberación pulsátil de GnRH. En efecto, en rumiantes existe un incremento en la actividad gonadotrópica en la etapa temprana posterior al nacimiento la cual genera un incremento en el desarrollo de folículos antrales en el ovario. La regulación endocrina de esta estimulación del sistema folicular del ovario no está del todo entendida (Rawlings *et al.*, 2003).

Esta actividad endocrina inicial pareciera ser arrestada por una supresión de los mecanismos de retroacción negativa hasta que las hembras alcancen un peso vivo crítico (teoría lipostática), el cual le permitirá entrar en pubertad, iniciar los ciclos estrales y posteriormente reproducirse. Al respecto, hay evidencias de que el desarrollo de folículos antrales y el desarrollo tubular de los genitales ocurren en forma paralela. En el mismo sentido, el incremento temprano en el número y tamaño de los folículos antrales puede deberse en parte a los cambios en el patrón de secreción y la potencia de FSH, mientras que éste incrementado desarrollo en la población folicular es probablemente causada por aumentos en la frecuencia del pulso generador de GnRH y posteriormente de LH y FSH, una vez que se logra un peso vivo crítico o cierto porcentaje de grasa corporal (Rawlings *et al.*, 2003).

Bajos niveles de proteína en la dieta promueven una baja no solo en el peso vivo, sino en la ganancia diaria de peso, ejerciendo un efecto inhibitorio sobre la síntesis y liberación de LH por parte de los gonadotropos pituitarios. Sin embargo, dicho efecto no fue observado con respecto a la hormona FSH. Por lo anterior, la concentración proteica en la dieta puede ser un importante modulador de los procesos neuronales que promueven el incremento en los niveles de LH durante la pubertad (Polkowska *et al.*, 2003). En el mismo sentido, una subnutrición severa previene la ovulación en corderas al impedir el funcionamiento del sistema GnRH que gobierna la producción y secreción de LH con un patrón de alta frecuencia de tal forma que genere un desarrollo folicular hasta el estado preovulatorio, así como el establecimiento de suficientes reservas de LH en pituitaria para su liberación mediante la retroacción estimuladora de estradiol (Foster & Olster, 1985).

Aunque la estrecha relación entre el peso corporal y la fertilidad ha sido reconocida, solo hasta tiempos recientes las señales periféricas y las redes neuroendocrinas responsables de dicho fenómeno no han sido identificadas. Un evento clave en este campo fue la clonación de la hormona derivada de los adipositos, la leptina, quien ha mostrado un rol central como sustancia reguladora de la integración de la homeostasis energética y la función reproductiva (Fernandez-Fernandez *et al.*, 2006).

La leptina, el producto del gen OB, ha sido relacionada con el inicio de la pubertad en varios modelos animales. El inicio de la pubertad difiere entre géneros, y dicha diferencia puede ser debida a la varianza sexual observada en los mecanismos de organización sexual en los sistemas de retroacción a los esteroides (Foster *et al.*, 2006). En hembras y machos prepúberes, las concentraciones de leptina incrementan lentamente con la edad y las reservas de grasa corporal. En machos, éste incremento es interrumpido al inicio de la pubertad, cuando la testosterona y el nivel de masa muscular se incrementan, mientras que en hembras, la leptina, junto con las reservas de tejido graso incrementan durante la pubertad. En general, las concentraciones plasmáticas de leptina están significativamente correlacionadas con el nivel de masa adiposa tanto en hembras como en machos. La leptina está ligada en la sangre a una proteína-enlazadora de alta afinidad idéntica al receptor soluble de leptina (sOB-R) (Apter & Hermanson, 2002; Apter, 2003).

Según Carbone *et al.* (2005), la administración exógena de leptina generó un incremento significativo en los niveles de LH en animales adultos, acompañado por un incremento significativo en los niveles de glutamato en hipotálamo, el aminoácido excitatorio

hipotalámico involucrado en la activación de la neurotransmisión en los NMDA-R. Dichos resultados demuestran que leptina estimula el eje reproductivo durante un periodo determinado de maduración sexual y que los receptores NMDA están involucrados en la acción facilitadora de leptina sobre el eje gonadal durante la maduración sexual.

