

Monografía

Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotrofinas

Bertha Prieto-Gómez,¹ Mireya Velázquez-Paniagua¹¹ Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, UNAM.

Resumen

La reproducción en casi todas las especies animales está regulada por un mecanismo neuro-humoral en ambos sexos que debe estar sincronizado pues se inicia con cambios químicos en varias partes y que empieza a manifestarse en el cortejo. Las conocidas hormonas foliculoestimulante (FSH), luteinizante (LH) de la hipófisis producen la maduración gonadal y la esteroidogénesis. Pero existe otra hormona del hipotálamo que permite a la hipófisis liberar las gonadotrofinas, la GnRH, cuyo gen regulador está situado en el cromosoma 8, es un decapeptido que se ha conservado desde los peces hasta el hombre. A su vez, esta hormona se genera por pulsos que los esteroides desencadenan en el hipotálamo, pero como su cantidad es pequeña y su vida media es corta, se sugiere que existe una síntesis local de la misma hormona en el receptor. Como se ve hay un mecanismo muy complejo de regulación del sistema de reproducción. En el que intervienen, además, otros factores como una endorfina, el GABA, la dopamina, la noradrenalina y la serotonina, y factores no esteroideos locales como la inhibina y la activina. Los adelantos en estos conocimientos tienen asimismo una utilidad clínica pues análogos de GnRH se usan en el tratamiento de la pubertad precoz, los ovarios poliquísticos y la endometriosis.

Palabras clave: *Hipotálamo, hipófisis, ovario, testículo.*

Summary

Reproduction in almost all animal species is regulated by a neuro-hormonal mechanism in both sexes that must be synchronized, through chemical changes in various parts, which begins to manifest with in the courting ritual. The follicular stimulating and lutein hormones from the pituitary gland produce the maturation of the gonads and steroid genesis. However, other hormones from the hypothalamus allow the pituitary gland to liberate gonadotrophins, GnRH which is a decapeptide that has been preserved from fish to humans. The regulating gene is located in chromosome 8. At first glance, this hormone appears to be generated by pulses that the steroids un-

lock in the hypothalamus. However, since is secreted in small quantity and has a short half-life, there have been suggestions that a local synthesis of the same hormone takes place in the receptor. Regulation of the reproduction system is controlled by a very complex mechanism. Further elements intervene in the system such as the GABA, endorphins dopamine, noradrenaline and serotonin, as well as local non-steroidal elements such as inhibine and activine. As a spin-off, advances in the knowledge of this area have shown a clinical usefulness, illustrated by GnRH analogs which are used in the treatment of early puberty, ovarian cysts and endometriosis.

Key words: *Hypothalamus, pituitary gland, ovary, testicle.*

Generalidades

La reproducción, proceso por el cual se asegura la continuidad de la especie, desde los organismos unicelulares hasta el hombre ha sido ampliamente estudiada. Sin embargo, a pesar de los avances genéticos-moleculares que han permitido la clonación para crear una Dolly, conocer e incluso seleccionar el sexo del producto por nacer e inclusive modificar el ADN de la célula germinal para controlar enfermedades genéticas, los mecanismos precisos que participan en la regulación de este fenómeno no son aún del todo entendidos.

En esta revisión, se intentan recordar algunos principios básicos de la regulación neurohumoral de la reproducción y dar a conocer datos recientes que ayudarán a entender mejor los mecanismos que modulan dicho proceso. La reproducción, no es un mecanismo permanente, no hay especie animal que se reproduzca en forma continua. Algunas criaturas, se reproducen en múltiples ocasiones a lo largo de un año, pero, la mayoría, sólo pueden engendrar una sola vez de los 365 días del año.

La necesidad de sincronizar los ritmos de reproducción de la hembra con los del macho resulta evidente, pues el esperma del macho ha de estar maduro y listo para cuando la hembra haya producido los huevos. Si los ritmos de uno y otro sexo estuvieran desfasados, la fecundación sería imposible y la especie no sobreviviría. Sin embargo, el que las células

sexuales de hembras y machos estén “listas” al mismo tiempo no es suficiente. Sin cortejo, la desconfianza mutua y la agresión entre los sexos puede impedir que éstos se apareen, así debe de existir el cortejo, mismo que se desencadena debido a cambios químicos que suceden en el organismo en el proceso de la maduración sexual.

