

**Trabajo Fin de Máster en Biología y Tecnología Aplicada a la  
Reproducción Humana Asistida**

**Kisspeptinas como herramienta diagnóstica y terapéutica en  
el SOP**

Bella Fernández Vaz  
Nicolás Prados Olleta

Villaviciosa de Odón, 20 de agosto

## Índice

<b>1. Kisspeptinas.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. Estructura .....</b>	<b>3</b>
<b>1.2. Síntesis.....</b>	<b>5</b>
<b>1.3. Señalización vía KISS1R.....</b>	<b>5</b>
<b>1.4. Localización neuroanatómica de las neuronas kisspeptinérgicas.....</b>	<b>7</b>
<b>2. Síndrome de ovario poliquístico.....</b>	<b>8</b>
<b>2.1. Definición y epidemiología.....</b>	<b>8</b>
<b>2.2. Fisiopatología.....</b>	<b>9</b>
2.2.1. A nivel del sistema hipotálamo-hipofisario.....	11
2.2.2. A nivel ovárico .....	12
2.2.3. A nivel suprarrenal .....	13
2.2.4. A nivel del sistema nervioso central.....	14
<b>3. Implicaciones fisiopatológicas del sistema KISS1 en el SOP .....</b>	<b>14</b>
<b>4. Kisspeptina como herramienta diagnóstica del SOP .....</b>	<b>17</b>
<b>5. Uso de kisspeptinas como posible terapia para SOP y la infertilidad .....</b>	<b>19</b>
5.1. Agonistas del receptor KISS1R.....	23
<b>6. Perspectivas futuras.....</b>	<b>25</b>
<b>7. Conclusiones.....</b>	<b>27</b>
<b>8. Bibliografía .....</b>	<b>30</b>

## **Resumen:**

Una de las endocrinopatías más comunes en mujeres en edades reproductivas es el síndrome de ovario poliquístico (SOP), con una prevalencia del 8 al 13%, que aumenta al 20% según la población y los criterios de diagnóstico. Se trata de una enfermedad heterogénea de alta prevalencia caracterizada por disfunción ovulatoria, hiperandrogenismo y alteraciones metabólicas. Aunque la implicación de niveles alterados de andrógenos e insulina en la patogénesis de las alteraciones neuroendocrinas del SOP se ha explorado en varios entornos experimentales y clínicos, los mecanismos finales por los que tienen lugar tales alteraciones neurohormonales siguen siendo parcialmente desconocidos. En los últimos años, las kisspeptinas se han convertido en importantes guardianes de aspectos clave de la maduración y función reproductivas, desde la diferenciación sexual del cerebro y la pubertad hasta la regulación adulta de la secreción de gonadotropinas y el control metabólico de la fertilidad. Aunque, aún está pendiente la evidencia clara de la participación de la señalización de kisspeptina en el control de la ovulación, o sus alteraciones, basándonos en estas características fisiológicas, se va a discutir en este trabajo las supuestas implicaciones fisiopatológicas de las alteraciones del sistema KISS1 en la generación de SOP.

## **1. Kisspeptinas**

### ***1.1. Estructura***

Las kisspeptinas son una familia de neuropéptidos relacionados estructuralmente, codificados por el gen *KISS1* (MIM 603286), que actúan a través de la unión y posterior activación del receptor acoplado a proteína G, denominado KISS1R/GPR54 (MIM 604161) (Zeydabadi y cols, 2017).

Lee y cols (1996) identificaron los genes responsables de la supresión de la metástasis en líneas celulares híbridas de melanoma con diferente capacidad metastásica. Con la utilización de la farmacología y genética aplicada se caracterizó de forma completa los productos peptídicos del gen *KISS1*. Atendiendo a las similitudes estructurales y su origen común como péptidos derivados de *KISS1*, el término kisspeptinas se acuñó para definir globalmente a esta familia, desplazando la terminología inicial de metastina.

Con la utilización del mapeo híbrido por radiación y el análisis de hibridación fluorescente (FISH) *in situ* se vio que el gen *KISS1* se localiza en el cromosoma 1q32 y consta de cuatro exones. Debido a que no se han identificado supuestos sitios de escisión

en el precursor común de kisspeptina, que conducirían a la síntesis de los péptidos más cortos, dichos péptidos pueden ser productos de degradación de la kisspeptina-54. Los dos primeros exones no están traducidos. El tercer exón contiene 385' bases no codificadas, seguidas del sitio de inicio de la traducción; mientras que el exón terminal contiene 332 bases traducidas adicionales, el codón de parada de la traducción y la señal de poliadenilación (Zeydabadi y cols, 2017).

Para determinar si la expresión del gen *KISS1* alterado desempeña un papel en el desarrollo del melanoma metastásico en pacientes humanos, Lee y cols (1996) realizaron una búsqueda de mutaciones y pérdida de heterocigosidad en muestras de tumores. Inicialmente se identificó un clon de cromosoma artificial derivado de P1 (PAC) que contenía el gen *KISS1* completo. Un inserto del plásmido, que contiene el ADNc de *KISS1*, se marcó radiactivamente y se usó como sonda para seleccionar una biblioteca de PAC humana agrupada. Gracias a este hecho y a la utilización de FISH, se vio que el gen *KISS1* se localizaba en el brazo largo del cromosoma 1, como un solo locus en la banda 1q32. El análisis de los resultados de la secuencia reveló que el gen *KISS1* estaba codificado por 145 aa y constaba de cuatro exones (Figura 1): El exón I consta de 109 bases no codificantes, el exón II contiene 91 bases no codificantes, con un intrón de tamaño indeterminado; mientras que el exón III contiene el sitio de inicio de la traducción precedido por 38 bases no codificantes y 103 bases traducidas y el cuarto exón es el más largo, ya que consta de 335 bases traducidas y 121 no traducidas.

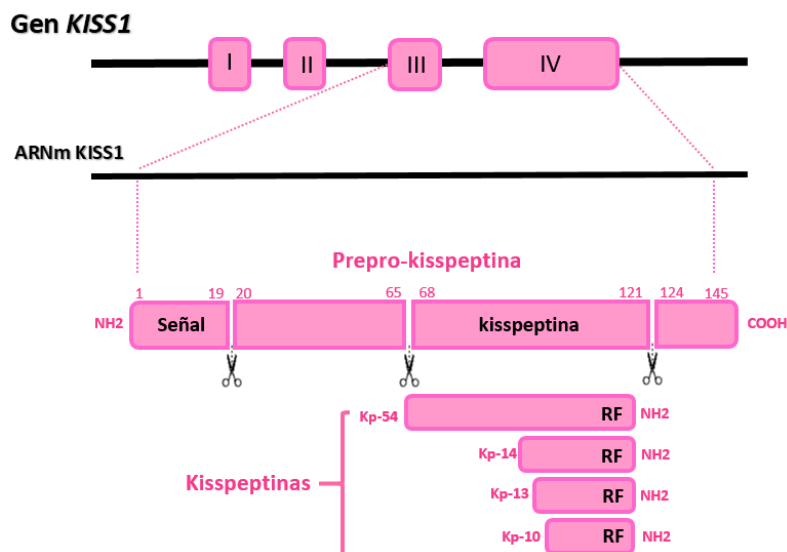


Figura 1. Características estructurales de los productos del gen *KISS1*, kisspeptinas. (Modificado de Hu y cols, 2018).

### ***1.2.Síntesis***

Al igual que otros neuropéptidos, las kisspeptinas derivan del procesamiento proteolítico diferencial de un único precursor, denominado prepro-kisspeptina (Hu y cols, 2018). En el ser humano, este precursor está formado por 145 aa y contiene una secuencia de señal putativa de 19 aa, dos sitios potenciales de escisión dibásica (en los aa 57 y 67) y un sitio para la escisión terminal y la amidación (en los aa 121-124) que genera las kisspeptinas biológicamente activas (Figura 3). La escisión proteolítica del péptido de 145 aa se lleva a cabo en el sitio próximo a los residuos dibásicos mediante la convertasa de tipo subtilina; mientras que el dominio C terminal se amida por una enzima carboxipeptidasa. Tras esta escisión, se generan péptidos más cortos, siendo el producto principal del gen *KISS1* la kisspeptina-54 (Figura 3), inicialmente denominado metastina debido a su capacidad para inhibir la metástasis tumoral.

Se han identificaron otros fragmentos peptídicos tras la escisión de la prepro-kisspeptina: Kisspeptina-14, kisspeptina-13 y kisspeptina-10 (de 14, 13 y 10 aa respectivamente) que comparten la región COOH terminal de la molécula de kisspeptina-54, la cual contiene un motivo de arginina y fenilalanina característicos de la familia de péptidos RF-amida (Figura 1). Esta familia está compuesta por una serie de péptidos neuroactivos, que en los mamíferos incluyen también los neuropéptidos FF y AF, el péptido liberador de prolactina y los péptidos relacionados con la región RF (RFRP-1 y RFRP). Es importante destacar que, no solo las kisspeptinas, sino también los péptidos relacionados con la región RF y los péptidos liberadores de prolactina, modulan la secreción de gonadotropina en varias especies de mamíferos.