Se ha reportado que la administración de leptina exógena incrementa la liberación de GnRH en el hipotálamo durante estados de prepubertad y peripubertad. En hembras peripuberales, dicho incremento fue acompañado por un decremento significativo en la liberación hipotalámica de GABA y un aumento en la liberación de aspartato. Lo anterior sugiere que en dicha etapa de maduración sexual, leptina ejerce un efecto estimulador sobre GnRH, induciendo la liberación de aminoácidos excitadores, y reduciendo la liberación de aminoácidos inhibitorios como el GABA, todos éstos involucrados en el control de GnRH. En etapas prepuberales, sin embargo, el efecto estimulador de la leptina sobre GnRH parece estar relacionada a la acción estimuladora sobre GABA, la cual en ésta etapa de desarrollo, incrementa la liberación de GnRH (Reynoso *et al.*, 2003).

Según Ponzo *et al.* (2005), la administración exógena de leptina en animales prepuberales y peripuberales incrementó la liberación de GnRH hipotalámico, los niveles plasmáticos de LH, así como un incremento en la liberación de glutamato. Se observó, asimismo, un incremento en los niveles de aspartato solo en animales peripuberales tratados con leptina, sin cambios en los niveles de GABA entre tratamientos. Lo anterior demuestra que leptina promueve incrementos en la función hipotalámica-hipofisaria, con incrementos en los niveles séricos de GnRH y LH, y que el sistema neurotransmisor de aminoácidos excitadores parece estar involucrado en dichos cambios.

Tanto la leptina como la Ghrelina ejercen importantes funciones en la regulación del estado metabólico, el comportamiento de ingesta y la reproducción al actuar en el sistema nervioso central y otros órganos reproductivos. Como marcadores del estado nutricional estas hormonas pueden actuar sobre el SNC para iniciar el complejo proceso de la pubertad y mantener una normal función reproductiva en el estado adulto. Al actuar a través del cerebro, estas hormonas pueden servir como una conexión entre el nivel de reservas metabólicas y el sistema reproductivo para aportar y regular las necesidades de energía requeridas para una normal función reproductiva (Budak *et al.*, 2006). De acuerdo a Hayhurst *et al.* (2007), las concentraciones de glucosa, ácidos grasos libres e insulina fueron heredables en bovino lechero, en forma particular tanto la glucosa como los ácidos grasos

libres de sementales jóvenes estuvieron correlacionados al valor genético y la fertilidad de sus hijas.

La leptina, que señala el nivel de las reservas energéticas del cuerpo, muestra un rol esencial en el control metabólico del sistema KiSS1, dado que neuronas-kisspeptina expresan receptores a leptina y ésta es capaz de normalizar la expresión defectuosa del gen KiSS1 en modelos biológicos caracterizados por una impedida secreción de gonadotropinas ligados a estados de hipoleptinemia (Tena-Sempere 2006a,b).

EL SISTEMA KISSPEPTINA-GPR54 EN LA MODULACIÓN DE GNRH Y LA PUBERTAD

El gen hipotalámico KiSS1 ha sido señalado como un integrador esencial de señales periféricas, incluyendo los esteroides gonadales y el estado nutricional (Tena-Sempere, 2006a). En efecto, datos recientes sugieren un prominente rol de KiSS1 en el control metabólico de la fertilidad, al considerar que la expresión del gen KiSS1 hipotalámico es regulado negativamente en condiciones de un balance energético negativo, mientras que la administración de kisspeptina es capaz de revertir un estado hipogonadotrópico observado bajo escenarios de subnutrición y condiciones de disturbio metabólico (Tena-Sempere, 2006b).

