



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA – TRABALHO FINAL

INÊS VIDEIRA DE CARVALHO

Puberdade: endocrinologia e genética

ARTIGO DE REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE ENDOCRINOLOGIA

Trabalho realizado sob a orientação de:
DRA. MARIA MARGARIDA SANTOS ANTUNES CATARINO BASTOS FERREIRA

JANEIRO DE 2018

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Medicina, submetida à Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.

ARTIGO DE REVISÃO

TÍTULO: Puberdade: endocrinologia e genética

Puberty: endocrinology and genetics

AUTORA: Inês Videira de Carvalho

Categoria: Aluna do 6º do Mestrado Integrado em Medicina

Matrícula número 2012140871

Afiliação: Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

ORIENTADORA: Dra. Maria Margarida Santos Antunes Catarino Bastos Ferreira

Categoria: Assistente Convidada da Unidade Curricular de Endocrinologia¹

Assistente Graduada²

Afiliação: ¹Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

²Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Centro Hospitalar e
Universitário de Coimbra, Portugal

ENDEREÇO DE CORREIO ELECTRÓNICO: inesvideiradecarvalho@gmail.com

SUMÁRIO

Índice de figuras	4
Índice de tabelas	5
Resumo	6
<i>Abstract</i>	8
Introdução	10
Materiais e métodos	12
Resultados da investigação bibliográfica	13
I – Eixo hipotálamo-hipófise-gónadas	13
1. Breve revisão da anatomia e fisiologia	13
2. Ontogenia	15
2.1 Do desenvolvimento pré-natal ao período pré-pubertário	15
2.2 Períodos pré-pubertário e pubertário	16
II – Puberdade: regulação neuroendócrina	18
1. Perspetiva global	18
2. Estimuladores	20
2.1 Neurónios kisspeptinérgicos	20
2.2 Neurónios secretores de glutamato	25
2.3 Células da glia	25
3. Estimuladores/Inibidores	26
3.1 Neurónios secretores de GABA	26
4. Inibidores	27
4.1 Neurónios secretores de péptidos da família RF-amida	27
4.2 Neurónios opióides	28
III – Puberdade: regulação genética	32
1. Perspetiva global	32
2. Redes de regulação genética	34
2.1 Ativadores	36
2.2 Repressores	37
2.3 Repressores dos repressores	38
3. Diferenças entre os sexos	39
IV – Puberdade e metabolismo	40
1. Perspetiva global	40
2. Ação de hormonas periféricas	41
2.1 Leptina	41
2.2 Grelina	42

2.3 Insulina	43
2.4 Outras hormonas	44
3. Vias neuroendócrinas	45
4. Vias de sinalização intracelular	45
V – Puberdade: genética e prática clínica	47
Discussão e conclusão.....	48
Agradecimentos	50
Referências bibliográficas	51
Anexo 1 - Equações de pesquisa	58

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Anatomia do eixo hipotálamo-hipófise.....	13
Figura 2 - Representação esquemática do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas.....	14
Figura 3 - Períodos de ativação do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas.....	16
Figura 4 - Transformações físicas observadas durante o desenvolvimento pubertário.....	17
Figura 5 - Regulação trans-sináptica neuronal do desencadear da puberdade.	19
Figura 6 - Representação esquemática da relação entre neurónios kisspeptinérgicos e neurónios secretores de GnRH.	22
Figura 7 - Representação esquemática do papel da NKB e da Dyn na regulação autócrina e parácrina de neurónios KNDy.	24
Figura 8 - Perspetiva global da regulação trans-sináptica e glial do desencadear da puberdade.....	29
Figura 9 - Rede de regulação genética que intervém no desencadear da puberdade.	34
Figura 10 - Fatores que podem influenciar o desencadear da puberdade através de mecanismos epigenéticos.....	36

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Evidências do papel da kisspeptina no desencadear da puberdade.	21
Tabela 2 - Evidências experimentais da ação da kisspeptina sobre neurónios secretores de GnRH. ...	22
Tabela 3 - Evidências do papel da NKB e da Dyn no desencadear da puberdade.	24
Tabela 4 - Evidências do papel do glutamato no desencadear da puberdade.	25
Tabela 5 - Evidências do papel do GABA no desencadear da puberdade.	27
Tabela 6 - Evidências do papel do RFRP-1 e do RPRP-3 no desencadear da puberdade.	27
Tabela 7 - Evidências do papel dos péptidos opióides endógenos no desencadear da puberdade.	28
Tabela 8 - Síntese da rede neuronal que intervém na reativação da secreção de GnRH na puberdade.	30
Tabela 9 - Genes referidos nesta monografia associados a patologia.	33
Tabela 10 - Evidências do papel dos mecanismos epigenéticos no desencadear da puberdade.	35
Tabela 11 - Etiologias propostas para as diferenças da regulação genética da puberdade entre os sexos.	39
Tabela 12 - Evidências do papel da leptina na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas.	42
Tabela 13 - Evidências do papel da grelina na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas.	43
Tabela 14 - Evidências do papel da insulina na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas.	43
Tabela 15 - Principais vias neuroendócrinas implicadas no controlo metabólico do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas.	45
Tabela 16 - Distúrbios do desenvolvimento e puberdade associados a mutações dos genes relacionados com o eixo hipotálamo-hipófise.	47

RESUMO

Introdução: A puberdade é um processo de transição da infância para a idade adulta. A idade em que se inicia é bastante variável o que sugere a regulação por fatores genéticos e ambientais e parece estar associada a diversas causas de mortalidade e morbidade na vida adulta. Este artigo procura resumir os avanços recentes no conhecimento da fisiologia da puberdade e estabelecer como a disrupção pode estar associada a patologia.

Materiais e métodos: Revisão narrativa da literatura publicada entre 2010 e 2017 nas bases de dados eletrónicas *Pubmed* (subordinada às *Subheadings* “*genetics*”, “*physiology*” e “*metabolism*” do termo *Medical Subject Headings* “*puberty*”) e *Embase* (subordinada aos termos *Emtree* “*puberty*”, “*genetics*”, “*physiology*” e “*metabolism*”).

Resultados: O processo chave para o desencadear da puberdade é a reativação da secreção de hormona secretora das gonadotrofinas (GnRH), determinada por alterações na sinalização trans-sináptica neuronal e por células da glia. A regulação trans-sináptica estimuladora direta é composta por neurónios secretores de kisspeptina (kisspeptinérgicos), glutamato e ácido gama-aminobutírico (GABA). O componente inibitório inclui neurónios secretores de GABA, péptidos caracterizados pela presença de um aminoácido arginina carboxi-terminal comum e um motivo de fenilalanina aminada (família RF-amida) e péptidos opióides. Centenas de genes regulam este processo organizados em redes. Um nível adicional de regulação é fornecido por mecanismos epigenéticos. A função reprodutiva é sensível a alterações do estado metabólico e ambiente, o que pode explicar o decréscimo da idade do desencadear da puberdade observado em ambos os sexos, nas últimas décadas nos Estados Unidos da América e Europa.

Discussão e conclusão: O processo complexo do despoletar da puberdade está gradualmente a ser elucidado, contudo muitas questões continuam em aberto. É uma área com grande potencial de pesquisa clínica e biomédica integrada em benefício da prática clínica.

PALAVRAS-CHAVE

Puberdade; eixo hipotálamo-hipófise; gónadas; hormona secretora das gonadotrofinas; gonadotrofinas hipofisárias; kisspeptinas; genética; epigenética; metabolismo; interação gene-ambiente.

ABSTRACT

Introduction: Puberty is a process of transition from childhood to adulthood. The age of onset of puberty is quite variable, being determined by genetic and environmental factors; it seems to be associated with several causes of mortality and morbidity in adult life. This manuscript attempts to summarize the most recent advances in our knowledge of the physiology of puberty, and to establish how its disruption may be associated with pathology.

Materials and methods: Narrative review of the literature published between 2010 and 2017 in the electronic databases Pubmed (subordinate to the subheadings “genetics”, “physiology” and “metabolism” of the Medical Subject Headings “puberty”) and Embase (subordinate to the Emtree terms “puberty”, “genetics”, “physiology” and “metabolism”).

Results: The key process in the onset of puberty is the reactivation of gonadotrophin secreting hormone (GnRH) secretion, determined by changes in neuronal trans-synaptic and glial signalling. Direct excitatory trans-synaptic regulation is composed by kisspeptin, glutamate and gamma-aminobutyric acid (GABA) secretory neurons; the inhibitory component includes neurons that secrete GABA, opioid peptides, and RF-amide family peptides (which are characterized by a common carboxy terminal arginine amino acid and an amine phenylalanine motif). Hundreds of genes, organized into networks, regulate this process, and an additional level of regulation is provided by epigenetic mechanisms. Human reproductive function is sensitive to changes in the metabolic status and the environment, which could explain the decline in the age of onset of puberty observed in both sexes, in the last decades, in the United States and Europe.

Discussion and conclusion: The complex process of puberty onset is gradually being elucidated, yet many questions remain open. It is an area with great potential of integrated clinical and biomedical research for the benefit of clinical practice.

KEYWORDS

Puberty; hypothalamo-hypophyseal system; gonads; gonadotropin-releasing hormone; gonadotropins; kisspeptins; genetics; epigenesis; metabolism; gene-environment interaction.