Así, la reproducción resulta de la suma de múltiples variables fisiológicas, psicológicas y ambientales. Dentro de las variables fisiológicas, se encuentran las hormonas gonadotrópicas, mismas que permiten el desarrollo no sólo de las células sexuales sino también el despliegue de las conductas necesarias para una buena relación sexual.

Hormonas gonadotrópicas. Las hormonas foliculoestimulante (FSH) y luteinizante (LH) son glicoproteínas producidas y liberadas por la hipófisis anterior, de donde se vierten al torrente sanguíneo para así alcanzar sus órganos blanco, las gónadas. Ambas hormonas, favorecen la maduración gonadal y la esteroidogénesis, capacitando al organismo para que se pueda reproducir. La FSH, en la hembra, actúa sobre los folículos en los que se encuentran los óvulos en desarrollo, produciendo su crecimiento además de iniciar la secreción de la hormona sexual femenina, el estrógeno, que al alcanzar determinados niveles, inhibe la secreción hipofisiaria de la FSH. En el macho, esta hormona promueve la espermatogénesis.

La LH produce la ruptura del folículo y así se produce la ovulación y el folículo que nutrió por algún tiempo al óvulo, por efecto de esta hormona, crece y da origen al cuerpo lúteo, mismo que empieza a secretar progesterona, hormona indispensable en el embarazo. Si el óvulo no se fecundó, el cuerpo lúteo se encoge gradualmente y deja de secretar progesterona y se inicia otro nuevo ciclo sexual. Esta hormona, en el macho, favorece la secreción de andrógenos.

La síntesis y la liberación de las hormonas gonadotrópicas hipofisiarias, son reguladas por la hormona hipotalámica liberadora de gonadotrofinas (GnRH), misma que provee el enlace entre los sistemas nervioso y endocrino.

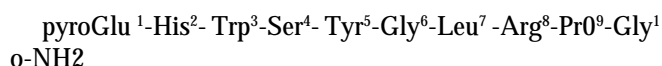
Hormona liberadora de gonadotrofinas, GnRH

Desde el aislamiento de este decapeptido y de la identificación de su estructura hace 30 años (1971), su estudio ha contribuido a entender los mecanismos y el patrón de liberación de las hormonas gonadotrópicas.

Estructura del gene GnRH. El gene que codifica la GnRH ha sido aislado de la rata, el ratón y el hombre, y está localizado en el brazo corto del cromosoma 8 en el humano. La información obtenida de cDNAs clonados del hipotálamo y de la placenta indica cuatro exones. La secuencia de codificación transcribe una proteína precursora de 92 aminoácidos que origina la GnRH y un péptido de 56 aminoácidos llamado GAP (péptido asociado con GnRH). El primer exón con-

siste de una región 5'-no transcrita que difiere en los DNA codificados de la placenta y el hipotálamo. El segundo exón codifica para el péptido señal, GnRH (10 aa) y los primeros 11 residuos de aminoácidos de GAP. El tercer exón codifica para los residuos 12-43 de GAP. El cuarto exón codifica para los 13 residuos de aminoácidos terminales de GAP y la restante mRNA no se transduce.

Estructura del decapeptido GnRH. Se presume que éste es una entidad muy singular, aun cuando se reportó que esta molécula se ha conservado desde los peces hasta el hombre; diversos estudios muestran que en vertebrados existen al menos cinco variantes, la primera de ellas, se aisló y se identificó a partir de 300,000 cerebros de pollo. La existencia de estas variantes, dio la pauta para conocer la relación estructura-función y permitió que hasta la fecha se hayan sintetizado más de 3,500 análogos de GnRH. La secuencia lineal de la GnRH en mamíferos es:



Diversas especies, contienen dos o más formas de GnRH. Una forma hipotalámica (GnRH-I), la cual varía en estructura entre las diferentes especies- y una forma altamente conservada que se encuentra en el tejido cerebral extrahipotalámico, sitio en el que se propone actúa como un neuromodulador.⁵ Actualmente se le conoce como GnRH II.