La kisspeptina, un péptido conformado por 53 aminoácidos, producto del gen KiSS1, y su receptor GPR54 enlazado a proteínas G, han emergido como elementos clave en la regulación de la secreción de GnRH (Gottsch *et al.*, 2006; Tena-Sempere, 2006a,b,c). Las kisspeptinas fueron originalmente identificadas como péptidos supresores de metástasis tumorales, enlazándose al receptor GPR54 acoplado a proteínas G (Ojeda *et al.*, 2006b). Sin embargo, mutaciones del gen GPR54 han sido ligadas tanto a la ausencia del inicio de la pubertad como a hipogonadismo hipogonadotrópico (Tena-Sempere, 2006c). El corte proteolítico del producto primario KiSS1 genera el decapeptido kisspeptina-10, el cual es extraordinariamente potente en el desencadenamiento de la liberación de LH (Ojeda *et al.*, 2006b).

El SynCAM, elemento involucrado en la formación de las sinapsis, es una molécula de adhesión análoga a inmunoglobulinas, reconocida previamente como una molécula supresora de tumores en cáncer de pulmón. Se ha propuesto que el SynCAM y la kisspepsina, conforman una red de genes que, en vez de funcionar como supresores de la metástasis tumoral en el cerebro, actúan como elementos integradores de la comunicación neurona-neurona y glia-neurona, formando una unidad funcional capaz de iniciar el proceso de la pubertad (Ojeda *et al.*, 2006b).

Tanto la eliminación como las mutaciones de GPR54 producen estados de hipogonadismo hipogonadotrópico, indicando que la señalización a través de dicho receptor es un prerequisite indispensable para la maduración sexual. La administración centralizada de kisspeptina estimula la secreción de GnRH y gonadotropinas en animales prepuberales y adultos. En el mismo sentido, el incremento en la expresión de los genes KiSS1 y GPR54 se ha observado durante el desarrollo puberal, mientras que la activación de GPR54 mediante la administración de kisspeptina es suficiente para inducir la activación del eje gonadotrópico en animales inmaduros (Gottsch *et al.*, 2006; Tena-Sempere, 2006a,b).

Además, neuronas que expresan kisspeptina son blancos directos de las acciones de la retroacción tanto negativa como positiva de esteroides, los cuales regulan diferencialmente la expresión del mRNA KiSS1 en varias regiones del cerebro, y han sido señaladas con un rol relevante en el establecimiento de la pubertad. Se ha sugerido un doble sitio de acción de kisspeptina, ya sea en la región hipotalámica-hipofisiaria, o en la eminencia media (ME) del hipotálamo, una región localizada afuera de la barrera hemática cerebral. Aunque las neuronas que contienen kisspeptina están localizadas en subsets neuronales discretos del área preóptica y el núcleo arqueado del cerebro, las neuronas que contienen los receptores GPR54 están más difusamente distribuidas, e incluyen las neuronas para GnRH y la adenohipófisis. Los niveles de KiSS1 y GPR54 mRNA se incrementan significativamente en el hipotálamo al tiempo de la pubertad en primates, indicando que el incremento en la señalización mediado por GPR54 contribuye a la activación puberal de la secreción de GnRH (Ojeda *et al.*, 2006b).

El incremento en la secreción pulsátil de GnRH observada en las etapas previas a la pubertad ocurre debido a los cambios coordinados en la comunicación trans-sináptica y a la interacción entre células gliales y neuronas. Conforme se incrementa la señal excitadora de las neuronas y las células gliales, y se conecta a la red neuronal de GnRH, se observa una reducción en la inhibición del tono trans-sináptico, ocasionando la activación puberal de la secreción de GnRH. Los sistemas neuronales más prevalentemente invocados en éste proceso incluyen al glutamato y el péptido kisspeptina los cuales ejercen los procesos de neurotransmisión-neuromodulación, mientras que la más importante señal inhibitoria es proveída por neuronas GABAérgicas y opioérgicas (Ojeda *et al.*, 2006b).

Se ha propuesto que células gliales y las neuronas de GnRH comparten una relación morfológica y

funcional la cual depende de factores de crecimiento los cuales actúan a través de receptores serina-treonina-kinasas como el factor de crecimiento transformador (TGFB1), los factores de crecimiento que envían su señal a través de receptores con actividad de tirosina-kinasa como los factores de crecimiento análogos a insulina (IGF-1), el factor básico de crecimiento de fibroblastos, los miembros de la familia de factores de crecimiento epidermal, los TGFalfa y las neuregulinas. Una completa discusión de los roles de éstos factores de crecimiento han sido previamente abordados por García-Segura *et al.* (2004), Gill *et al.* (2004), y Ojeda (2006a,b).