INTRODUÇÃO

A puberdade é um processo de transição da infância para a idade adulta, (1) corresponde à fase de desenvolvimento durante a qual ocorre o pico de crescimento da adolescência, surgem os caracteres sexuais secundários culminando no dimorfismo sexual do adulto e a capacidade reprodutiva é alcançada. (2) Clinicamente observam-se alterações morfológicas, fisiológicas e comportamentais secundárias ao aumento gradual da atividade das gónadas. (3,4)

A idade de início da puberdade é bastante variável na população geral e entre grupos étnicos, sugerindo a regulação por fatores genéticos e a influência de fatores ambientais. (5) Sob condições fisiológicas, os fatores genéticos responsáveis pela regulação da função hipotalâmica determinam 50% a 80% das variações individuais da idade de início da puberdade; (6) sob condições patológicas estas variações envolvem diferentes suscetibilidades genéticas e interação com fatores ambientais como nutrição, doença crónica, doenças infecciosas frequentes, poluição, stresse e exposição a disruptores endócrinos. (5)

A puberdade fisiológica ocorre entre os 8 e os 12 anos nas raparigas e entre os 9 e os 14 anos nos rapazes. (2) Para além das variações normais define-se puberdade precoce e tardia. De acordo com a Sociedade Europeia de Endocrinologia Pediátrica, a puberdade é definida como tardia quando a idade cronológica de início se afasta mais de dois desvios-padrão da idade média, ou seja, no sexo feminino perante o estágio pubertário de Tanner M1 após os 13 anos ou ausência de menarca após os 15 anos e no sexo masculino perante um volume testicular inferior a 4 mL após os 14 anos. (7,8) A puberdade pode considerar-se precoce quando o aparecimento de caracteres sexuais secundários ocorre antes dos 8 anos no sexo feminino e dos 9 anos no sexo masculino. (7,9)

Vários estudos epidemiológicos realizados nos Estados Unidos da América e na Europa demonstraram uma diminuição da idade média da telarca e menarca nas últimas décadas (10) e, mesmo as raparigas com puberdade mais tardia dentro dos limites fisiológicos, tendem a

iniciar a puberdade cerca de um ano mais cedo do que o observado há duas décadas. (8) Esta tendência pode estar associada a fatores ambientais (11) como o aumento da obesidade infantil e a exposição a poluentes que atuam como disruptores endócrinos. (2) Foi igualmente observada uma diminuição da idade do desencadear da puberdade no sexo masculino. (10,12)

A idade de início da puberdade parece estar associada a diversas causas de mortalidade e morbidade na vida adulta como neoplasias, doenças metabólicas e cardiovasculares pelo que se impõe compreender os mecanismos que regulam o desencadear da puberdade. (13,14)

Na última década assistimos a um aumento exponencial do conhecimento nesta área com a descoberta de fatores genéticos e vias neuroendócrinas implicados no referido processo, o que traduz a importância de rever e resumir a informação.

Este trabalho apresenta-se com o objetivo de resumir os recentes avanços no conhecimento do mecanismo fisiológico responsável pelo despoletar do processo contínuo e coordenado da puberdade, compreender a interação com fatores ambientais e estabelecer como a disrupção pode estar associada a patologia. As implicações na prática clínica relacionam-se com o auxílio no diagnóstico, aconselhamento genético e desenvolvimento de novas terapias para distúrbios pubertários e reprodutivos.

MATERIAIS E MÉTODOS

A revisão bibliográfica teve como ponto de partida uma pesquisa realizada na base de dados da *Medline (Pubmed)*, que engloba a base de dados *Cochrane*, subordinada às *Subheadings* “*genetics*”, “*physiology*” e “*metabolism*” do termo *Medical Subject Headings* “*puberty*”. Foram incluídos artigos de revisão publicados entre 1 de janeiro de 2010 e 1 de novembro de 2017, escritos nas línguas inglesa e portuguesa, com *abstract* disponível, referentes a estudos em seres humanos, em ambos os sexos.

Foi igualmente realizada uma pesquisa na base de dados *Embase* subordinada aos termos *Emtree* “*puberty*”, “*genetics*”, “*physiology*” e “*metabolism*”. Foram incluídos artigos de revisão publicados entre 2010 e 2017, escritos nas línguas inglesa e portuguesa, com *abstract* disponível, referentes a estudos em seres humanos, em ambos os sexos. Artigos de revistas indexadas à base de dados *Pubmed* foram excluídos da referida pesquisa.

As equações de pesquisa constam do anexo 1.

Dos resultados obtidos foram selecionados os artigos com relevância ao tema. Sempre que pertinente foram consultadas as referências citadas nos mesmos, assim como outros artigos considerados importantes para a melhor compreensão do tema. Foram consultados livros de especialidade de importância circunstanciada.

RESULTADOS DA INVESTIGAÇÃO BIBLIOGRÁFICA

I – EIXO HIPOTÁLAMO-HIPÓFISE-GÓNADAS

1. Breve revisão da anatomia e fisiologia

O sistema nervoso central constitui o grande regulador do desencadear da puberdade. (15) O eixo hipotálamo-hipófise-gónadas é responsável pelo controlo hormonal da puberdade e fertilidade (16) e é regulado por uma rede neuronal complexa que integra sinais homeostáticos internos e externos. (17)

A GnRH é produzida no hipotálamo mediobasal e na área pré-óptica (POA) medial e libertada a partir de axónios terminais localizados na eminência mediana da hipófise no plexo capilar primário da circulação portal hipotalâmica-hipofisária de uma forma pulsátil (Figura 1). (18)

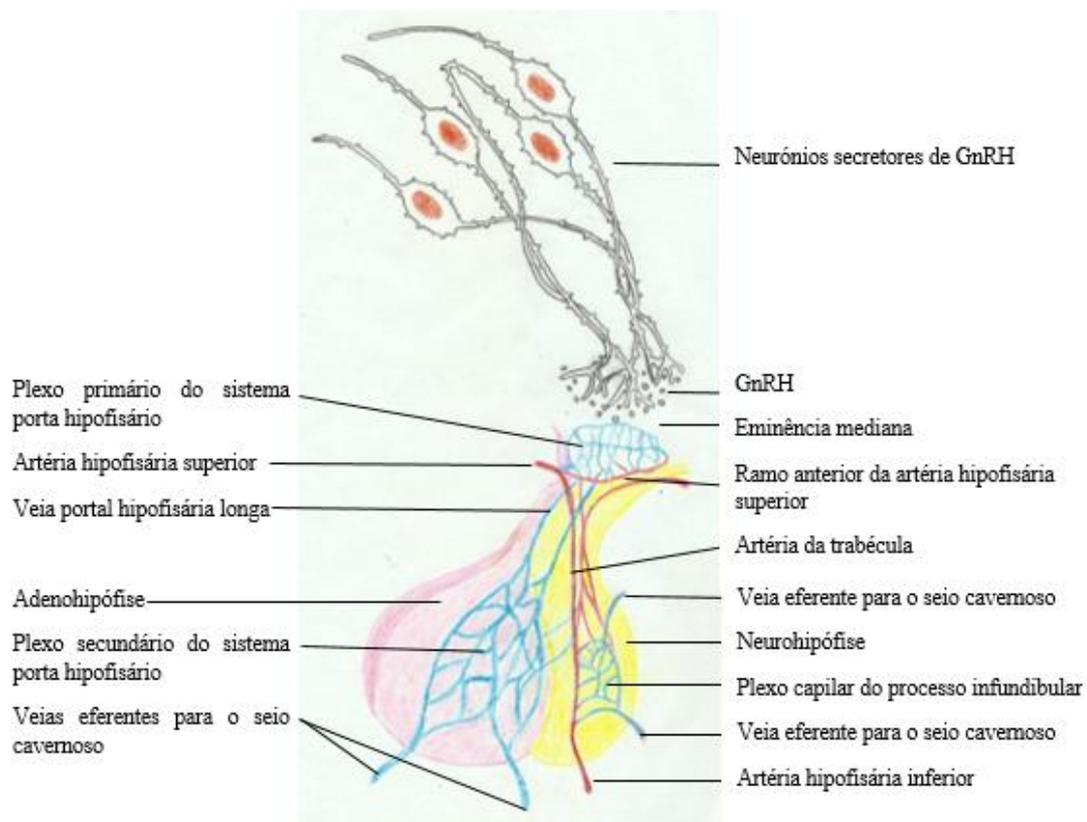


Figura 1 - Anatomia do eixo hipotálamo-hipófise. Esquema original da autora.

GnRH: hormona secretora das gonadotrofinas.