La molécula de la GnRH, puede sufrir cambios conformacionales que le permiten ir desde una forma completamente extendida hasta una forma altamente enrollada. El análisis tridimensional de la hormona, en solución, ha indicado que existe un giro B en la posición 6, que aproxima al carboxilo a la amina terminal, dicha configuración tiene una alta afinidad por los receptores GnRH.

Es prudente señalar que algunos de los péptidos no GnRH, derivados del precursor GnRH, son biológicamente activos y también estimulan a las gonadotrofinas e inhiben a la prolactina.

Sitio de producción. Neuronas productoras de GnRH. Las neuronas que producen GnRH, tienen su origen embrionario fuera del sistema nervioso central, y derivan de la placoda olfatoria durante la gestación temprana; dichas neuronas migran hacia el hipotálamo, junto con o como parte del nervio terminal a través de la lámina cribiforme. Defectos en la migración de estas neuronas resultan en una deficiencia de GnRH asociada con la ausencia de bulbo olfatorio en humanos (Síndrome de Kallmann*), la principal alteración endocrina es una falla para secretar hormona liberadora de la hormona lu-

* Síndrome de Kallmann, se reporta que en pacientes con este síndrome, es común encontrar anosmia o hiposmia e hipogonadismo hipogonadotrópico y ausencia de interés por el sexo opuesto.

teinizante resultando en el poco desarrollo de los gonadotropos de la pituitaria e incapacidad para sintetizar LH y FSH.

El decapeptido GnRH en la rata adulta, es producido por un número relativamente pequeño de neuronas, las que se encuentran dispersas en el complejo de la banda diagonal-septum medial y el hipotálamo rostral.⁶ En el hipotálamo, neuronas parvicelulares neurosecretoras de GnRH se encuentran en el núcleo arcuato, el núcleo periventricular, el paraventricular y el área preóptica. De estas zonas la GnRH es transportada a la eminencia media y liberada al sistema portal hipotálamo-hipofisiario, preferentemente en el sulco infundibular.

En el hámster, se han descrito proyecciones de neuronas secretoras de GnRH hacia el hipocampo, la amígdala (a través de la estria terminal), el órgano subfornical, el órgano vascular de la lámina terminal y del tubérculo olfatorio hacia la amígdala y la corteza piriforme.

En los roedores, el número de neuronas secretoras de GnRH es variable, yendo desde un promedio de 356 neuronas en el hámster Djungarian pospuberal, hasta 560-1,300 células en la rata.¹⁰ Sin embargo, aun cuando el número de estas neuronas varía, el patrón de proyección al rinencéfalo, al sistema límbico y al tallo cerebral es similar en el hámster, en la rata, y el cobayo.

Patrón de secreción. La hormona GnRH, se libera en forma de pulsos, los cuales pueden ser regulados por señales externas al hipotálamo, tales como las hormonas esteroideas. En niñas prepúberes, la frecuencia de estos pulsos es de uno cada 3-4 horas. Mientras que en la mujer adulta dicha frecuencia es de un pulso cada 90-100 minutos en la fase temprana folicular y de uno cada 60 minutos en la fase folicular tardía.⁷ La naturaleza pulsátil de la secreción de la GnRH resulta en la liberación en fases de la LH y FSH.

Vida media. La vida media de la GnRH en el humano, se ha calculado ser menor de 10 minutos. Dado que, la vida promedio de esta hormona es muy corta, resulta difícil medir su actividad, por lo que ésta es valorada a través de la concentración de la hormona luteinizante circulante.

Receptores. Los receptores a la GnRH se encuentran exclusivamente en membranas citoplasmáticas. El principal sitio blanco de esta hormona es el gonadotropo de la adenohipófisis. Sin embargo, receptores a esta hormona se han encontrado en gónadas de rata y de humano, en placenta, en tejido adrenal, algunos tejidos cancerígenos de mama y en el sistema nervioso central.