LA EXPRESIÓN JERÁRQUICA DE GENES REGULADORES DEL INICIO DE LA PUBERTAD: OCT-2, TTF-1 & EAP-1

Se ha propuesto que el establecimiento de la función nerviosa de las neuronas GnRH requiere de la ordenada y jerárquica complementación de un conjunto de genes cuyo objetivo primordial es el de establecer las condiciones requeridas para una interacción productiva entre neuronas y células gliales. Además de que dichos genes residan al centro de una compleja red reguladora, deberán mantener una estructura jerárquica en dicha red de tal forma que se asegure que el sistema neuronal incluya redundancia y diversidad combinatoria (Ojeda 2006a,b; Tena-Sempere, 2006c).

Ojeda *et al.* (2006b) han sugerido el rol potencial de tres genes candidatos como controladores supremos en la jerarquía de expresión génica en la coordinación del proceso puberal: OCT-2, TTF-1 y EAP-1. Las proteínas Oct-2 son más abundantes en astrocitos que en neuronas cultivadas, sugiriendo que el gen OCT-2 puede ser importante en la transregulación de la transcripción de genes astrogiales. Tanto el SynCAM como el TGFalfa han sido identificados como objetivos de dicho gen, dado que el promotor de SynCAM y TGFalfa poseen sitios de enlace para el OCT-2. Este mecanismo regulador es importante para el inicio de la pubertad en la hembra dado que: 1). Los niveles hipotalámicos del mRNA de OCT-2 se incrementan durante el desarrollo prepuberal en un formato independiente de la acción gonadal, 2). El bloqueo de la síntesis de Oct-2 reduce la síntesis de TGFalfa y retrasa la edad a la primera ovulación, y 3). Lesiones de hipotálamo que inducen precocidad sexual activan tanto la expresión OCT-2 y TGFalfa en los astrocitos cercanos al lugar de la lesión.

El segundo gen candidato es el TTF-1 (thyroid transcription factor-1), el cual es requerido para la morfogénesis diencefálica. Después del nacimiento, permanece expresado en poblaciones selectas de neuronas y células gliales del hipotálamo, en neuronas

de GnRH y proopiocefalinérgicas, así como en la eminencia media. Dicho gen actúa en estos grupos celulares para promover funciones específicas a cada tipo celular. Tanto arreglos de DNA como análisis cuantitativos de PCR en regiones hipotalámicas de hembras revelaron un incremento puberal en la expresión de TTF-1. La eliminación del gen TTF-1 de subredes de neuronas hipotalámicas donde está normalmente expresado, generó un retraso en la pubertad, una disrupción de la ciclicidad estral inicial y un decremento en la función reproductiva. Dichas deficiencias fueron acompañadas por un incremento en la expresión génica de preproencefalina y por una supresión hipotalámica de GnRH y en los niveles de mRNA de Kiss1.

El tercer gen candidato es el EAP-1, el cual se localiza, al igual que el TTF-1, en el cromosoma 14 del humano. Se ha reportado que los niveles hipotalámicos de éste se incrementan durante la pubertad en la hembra, sugiriendo su involucramiento en el control de la pubertad. El gen EAP-1 codifica una proteína nuclear, la cual se expresa en subsets neuronales involucrados en el control estimulador e inhibitorio de la secreción de GnRH, como son las neuronas glutamatergicas, GABAérgicas, proencefalínérgicas, neuronas Kiss1 además de las propias neuronas de GnRH. Al igual que el gen TTF-1, EAP-1 transactiva el promotor de genes involucrados en el facilitamiento del inicio de la pubertad (v.g. GnRH) mientras que suprime la expresión de aquellos relacionados con rutas inhibitorias (v.g. preproencefalina). La supresión hipotalámica de la expresión de EAP-1, al igual que TTF-1, retrasa la pubertad y disrumpe el ciclo estral, confirmando la importancia de EAP-1 como un gen de alta jerarquía y necesario para la regulación neurona-neurona de la secreción de GnRH en la pubertad (Ojeda *et al.*, 2006b).