A GnRH estimula a libertação de hormona luteinizante (LH) e hormona foliculo estimulante (FSH) que, por sua vez, atuam a nível das gónadas promovendo a gametogénese e a produção de hormonas esteróides sexuais (estrogénio, progesterona e testosterona). (2,19) A libertação de gonadotrofinas é regulada por hormonas esteróides através de mecanismos de retrocontrolo negativo e positivo, permitindo o ajuste homeostático do sistema em diferentes condições fisiológicas (Figura 2). (20,21)

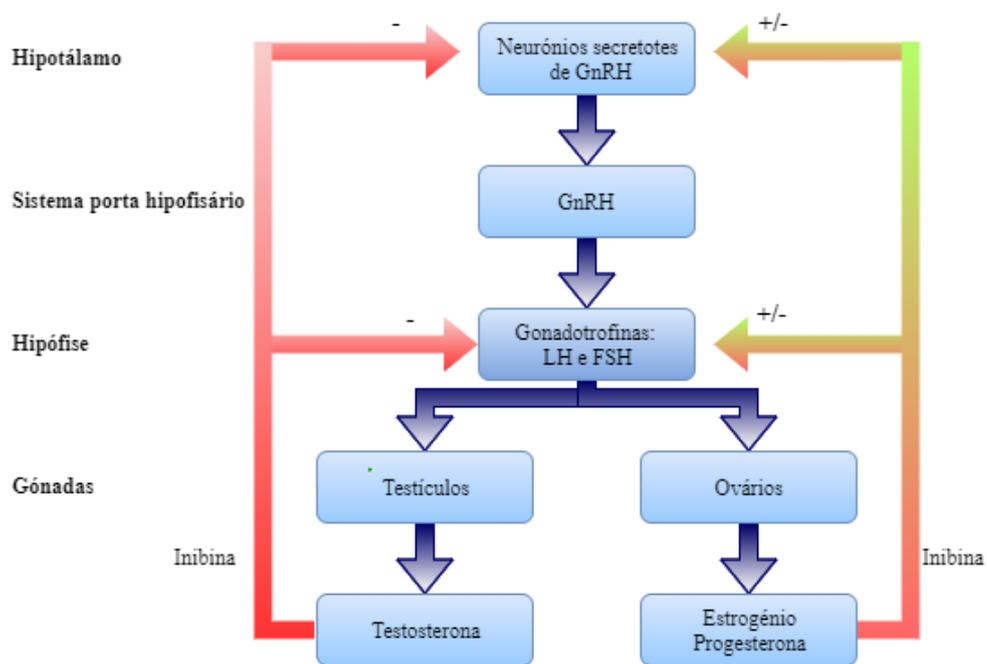


Figura 2 - Representação esquemática do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas. Adaptado de: Melmed *et al.* (22)
GnRH: hormona secretora das gonadotrofinas; LH: hormona luteinizante; FSH: hormona foliculo-estimulante.

Inúmeros sinais morfogenéticos e fatores de transcrição são fundamentais para o desenvolvimento hipofisário normal como, por exemplo, *homeobox embryonic stem cell* (HESX1), *LIM homeobox 3* (LHX3), *LIM homeobox 3* (LHX4), *prophet of Pit-1* (PROP-1), *POU domain class 1 transcription factor 1* (POU1F1), entre muitos outros. (23)

Apesar das diferenças observadas na fisiologia, nomeadamente a nível do mecanismo de retrocontrolo por hormonas esteróides sexuais, não foram identificadas diferenças na anatomia e histologia do hipotálamo e da hipófise entre os sexos. (24)

2. Ontogenia

2.1 Do desenvolvimento pré-natal ao período pré-pubertário

O eixo hipotálamo-hipófise-gónadas está ativo desde uma fase muito precoce do desenvolvimento. (17) A funcionalidade dos neurónios secretores de GnRH é estabelecida e a secreção pulsátil de LH e FSH inicia-se por volta dos 80 dias de gestação, contudo a libertação de GnRH não é regulada até à maturação do mecanismo de retrocontrolo negativo por hormonas esteróides sexuais que ocorre entre os 100 e os 150 dias de gestação. No término da gestação são observadas concentrações séricas baixas de GnRH. (15)

As concentrações de LH e FSH começam a subir na primeira semana de vida extrauterina. (6) Verifica-se um aumento transitório dos níveis plasmáticos de estrogénio no sexo feminino e testosterona no sexo masculino, frequentemente designado de mini-puberdade da infância precoce. (22) O pico pós-natal de gonadotrofinas diverge entre os sexos com concentrações séricas de FSH mais elevadas no sexo feminino e concentrações séricas de LH mais elevadas no sexo masculino. Estas diferenças são atribuídas ao *imprinting* da testosterona no hipotálamo fetal. (15)

No sexo masculino, a ativação pré-natal e pós-natal do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas está associada ao crescimento do pénis e testículos e à descida dos testículos; no sexo feminino promove a maturação dos folículos ovários. (25)

No sexo masculino, após o pico entre o primeiro e o terceiro mês, a concentração de testosterona diminui por volta dos 6 a 9 meses; no sexo feminino, a concentração sérica de LH diminui por volta dos 6 meses enquanto a FSH permanece elevada até aos 3 a 4 anos. (2) Esta queda deve-se à inibição da secreção de GnRH que persiste durante toda a infância, constituindo a pausa juvenil. (15) Durante este período, o gerador de pulso de GnRH encontra-se inibido com baixa amplitude e frequência da libertação de GnRH e baixa secreção de LH, FSH e hormonas esteróides sexuais. (22)

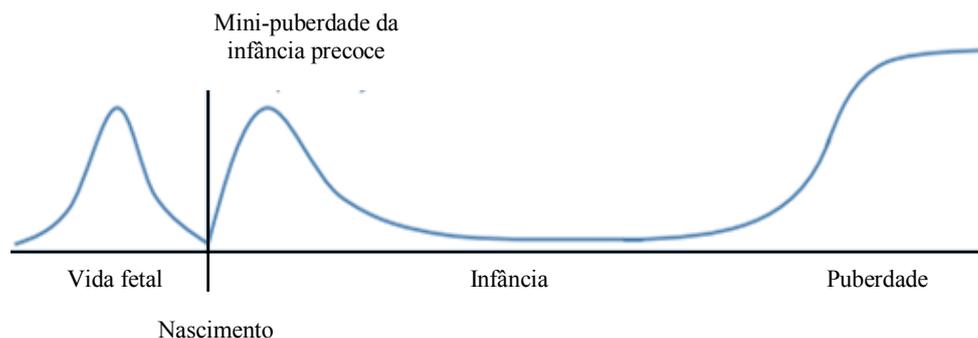


Figura 3 - Períodos de ativação do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas. Elaborado com base em Kuiri-Hänninen *et al.* (25)

Os períodos de ativação do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas supracitados (Figura 3) sugerem que a inibição pré-pubertária da libertação de GnRH representa um estado funcional determinado por via neuronal, ao invés de imaturidade dos neurónios secretores de GnRH. Durante os primeiros 2 a 3 anos de vida, o retrocontrolo negativo por hormonas esteróides sexuais parece ser o mecanismo inibitório principal. (3) Após os 3 anos os mecanismos inibitórios intrínsecos do sistema nervoso central envolvendo GABA (principal fator inibitório) e péptidos opióides endógenos tornam-se dominantes, tendência que se mantém durante toda a pausa juvenil. (2) Os mecanismos inibitórios intrínsecos são mais intensos e duradouros no sexo masculino, pelo que a puberdade tende a ser mais precoce no sexo feminino. (11)

2.2 Períodos pré-pubertário e pubertário

A puberdade não é um evento de novo, mas uma de várias etapas do contínuo de desenvolvimento da função do sistema hipotálamo-hipófise-gónadas que ocorre desde o desenvolvimento fetal até à maturação sexual completa. (15,22) O seu início é marcado pelo aumento sustentado da amplitude e frequência dos pulsos de GnRH após o período de quiescência juvenil e corresponde à reativação final da secreção pulsátil de GnRH. (17,19)

Durante o período pré-pubertário tardio verifica-se diminuição dos estímulos inibitórios intrínsecos do sistema nervoso central e da sensibilidade do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas ao retrocontrolo negativo por hormonas esteróides sexuais com aumento (i) da amplitude e frequência dos pulsos de GnRH de predomínio noturno, (ii) da sensibilidade das gonadotrofinas

à GnRH, (iii) da secreção e responsividade das gónadas a FSH e a LH e (iv) da secreção de hormonas esteróides sexuais.

Durante a puberdade é observada uma nova diminuição dos estímulos inibitórios intrínsecos do sistema nervoso central e da sensibilidade do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas ao retrocontrolo negativo por hormonas esteróides sexuais. (2) O padrão de libertação de GnRH modifica-se gradualmente, tornando-se semelhante ao do adulto com pulsos aproximadamente a cada 90 a 120 minutos. A secreção pulsátil de LH segue o padrão dos pulsos de GnRH. (22)

No sexo masculino, a LH estimula a produção de testosterona pelas células de Leydig enquanto a FSH promove a maturação das células germinativas e a espermatogénese nos túbulos seminíferos com aumento do volume testicular. No sexo feminino, a LH e a FSH estimulam o desenvolvimento dos folículos ováricos e a produção de estrogénio responsável pela maturação mamária e uterina. (11) Na puberdade média e tardia ocorre a ativação do mecanismo de retrocontrolo positivo com pico de LH induzido por estrogénios e ovulação. (22)

As principais transformações físicas observadas durante a puberdade encontram-se representadas na figura 4.