Debido a las concentraciones plasmáticas tan bajas y a una vida media tan corta de la GnRH, se sugiere que los receptores periféricos a esta hormona sean activados por una síntesis local de la hormona (regulador "autocrino") más que por aquella liberada del hipotálamo.

Gonadotropos. El número de gonadotropos en la rata recién nacida es mayor que el de la rata adulto y es más grande en la hembra que en el macho. La maduración de estas células

ocurre durante los primeros 7 días posnatales, y a las 2-3 semanas ya se observan cómo serán en la etapa adulta. Con la edad, en la rata macho, el número de los gonadotropos cambia pero en la hembra no hay un cambio significativo.

En los gonadotropos de la rata hembra, sólo en el 37-40% se encuentran las dos hormonas gonadotrópicas, LH y FSH, mientras que en el macho este porcentaje se incrementa al 70%.

El número absoluto de gonadotropos no cambia en la adenohipófisis de la rata hembra adulta, sin embargo, el patrón de almacenamiento de las dos hormonas gonadotróficas sí varía de acuerdo a las condiciones fisiológicas del animal. Así, en la rata, el hámster, la oveja y la vaca hay cambios en el número de receptores hipofisiarios a la GnRH a través del ciclo estral, siendo bajo en el estro y en el metaestro para aumentar gradualmente en el diestro y permanecer alto hasta la tarde del proestro, en donde se alcanzan los niveles más altos, es decir durante el periodo previo al pico preovulatorio de LH. Después del pico de LH el número de receptores decrece y se pueden requerir varios días para alcanzar los niveles del proestro.³

In vitro, se ha observado que el tratamiento de células de la hipófisis con GnRH produce una respuesta bifásica en el número de receptores. Primero, se observa una disminución en el número de receptores ("down regulation") seguida por un incremento en el mismo ("up regulation"). La disminución, ha sido asociada temporalmente con la desensibilización de los gonadotropos a la GnRH, esta respuesta parece ser independiente del calcio extracelular, mientras que el incremento en el número de receptores es dependiente de las concentraciones de calcio extracelular y requiere de la síntesis de proteínas.

En células hipofisiarias cultivadas, el estradiol y la progesterona producen un incremento y un decremento respectivamente en el número de receptores a GnRH, mientras que la castración aumenta en forma significativa el número de receptores a la GnRH y durante el embarazo y la lactancia el número de receptores es menor que el observado durante el ciclo estral.

Los datos previos, sugieren la posibilidad de una regulación del número de receptores a GnRH tanto *in vitro* como *in vivo*.

Los receptores a GnRH pueden "aparecer" en la membrana por: reciclamiento (es probable que los mismos receptores sean regresados a la membrana), biosíntesis de nuevos receptores y el "desenmascaramiento" de receptores que ya existían, mientras que, la "desaparición" de dichos receptores resulta de la degradación, internalización y el enmascaramiento de los mismos.

El tratamiento de células hipofisiarias con GnRH estimula la síntesis de su propio receptor. En la rata el tiempo requerido para sintetizar la mitad de la población de los receptores es de 24-48 horas.

Receptores cerebrales. Además de las acciones bien conocidas de la GnRH, hay evidencias de que existen receptores a esta hormona en el sistema nervioso central (SNC). En

el cerebro, los principales sitios blanco para esta hormona son la amígdala y el hipocampo. En la amígdala los núcleos medial, lateral, y cortical se marcan moderadamente con análogos iodados de GnRH, mientras que en el hipocampo, la estria oriens y las áreas CA1-4 se marcan con análogos de la GnRH. Además, se encuentran sitios que fijan GnRH en núcleo arqueado, ventromedial y sustancia gris central.

La presencia de receptores a GnRH en el SNC sugiere que esta hormona actúa como un transmisor o un neuromodulador que pudiera participar en la regulación de conductas reproductivas y en la promoción de la ovulación.