CONSIDERACIONES FINALES

El mecanismo que desencadena la pubertad es un proceso sumamente complejo. Se ha propuesto que las neuronas de GnRH están razonablemente maduras al nacimiento, sin embargo, conforme inicia el proceso de crecimiento, se suprime la liberación pulsátil de GnRH. Mientras que los sistemas neuronales excitatorios más prevalentemente invocados utilizan al glutamato y las kisspepsinas y sus receptores GPR54 para procesos de neurotransmisión y neuromodulación, las más importantes señales inhibitorias incluyen los sistemas neuronales GABAérgicos y opiatérgicos. Conforme se acerca a la etapa prepuberal, las señales inhibitorias son disminuídas y posteriormente removidas, ocurriendo un incremento en la liberación pulsátil de GnRH debido a un incremento en las señales neuronales

principalmente glutamatergicas. Este incremento en la secreción pulsátil de GnRH resulta en una cascada de eventos que incluyen incrementos en la síntesis y liberación de LH y FSH, así como un incremento en la esteroidogénesis y la gametogénesis.

Se ha demostrado también que la pulsatilidad de GnRH es significativamente reducida en condiciones de balance energético negativo observado bajo condiciones de subnutrición y condiciones metabólicas disturbantes. Al respecto, es de destacar el rol de ciertas hormonas metabólicas como la leptina, ghrelina, e insulina, como marcadores de reservas corporales y nivel energético adecuados, las cuales actúan positivamente sobre el CNS para incrementar la pulsatilidad y frecuencia de GnRH. Debido a que muchos genes son activados y desactivados en el cerebro, la serie de complejos eventos que determinan el tiempo de la pubertad deben estar regulados por cierto número de genes maestros.

Actualmente se ha sugerido que el control neuroendocrino de la pubertad es operado por una red de genes de alta naturaleza jerárquica (OCT-2, TTF-1 & EAP-1). Este grupo de genes de alta jerarquía en el comando de la regulación génica, están estrechamente conectados y son altamente dominantes. Se ha propuesto también el empalme parcial de una segunda subred de genes de menor jerarquía, y finalmente un gran número de nodos de genes subordinados, menos conectados entre sí, considerando, sin embargo, una notable redundancia y diversidad combinatoria en dicho sistema. La existencia de una red hipotalámica de genes situada en diferentes, pero interactuantes, niveles jerárquicos, es consistente con la idea de que el inicio de la pubertad está genéticamente determinada, y es neuromodulada mediante una estrategia poligénica altamente jeraquizada en el comando de expresión génica.

REFERENCIAS

- Apter, D. 1997. Development of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 816: 9-21.
- Apter, D. 2002. The role of leptin in female adolescent. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 997: 64-76.
- Apter, D., Hermanson, E. 2003. Update on female pubertal development. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 14: 475-481.
- Budak, E., Fernandez-Sanchez, M., Bellver, J., Cervero, A., Simon, C., Pellicer, A. 2006. Interactions of the hormones leptin, gherlin, adiponectin, resistin and PYY3-36 with the