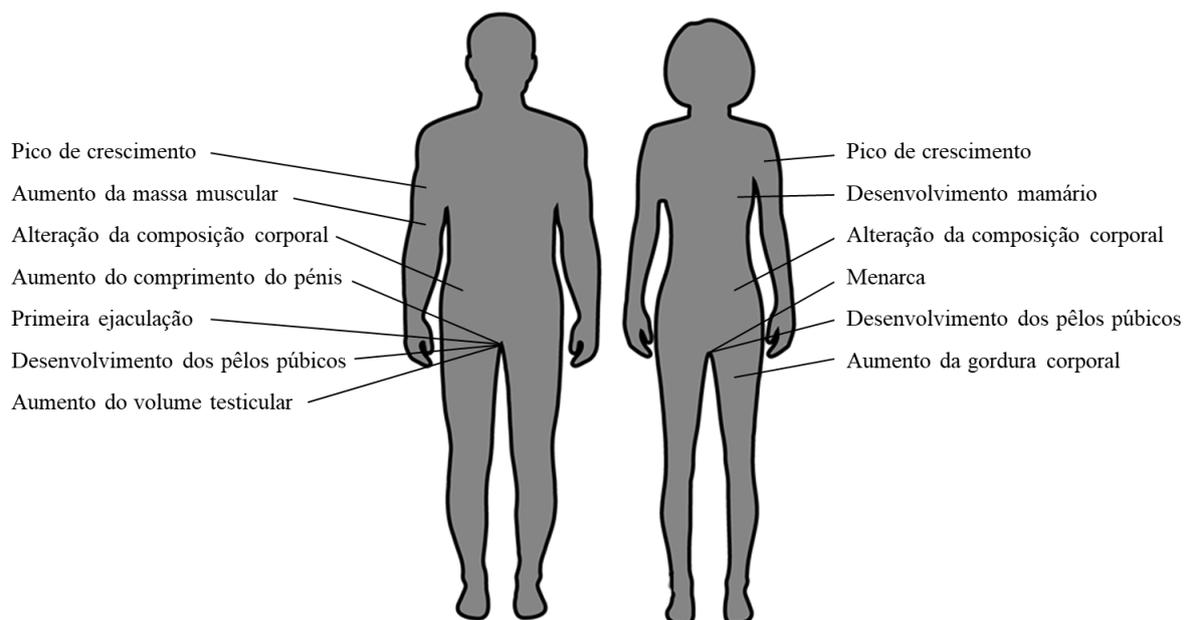


Figura 4 - Transformações físicas observadas durante o desenvolvimento pubertário. Adaptado de: Abreu *et al.* (2)

II – PUBERDADE: REGULAÇÃO NEUROENDÓCRINA

1. Perspetiva global

O processo chave para o desencadear da puberdade é a ativação do gerador de pulso de GnRH, (6) circuito neuronal hipotalâmico que gera descargas periódicas de atividade elétrica responsáveis pela libertação rítmica de GnRH. (3,26) O pulso gerador é constituído pelos neurónios secretores de GnRH e pelos seus aferentes. O padrão de secreção de GnRH é determinado pela atividade intrínseca destes neurónios e regulado por aferentes hipotalâmicos. (20,27)

Durante várias décadas prevaleceu a “hipótese gonadostática”, segundo a qual alterações da sensibilidade ao retrocontrolo negativo mediado por estrogénios plasmáticos seriam responsáveis pelo reaparecimento dos pulsos de GnRH na puberdade. Segundo esta hipótese, os mecanismos hipotalâmicos que regulam a libertação de gonadotrofina na pré-puberdade seriam muito sensíveis ao estrogénio, estabelecendo-se um forte retrocontrolo negativo; durante o período pré-púbere tardio, o hipotálamo tornar-se-ia menos sensível ao retrocontrolo negativo exercido pelos estrogénios com aumento da libertação de gonadotrofinas. (15,28)

Atualmente a maioria dos autores defende que o mecanismo responsável pela reativação da secreção pulsátil de GnRH no desencadear da puberdade em primatas, incluindo seres humanos, é independente de esteróides sexuais circulantes. (3) Esta afirmação é sustentada pelo aumento das gonadotrofinas hipofisárias observado durante o desencadear da puberdade em doentes com disgenesia gonadal. (29) As hormonas esteróides sexuais desempenham, contudo, um papel fundamental na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas após a sua reativação e na progressão do processo da puberdade, nomeadamente na indução da primeira ovulação no sexo feminino.

Mais recentemente, a identificação de elevações subtis dos níveis de GnRH e gonadotrofinas em raparigas pré-púberes entre os 7 e os 10 anos motivou alguns autores a reconhecer que a diminuição da sensibilidade a hormonas esteróides sexuais pode contribuir para o desencadear da puberdade no sexo feminino. Acresce que genes envolvidos no metabolismo e ação de hormonas esteróides sexuais podem regular o início da puberdade. (6)

Assim, atualmente entende-se que a reativação da secreção de GnRH na puberdade é determinada por alterações na sinalização trans-sináptica neuronal (aumento dos sinais estimuladores e diminuição dos sinais inibitórios) e da sinalização por células da glia, predominantemente facilitadora. (20)

A regulação trans-sináptica neuronal estimuladora direta é composta por três subconjuntos neuronais diferentes: (i) neurónios kisspeptinérgicos, (ii) neurónios secretores de glutamato e (iii) neurónios secretores de GABA. O componente inibitório depende principalmente de (i) neurónios secretores de GABA, mas também inclui (ii) neurónios secretores de péptidos da família RF-amida (RFRP) e (iii) neurónios opióides (Figura 5). (30)

As principais moléculas e recetores de cada subconjunto neuronal, as interações entre cada subconjunto e as mutações associadas a patologia serão descritas no capítulo III e foram sintetizadas na tabela 8.

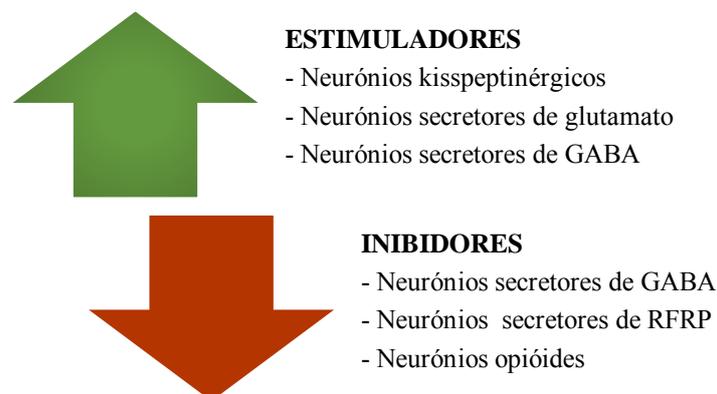


Figura 5 - Regulação trans-sináptica neuronal do desencadear da puberdade. Esquema original da autora.

GABA: ácido gama-aminobutírico; RFRP: péptidos da família RF-amida.

O papel de diferentes moléculas que provaram influenciar a secreção de GnRH em modelos animais como a norepinefrina, (6,18) a epinefrina, (18) a dopamina, (6,18) a melatonina, (6) a galanina, (6,18) a serotonina, a histamina e a acetilcolina, (18) entre outras, no desencadear da puberdade no ser humano permanece desconhecido. (6)

Em suma, o despoletar da puberdade não depende da ação isolada de uma única molécula, mas do balanço dinâmico entre sinais estimuladores e inibitórios. (20,31) A importância relativa dos diferentes sinais reguladores diverge. (20)

2. Estimuladores

2.1 Neurónios kisspeptinérgicos

O gene kisspeptina 1 (KISS1)¹ codifica o precursor das kisspeptinas, um péptido que sofre proteólise originando fragmentos de diferentes comprimentos: kisspeptina-54, kisspeptina-10, kisspeptina-13 e kisspeptina-14. (16,32) Todos os péptidos, pertencentes à família RF-amida, partilham uma sequência carboxi-terminal suficiente para ativar de forma completa o KISS1R (recetor associado a proteínas G KISS1) e ligam-se ao recetor com igual eficácia. (32,33)

A kisspeptina desempenha um papel chave no desencadear da puberdade (bem documentado nas diferentes espécies, Tabela 1), na regulação do retrocontrolo negativo por hormonas esteróides sexuais e no controlo da fertilidade no adulto. (20,34,35)

Foram identificadas três populações de neurónios kisspeptinérgicos em seres humanos. Destacam-se duas populações principais: a primeira, mais numerosa, localiza-se no núcleo infundibular e a segunda, mais discreta e dispersa, na POA. A terceira população apresenta distribuição dispersa ao longo da extensão rostro-caudal do núcleo peri-ventricular. (38)

¹ Nesta revisão será utilizada a nomenclatura proposta por *Gottsch et al.* para descrever o sistema de sinalização por kisspeptina: KISS1/KISS1R e Kiss1/ Kiss1r referem-se respetivamente aos genes humano e não humano da kisspeptina e do seu recetor.

Tabela 1 - Evidências do papel da kisspeptina no desencadear da puberdade.

Evidência clínica
- Aumento da secreção pulsátil de gonadotrofinas após injeção de kisspeptin-10 e kisspeptina-54 em doentes com distúrbios reprodutivos. (34)
- Identificação de deleções e mutações pontuais inativadoras do gene KISS1R em doentes com HHC (hipogonadismo hipogonadotrófico congénito). (20,26,36)
- Associação entre mutações com perda de sentido no gene KISS1 (5) e mutações ativadoras no gene KISS1R e puberdade precoce central (PPC). (26,37)
- Níveis plasmáticos elevados de kisspeptina em raparigas com PPC em relação a controlos pré-púberes. (26)
Evidência experimental
- Indução da secreção pulsátil de GnRH e puberdade precoce em roedores e primatas não humanos após administração de kisspeptina ou dos seus agonistas. (36) A administração de antagonistas induz atrasos pubertários. (32)
- Roedores sujeitos a inativação funcional do gene Kiss1r revelam-se fenocópias de pacientes com HHC por mutação do gene KISS1R. (20)
- Aumento exponencial da expressão hipotalâmica de ácido ribonucleico mensageiro (mRNA) Kiss1/KISS e Kiss1r/KISS1R na puberdade em roedores e primatas humanos e não humanos. (5,7)
- Aumento da expressão do gene Kiss1 prévio ao aumento pubertário da secreção de GnRH em roedores. (26)
- Aumento da amplitude e frequência da secreção pulsátil de kisspeptina no início da puberdade em primatas não humanos. (5,26)
- Aumenta a secreção pulsátil de gonadotrofinas após injeção de kisspeptin-10 e kisspeptina-54 em voluntários saudáveis dos sexos feminino e masculino. (34)