### ***1.3.Señalización vía KISS1R***

El *KISS1R* es un receptor con siete dominios transmembrana acoplado a proteína G (*Gaq/11*), que pertenece a la familia de receptores de la rodopsina o clase A de receptores acoplados a proteínas G. La activación de estos receptores (Figura 2) conduce a un aumento de los niveles de  $Ca^{2+}$  intracelular de una manera independiente de la toxina *pertussis*, sin cambios detectables en los niveles de AMPc intracelular, lo que sugiere la falta de asociación con proteínas *Gs* o *Gi*. Este aumento de  $Ca^{2+}$  intracelular es causado

por la activación de la fosfolipasa C, que promueve la hidrólisis del fosfatidilinositol difosfato en inositol 1,4,5 trisfosfato, que a su vez moviliza el  $\text{Ca}^{2+}$  de vesículas intracelulares. Así mismo, la hidrólisis de fosfatidilinositol difosfato conduce a la formación de diacilglicerol y, por lo tanto, a la activación de la proteína quinasa C; que, a su vez, causa la fosforilación de proteínas quinasas activada por mitógenos, como ERK1/2 y p38, que también participando en esta cascada de señalización (Liu y Herbison, 2016).

La vía de señalización anterior no solo influye en la regulación de la secreción de hormonas y la función neuroendocrina, sino que también son la base para las acciones biológicas adicionales de las kisspeptinas, como el control de la proliferación y migración celular. De hecho, como se mencionó anteriormente, la activación de KISS1R conduce a la fosforilación de diferentes proteínas quinasas activada por mitógenos, lo que podría contribuir a los efectos antimetastáticos o antiproliferativos de las kisspeptinas (Hu y cols, 2018).

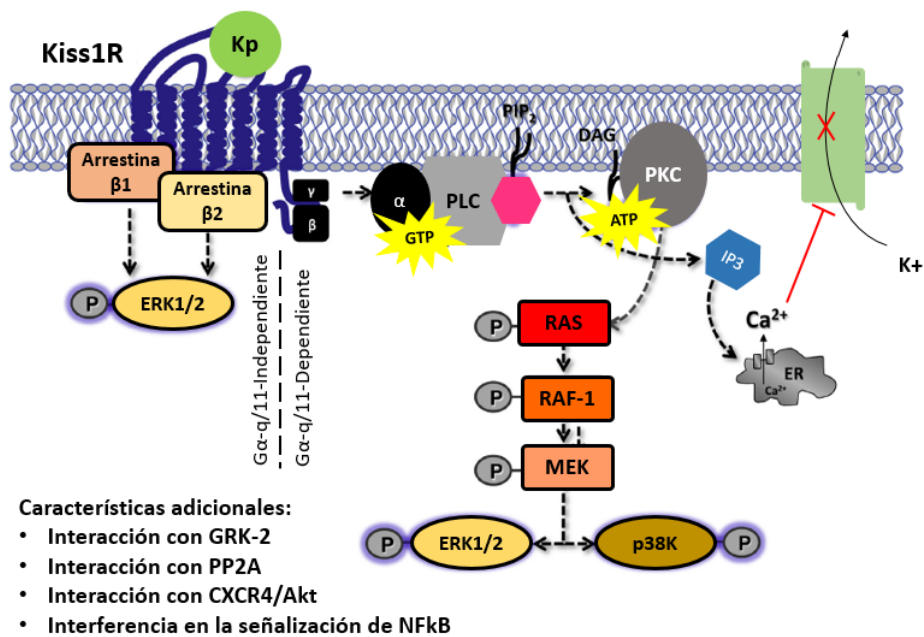


Figura 2. Representación esquemática de las principales vías de señalización reclutadas tras la activación de KISS1R por kisspeptinas (Hu y cols, 2018).

#### ***1.4. Localización neuroanatómica de las neuronas kisspeptinérgicas***

La fertilidad reproductiva femenina depende fundamentalmente del desarrollo adecuado y la regulación dinámica del eje hipotalámico-hipofisario. Durante muchos años, se han dedicado considerables esfuerzos para desvelar la sofisticada red de factores reguladores que gobiernan la secreción de GnRH, incluyendo la integración de señales excitadoras e inhibitoras. Entre los elementos excitadores del eje reproductivo, las kisspeptinas han surgido en los últimos años como reguladores ascendentes esenciales de las neuronas GnRH, influyendo en la diferenciación sexual del cerebro, el inicio de la pubertad, la secreción de gonadotropinas, la ovulación, la regulación metabólica de la fertilidad e incluso la implantación y la placentación (Hu y cols, 2019; Nyagolova y cols, 2016).

Los análisis llevados a cabo en roedores para la caracterización del sistema KISS1 han revelado la presencia de una población prominente de neuronas KISS1 ubicadas en el núcleo arqueado (ARC), que se detecta también en su región infundibular equivalente en primates. Se ha demostrado que un componente sustancial de esta población ARC de neuronas KISS1 también expresa neuroquinina B, su receptor de neuroquinina-3 y dinorfina, lo que lleva al nombre de estas neuronas como neuronas KNDy. Además, estudios en roedores han documentado la presencia de una segunda población de neuronas KISS1 en la región periventricular anteroventral y áreas adyacentes, como el núcleo periventricular preóptico, que define una población distinta de neuronas KISS1 en el área periventricular rostral del tercer ventrículo (RP3V). Las poblaciones ARC/infundibular y RP3V/rostral de neuronas KISS1 parecen desempeñar diferentes funciones en el control del eje gonadotrópico y responden de manera diferente a distintos reguladores como los esteroides sexuales (Witchel y Tena-Sempere, 2013).

Witchel y Tena-Sempere (2013) observaron que los esteroides sexuales juegan un papel clave en el control dinámico de la secreción de gonadotropinas tanto en hombres como en mujeres. Sin embargo, los efectos de los esteroides sexuales sobre el eje gonadotrópico son sexualmente diferentes. Por un lado, los andrógenos y los estrógenos inhiben constantemente la secreción de gonadotropinas en ambos sexos a través de acciones de retroalimentación negativa, que son esenciales para la restricción tónica de la liberación de LH y FSH. Por otro lado, el aumento de los estrógenos circulantes al final de la fase folicular en presencia de receptores de progesterona desencadena el pico preovulatorio de gonadotropinas; esta retroalimentación positiva de estradiol es específica del sexo femenino. Curiosamente, los análisis funcionales y de expresión en roedores indican que

las dos poblaciones principales de neuronas KISS1 juegan papeles completamente diferentes en este fenómeno; Mientras que las neuronas ARC KISS1 parecen participar en la retroalimentación negativa, la población RP3V de neuronas KISS1 parece desempeñar un papel en la mediación de los efectos de retroalimentación positiva de estradiol y, por lo tanto, son clave para el aumento ovulatorio de gonadotropinas.

Al estar las kisspeptinas relacionadas con el control del eje hipotalámico-hipofisario y la función ovárica, en los últimos años algunos trabajos se han centrado en estudiar las implicaciones fisiopatológicas del sistema KISS1 en el SOP y valorar su posible uso como herramienta diagnóstica o terapéutica.

## **2. Síndrome de ovario poliquístico**

El SOP es el trastorno endocrino más común entre las mujeres en edad reproductiva y la principal causa de infertilidad por anovulación. Este síndrome abarca la vida de las mujeres y las afecta desde la vida en el útero hasta la muerte, lo que genera varios riesgos para la salud que pueden afectar la calidad de vida y aumentar las tasas de morbilidad y mortalidad.

Un diagnóstico temprano y preciso es importante para un manejo adecuado del SOP, especialmente en los extremos de la vida reproductiva. Sin embargo, muchos fenotipos diferentes se incluyen bajo la misma condición, lo que puede conllevar a diferentes consecuencias. De esta forma, el SOP presenta una gran complejidad metabólica y su diagnóstico necesita ser revisado una vez más y adaptado a los datos recientes obtenidos por las nuevas tecnologías (Bellver y cols, 2018).

### ***2.1. Definición y epidemiología***

SOP es un síndrome complejo con criterios diagnósticos que se han agrupado en clasificaciones diferentes, algo controvertidas (figura 3). En abril de 1990, la definición del SOP aún no contemplaba la apariencia ecográfica de los ovarios. Sin embargo, en mayo de 2003, tras una reunión en Rotterdam, se establecen unos nuevos criterios diagnósticos para el SOP, que son los vigentes en la actualidad: presencia de oligo o anovulación, signos clínicos o bioquímicos de HA y ovarios de apariencia ecográfica poliquística (donde se exige por lo menos alguno de estos dos criterios: presencia de 12 o más folículos de 2 a 9 mm de diámetro y volumen ovárico superior a 10 cm<sup>3</sup>). Finalmente, se consensuó que la presencia de dos de los tres criterios establecidos sería



suficiente para el diagnóstico de SOP (Deswal y cols, 2020; The Rotterdam ESHRE/ASRM-sapon-sered PCOS consensus workshop group, 2003).