Estructura del receptor GnRH. La secuencia de aminoácidos del receptor a la GnRH fue elucidada cuando se clonó el receptor de cDNA de una línea celular de gonadotropos murinos (alfa T3). Esta secuencia fue confirmada más tarde y asentó las bases para la clonación de los receptores de pituitarias de: humano, rata, oveja, vaca y cerdo. La secuencia de los receptores de mamíferos exhibe una alta homología con más del 85% de aminoácidos idénticos.⁸ La vaca, la oveja y el humano tienen 328 aminoácidos, mientras que los murinos y la rata tienen 327.

La configuración del receptor tiene los rasgos característicos de los receptores acoplados a proteínas G; consiste de una sola cadena de aminoácidos con una amina extracelular, siete segmentos hidrofóbicos transmembranales conectados por asas extra e intracelulares y termina con un grupo carboxilo intracelular.

En mamíferos, una característica muy importante del receptor a GnRH es la falta del carboxilo terminal citoplasmático. Se ha demostrado, que el carboxilo terminal es importante para el acoplamiento de proteínas G, la internalización del receptor inducida por el agonista y/o la desensibilización mediada por la fosforilación de Ser/Thr.

Mecanismo de acción GnRH. La respuesta fisiológica a la unión de la GnRH a los gonadotropos es la liberación de gonadotropinas. Sin embargo, hay otras respuestas celulares provocadas por esta hormona, entre ellas se incluyen: el aumento y la disminución en el número de receptores, desensibilización de los gonadotropos y la biosíntesis de los receptores a la GnRH y a las gonadotropinas.

Cuando el agonista GnRH se une a sus receptores, se forman "parches de membrana" que los envuelven y así son internalizados. El primer paso en la acción de la hormona parece resultar en una microagregación de los receptores.² Después de dicha agregación los receptores a GnRH se internalizan y se asocian con los lisosomas y/o con el complejo de Golgi y gránulos de LH. Se sugiere una degradación y/o un reciclamiento de los mismos.

Los efectos de la GnRH son mediados por mecanismos asociados a proteína G. Al activarse la subunidad alfa de esta proteína se desencadena una cascada de eventos en los que participan la activación de varias enzimas y la movilización de iones (figura 1).

Es probable que uno o más sistemas de segundos mensajeros sean utilizados para que el gonadotropo sintético y libere FSH y LH.

Liberación de LH. Los primeros estudios que intentaron elucidar el mecanismo a través del cual se realiza la liberación de LH estimulada por GnRH, sugirieron la participación de los nucleótidos cíclicos cAMP y cGMP como los segundos mensajeros en la transducción de esta señal. Sin embargo, ahora es claro que el cAMP no es el segundo mensajero en la liberación de LH estimulada por GnRH, pero este nucleótido sí parece tener un papel importante en la síntesis de esta hormona. Diversas evidencias, han mostrado que el calcio intracelular pudiera ser el segundo mensajero en la liberación de esta hormona, ya que éste estimula la liberación aguda de LH en respuesta a GnRH. Además, el tratamiento con bloqueadores de canales de Ca⁺⁺ como el verapamil y el metoxinerapamil bloquean su liberación.

El calcio activando a la calmodulina, bloqueadores de esta proteína pueden inhibir la liberación de LH estimulada por GnRH, promueve la activación de la proteína cinasa C con lo cual se produce la liberación de gonadotropinas.

Regulación de GnRH. El generador del pulso hipotalámico, es influido por varios factores entre los que se encuentran: el tono opioide endógeno, así, la B-endorfina inhibe la liberación de GnRH del hipotálamo mediobasal en humano, el GABA también produce inhibición de GnRH en tanto que, esta hormona es estimulada por dopamina (DA), noradrenalina (NA) y serotonina (5HT).

Otras hormonas. Además de los neurotransmisores antes mencionados, hormonas como la inhibina y la activina (factores no esteroideos de las gónadas) regulan la liberación de LH y FSH.

La inhibina previene la "up regulation" de los receptores por bloquear la estimulación de la síntesis de receptor GnRH producida por la misma hormona, mientras que la activina estimula la síntesis del receptor a GnRH, en cultivo de células hipofisarias.