Cerca de 75% dos neurónios kisspeptinérgicos localizados no núcleo infundibular co-expressam os péptidos neurocinina B (NKB) e dinorfina A (Dyn) e são coletivamente designados de neurónios kisspeptina, neurocinina B e dinorfina A (neurónios KNDy). (5) Neurónios localizados na POA não expressam estes péptidos. (34)

A distribuição das fibras kisspeptinérgicas é sexualmente dimórfica, (39,40) superior no núcleo infundibular e zona peri-ventricular no sexo feminino. O número de corpos celulares também difere: superior no núcleo infundibular no sexo feminino e ausente na zona rostral peri-ventricular no sexo masculino. (34,38)

Os neurónios kisspeptinérgicos estão envolvidos nos mecanismos de retrocontrolo positivo (indutor da ovulação no sexo feminino) e negativo mediados por estrogénio. Há evidências de que os neurónios KNDy são responsáveis pelo retrocontrolo positivo e negativo (Figura 6). (39) Estudos em modelos animais revelam que esta distribuição pode diferir entre espécies. (32,41)

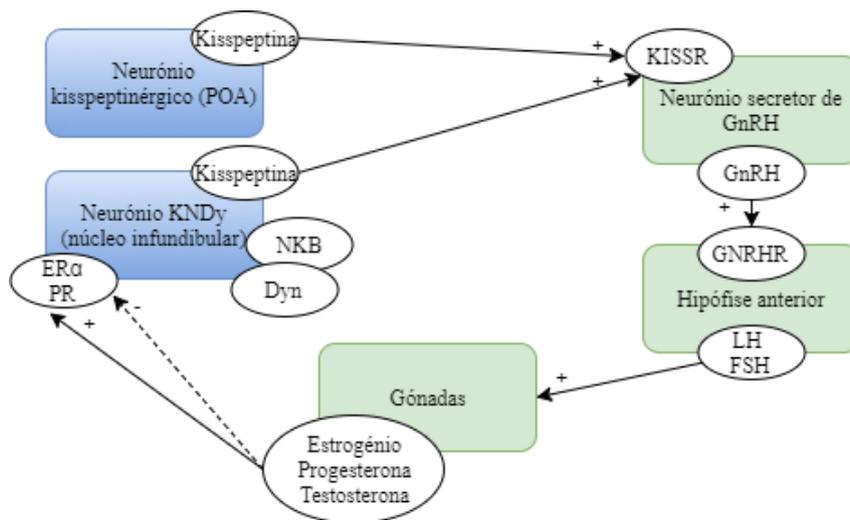


Figura 6 - Representação esquemática da relação entre neurónios kisspeptinérgicos e neurónios secretores de GnRH.
Adaptado de Javed *et al.* (39)

POA: área pré-óptica do hipotálamo; neurónio KNDy: neurónio kisspeptina neurocinina B e dinorfina A; KISS1R: recetor da kisspeptina; ER α : recetor do estrogénio tipo α ; PR: recetor da progesterona; NKB: neurocinina B; Dyn: dinorfina A; GnRH: hormona secretora das gonadotrofinas; GNRHR: recetor da hormona secretora das gonadotrofinas; LH: hormona luteinizante; FSH: hormona foliculo-estimulante; +: ação estimuladora; -: ação inibitória.

Nas últimas décadas a comunidade científica defendeu que a kisspeptina estimula a secreção de gonadotrofinas ao aumentar a secreção de GnRH por estimulação neuronal direta do recetor KISS1R. Observações recentes evidenciam também uma ação indireta (Tabela 2). (35)

Tabela 2 - Evidências experimentais da ação da kisspeptina sobre neurónios secretores de GnRH.

Ação direta	Ação indireta
<ul style="list-style-type: none"> - Neurónios secretores de GnRH expressam KISS1R (16) e são altamente sensíveis a kisspeptina. (3) - A kisspeptina induz expressão do marcador de ativação celular <i>c-fos</i> em neurónios secretores de GnRH em roedores e provoca despolarização dos mesmos em estudos eletrofisiológicos. (16) - Aumento da expressão de mRNA do gene GnRH após exposição a kisspeptina. (34) - Neurónios kisspeptinérgicos e secretores de GnRH contactam na eminência mediana. (42) 	<ul style="list-style-type: none"> - A kisspeptina ativa neurónios não secretores de GnRH na POA medial. - As respostas neuronais mediadas pela kisspeptina são menos intensas após o bloqueio da transmissão neuronal mediada por GABA e glutamato. (35) - A incidência de contactos entre neurónios secretores de GnRH e neurónios kisspeptinérgicos parece baixa em seres humanos. (34)

Com base em evidências experimentais, foi teorizado que o mecanismo responsável pela participação deste sistema no desencadear da puberdade deve incluir pelo menos 4 componentes principais: (43) (i) aumento do pulso endógeno de kisspeptinas que, caso suficiente, pode ativar o eixo GnRH/gonadotrofinas; (44) (ii) aumento da sensibilidade da libertação de GnRH e LH às kisspeptinas; (iii) aumento da eficiência da sinalização do recetor KISS1R e da resistência à dessensibilização; (45) (iv) aumento discreto do número de prolongamentos de neurónios kisspeptinérgicos em áreas específicas do hipotálamo (46) e para neurónios secretores de GnRH. (47) O último fenómeno parece menos relevante, dado que a resposta GnRH/LH a kisspeptina está presente em estádios iniciais do desenvolvimento pós-natal. (48)

Estudos experimentais revelam que KISS1 e KISS1R atuam como integradores de genes subordinados, sendo responsáveis pela transmissão de informação vinculada por diversos aferentes a neurónios secretores de GnRH. (80)

A kisspeptina plasmática desempenha um papel significativo na regulação de várias funções fisiológicas, como a homeostase do metabolismo dos glúcidos, a regulação da ingestão de alimentos e da composição corporal. Contudo, o seu papel na regulação da puberdade e fertilidade é desconhecido. (49)

A NKB e a Dyn foram identificadas como co-transmissores da kisspeptina: a NKB, péptido da família das taquicininas codificado pelo gene taquicinina 3 (TAC3), é um sinal estimulador através da interação com o recetor NK3R enquanto a Dyn, péptido opióide endógeno codificado pelo gene prodinorfina (PDYN), é um sinal inibitório pela ligação ao recetor opióide *kappa* (OPRK1). (3,50-52)

Na puberdade, estes péptidos participam na ativação do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas (45) através da sinalização autócrina e parácrina nos neurónios kisspeptinérgicos, (26) (Figura 7 e Tabela 3) contribuem para a sincronização destes neurónios e permitem a regulação precisa da secreção de kisspeptina. (3,6)

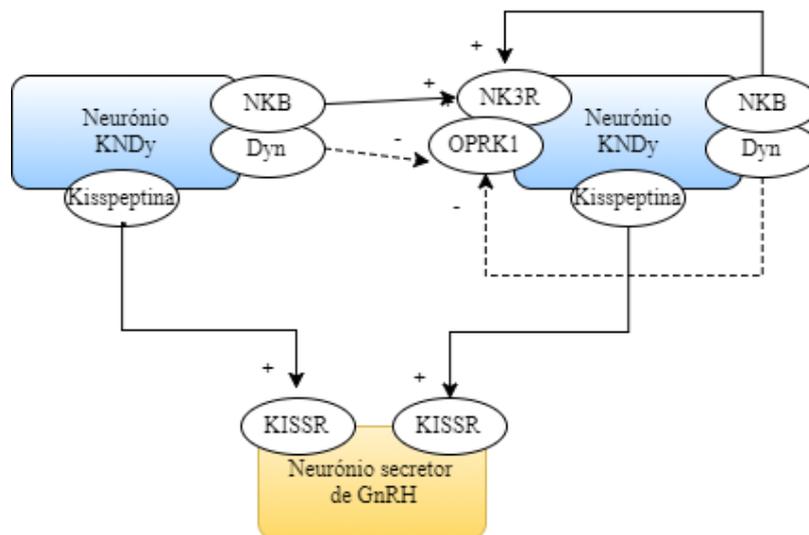


Figura 7 - Representação esquemática do papel da NKB e da Dyn na regulação autócrida e parácrina de neurónios KNDy. Esquema original da autora.

Neurónio KNDy: neurónio kisspeptina neurocinina B e dinorfina A; NKB: neurocinina B; Dyn: dinorfina A; OPRK1: recetor opióides *kappa* 1; NK3R: recetor da neurocinina B; KISS1R: recetor da kisspeptina; GnRH: hormona secretora das gonadotrofinas; +: ação estimuladora; -: ação inibitória.

Tabela 3 - Evidências do papel da NKB e da Dyn no desencadear da puberdade.