- reproductive system. *Fertil. Steril.* 85: 1563-1581.
- Carbone, S., Szwarcfarb, B., Reynoso, R., Bollero, G., Ponzo, O., Rondina, D., Scacchi, P., Moguilevinsky, J. 2005. Leptin stimulates LH secretion in peripubertal male rats through NMDA receptors. *Endocr. Res.* 31: 387-396.
- Clarkson, J. Herbison, A.E. 2006. Development of GABA and glutamate signaling at the GnRH neurin in relation to puberty. *Moll Cell. Endocrinol.* 25: 32-38.
- Dhandapani, K.M., Brann, D.W. 2000. The role of glutamate and nitric oxide in the reproductive neuroendocrine system. *Biochem. Cell. Biol.* 78: 165-179.
- Ebling, F.J., Schwarta, M.L., Foster, D.L. 1989. Endogenous opioid regulation of pulsatile hormone secretion during sexual maturation in the female sheep. *Endocrinol.* 125: 369-383.
- Fernandez-Fernandez, R., Martini, A.C., Navarro, V.M., Castellano, J.M., Dieguez, C., Aguilar, E., Pinilla, L., Tena-Sempere, M. 2006. Novel signals for the integration of energy balance and reproduction. *Mol. Cell. Endocrinol.* 25: 127-132.
- Foster, D.L., Ryan, K.D. 1981. Endocrine mechanisms governing transition into adulthood in female sheep. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 30: 75-90.
- Foster, D.L., Jackson, L.M., Padmanabhan, V. 2006. Programming of GnRH feedback controls timing puberty and adult reproductive activity. *Mol. Cell. Endocrinol.* 25: 109-119.
- Foster, D.L., Olster, D.H. 1985. Effect of restricted nutrition on puberty in the lamb: patterns of tonic luteinizing hormone secretion and competency of the LH surge system. *Endocrinol.* 116: 375-381.
- Garcia-Segura, L.M., McCarthy, M.M. 2004. Minireview: role of glia in neuroendocrine function. *Endocrinol.* 145: 1082-1086.
- Gill, J.C., Moenter, S.M., Tsai, P.S. 2004. Developmental regulation of gonadotropin-releasing hormone neurons by fibroblast growth factor signaling. *Endocrinol.* 145: 3830-3839.
- Gottsch, M.L., Clifton, D.K., Steiner, R.A. 2006. Kisspeptin-GPR54 signaling in the neuroendocrine reproductive axis. *Mol. Cell. Endocrinol.* 25: 91-96.
- Hayhurst, C., Sorensen, M.K., Royal, M.D., Lovendhal, P. 2007. Metabolic regulation in Danish bull calves and the relationship to the fertility of their female offspring. *J. Dairy Sci.* 90: 3909-3916.
- Huffman, L.J., Inskeep, E.K., Goodman, R.L. 1987. Changes in episodic luteinizing hormone secretion leading to puberty in the lamb. *Biol. Reprod.* 37: 755-761.
- Hughes, I.A., Kumanan, M. 2006. A wider perspective on puberty. *Moll. Cell. Endocrinol.* 25: 1-7.
- Mahesh, V.B., Brann, D.W. 2005. Regulatory role of excitatory amino acids in reproduction. *Endocrine.* 28: 271-280.
- Messinis, I.E. 2006. From menarche to regular menstruation: Endocrinological background. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 1042: 49-56.
- Moguilevesky, J.A., Wuttake, W. 2001. Changes in the control of gonadotrophin secretion by neurotransmitters during sexual development in rats. *Exp. Clin. Endocrinol Diabetes.* 109: 188-195.
- Ojeda, S.R., Roth, C., Mungenast, A., Heger, S., Mastronardi, C., Parent, A.S., Lomniczi, A., Jung, H. 2006a. Neuroendocrine mechanisms controlling female puberty: new approaches, new concepts. *Int. J. Androl.* 29: 286-290.
- Ojeda, S.R., Lomniczi, A., Mastronardi, C., Heger, S., Roth, C., Parent, A.S., Matagne, V., Mungenast, A.E. 2006b. The neuroendocrine regulation of puberty: Is time ripe for a systems biology approach? *Endocrinol.* 147: 1166-1174.
- Parent, A.S., Matagne, V., Bourguignon, J.P. 2005. Control of puberty by excitatory aminoacid neurotransmitters and its clinical applications. *Endocrine.* 28: 281-286.
- Polkowska, J., Lerrant, Y., Wankowska, M., Wojcik-Gladysz, A., Starzec, A. Counis, R. 2003. The effect of dietary protein restriction on the secretion of LH and FSH in pre-pubertal female lambs. *Anim. Reprod. Sci.* 76: 53-56.