Fenotipo	Hiperandrogenemia	Hirsutismo	Oligo-anovulación	Ovarios poliquísticos	Criterios NIH 1990	Criterios RTM 2003	Criterios AE-PCOS 2006
A	+	+	+	+	✓	✓	✓
B	+	+	+	-	✓	✓	✓
C	+	-	+	+	✓	✓	✓
D	+	-	+	-	✓	✓	✓
E	-	+	+	+	✓	✓	✓
F	-	+	+	-	✓	✓	✓
G	+	+	-	+		✓	✓
H	-	+	-	+		✓	✓
I	+	-	-	+		✓	✓
J	-	-	+	+		✓	
K	+	+	-	-			
L	-	-	-	+			
M	-	-	+	-			
N	-	+	-	-			
O	+	-	-	-			
P	-	-	-	-			

Figura 3. Características y consecuencias metabólicas y reproductivas del SOP, existiendo hasta 16 fenotipos diferentes. Modificado de Azziz y cols, 2009.

## 2.2. Fisiopatología

El ovario se confirma como la glándula endocrina más versátil y compleja dentro de la regulación hormonal. Su identificación como auténtico marcapasos de la actividad menstrual no hace más que confirmar su papel regulador de los distintos agentes que hacen posible la concepción. Al igual que la definición de ovario poliquístico ha ido cambiando con el tiempo y con los nuevos conocimientos sobre la regulación de la función ovárica, las bases fisiopatológicas implicadas también se han ido modificando. Su heterogeneidad sugiere que los factores genéticos, metabólicos, endocrinos, ambientales y del estilo de vida son importantes en sus manifestaciones clínicas (figura 4) (De Assis Rodrigues y cols, 2019).

La mayoría de los autores definen el SOP como una patología poligénica (MIM 184700; figura 4), donde los genes clave que codifican factores implicados en la síntesis, transporte y regulación de andrógenos, el metabolismo de la insulina y la foliculogénesis

se han descrito como los principales genes candidatos. Las alteraciones endocrinas características del SOP se pueden clasificar en prenatales (programación fetal epigenética) o posnatales (dieta, obesidad, estilo de vida sedentario y toxinas ambientales). También se ha propuesto que el SOP puede presentar un patrón de herencia no genética en poblaciones con un estilo de vida poco saludable, como aquellas con una dieta alta en grasas saturadas, estilo de vida sedentario y consumo de alcohol y tabaco (Bellver y cols, 2018).

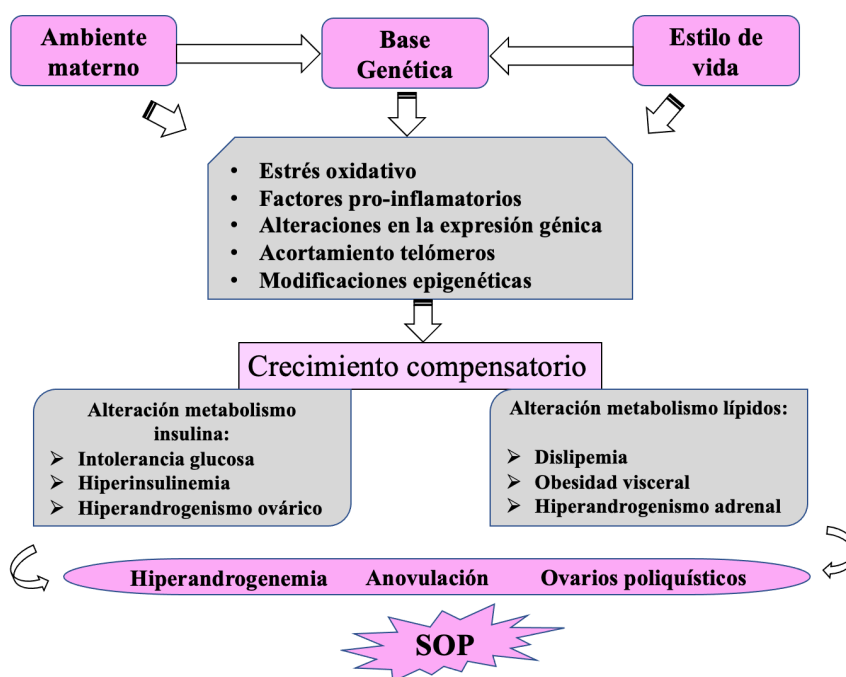


Figura 4. Diagrama conceptual que ilustra los factores básicos que contribuyen a los principales trastornos relacionados con SOP. Modificado de Bellver y cols, 2018.

Los cambios en la expresión génica producidos por la exposición a esteroides (principalmente glucocorticoides o andrógenos) durante los períodos críticos del desarrollo fetal se han relacionado con los diferentes fenotipos de SOP descritos. En el caso de hipoxia fetal por restricción dietética materna o insuficiencia placentaria, los fenómenos catabólicos conducen a restricción del crecimiento intrauterino y bajo peso al nacer. Como mecanismo de supervivencia, el gasto de energía se reduce al redistribuir el flujo sanguíneo fetal a los órganos esenciales (corazón, cerebro y glándulas suprarrenales) lo cual conduce a un aumento de la producción de glucocorticoides como consecuencia

de la hiperactividad del eje hipotalámico-hipofisario, que puede inducir modificaciones epigenéticas (De Assis Rodrigues y cols, 2019).

### ***2.2.1. A nivel del sistema hipotálamo-hipofisario***

El SOP se caracteriza por una secreción inapropiada de gonadotropinas, una concentración sérica media de LH elevada de forma anormal y una FSH normal o en el límite inferior de la normalidad. La FSH proporciona el estímulo inicial para el desarrollo folicular y también promueve la conversión en las células de la granulosa de los andrógenos en estrógenos estimulando las enzimas con actividad aromataasa, mientras que la LH induce la producción de andrógenos por la teca e inicia la maduración del ovocito a mitad del ciclo (Romero-Ruiz y cols, 2019).

Se ha observado un incremento significativo de la frecuencia y de la amplitud de la secreción pulsátil de la LH en mujeres con SOP. También se ha visto que pacientes sometidas a inducción de ovulación para técnicas de reproducción asistida presentan un pico de LH espontáneo y prematuro 12 h antes de la administración de gonadotropina coriónica humana. Algunos autores han asociado esta hipersecreción de LH durante la fase folicular, paralelamente con una escasa liberación de FSH con la alta tasa de esterilidad y aborto de las pacientes con SOP. Aunque este fenómeno no siempre se produce, en algunos casos la disfunción ovárica ocurre de forma independiente a la anormalidad de las gonadotropinas. Por otra parte, la frecuencia de la pulsatilidad de la LH podría encontrarse determinada fisiológicamente por la frecuencia de pulsatilidad de la GnRH hipotalámica, ya que mientras la pulsatilidad de GnRH es baja, la secreción de FSH predomina y cuando la pulsatilidad es alta, predomina la secreción de LH (Bellver y cols, 2018).

Entre un 20 y un 30% de los casos de SOP se acompañan de hiperprolactinemia moderada, pero sin alcanzar niveles suficientes para justificar la anovulación. La etiología de esta hiperprolactinemia no ha sido aclarada ya que podría ser secundaria al hiperestrogenismo relativo característico de estas pacientes o a las alteraciones en neurotransmisores del sistema nervioso central, esencialmente la vía dopaminérgica (Romero-Ruiz y cols, 2019).

### **2.2.2. A nivel ovárico**

El SOP se caracteriza por una insuficiencia en la maduración folicular. Numerosos folículos son reclutados y, sin embargo, evolucionan hacia la atresia antes de la aparición del folículo dominante, ya sea por el desbalance gonadotrófico o por efecto de sustancias locales. Se produce una hiperplasia del estroma, que conlleva una envoltura esclerosa del ovario. También, existe una disminución de la actividad aromatasa en las células de la granulosa que parece vinculada a la ausencia de maduración folicular y podría ser consecuencia, al menos en parte, de la concentración local baja de FSH. Como consecuencia de la disminución de la actividad aromatasa, hay una reducción de la conversión de los andrógenos tecales a estradiol y, como resultado, un HA que contribuye al mantenimiento de la inhibición de la actividad aromatasa y de la detención de la maduración folicular (Bellver y cols, 2018).

El HA en la vida fetal también puede conducir a la reprogramación epigenética de los tejidos reproductivos fetales, lo que da como resultado un fenotipo de SOP en la edad adulta. Bellver y cols (2018), describieron un aumento significativo de las concentraciones de andrógenos séricos periféricos en embarazos únicos de 22-28 semanas de mujeres con SOP frente a mujeres embarazadas sin SOP de edad gestacional similar. Sin embargo, se deben considerar otras fuentes potenciales, ya que la aromatasa placentaria protegería al feto de las altas concentraciones de andrógenos maternos. Asimismo, se ha sugerido como explicación a la falta de maduración folicular una serie de factores paracrinos esteroideos (estrógenos y andrógenos) y no esteroideos (polipéptidos). Algunos de estos polipéptidos como la insulina, factor de crecimiento insulínico de tipo 1, factor de crecimiento transformante beta y factores de crecimiento aumentan la producción de estradiol de las células de la granulosa, mientras que el factor de crecimiento epidérmico, factor de crecimiento transformante alfa, la hormona antimülleriana y la inhibina B inhibirían la acción de la FSH. Las células de la granulosa poseen receptores para estos péptidos y se ha demostrado que la producción intraovárica de algunos está controlada por las gonadotropinas y los esteroides.