Evidência clínica
- Mutações homozigóticas com perda de função dos genes TAC3 e recetor da taquicinina 3 (TAC3R) induzem HHC. (26,53)
- Restauração da secreção pulsátil de gonadotrofinas nos doentes supracitados após infusão contínua de kisspeptina-10. (54)
Evidência experimental
- Co-localização de kisspeptina, NKB e Dyn no hipotálamo em modelos experimentais. (32)
- Co-localização de kisspeptina e NKB no núcleo infundibular em seres humanos dos sexos feminino e masculino. A Dyn apenas foi detetada em mulheres pós-menopáusicas. (34,39)
- Expressão de Oprk1 e Nk3r em neurónios kisspeptinérgicos em estudos em modelos animais. (26)
- Indução da expressão do gene Kiss1 em neurónios hipotalâmicos e secreção de LH após administração de agonistas do Tac3r. (43,55) A inativação funcional do gene Kiss1R e a administração de antagonistas da GnRH bloqueiam estes efeitos. (3,51)
- Indução de atrasos pubertários após administração de antagonistas do Tac3r em roedores. (43)
- Indução de puberdade precoce em roedores após estimulação da sinalização por NKB ou inibição da sinalização por Dyn. (26)

Evidências experimentais sugerem que outros membros da família das taquicinas, como a Substância P e a neurocinina A, estimulam o eixo gonadotrófico. Esta ação pode ocorrer através do sistema KNDy. (45,55,56)

2.2 Neurónios secretores de glutamato

A ativação dos neurónios secretores de glutamato parece constituir um dos principais desencadeantes da puberdade (Tabela 4). (6)

Tabela 4 - Evidências do papel do glutamato no desencadear da puberdade.

Evidência experimental
- Aumento dos níveis hipotalâmicos de glutamato nos primeiros estádios da puberdade em primatas não humanos. (3)
- Secreção de GnRH após administração central de N-metil D-Aspartato (NMDA) em primatas não humanos do sexo feminino.
- Indução de puberdade em primatas não humanos do sexo masculino após administração intravenosa repetida de NMDA. O bloqueio do recetor NMDA associa-se a atrasos pubertários. (57)

Os neurónios secretores de glutamato estimulam diretamente neurónios secretores de GnRH através da ação em recetores ionotrópicos: NMDA, α -amino-3-hidroxi-5-metil-4-isoxazolpropionato (AMPA) e cainato. (6) Recetores metabotrópicos (mGluR1) parecem estar associados à inibição de neurónios secretores de GABA, (58) essencial na reativação da secreção pulsátil de GnRH. (15,59,60) Neurónios secretores de glutamato ativam ainda neurónios kisspeptinérgicos e células da glia (Figura 8). (17,45,61)

2.3 Células da glia

As células da glia localizadas no hipotálamo basal medial, nomeadamente os astrócitos e os tanócitos, são um componente fundamental da rede neuroendócrina que determina a reativação da secreção de GnRH na puberdade. (62-65) A sinalização glial inclui dois mecanismos complementares em permanente interação. (31)

O primeiro inclui fatores de crescimento: fator de transformação do crescimento beta 1 (TGF β 1), família do fator de crescimento epidérmico (fator de transformação do crescimento alfa (TGF α) e neuroregulinas (NRG)), fator de crescimento dos fibroblastos (bFGF) e fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1). (66)

TGF β 1, bFGF e IGF-1 atuam diretamente em neurónios secretores de GnRH; (64,66) TGF β 1 também contribui indiretamente para a secreção de GnRH através da interação com

reguladores trans-sinápticos. (64) TGF α e NRG atuam indiretamente, de forma autócrina ou parácrina, ao estimular a libertação de prostaglandina E2 (PGE2). (62,63,65,67)

PGE2, TGF β 1 e TGF α promovem a retração dos pés dos tanócitos interpostos entre os terminais sinápticos de neurónios secretores de GnRH e os vasos do sistema porta da eminência mediana. (62,64,68)

A sinalização trans-sináptica potencia a sinalização glial, por exemplo neurónios secretores de glutamato parecem estimular a sinalização por células da glia. (63,66)

Diversas evidências experimentais e da prática clínica, como a puberdade precoce observada em doentes com astrocitomas, destacam a importância das vias supracitadas. (63)

O segundo mecanismo de comunicação glial envolve alterações na adesão celular e inclui três sistemas de comunicação: (i) o primeiro é fornecido pela forma sialilada da molécula de adesão celular neuronal (NCAM), reduz a adesão celular e permite a plasticidade morfológica; (62) (ii) o segundo envolve a molécula de adesão celular sináptica 1 (SynCAM1) e promove a formação de sinapses; (iii) o terceiro é baseado na interação entre a contactina de neurónios secretores de GnRH e o recetor tipo proteína tirosina fosfatase β (RPTP β) de células da glia. (62,63) As três proteínas contêm domínios intracelulares com capacidade de sinalização que poderão permitir mecanismos de comunicação celular bidirecionais. (30,69)

3. Estimuladores/Inibidores

3.1 Neurónios secretores de GABA

O GABA é o neurotransmissor inibitório major do sistema nervoso central. (22) A sua influência no desencadear da puberdade (Tabela 5) foi uma das primeiras a ser proposta através dos estudos de Terasawa *et al.*(59)

Tabela 5 - Evidências do papel do GABA no desencadear da puberdade.

Evidência clínica
- Atraso pubertário em rapazes medicados com ácido valpróico, fármaco que ativa recetores GABA. - Indução de puberdade precoce em jovens do sexo feminino por administração crónica de antagonistas do recetor GABA. (45)
Evidência experimental
- Reativação precoce da secreção pulsátil de GnRH e puberdade precoce após administração crónica de antagonistas do recetor GABA em primatas não humanos do sexo feminino. - Diminuição dos níveis hipotalâmicos de GABA na puberdade precoce em primatas (macacos <i>rhesus</i>). (3)

Neurónios secretores de GABA inibem a secreção de GnRH de forma direta por ação em recetores GABA-B (30) e indireta por ativação de recetores GABA-A e GABA-B em neurónios kisspeptinérgicos e secretores de glutamato (Figura 8). (6,18,30,70) O GABA pode ainda estimular diretamente a libertação de GnRH por ação em recetores GABA-A, (6,71) ação predominante após o desencadear da puberdade. (72)

Foi proposto que neurónios secretores de GABA podem ser responsáveis pela regulação do impacto do stresse na idade de início da puberdade. (73)

4. Inibidores

4.1 Neurónios secretores de péptidos da família RF-amida

A mais simples das três vias inibitória é regulada por péptidos da família RF-amida (Tabela 6), (74) nomeadamente pelos péptidos RFRP-1 e RFRP-3. (3,75) RFRP-3 atua em recetores RFRP-3R em neurónios secretores GnRH. (76) Foi proposta uma ação indireta sobre neurónios kisspeptinérgicos, mas a sua existência não está estabelecida. (77)

Tabela 6 - Evidências do papel do RFRP-1 e do RPRP-3 no desencadear da puberdade.

Evidência clínica
- Associação entre mutações no gene RFRP-3 e HHC. (76)
Evidência experimental
- Inibição da secreção de LH em mamíferos após administração central e periférica de RFRP-3. (3) - Diminuição do número de neurónios que expressam Rfrp no período pré-pubertário em roedores. (77) - Isolamento de RFRP-1 e RFRP-3 e dos seus recetores no hipotálamo humano. (76)

Evidências experimentais sugerem que RFRP-3 contribui para a supressão da secreção de LH durante o período pré-púbere, mas não parece desempenhar um papel fundamental na determinação do momento do despoletar da puberdade. (77)

O papel de neurónios secretores de RFRP na ação da melatonina, balanço energético e stresse no eixo hipotálamo-hipófise-gónadas permanece em estudo. (45,75)

4.2 Neurónios opióides

O papel desempenhado por neurónios opióides na fertilidade e reprodução encontra-se bem estabelecido (Tabela 7). O sistema opióide inclui diferentes péptidos opióides endógenos e recetores e constitui o componente inibitório mais complexo da regulação de neurónios secretores de GnRH. (66,67) De entre os recetores e péptidos mencionados destaca-se a ação da β -endorfina em recetores μ -opióides. (78)

Tabela 7 - Evidências do papel dos péptidos opióides endógenos no desencadear da puberdade.

Evidência clínica
- Diminuição da secreção de LH em homens e mulheres na pré-menopausa após administração de morfina e dos seus análogos. (79)
Evidência experimental
- Diminuição da secreção de LH após injeção intravenosa e intracerebral de β -endorfina. (78)
- Estimulação da libertação de GnRH e LH com administração sistémica de antagonistas opióides em diversos modelos animais e seres humanos. Os níveis de FSH não são significativamente alterados.
- Antecipação do início da puberdade em animais pré-púberes através da administração de antagonistas opióides. (79)

A inibição opióide pode ser exercida diretamente em neurónios secretores de GnRH ou indiretamente em neurónios envolvidos no controlo estimulador como os neurónios kisspeptinérgicos (Figura 8). (66)

A redução dos estímulos inibitórios exercidos pelo sistema opióide não parece desempenhar um papel tão crítico como a perda da inibição por GABA na reativação do pulso secretor de GnRH. (67,79)

A ativação do sistema opióide em situações de stresse como exercício físico extenuante, fatores de stresse psicológicos e diminuição das reservas energéticas pode explicar a influência destes agentes no momento do desencadear da puberdade. (78)