Melatonina (Mel), esta hormona reguladora de la actividad reproductora, particularmente en animales de reproducción estacional, parece jugar un papel muy importante, si no determinante, en la regulación de la síntesis y liberación de gonadotropinas. Así, en gonadotropos de rata recién nacida, la Mel inhibe algunos efectos inducidos por la GnRH como son la liberación de LH y FSH *in vivo* e *in vitro*, el incremento de cAMP, el incremento de diacilglicerol y el incremento de la concentración interna de Ca⁺⁺.^{**} Además, esta hormona puede ejercer un efecto inhibitorio sobre el inicio de la pubertad, al menos, parcialmente al nivel de la hipófisis.⁹

** En el ganado ovino se ha mostrado su participación en la regulación de la reproducción, a tal grado, que en los últimos 10 años en España se ha intentado el uso de melatonina para optimizar la actividad reproductiva en ovejas.

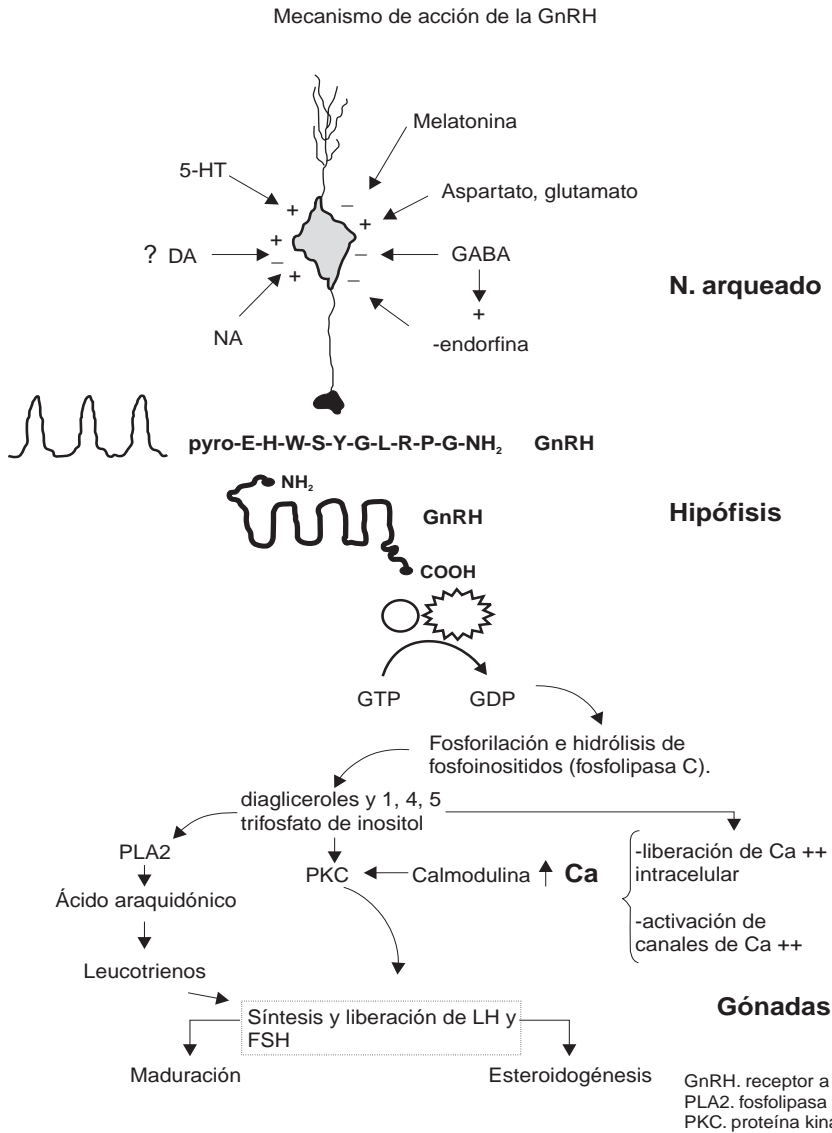


Figura 1. Mecanismos de acción de la GnRH.

GnRH en la clínica. Diversas patologías, resultan de la alteración en los niveles promedio de gonadotropinas, entre ellas, algunas son causadas por la alteración en la pulsatilidad de la GnRH. Así, en la amenorrea hipotalámica e hiperprolactinemia, los pulsos de liberación de GnRH son persistentemente lentos o incluso inexistentes, mientras que, en pacientes con síndrome de ovario poliquístico (aumento de andrógenos ováricos) los pulsos son muy rápidos.