Otra característica observada en pacientes con SOP es un cierto grado de resistencia a la insulina (RI) cuando se las compara con pacientes control de su mismo peso. En el ovario se encuentran presentes algunos receptores para la insulina y el IGF-1. La insulina ejerce sus efectos metabólicos mediante sus propios receptores, mientras que sus efectos sobre

el crecimiento celular se podrían ejercer, al menos en parte, por medio de los receptores del IGF-1. En la pubertad, hay un aumento fisiológico de los niveles de insulina, lo que resulta en una reducción de los niveles de globulina fijadora de hormonas sexuales y un aumento de las concentraciones de andrógenos libres, con la consiguiente estimulación de la esteroidogénesis ovárica. Las niñas predispuestas a la RI y al exceso de peso tienen un mayor riesgo de adrenarquia temprana y posterior SOP. En mujeres con SOP, la hiperinsulinemia fisiológica en la adolescencia puede desencadenar HA y disfunción ovulatoria. Independientemente del peso o del índice de masa corporal, del 50 al 70% de los pacientes con SOP presentan RI, lo que significa que se requieren mayores cantidades de insulina para una función normal. Esto se refleja en un aumento de la secreción de insulina por las células  $\beta$  pancreáticas, lo que conduce a una hiperinsulinemia compensadora y una glucemia normal. Cuando la respuesta pancreática es inadecuada, se puede desarrollar intolerancia a la glucosa o diabetes mellitus de tipo 2 (Delitala y cols, 2017).

Por último, cabe mencionar que un desequilibrio entre los radicales libres de oxígeno o las especies reactivas del oxígeno (ROS) y los factores antioxidantes puede provocar daño celular, una situación que puede ocurrir en el líquido folicular de las mujeres con SOP que socava la maduración de los ovocitos y la calidad del embrión. El entorno inflamatorio causado por el estrés oxidativo también promueve la RI y contribuye a la HA (Bellver y cols, 2018).

### ***2.2.3. A nivel suprarrenal***

Se ha propuesto un papel coadyuvante de los andrógenos suprarrenales en el desarrollo del síndrome. Los datos son algo controvertidos, ya que por un lado la tasa de dehidroepiandrosterona se encuentra elevada únicamente en el 20% de los casos y los ritmos secretores circadianos de la corticotropina y del cortisol son normales. En las mujeres con SOP, hay una actividad elevada de la  $5\alpha$ -reductasa que conduce a una mayor inactivación del cortisol o al deterioro de la  $11\beta$ -hidroxiesteroide deshidrogenasa y, por lo tanto, a la regeneración del cortisol. La actividad alterada de estas enzimas provoca un aumento de la secreción de corticotropina con una disminución de la señalización de retroalimentación negativa, manteniendo así el cortisol sérico normal con un aumento de los andrógenos suprarrenales (Bellver y cols, 2018).

#### ***2.2.4. A nivel del sistema nervioso central***

Con el fin de explicar la hiperpulsatilidad de la GnRH, se han propuesto diferentes anomalías de los neurotransmisores del SNC. Entre ellos, destacan el tono dopaminérgico, las  $\beta$ -endorfinas y los péptidos opiáceos, la angiotensina II, la serotonina, el neuropéptido Y, la neurotensina, la somatostatina, el factor liberador de corticotrofina, la melatonina, la noradrenalina, la oxitocina o la sustancia P. Sin embargo, no ha sido aclarada la relación entre estos factores y su importancia final en el proceso (Delitala y cols, 2017).

### **3. Implicaciones fisiopatológicas del sistema KISS1 en el SOP**

Las poblaciones de neuronas KISS1 son sexualmente dimórficas. Las mujeres tienen un mayor número de neuronas KISS1 que los hombres, especialmente en el RP3V, lo cual es esencial para una correcta activación del sistema gonadotrópico en la pubertad y su función adecuada más adelante en la vida. De hecho, las exposiciones inapropiadas a los esteroides sexuales, principalmente el exceso de andrógenos, durante las primeras etapas del desarrollo se han relacionado con la patogenia del SOP. En este contexto, se demuestra que uno de los mecanismos que contribuyen a las alteraciones neuroendocrinas observadas en el SOP es la organización alterada del sistema hipotalámico KISS1, debido a un medio de esteroides sexuales inadecuado durante las ventanas críticas del desarrollo (Bellver y cols, 2018).

Witchel y Tena-Sempere (2013), demostraron de forma experimental los efectos organizativos de los esteroides sexuales en el sistema KISS1 en los que se utilizaron ratas como modelo, ya que los cambios gestacionales que ocurrían en estos roedores se asemejaban a los que ocurrían en mamíferos superiores (ovejas y primates). Además de que la señalización de kisspeptina funciona como un amplificador esencial de la actividad neurosecretora de GnRH durante la pubertad, el hecho de que los niveles de esteroides sexuales puedan modular el desarrollo de las vías KISS1 abre la posibilidad de una maduración y función perturbadas del sistema KISS1 en condiciones de entorno de esteroides sexuales alterado, como el SOP. De hecho, un estudio reciente, utilizando un modelo de roedor de SOP (rata hembra prepuberal sometida a un tratamiento a largo plazo con dihidrotestosterona no aromatizable) documentó alteraciones profundas y duraderas del ARNm de KISS1 hipotalámico y la inmunorreactividad de kisspeptina, las cuales son características que contribuyen al fenotipo del SOP (Bellver y cols, 2018).

Sin embargo, la sensibilidad de las neuronas KISS1 a los efectos de maduración de los estrógenos durante las condiciones de la pubertad se ha demostrado solo en ratones, y aún no se ha demostrado la existencia de un fenómeno análogo en humanos. En este contexto, se necesita más trabajo experimental para dilucidar la naturaleza y la relevancia fisiológica del proceso de diferenciación sexual del sistema hipotalámico KISS1 en especies de mamíferos no roedores, incluidos los humanos, y su eventual perturbación en pacientes con SOP (Witchel y Tena-Sempere, 2013).

### ***3.1.Sistema Kiss: interacciones reproductivas metabólicas***

Se ha demostrado que las condiciones de estrés metabólico asociadas con la obesidad afectan al inicio de la pubertad y son perjudiciales para la fertilidad. Es de destacar que los desafíos metabólicos tempranos, como la desnutrición fetal, especialmente en presencia de un rápido aumento de peso posnatal, se han asociado con una menarquia más temprana. Los estrógenos son importantes señales anoréxicas cuya abstinencia provoca un rápido aumento de peso corporal. Además, los cambios en el medio de los esteroides sexuales durante los primeros períodos de desarrollo inducen alteraciones duraderas en las vías metabólicas y se ha demostrado que alteran la homeostasis de la glucosa. Durante las últimas dos décadas, numerosos estudios han revelado los efectos reproductivos de numerosas hormonas metabólicas y neuropéptidos, como es el caso de la insulina (Romero-Ruiz y cols, 2019).

Un problema que permanece parcialmente sin resolver y ha atraído una atención considerable es el mecanismo preciso por el cual la insulina participa en el control central del eje gonadotrópico. Se ha demostrado que los efectos directos de la insulina en las neuronas GnRH pueden no ser necesarios para la función esencial de la señalización de la insulina cerebral en el mantenimiento de la fertilidad. Según esto, se sugiere que existen otras vías intermedias que pueden transmitir los efectos de la insulina a las neuronas GnRH, como es el caso del sistema hipotalámico KISS1. De hecho, un informe muy reciente ha demostrado que la eliminación selectiva de los receptores de insulina de las neuronas KISS1 retrasa (modestamente) el momento de la pubertad; mientras que, la función reproductiva adulta en tal modelo de receptor de insulina condicional KO aparentemente no se ve afectada, lo que arroja dudas sobre el papel principal de la señalización directa de insulina en las neuronas KISS1 para los efectos de la hormona pancreática en el cerebro reproductivo (Romero-Ruiz y cols, 2019).

Finalmente, es probable que el efecto de la obesidad sobre la expresión y función de KISS1 en el hipotálamo dependa de la magnitud y duración del sobrepeso, así como de su momento durante el desarrollo. Por lo tanto, la obesidad de inicio temprano podría causar efectos opuestos en el sistema hipotalámico KISS1, al menos durante la pubertad, la sobrealimentación postnatal de ratas hembra induce una aparición más temprana de la pubertad en asociación con un aumento de la expresión hipotalámica de KISS1 y una tendencia a un mayor número de fibras de kisspeptina en el RP3V inmediatamente antes del inicio de la pubertad (Bellver y cols, 2018).

### ***3.2.Sistema KISS1: control fisiológico de la ovulación***

Las gonadotropinas controlan de forma positiva la expresión ovárica de KISS1, de modo que los niveles de ARNm de KISS1 en el ovario de ratas inmaduras aumentan mediante la administración elevada de gonadotropinas y el bloqueo de la oleada preovulatoria de gonadotropinas previene la elevación de los niveles de ARNm de KISS1 en el ovario en esta etapa. Sin embargo, los humanos y los roedores con señalización nula de GPR54 pueden verse obligados a ovular si se preparan adecuadamente con gonadotropinas, un hallazgo que argumenta en contra del papel indispensable de las kisspeptinas locales en el control de la ovulación (Bellver y cols, 2018).