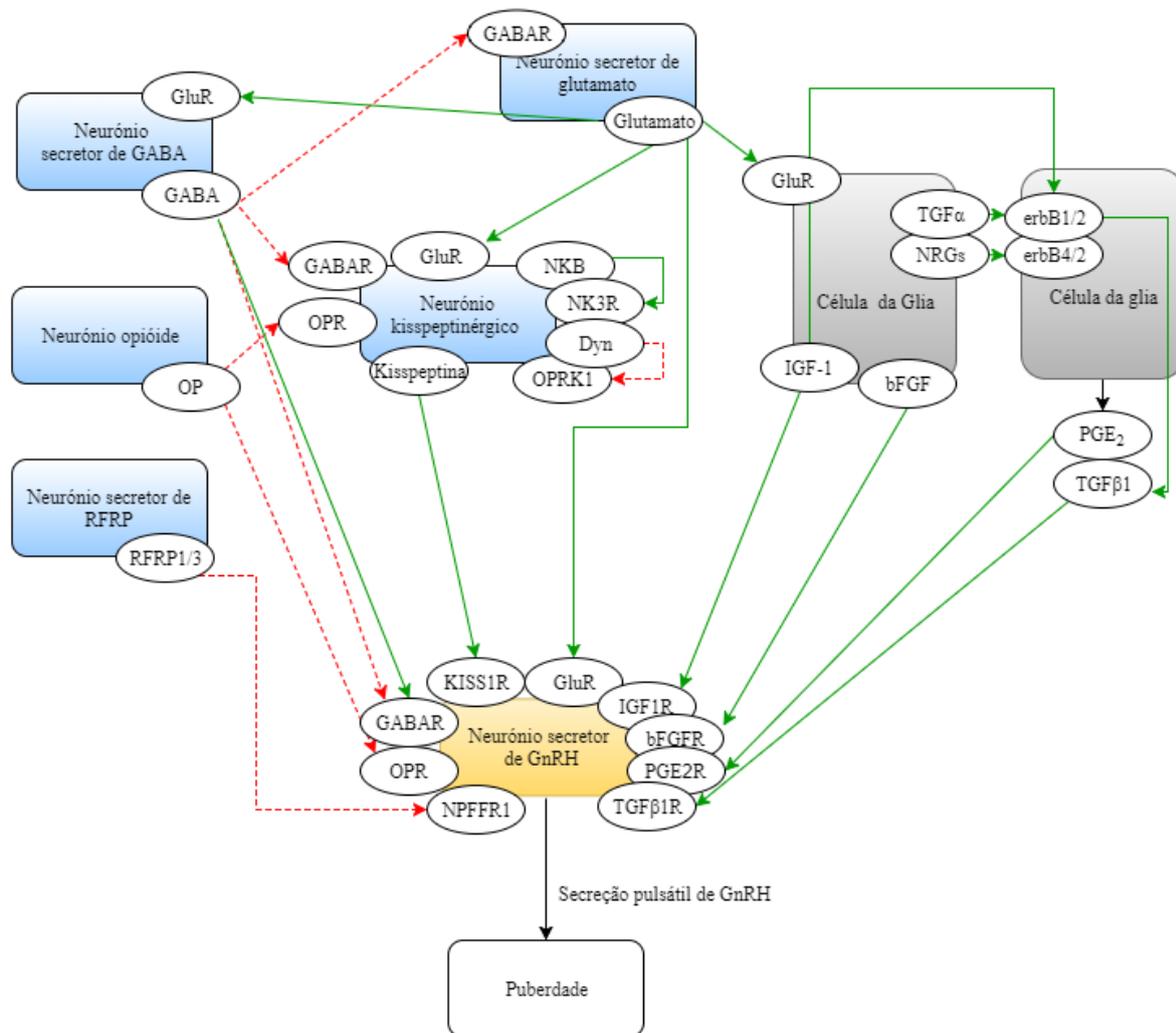


Figura 8 - Perspetiva global da regulação trans-sináptica e glial do desencadear da puberdade. Adaptado de Sperling *et al.* (6) e Ojeda *et al.* (67)

GluR: recetor de glutamato; OP: β -endorfina; RFRP: péptidos da família RF-amida; GABAR: recetor do GABA; KISS: kisspeptina; KISS1R: recetor da kisspeptina; NKB: neurocinina B; Dyn: dinorfina A; OPRK1: recetor opióides *kappa* 1; NK3R: recetor da neurocinina B; OPR: recetor opióides; NPFFR1: recetor do RFRP; TGF β 1: fator de transformação do crescimento beta 1; TGF α : fator de transformação do crescimento alfa; NRG: neuroregulinas; bFGF: fator de crescimento dos fibroblastos; IGF-1: fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1; PGE2: prostaglandina E₂; TGF β 1R: recetor do fator de transformação do crescimento beta 1; bFGFR: recetor fator de crescimento dos fibroblastos; IGF1R: recetor do fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1; PGE2R: recetor da prostaglandina E₂; GnRH: hormona secretora das gonadotrofinas; \rightarrow ação estimuladora; $\cdots\rightarrow$ ação inibitória.

Tabela 8 - Síntese da rede neuronal que intervém na reativação da secreção de GnRH na puberdade.

Molécula	Origem	Local de ação	Receptor	Ação	Genes associados a patologia	Referências
Kisspeptina	Neurónio kisspeptinérgico	Neurónio secretor de GnRH	KISS1R (GPR54, AXOR12, hOIT175, HH8 ²)	Estimuladora	KISS KISS1R	(19,28,43,44,68,81)
		Interneurónio desconhecido	?	?		
	Péptido relacionado com RF-amida 1 (RFRP1)	Neurónio secretor de RFRP	Neurónio secretor de GnRH ³	RFRP-3R (GPR147 ²)	Inibitória	NPVF NPPFR1
Péptido relacionado com RF-amida 3 (RFRP3)	Neurónio secretor de RFRP	Neurónio secretor de GnRH ³	RFRP-3R (GPR147 ²)	Inibitória	NPVF NPPFR1	(18,20,27,59,69,85)
Taguicinas	Neurónio kisspeptinérgico	Neurónio kisspeptinérgico	NK3R (TAC3R ²)	Estimuladora	TAC3 TACR3	(5,18,42,43,52,69)
		Neurónio kisspeptinérgico	NK1R (TAC1R ²)	Estimuladora	Sem mutações identificadas	(2,45,55)
	Neurónio kisspeptinérgico	Neurónio kisspeptinérgico	NK2R (TAC2R ²)	Estimuladora	Sem mutações identificadas	(45,55)
Glutamato	Neurónio secretor de glutamato	Neurónio secretor de GnRH	NMDA AMPA Cainato	Estimuladora	Sem mutações identificadas	(6,20,46,67,68)
		Astrócitos	AMPA	Estimuladora		
	Neurónio secretor de GABA	mGluR1 (?)	Inibitória			
	Neurónio kisspeptinérgico	Neurónio kisspeptinérgico	?	Estimuladora		

² Outras designações frequentes na literatura.

³ Foi proposta uma ação indireta sobre neurónios kisspeptinérgicos, cuja existência não está estabelecida.

Tabela 8 - Síntese da rede neuronal que intervém na reativação da secreção de GnRH na puberdade (continuação).

Molécula	Origem	Local de ação	Receptor	Ação	Genes associados a patologia	Referências
Ácido γ-aminobutírico (GABA)	Neurónio secretor de GABA	Neurónio secretor de glutamato	GABA-A GABA-B	Inibitória	Sem mutações identificadas	(6,20,30,46,67)
		Neurónio secretor de GnRH	GABA-A GABA-B	Estimuladora/Inibitória Inibitória		
	Neurónio secretor de GABA	Neurónio kisspeptinérgico (?)	GABA-A GABA-B	Inibitória		
		Neurónio secretor de GnRH	GABA-A GABA-B	Inibitória		
Péptidos opióides endógenos⁴	Neurónio opióide	Neurónio secretor de GnRH Neurónio kisspeptinérgico	POR	Inibitória	Sem mutações identificadas	(6,20,30,45,67)
Dinorfina A (Dyn)	Neurónio kisspeptinérgico	Neurónio kisspeptinérgico	OPRK1	Inibitória	Sem mutações identificadas	(6,30,45)
Fator de transformação do crescimento alfa (TGFα)	Células da glia	Astrócitos Tanócitos	Erb1/2	Estimuladora		(45,66)
Neuroregulinas (NRG)	Células da glia	Astrócitos	Erb4/2	Estimuladora		(45,67)
Fator de crescimento dos fibroblastos (bFGF)	Células da glia	Neurónio secretor de GnRH	FGFR	Estimuladora		(45,66,67)
Fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1)	Células da glia	Neurónio secretor de GnRH	IGF IR	Estimuladora	Sem mutações identificadas	(45,66,67)
		Astrócitos	?			
Fator de transformação do crescimento beta 1 (TGFβ1)	Células da glia	Neurónio secretor de GnRH	TGF β IR	Estimuladora		(45,66,67)
		Tanócitos	?			
Prostaglandina E2 (PGE2)	Células da glia	Neurónio secretor de GnRH	PGE2R	Estimuladora		(45,66)

⁴ Pela sua relevância a dinorfina A será abordada em separado.