La aplicación intravenosa de GnRH, en pulsos de uno por hora produce la ovulación. Sin embargo, si los pulsos se dan uno cada dos horas el pico de gonadotropinas a la mitad del ciclo no es abrupto y los niveles de FSH no se incrementan, por lo que se disminuye el porcentaje de ovulación.

Algunos desórdenes reproductivos, se deben a alteración en los genes que codifican a las gonadotropinas y a anomalías

tanto en las vías de transducción de señales celulares (p.ej. proteína Gs) como de los receptores a estas hormonas.¹ Por ejemplo, el análisis de la secuencia del receptor a la GnRH mostró que mutaciones “naturales” a este nivel pueden resultar en un hipogonadismo hipogonadotrópico,⁴ las mutaciones en los receptores a andrógenos producen un amplio espectro de síndromes clínicos que van desde pseudohermafroditismo masculino (insensibilidad parcial a los andrógenos, [síndrome de Reinfenstein] mutación ligera) hasta la feminización testicular (mutación severa).

Además, alteraciones en el receptor a LH pueden producir pubertad precoz independiente de las gonadotropinas, con niveles elevados de testosterona y niveles bajos de gonadotropinas.

A la fecha análogos de GnRH están siendo utilizados clínicamente para tratar: pubertad precoz en niños, endometriosis, en-

fermedad de ovarios poliquísticos, infertilidad en hombres, alteraciones en la secreción de GnRH, y en dos de las neoplasias más frecuentes dependientes de esteroides: el cáncer de próstata y el cáncer de mama, en estos casos, la desensibilización de la pituitaria producida por el uso constante de los agonistas de GnRH, resulta en una ablación completa del eje reproductivo.

Las implicaciones clínicas del uso de análogos de la GnRH son muy amplias, pero ciertamente es necesario conocer más sobre el tema.

Los trabajos acelerados que se realizan, seguramente ampliarán, en un futuro próximo, los conocimientos del complicado campo de la reproducción.

Referencias

1. Albanese C, Colin I M, Crowley W F et al. The gonadotrophin genes: evolution of distinct mechanisms for hormonal control. *Recent Progress in Hormone Res* 1996; 51: 23-61.
2. Conn PM. Ligand dimerization: a technique for assessing receptor-receptor interactions. *Methods Enzimol.* 1983; 103: 49-58.
3. Conn PM. The molecular mechanism of gonadotrophin-releasing hormone action in the pituitary. In: *The physiology of reproduction*. Knobil E and Neill J.D. (editors) 2th ed. New York. Raven Press. 1994.
4. De Roux N. A family with hypogonadotropic hypogonadism and mutations in the gonadotrophin-releasing hormone receptor. *N. England J of Med* 1997; 337: 1597-1602.
5. Flanagan CA, Millar RP, Illing N. Advances in understanding gonadotrophin releasing hormone receptor structure and ligand interactions. *Rev of Reproduction* 1997; 2: 113-120.
6. Jennes L, Eyigor O, Janovick JA, Conn PM. Brain gonadotrophin releasing hormone receptors: localization and regulation. *Recent Progress in hormone Research* 1997; 52: 475-491.
7. Marshall JC, Griffin ML. The role of changing pulse frequency in the regulation of ovulation. *Human reproduction*. 1993; 8: 57-61.
8. Sealton SC, Weinstein H, Millar RP. Molecular mechanisms of ligand interaction with the gonadotrophin-releasing hormone receptor. *Endocr Rev* 1997; 18: 180-205.
9. Vanecek J. Cellular mechanisms of melatonin action. *Physiol Rev* 1998; 78(3): 687-721.
10. Yellon SM, Lehman MN, Newman SW. The gonadotrophin-releasing hormone neuronal system of the male Djungarian hamster: distribution from the olfactory tubercle to the medial basal hypothalamus. *Neuroendocr* 1990; 51: 219-225.