A pesar de los datos anteriores, no se puede excluir el papel sutil de las kisspeptinas ováricas ya que podrían haber ocurrido mecanismos compensatorios en los modelos anteriores de ausencia congénita de la señalización de GPR54. De hecho, datos preliminares sugieren que la haploinsuficiencia de GPR54 causa defectos discernibles en la supervivencia y la dinámica folicular, independientemente de los cambios de gonadotropina, que dan como resultado un envejecimiento ovárico prematuro. Recientemente se ha propuesto que las kisspeptinas derivadas de los ovarios participen en la modulación de la secreción de gonadotropinas, como sugieren los análisis hormonales en pacientes con hipogonadismo hipogonadotrópico preparadas con gonadotropinas exógenas, lo cual es un fenómeno que podría desempeñar un papel en la desregulación de la secreción de gonadotropinas detectada en el PCO (Witchel y Tena-Sempere, 2013).



#### **4. Kisspeptina como herramienta diagnóstica del SOP**

Se han publicado numerosos artículos sobre la cuantificación de la kisspeptina sérica para el diagnóstico del SOP. Estos trabajos se han recogido en un reciente metaanálisis (Liu y cols, 2021).

En este estudio, se plantea la hipótesis de que las hormonas esteroideas anormales pueden actuar sobre la GnRH y el eje hipotalámico-hipofisario a través de la vía de señalización KISS1R, que afecta el desarrollo del SOP. El nivel de ARNm de KISS1 aumenta en ratones que no son sexualmente maduros con el aumento de los niveles de gonadotropina. Al bloquear la secreción de gonadotropina en la etapa temprana de la ovulación puede inhibir la elevación de los niveles de ARNm de KISS1 ovárico, lo que indica que la kisspeptina podría regular las hormonas relacionadas con el SOP. De esta forma, se deduce que es la kisspeptina la que puede estar involucrada en el proceso fisiológico de SOP y esto podría apoyarse analizando la diferencia en los niveles séricos de kisspeptina entre SOP y no SOP. Al analizarse estos niveles, se observa que todos los estudios incluidos muestran que los niveles séricos de kisspeptina de los pacientes con SOP son significativamente más altos que los del grupo control (mujeres sin SOP). Además, debido a que no hay una estandarización en las unidades de medida de la kisspeptina (ng/ml, ng/L, pg/ml, pmol/L y fmol/ml en los distintos artículos incluidos) los autores utilizan el estadístico diferencia media estandarizada (la diferencia entre las medias dividida entre la desviación estándar) que es uniforme entre los distintos estudios. Los autores concluyen que hay un aumento de esta diferencia media estandarizada de 0.57 (0.32 a 0.82 IC95%) (figura 5) en las pacientes con SOP respecto a las del grupo control.

Por otra parte, otros estudios han demostrado que los niveles de kisspeptina se correlacionan negativamente con la FSH y positivamente con la LH. Al mismo tiempo, se ha demostrado que la kisspeptina podría estimular directamente los islotes de células beta para regular la respuesta de la insulina a la glucosa. De esta forma, se observa que el metabolismo energético también puede verse afectado por el nivel de kisspeptina.

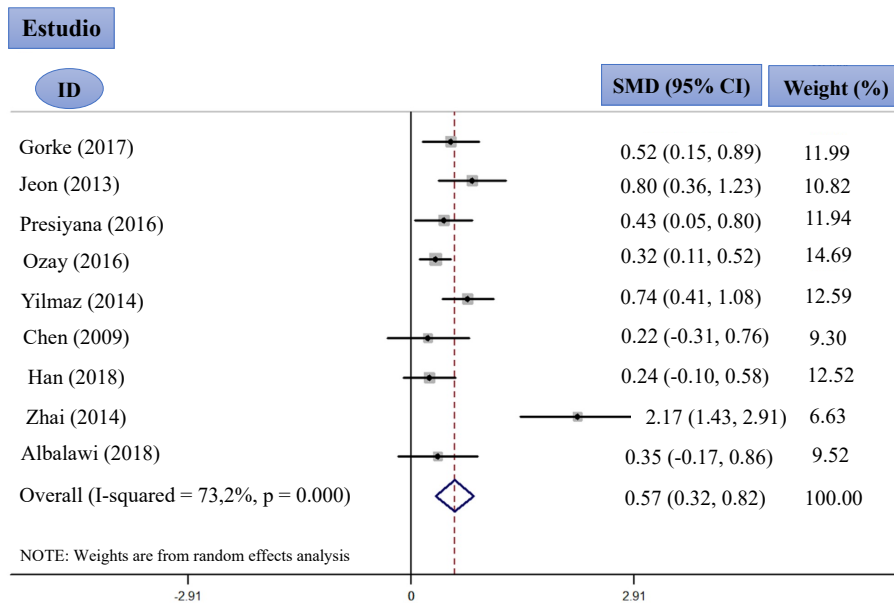


Figura 5. Diagrama de bosque del nivel de kisspeptina en suero. Los resultados globales agrupados ilustraron que los niveles séricos de kisspeptina de los pacientes con SOP fueron significativamente más altos que los del grupo control (Liu y cols, 2021).

Otro reciente estudio, mostró que los ratones hembra con una mutación inactivante del receptor KISS1R presentaban una actividad locomotora más baja, frecuencia respiratoria disminuida y un gasto de energía no relacionado con el deterioro de la secreción de la hormona tiroidea en comparación con los controles. Sorprendentemente, las hembras con la mutación inactivante en el receptor KISS1R y ovariectomizadas desarrollaron los mismos síntomas y en mayor proporción en comparación con los controles ovariectomizados, lo que sugiere un papel claro de la señalización de kisspeptina en las disfunciones metabólicas y la diabetes (De Assis Rodrigues y cols, 2019).

En resumen, se demuestra que los niveles de kisspeptina son más altos en pacientes con SOP que los de la población normal, y abre la posibilidad de que la kisspeptina sérica se utilice como biomarcador para el SOP en el futuro (Liu y cols, 2021).

## 5. Uso de kisspeptinas como posible terapia para SOP y la infertilidad

La mujer con SOP acude a la clínica de reproducción debido a la infertilidad causada por la hipersecreción de andrógenos y LH, junto a menstruaciones irregulares e hirsutismo. La tabla XX siguiente resume las distintas terapias que se pueden aplicar a estas mujeres (Bellver y cols del 2018 y Wawrzkieicz-Jałowiecka y cols del 2020).

Nombre	Descripción	Observaciones
<b>Citrato de clomifeno (CC)</b>	Tratamiento de primera línea. Compite con los estrógenos por sus receptores en el hipotálamo y la pituitaria, bloqueando el mecanismo de retroalimentación negativa.	Bajo coste. Puede causar una proliferación endometrial inapropiada debido a su efecto antiestrogénico. Puede afectar a las características del moco cervical.
<b>Letrozol</b>	Alternativa para evitar el efecto antiestrogénico del CC.  Inhibidor de la aromatasa.	Puede provocar efectos adversos como la formación de quistes ováricos, fatiga y anomalías congénitas. Se asocia con una disminución del recuento de folículos antrales.
<b>Gonadotropinas (FSH)</b>	Para pacientes resistentes al CC y que van a ser sometidas a TRA.	Alto coste.  Difícil determinación de la dosis inicial.  Riesgo de SHO y embarazo múltiple.
<b>Metformina</b>	Inhibe la producción de andrógenos ováricos en aproximadamente un 20-25%.  Disminuye la LH y aumenta la globulina fijadora de hormonas sexuales.  Se utiliza para pacientes obesas que buscan una inducción de la ovulación.	No se recomienda como agente de primera línea.  Se recomienda si la paciente presenta obesidad y una diabetes de tipo II.  Puede provocar complicaciones antes y después del embarazo.

<b>Cirugía bariátrica</b>	Tiene como objetivo reducir un 5-10% del peso inicial.	Evitar embarazo 12-18 meses después de la cirugía.
<b>Anti-Andrógenos</b>	Se utilizan en función de la sintomatología: -Píldoras anticonceptivas -Bloqueo del receptor de andrógenos con espironolactona -Inhibir el crecimiento del vello facial y otras partes del cuerpo con clorhidrato de eflornitina.	Para pacientes mayores de 40 años sin deseo reproductivo.

Recientemente, Romero-Ruiz y cols en 2019, han propuesto a la kisspeptina como posible tratamiento novedoso para algunas formas anovulatorias del SOP. Las mujeres que buscan la concepción pueden requerir estimulación con gonadotropinas. Sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, esto conlleva un riesgo del síndrome de hiperestimulación o el embarazo múltiple. Estas características demuestran la necesidad de protocolos de estimulación ovárica más seguros y eficientes. Dado que las kisspeptinas son potentes inductores de la liberación de GnRH endógena y, por lo tanto, promueven un estímulo de gonadotropinas más fisiológico en el ovario, los protocolos basados en kisspeptina se han propuesto recientemente como una opción más segura para promover la maduración y la ovulación de los ovocitos. Los datos preclínicos recientes sugieren que los mecanismos por los que el exceso de andrógenos contribuye a los diferentes componentes del SOP están, en gran medida, mediados a niveles centrales (neuronales). Se cree que estos componentes centrales de la enfermedad convergen en las neuronas GnRH, sin embargo, estas neuronas parecen carecer de receptores de andrógenos, lo que sugiere un papel para las vías intermedias.