- Ponzo, O.J., Reynoso, R., Rimoldi, G., Rondina, D., Swarcfarb, J., Carbone, S., Scacchi, P., Moguilevsky, J.A. 2005. Leptin stimulates the reproductive male axis in rats during sexual maturation by acting on hypothalamic excitatory amino acids. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*. 113: 135-138.
- Rawlings, N.C., Evans, A.C., Hoaramooz, A., Bartlewski, P.M. 2003. Antral follicle growth and endocrine changes in prepubertal cattle, sheep and goats. *Anim. Reprod. Sci.* 78: 259-270.
- Reynoso, R., Ponzo, O.J., Szarcfarb, J., Rondina, D., Carbone, S., Rinoldi, G., Scacchi, P. Moguilevsky, J.A. 2003. Effect of leptin on hypothalamic release of GnRH and neurotransmitter amino acids during sexual maturation in female rats. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes*. 111: 274-277.
- Roth, C., Schrickler, M., Lakomek, M., Strege, A., Heiden, I., Luft, H., Munzel, U., Wuttke, W., Jarry, H. 2001. Autoregulation of the gonadotropin-releasing hormone (GnRH) system during puberty: effects of antagonistic versus agonistic GnRH analogs in a female rat model. *J. Endocrinol.* 169: 361-371.
- Roth, C., McCormack, A.L., Lomnizci, A., Mungenast, A.E., Ojeda, S.R. 2006. Quantitative proteomics identifies a change in glial glutamate metabolism at the time of female puberty. *Mol. Cell. Endocrinology*. 254: 51-59.
- Suttie, J.M., Kostyo, J.L., Ebling, F.J., Wood, R.I., Bucholtz, D.C., Skottner, A., Adel, T.E., Towns, R.J., Foster, D.L. 1998. Metabolic interfases between growth and reproduction. IV. Chronic pulsatile administration of growth hormone and the timing of puberty in sheep. *Endocrinol.* 129: 2024-2032.
- Tena-Sempere M. 2006a. The roles of kisspeptins and G-protein-coupled receptor 54 in pubertal development. *Curr. Opi. Pediatr.* 18:442-447.
- Tena-Sempere, M. 2006b. KISS-1 and reproduction: Focus on its role in the metabolic regulation of fertility. *Neuroendocrinology*. 83: 275-281.
- Tena-Sempere, M. 2006c. GPR54 and kisspeptin in reproduction. *Hum. Reprod. Update*. 12: 631-639.
- Teresawa, E. 2005. Role of GABA in the mechanism of the onset of puberty in non-human primates. *Int. Rev. Neurobiol.* 71: 113-129.
- Wankowska, M., Lerrant, Y., Wojcik-Gladysz, A., Sterzec, A., Counis, R., Polkowska, J. 2002. Intracerebroventricular infusion of neuropeptide Y up-regulates synthesis and accumulation of luteinizing hormone but not follicle stimulating hormone in the pituitary cells of prepubertal female lambs. *J. Chem. Neuroanat.* 23: 133-142.
- Whitlock, K.E., Illing, N., Brideau, N.J., Smith, K.M., Twomey, S. 2006. Development of GnRH cells: Setting the stage for puberty. *Mol. Cell. Endocrinol.* 25: 39-50.
- Wojcik-Gladysz, A., Polkowska, J. 2006. Neuropeptide Y, a neuromodulatory link between nutrition and reproduction at the central nervous system level. *Reprod. Biol.* 6: 21-28.
- Zamorano, P.L., Mahesh, V.B., De Sevilla, L., Brann, D.W. 1998. Excitatory amino acids receptors and puberty. *Steroids*. 63: 268-270.
- Zapatero-Caballero, H., Sanchez-Franco, F., Fernandez-Mendez, C., Garcia-Sanrutos, M., Botella-Cubells, L.M., Fernandez-Vazquez, G. 2004. Gonadotropin-releasing hormona expresión during pubertal development in rats. *Biol. Reprod.* 70: 348-355.

Submitted January 07, 2008 – Accepted April 04, 2008

Revised received June 03, 2008