Estos autores llevaron a cabo primero un estudio pre-clínico donde establecieron tres modelos diferentes de ratas hembra con SOP, basados en la exposición a distintos

andrógenos. Estos modelos fueron: PNA (para androgenización prenatal), NeNA (para androgenización neonatal) y PWA (para androgenización posterior al destete). Los índices somáticos, reproductivos y metabólicos se evaluaron en los grupos anteriores, incluida la ganancia de peso corporal, la apertura vaginal (marcador externo de consenso de la pubertad) y los niveles séricos basales de LH y FSH. Se aplicaron tratamientos farmacológicos en los tres modelos durante un periodo de 11 días y la dosis de kisspeptina-54 fue de 17 nmol/kg.

Los análisis fenotípicos de los principales índices reproductivos de los tres modelos de SOP revelaron que las ratas con PNA mostraban una apertura vaginal perturbada, lo que denota el inicio de la pubertad. Por el contrario, ninguna de las ratas NeNA mostró apertura vaginal, mientras que en el grupo PWA, presentaban apertura vaginal completa. El seguimiento de la ciclicidad estral mediante frotis vaginales en la edad adulta reveló que las ratas con PNA tenían una ciclicidad muy conservada, con una sucesión regular de las fases del ciclo estral en la edad adulta, mientras que las ratas PWA eran completamente acíclicas en la edad adulta. Las ratas con PNA no mostraron alteraciones significativas en los parámetros reproductivos básicos, incluidos los niveles de LH, excepto por una disminución en los niveles basales de FSH. Por el contrario, las ratas NeNA mostraban una supresión significativa de las concentraciones basales de LH, sin cambios en los niveles basales de FSH. De manera similar, las ratas PWA mostraron niveles de LH marcadamente suprimidos, junto con concentraciones más bajas de FSH.

Todos los grupos mostraron respuestas de LH significativas en todos los puntos temporales a la administración repetida de kisspeptina-54. Sin embargo, tanto el grupo de ratas NeNA como el de PWA mostraron una desensibilización parcial de las respuestas de LH después de la administración repetida de kisspeptina-54. En cuanto a los perfiles de respuestas de FSH, en ratas con PNA, las respuestas agudas de FSH a kisspeptina-54 se conservaron por completo, e incluso aumentaron moderadamente, con niveles de FSH persistentemente elevados tras la administración de kisspeptina. Sin embargo, la desensibilización completa del efecto sobre la liberación de FSH tuvo lugar con inyecciones repetidas de kisspeptina-54. Por el contrario, en ratas NeNA y PWA, las respuestas secretoras de FSH a las inyecciones de kisspeptina-54 se elevaron enormemente en un periodo de tiempo más corto que el grupo anterior. Además, se detectaron aumentos atenuados pero significativos en las concentraciones de FSH

después de las inyecciones de kisspeptina-54 en ambos modelos de androgenización posnatal. En resumen, sólo las ratas NeNA tuvieron respuestas secretoras concurrentes de LH y FSH a kisspeptina-54. El hecho de que este fue el único modelo en el que el tratamiento con kisspeptina rescató eficazmente la ovulación indica que la eficiencia de las kisspeptinas para inducir la ovulación en condiciones de SOP está ligada a su capacidad para provocar respuestas robustas de LH y FSH. Además, la atresia folicular disminuyó y el número total de folículos sanos grandes aumentó en ratas PWA al final del período de administración de kisspeptina-54, a pesar de la eliminación completa de las respuestas de LH y la atenuación de las respuestas de FSH.

Los mismos autores realizaron un segundo estudio clínico donde seleccionaron 2 grupos de mujeres de entre 18 y 42 años con SOP, según los criterios de Rotterdam. A las mujeres, se les administró kisspeptina-54 dos veces al día durante 21 días, comenzando en los días 2-4 de la menstruación. Para el primer grupo de cinco mujeres, la dosis fue 3,2 nmol/kg dos veces al día, administrado durante 7 días, con seguimiento dos veces por semana. Al no haber evidencia de una respuesta (desarrollo de un folículo  $\geq 12$  mm), la dosis se incrementó desde 9,6 nmol/kg hasta 12,8 nmol/kg. Si al final de cualquier período de tratamiento de 7 días había evidencia de una respuesta, las mujeres eran reevaluadas (ecografía y muestreo de sangre para hormonas reproductivas) dos veces por semana hasta que el resultado de ese folículo era evidente, es decir, había ocurrido atresia u ovulación. Un segundo grupo de siete mujeres fue tratado con 9,6 nmol/kg de kisspeptina dos veces al día durante 21 días. Si se detectaba una respuesta, la monitorización continuaba hasta que el resultado del desarrollo de ese folículo era evidente con una evaluación adicional de 7 días después de la desaparición de cualquier folículo dominante (es decir, supuesta ovulación) con ecografía repetida y evaluación hormonal.

Tras el análisis, se reveló que la administración repetida de kisspeptina-54 provocaba un aumento pequeño pero significativo de LH, con una elevación equivalente en los niveles séricos de estradiol a lo largo de la administración de kisspeptina-54. Por el contrario, no hubo cambios significativos de FSH o niveles de inhibina B. Además, los análisis de este estudio revelaron variabilidad en los patrones individuales de respuesta, es decir, se detectaron respuestas de LH en cinco de siete mujeres con SOP tratadas con la dosis fija de 9,6 nmol/kg y en dos de ellas se produjo el crecimiento de un folículo dominante con ovulación posterior. En ambos casos, aunque se produjo la aparición de un folículo en

crecimiento durante la administración de kisspeptina-54, el crecimiento continuo del folículo y la ovulación posterior continuaron después de los 21 días de administración.

En este contexto, las nuevas estrategias farmacológicas basadas en el uso de análogos de kisspeptina podrían proporcionar mejores oportunidades para una inducción de la ovulación eficaz. Varias razones apoyan este razonamiento: es probable que la estimulación con kisspeptina logre un estímulo gonadotrópico más fisiológico que el cebado con gonadotropinas exógenas, por lo que es menos propenso a dar como resultado el desarrollo de múltiples folículos y el SHO y como se describe en hombres, las kisspeptinas pueden ayudar a restablecer o sincronizar el generador de pulsos de GnRH, ayudando así a mitigar la posible desregulación del eje GnRH predicha en mujeres con SOP. En resumen, estos estudios farmacológicos combinados sugieren que las kisspeptinas son capaces de evocar respuestas de gonadotropinas detectables y, en un subconjunto de casos, ovulación efectivamente rescatada. Por ello, las nuevas estrategias farmacológicas basadas en el uso de análogos de kisspeptina podrían proporcionar mejores oportunidades para una inducción de la ovulación eficaz.

### ***5.1. Agonistas del receptor KISS1R***

Además del uso de la kisspeptina para mejorar algunos de los síntomas del SOP y la infertilidad, se ha estudiado el uso de agonistas de KISS1R.

Todos los péptidos derivados de la kisspeptina comparten una secuencia deca péptido C-terminal común, equivalente a kisspeptina-10, y activan a KISS1R provocando la estimulación de la fosfolipasa C, lo que finalmente conlleva a la liberación de  $Ca^{2+}$  de las reservas intracelulares. Recientemente, se han desarrollado agonistas de KISS1R mediante la modificación de kisspeptina-10 para aumentar la potencia y la estabilidad con el fin de promover la terapéutica dirigida a la kisspeptina a través de la vía de traducción. MVT-602 (anteriormente conocido como TAK-448) es un agonista de KISS1R con una duración de acción más prolongada que la kisspeptina-54.

Se propuso un estudio a 12 mujeres sanas, 6 mujeres con HA y 6 mujeres con SOP. El objetivo fue determinar de manera integral los perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos del agonista MVT-602 de KISS1R en mujeres sanas y en las 2 formas más comunes de subfertilidad oligo/anovulatoria del SOP. Además, se ha investigado los

efectos de MVT-602 y kisspeptina-54 en la señalización intracelular después de la activación de KISS1R y en la activación del potencial de acción de las neuronas GnRH en cortes cerebrales. Por otra parte, como se sabe que el medio de los esteroides sexuales en el momento de la administración influye en la respuesta a la kisspeptina, también se buscó en este trabajo determinar el impacto de la suplementación con estrógenos en la respuesta de las gonadotropinas a MVT-602 en mujeres.

La edad, la masa corporal y el índice de masa corporal (IMC) no difirieron entre las mujeres sanas, las mujeres con SOP y las mujeres con HA, mientras que las mujeres con SOP tenían niveles séricos de hormona antimülleriana (AMH) más altos y niveles más bajos de globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG) como se esperaba. Se administró una amplia gama de dosis entre 0,003 nmol/kg y 1,0 nmol/kg de MVT-602 a mujeres sanas. Los niveles más altos de LH ocurrieron 24 horas después de la administración, y no se observaron aumentos mayores en los niveles séricos de gonadotropinas o estradiol. Por otra parte, se comparan los efectos de MVT-602 con una dosis de kisspeptina-54 en mujeres sanas. Tanto MVT-602 como kisspeptina-54 indujeron una amplitud similar en el pico de LH, consistente con su mecanismo de acción análogo a través de la estimulación de KISS1R en neuronas GnRH hipotalámicas. Sin embargo, aunque las propiedades farmacocinéticas fueron similares, la administración de MVT-602 produjo un efecto farmacodinámico notablemente prolongado en comparación con kisspeptina-54 (tiempo de pico de LH: 21-22 horas frente a 4,7 horas), mientras que los niveles de FSH siguieron una trayectoria similar a la de la LH en respuesta a ambos péptidos.

A continuación, se comparó la señalización del receptor KISS1R a través de la vía  $G\alpha q$  después del tratamiento con kisspeptina-54 o MTV-602. El análisis con dosis variables de cada ligando (10 pM – 1  $\mu$ M) reveló que los 2 ligandos no diferían significativamente en eficacia (relación de fluorescencia máxima). Sin embargo, MVT-602 fue significativamente ( $P < 0,0001$ ) más potente ( $EC_{50}$  transformada logarítmicamente [pEC<sub>50</sub>]  $10,71 \pm 0,12$ ) que KP54 (pEC<sub>50</sub>  $8,04 \pm 0,06$ ).

Por otra parte, se determinó si MVT-602 y kisspeptina-54 dieron como resultado diferencias en la cinética de la señalización de KISS1R- $G\alpha q/11$ , se monitorizó la movilización de  $Ca^{2+}$  en tiempo real. Las células se trataron con 10 nM de cualquier



ligando. El tratamiento de las células con kisspeptina-54 o MVT-602 produjo un rápido aumento del  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular (con una intensidad máxima alcanzada en aproximadamente 30 a 60 segundos) que se mantuvo a lo largo del tiempo, similar a los perfiles de señal de  $\text{Ca}^{2+}$  informado para kisspeptina-10. La respuesta máxima aguda no fue diferente después del tratamiento con MVT-602 en comparación con kisspeptina-54. Durante la estimulación de 1 hora, tanto kisspeptina-54 como MVT-602 mostraron una respuesta sostenida en el tiempo cuantificada por el área bajo la curva y en cada marco de tiempo. Sin embargo, no hubo diferencia en los perfiles de señal sostenida entre kisspeptina-54 y MVT-602. En general, esto sugiere que si bien MVT-602 puede exhibir una potencia mucho mayor en el KISS1R, no difiere en su capacidad para alterar el perfil de señal de  $\text{Ca}^{2+}$  aguda o persistente a lo largo del tiempo en comparación con kisspeptina-54. En resumen, MVT-602 indujo una estimulación más prolongada del eje reproductivo a través de neuronas GnRH hipotalámicas de lo que es posible con kisspeptina-54 nativa. Los datos in vitro sugieren que esta acción prolongada de MVT-602 en comparación con kisspeptina-54 se debe a su mayor potencia en la liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular y la duración prolongada de la estimulación de las neuronas GnRH.

Debido a la acción de la kisspeptina para estimular directamente las neuronas GnRH hipotalámicas, ha habido un gran interés en el desarrollo de agonistas de KISS1R para el tratamiento de trastornos reproductivos. El perfil endocrino de MVT-602 es distinto y es probable que sea más similar al de la oleada natural de gonadotropinas de ciclo medio que al inducido por los desencadenantes de maduración de ovocitos actualmente disponibles. Serían de gran interés más estudios que evalúen si el perfil endocrino más fisiológico de MVT-602 se traduce en mejores resultados clínicos durante el tratamiento de FIV. En conjunto, estos datos clínicos y mecánicos identifican a MVT-602 como un posible agente terapéutico para el tratamiento de los trastornos reproductivos femeninos (Romero-Ruiz y cols, 2019; Abbara y cols, 2020).

## **6. Perspectivas futuras**

En el momento de escribir este trabajo (Julio 2021), existen estudios registrados en la base de datos [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov), relacionado con el SOP y las kisspeptinas. En dichos estudios, los investigadores buscaron participantes para analizar el papel de la kisspeptina en el sistema reproductivo y plantean la hipótesis de que la administración de kisspeptina será una herramienta útil para caracterizar ciertos trastornos reproductivos.

A pesar de su alta prevalencia, todavía no existe cura para el SOP. Los estudios clínicos en las últimas décadas han contribuido significativamente a la caracterización de la condición y también han arrojado luz sobre los diferentes fenotipos y su aparición. El desarrollo de modelos animales preclínicos ha sido extremadamente útil para abordar las hipótesis en torno a las contribuciones neuroendocrinas al SOP. Estos modelos animales han establecido un papel importante del cerebro en la posible patogénesis del SOP. Los estudios en ratones con PNA han demostrado claramente la presencia de un sistema de GnRH hiperactivo que impulsa el aumento de los niveles de LH en estas condiciones similares al SOP (Romero-Ruiz y cols, 2019).

Como se ha podido ver durante esta revisión también se observa la contribución de las neuronas aferentes, kisspeptina y neuronas GABA, a la hiperactividad de las neuronas GnRH. Sin embargo, cabe señalar que todavía falta información en algunos modelos con respecto a las neuronas GnRH y su red neuronal aferente. No obstante, junto con los estudios clínicos que muestran un aumento de los niveles de kisspeptina en sangre en mujeres con SOP, y una mejora en los niveles de LH después del tratamiento con un agonista de kisspeptina en mujeres con SOP, por lo que la participación del eje neuroendocrino en la patogenia del SOP es cada vez más convincente. Sin embargo, todavía hay una serie de preguntas importantes sin respuesta que deben abordarse; identificar poblaciones de neuronas específicas y factores de señalización alterados en el SOP es clave para el desarrollo de posibles terapias. Además de las neuronas KNDy, puede haber otras neuronas potenciales involucradas en la modulación directa o indirecta de la función de las neuronas GnRH que pueden verse afectadas en el SOP. Dado que el SOP a menudo también es un trastorno metabólico, con aumento de la adiposidad y alteración de la sensibilidad a la insulina, es probable que las neuronas sensibles al metabolismo (p. Ej., Neuronas AgRP/NPY y POMC) también contribuyan a los mecanismos neuroendocrinos subyacentes al SOP (Abbara y cols, 2020; Romero-Ruiz y cols, 2019).

Todavía se necesitan estudios que investiguen la contribución de otras poblaciones de neuronas y los neuropéptidos y neurotransmisores que liberan para obtener una imagen completa de los orígenes neuroendocrinos y el fenotipo adulto del SOP. Además, la identificación de los períodos de tiempo de desarrollo durante los cuales se alteran estas

neuronas y circuitos proporcionará información importante sobre los "períodos críticos" para el direccionamiento terapéutico de estos circuitos (Abbara y cols, 2020).

La utilidad clínica terapéutica y diagnóstica de las kisspeptinas tiene todavía que determinarse claramente. Para valorar las vías actuales de investigación he tomado como ejemplo los estudios en marcha registrados en [clinicaltrials.gov](https://clinicaltrials.gov) que se muestran en la siguiente tabla:

Término	Número de estudios
PCOS	143
Kisspeptin	13
PCOS & kisspeptin	1

De los 13 estudios registrados en marcha relacionados con las kisspeptinas, solo uno (NCT00914823) está relacionado con el SOP. Este estudio de Seminara y cols, es un ensayo clínico en fase 1 titulado *Administration of Kisspeptin to Subjects With Reproductive Disorders*. En él se estudia además el efecto en pacientes con síndrome de Kallmann, hipogonadismo hipogonadotrópico, deficiencia en GnRH e hiperprolactinemia. Es un estudio iniciado en 2009 y que se espera que terminen en 2023. No existe ningún estudio registrado sobre el uso diagnóstico de las kisspeptinas para el SOP. El único estudio registrado sobre el uso diagnóstico de las kisspeptinas es el liderado por Fernández-Sánchez y cols como predictor de la pérdida gestacional temprana [NCT03877939 *Detection of Kisspeptins and miRNAs in Patients With Non-viable Pregnancy (TESTKM)*].

## 7. Conclusiones

El sistema KISS1 ha surgido en los últimos años como un factor fundamental en el control del eje reproductivo, con roles esenciales en la diferenciación temprana y activación puberal del cerebro reproductivo, así como funciones clave en la regulación de la ovulación y el control metabólico de la fertilidad. Estas características hacen que sea tentador predecir que las alteraciones de este sistema podrían resultar en perturbaciones sustanciales del eje gonadotrópico, algunas de las cuales pueden parecerse a las que se observan en el SOP. El SOP es un problema diagnóstico y terapéutico complejo que afecta

a muchas mujeres en edad reproductiva. Debido a la compleja etiología de esta enfermedad, no se han dilucidado por completo todos los mecanismos moleculares implicados en el desarrollo del fenotipo del síndrome de ovario poliquístico. Además, incluso el curso de la enfermedad implica la aparición y agravamiento de algunos síntomas, lo que impide un tratamiento eficaz (Zeydabadi y cols, 2017).

Curiosamente, nuevos estudios realizados en modelos animales indican un mayor riesgo de desarrollar el fenotipo SOP entre la descendencia femenina de mujeres con síndrome de ovario poliquístico. A la luz de estos hechos, parece obvio la importancia que debe atribuirse a una comprensión completa de los mecanismos moleculares implicados en el desarrollo del fenotipo del SOP. Un lugar interesante para la acción de nuevos fármacos parece ser el eje hipotalámico-hipofisario. La GnRH, que estimula la glándula pituitaria anterior en la secreción pulsátil de FSH y LH, puede ser estimulada por sustancias como GABA y kisspeptina. Se observa un exceso de LH y una relación FSH/LH inadecuada en mujeres con SOP. Durante el transcurso de este trabajo, se ha visto como las nuevas sustancias terapéuticas como las kisspeptinas podrían basar su acción en la estimulación de las neuronas GnRH proporcionando mejores oportunidades para una inducción de la ovulación eficaz. Además, se ha demostrado que la estimulación con kisspeptina disminuye las probabilidades de desarrollar múltiples folículos y el SHO (Romero-Ruiz y cols, 2019).

Se ha demostrado que las kisspeptinas no sólo influyen en la regulación central del eje hipotalámico-hipofisario, sino también tienen un peso importante en el control directo de la función ovárica. Aunque esta posibilidad permanece inexplorada, se ha proporcionado una resumida descripción de los datos más destacados que apoyan la existencia de un sistema local en el ovario. La expresión de los elementos del sistema KISS1 en diferentes compartimentos ováricos se ha documentado en especies humanas y roedores. Es de destacar que los estudios en ratas mostraron que, aunque los niveles de ARNm de KISS1R en el ovario de la rata son bajos y estables a lo largo del ciclo, la expresión de KISS1 en los ovarios aumenta durante la transición puberal y alcanza niveles máximos durante la tarde del proestro, es decir, en el período anterior a la ovulación. La expresión ovárica de KISS1 está bajo el control positivo de las gonadotropinas, de modo que los niveles de ARNm de KISS1 en el ovario de ratas inmaduras aumentan mediante el cebado de gonadotropinas y el bloqueo de la oleada preovulatoria de gonadotropinas previene la

elevación de los niveles de ARNm de KISS1 en el ovario en esta etapa (Deswal y cols, 2020).

Es cierto que los humanos y los roedores con señalización nula de KISS1R pueden verse obligados a ovular si se preparan adecuadamente con gonadotropinas, un hallazgo que argumenta en contra del papel indispensable de las kisspeptinas locales en el control de la ovulación. Sin embargo, el papel de las kisspeptinas ováricas en el ajuste de la ovulación no puede excluirse en base a tales datos, porque podrían haber ocurrido mecanismos compensatorios en los modelos anteriores de ausencia congénita de la señalización de KISS1R y, hasta donde se sabe, alteraciones modestas de las funciones ováricas. De hecho, estudios preliminares sugieren que la haploinsuficiencia de KISS1R causa defectos discernibles en la supervivencia y la dinámica folicular, independientemente de los cambios de gonadotropina, que dan como resultado un envejecimiento ovárico prematuro. Además, la presencia de inmunorreactividad de kisspeptina en diferentes compartimentos ováricos, como la capa teca de los folículos en crecimiento, el cuerpo lúteo y la glándula intersticial pueden indicar funciones ováricas adicionales de las kisspeptinas transmitidas localmente, que podrían incluir (como se deduce de estas principales fuentes celulares) la modulación de la esteroidogénesis ovárica; de hecho, un estudio muy reciente documentó la capacidad de la kisspeptina para estimular la secreción de progesterona por las células lúteas de rata (Romero-Ruiz y cols, 2019).

En esta revisión, el objetivo fue proporcionar una descripción concisa de la evidencia disponible, principalmente indirecta, que sugiere un vínculo potencial entre el sistema KISS1 y el SOP. Es cierto que aún está pendiente la demostración concluyente de una asociación fisiopatológica entre la señalización de kisspeptina y este síndrome, y son esenciales estudios adicionales para caracterizar mejor el sistema KISS1 en modelos y mujeres con SOP. Aunque existen pruebas de esta asociación, todavía se necesitan más estudios que determinen la utilidad clínica (terapéutica o diagnóstica) de las kisspeptinas o sus agonistas. Sin embargo, no parece que a corto medio plazo se obtengan muchos más datos por el bajo número de estudios en marcha.

## 8. Bibliografia

1. Abbara, A., Eng, P., Phylactou, M., Clarke, S., Richardson, R., Sykes, C., Phumsatitpong, C., Mills, E., Modi, M., Izzi-Engbeaya, C., Papadopoulou, D., Purugganan, K., Jayasena, C., Webber, L., Salim, R., Owen, B., Bech, P., Comninou, A., McArdle, C., Voliotis, M., Tsaneva-Atanasova, K., Moenter, S., Hanyaloglu, A., Dhillon, W. (2020). Kisspeptin receptor agonist has therapeutic potential for female reproductive disorders. *J. Clin. Invest.* 130(12):6739-6753.
2. Azziz, R., Carmina, E., Dewailly, D., Diamanti-Kandaris, E., Escobar-Morreale, H., Futterweit, W., Janssen, O., Legro, R., Norman, R., Taylor, A., Witchel, S. (2009). The Androgen Excess and PCOS Society criteria for the polycystic ovary syndrome: the complete task force report. *Fertil. Steril.* 91:456–88.
3. Bellver, J., Rodriguez-Tabernero, L., Robles, A., Muñoz, E., Martinez, F., Landeras, J., Garcia-Velasco, J., Fontes, J., Alvarez, M., Alvarez, C., Acevedo, B., Group of interest in Reproductive Endocrinology (GIER) of the Spanish Fertility Society (SEF). (2018). Polycystic ovary syndrome throughout a woman's life. *J. Assist. Reprod. Genet.* 35:25-39.
4. De Assis Rodrigues, N., Laganà, A., Zaia, V., Vitagliano, A., Barbosa, C., De Oliveira, R., Trevisan, C., Montagna, E. (2019). The role of Kisspeptin levels in polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Arch. Gynecol. Obstet.* 300(5):1423-1434.
5. Delitala, A., Capobianco, G., Delitala, G., Cherchi, P., Dessole, S. (2017). Polycystic ovary syndrome, adipose tissue and metabolic syndrome. *Arch. Gynecol. Obstet.* 296(3):405-419.
6. Deswal, R., Narwal, V., Dang, A., Pundir, C. (2020). The Prevalence of Polycystic Ovary Syndrome: A Brief Systematic Review. *J. Hum. Reprod. Sci.* 13(4):261-271.
7. Hu, K., Chang, H., Zhao, H., Yu, Y., Li, R., Qiao, J. (2019). Potential roles for the kisspeptin/kisspeptin receptor system in implantation and placentation. *Hum. Reprod.* 1;25(3):326-343
8. Hu, K., Zhao, H., Chang, H., Yu, Y., Qiao, J. (2018). Kisspeptin/Kisspeptin Receptor System in the Ovary. *Front. Endocrinol.* 4;8:365.

9. Lee, J., Miele, M., Hicks, D., Philips, K., Trent, J., Weissman, B., Welch, D. (1996). KISS1, a novel malignant melanoma metastasis-suppressor gene. *J. Natl. Cancer. Inst.* 88:1731-1737.
10. Liu, J., Qu, T., Li, Z., Yu, L., Zhang, S., Yuan, D., Wu, H. (2021). Serum kisspeptin levels in polycystic ovary syndrome: A meta-analysis. *J. Obstet. Gynaecol. Res.*
11. Liu, X., Herbison, A. (2016). Kisspeptin Regulation of Neuronal Activity throughout the Central Nervous System. *Endocrinol. Metab.* 31(2):193-205.
12. Nyagolova, P., Mitkov, M., Orbetzova, M., Terzieva, D. (2016). Kisspeptin and galanin-like peptide (GALP) levels in women with polycystic ovary syndrome. *WOAR. Journals.* 4(5):1–12.
13. Romero-Ruiz, A., Skorupskaite, K., Gaytan, F., Torres, E., Perdices-Lopez, C., Mannaerts, B., Qi, S., Leon, S., Manfredi-Lozano, M., Lopez-Rodriguez, C., Avendaño, M., Sanchez-Garrido, M., Vazquez, M., Pinilla, L., Van Duin, M., Kohout, T., Anderson, R., Tena-Sempere, M. (2019). Kisspeptin treatment induces gonadotropic responses and rescues ovulation in a subset of preclinical models and women with polycystic ovary syndrome. *Hum. Reprod.* 2019. 34(12):2495-2512.
14. The Rotterdam ESHRE/ASRM-sapon-sered PCOS consensus workshop group. (2003). Revised 2003 consensus on diagnostic criteria and long-term health risks related to polycystic ovary syndrome (PCOS). *Hum. reprod.* 19:41-7.
15. Wawrzekiewicz-Jałowicka, A., Kowalczyk, K., Trybek, P., Jarosz, T., Radosz, P., Setlak, M., Madej, P. (2020). In Search of New Therapeutics Molecular Aspects of the PCOS Pathophysiology: Genetics, Hormones, Metabolism and Beyond. *Int. J. Mol. Sci.* 21(19):7054.
16. Witchel, S., Tena-Sempere, M. (2013). The Kiss1 system and polycystic ovary syndrome: lessons from physiology and putative pathophysiologic implications. *Fertil. Steril.* 100(1):12-22.
17. Zeydabadi, N., Ramezani, F., Zadeh-Vakili, A. (2017). The Role of Kisspeptin in Female Reproduction. *Int. J. Endocrinol. Metab.* 22;15(3):e44337.