III – PUBERDADE: REGULAÇÃO GENÉTICA

1. Perspetiva global

A idade de início da puberdade é bastante variável. Contudo, estudos de associação revelaram que variações comuns nos genes relacionados com patologias raras da puberdade - hormona secretora das gonadotrofinas 1 (GNRH1), recetor da hormona secretora das gonadotrofinas (GNRHR), KISS1, leptina (LEP), recetor da leptina (LEPR), recetor tipo 1 de fator de crescimento dos fibroblastos (FGFR1), anomina 1 (KAL1), procinectina 2 (PROK2) e recetor da procinectina 2 (PROKR2) - não parecem ser responsáveis pelas variações observadas na população em geral. (14,81)

Estudos de associação tipo *Genome-wide association* (GWA) de larga escala revelaram que o desencadear da puberdade é altamente poligénico, (14) mas as variantes comuns conhecidas explicam apenas 7,4% das variações observadas na idade da menarca. (82,83) Estas observações sugerem a intervenção de outras formas de variabilidade genética como a variação do número de cópias e mecanismos epigenéticos. (5) A variação da idade da puberdade pode também atribuir-se a centenas ou milhares de variações genéticas com pequeno impacto. (84)

A reativação da secreção de GnRH na puberdade é controlada por um sistema regulador altamente coordenado e interativo. (69) Há genes necessários para a aquisição da função reprodutiva (como GNRHR, KISS1R, KISS1, TAC3 e TAC3R) e outros que contribuem para definir o momento correto do desencadear da puberdade. (45,49) Genes como *octamer-binding transcription factor 2* (Oct-2), fator de transcrição da tiróide tipo 1 (TTF1), *enhanced at puberty 1* (EAP1) e *RNA-binding protein LIN-28B* (LIN28B) parecem contribuir para o controlo transcricional da puberdade. (66,67)

Os genes e as vias de sinalização chave no desencadear da puberdade encontram-se relativamente elucidados. Todavia, o estudo dos mecanismos moleculares que determinam quando um indivíduo inicia a puberdade encontra-se nos primórdios. (81)

Diversos genes referidos nesta monografia foram associados a patologia (Tabela 9), realçando a importância do estudo da fisiologia para a compreensão dos distúrbios pubertários.

Tabela 9 - Genes referidos nesta monografia associados a patologia.

Gene	Locus	Produto	Hereditariedade	Patologia	Referências
GNRH1	8p21-p11.2	Hormona secretora das gonadotrofinas (GnRH)	AR	HHC Atraso constitucional do crescimento e puberdade ⁵	(5,14,22,53,85,86)
GNRHR	4q13.2-3	Recetor da GnRH	AR AD (raro)	HHC ⁶ Atraso pubertário	(2,5,22,53,85-87)
KISS1	1q32.1	Kisspeptina	AR	HHC	(2,5,7,22,36,47,53,85,86)
			AD	PPC	
KISS1R	19p13.2	Receptor da kisspeptina (KISS1R)	AR	HHC Atraso pubertário	(2,5,7,22,36,47,53,82,85,86)
			AD	PPC	
TAC3	12q13.3	Neurocinina B (NKB)	AR	HHC ⁵ , associado a micropenis, criptoorquidismo Atraso pubertário PPC	(2,5,22,35,46,52,55,83,93,94)
TACR3	4q24	Recetor da NKB	AR	HHC ⁵ , associado a micropenis e criptoorquidismo Atraso pubertário	(2,5,22,47,53,82,86,87)
MKRN3 (ZNF127⁷)	15q11-q13	<i>Makorin ring finger protein 3</i>	Herança paterna	PPC ⁸	(2,7,36,89)
LEP	7q31.3	Leptina	AR	HHC ⁵ Obesidade severa	(5,22,53,85,90)
LEPR	1p31	Recetor da leptina	AR	HHC ⁵ Obesidade severa	(5,22,53,85,90)
CHD7 (KAL5⁷)	8p12.1	<i>Chromodomain helicase DNA binding protein 7</i>	AD AR	Síndrome CHARGE Síndrome de Kallmann HHC ⁵	(5,22,87)
LIN28B	1p36.11	<i>RNA-binding protein LIN-28B</i>	AD?	PPC	(36,91,92)

AR: hereditariedade autossómica recessiva; AD: hereditariedade autossómica dominante; HHC: hipogonadismo hipogonadotrófico congénito; PPC: puberdade precoce central.

⁵ Mutação associada a perda parcial da função do gene. Também está associado a atraso da puberdade dentro do intervalo de normalidade. (14)

⁶ O HHC pode ser reversível em alguns doentes.

⁷ Outras designações frequentes na literatura.

⁸ As mutações afetam os dois sexos, contudo o fenótipo tende a ser mais severo no sexo feminino. (7,36)

2. Redes de regulação genética

Os genes envolvidos no desencadear da puberdade estão organizados em redes de regulação (93) estruturadas de forma hierárquica: o nível mais elevado de controlo é fornecido por reguladores transcricionais que, ao controlar a expressão de genes subordinados, coordenam os substratos neuronais e gliais responsáveis pelo despoletar da puberdade. (69) Mecanismos epigenéticos permitem a coordenação genética. (66)

A manutenção da função reprodutiva é um requisito essencial para a preservação da espécie. Perante a perda de um componente são necessários mecanismos que assegurem a funcionalidade da rede como um grau elevado de redundância e tolerância a erros. (69)

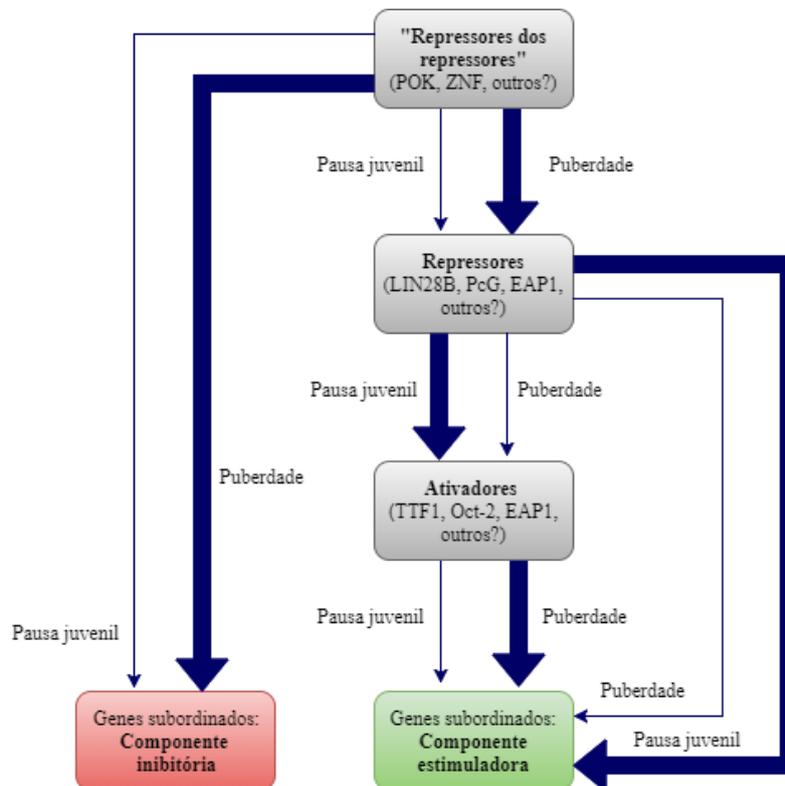


Figura 9 - Rede de regulação genética que intervém no desencadear da puberdade. Adaptado de: Ojeda *et al.* (67)

ZNF: genes que codificam proteínas com o motivo *zinc-finger*; POK: genes que codificam a subfamília de proteínas POK; LIN28B: *RNA-binding protein LIN-28B*; PcG: *Polycomb group*; EAP1: *enhanced at puberty 1*; TTF1: fator de transcrição da tiróide tipo 1; Oct-2: *octamer-binding transcription factor 2*.

Ojeda *et al.* propôs a organização de uma rede transcricional hipotética que controla a fertilidade no sexo feminino (Figura 9). De acordo com este modelo, o nível mais elevado de controlo é exercido por “repressores dos repressores” (genes que inibem a expressão de outros repressores), inativos durante a pausa juvenil e ativos na puberdade. Por oposição, a influência dos “repressores” (genes que evitam a transcrição de genes ativadores) é superior durante a pausa juvenil relativamente à puberdade. A expressão dos genes ativadores aumenta antes ou durante o início da puberdade. (67)

Mecanismos epigenéticos fornecem um nível adicional de regulação (31) ao permitir a integração de sinais ambientais e a adaptação ao ambiente por alteração da expressão genética. (94) O papel fundamental dos mecanismos epigenéticos no desencadear da puberdade humana é suportado por várias evidências (Tabela 10).

Tabela 10 - Evidências do papel dos mecanismos epigenéticos no desencadear da puberdade.

Evidência experimental
<ul style="list-style-type: none"> - Elevada correlação entre reguladores epigenéticos e variações da idade da menarca em estudos de associação tipo GWA. - Relação inversa entre idade da menarca e metilação global do ácido desoxirribonucleico (DNA). (84) - Alterações da metilação de regiões completas de diferentes cromossomas no início da puberdade. - Diminuição do grau de metilação de regiões do DNA no local de início da transcrição de genes individuais e em ilhas CpG no início da puberdade. (31)

Os mecanismos de regulação epigenética podem envolver: (i) modificações químicas por metilação e hidroximetilação do DNA; (ii) alterações da estrutura da cromatina por modificações pós-translacionais nas histonas e (iii) ação de RNAs não codificante como microRNA (*miRNAs*) ou RNA não codificador longo intergénico (*lincRNAs*). (93)

A identificação de Polimorfismos de Nucleotídeo Único (SNPs) associados à idade da menarca em regiões identificadas como amplificadores distais despertou a atenção para a importância da regulação genética destas regiões por alterações da configuração tridimensional

da cromatina (30) que pode explicar, por exemplo, casos de puberdade precoce por mutações a 600kb do gene *KISS1R*. (81)

Mecanismos epigenéticos podem ser responsáveis por regular a influência de fatores endógenos (como por exemplo as reservas energéticas) e exógenos (stress crônico, exposição *in utero* a disruptores químicos endócrinos, entre outros) no momento do desencadear da puberdade (Figura 10). (82,95)

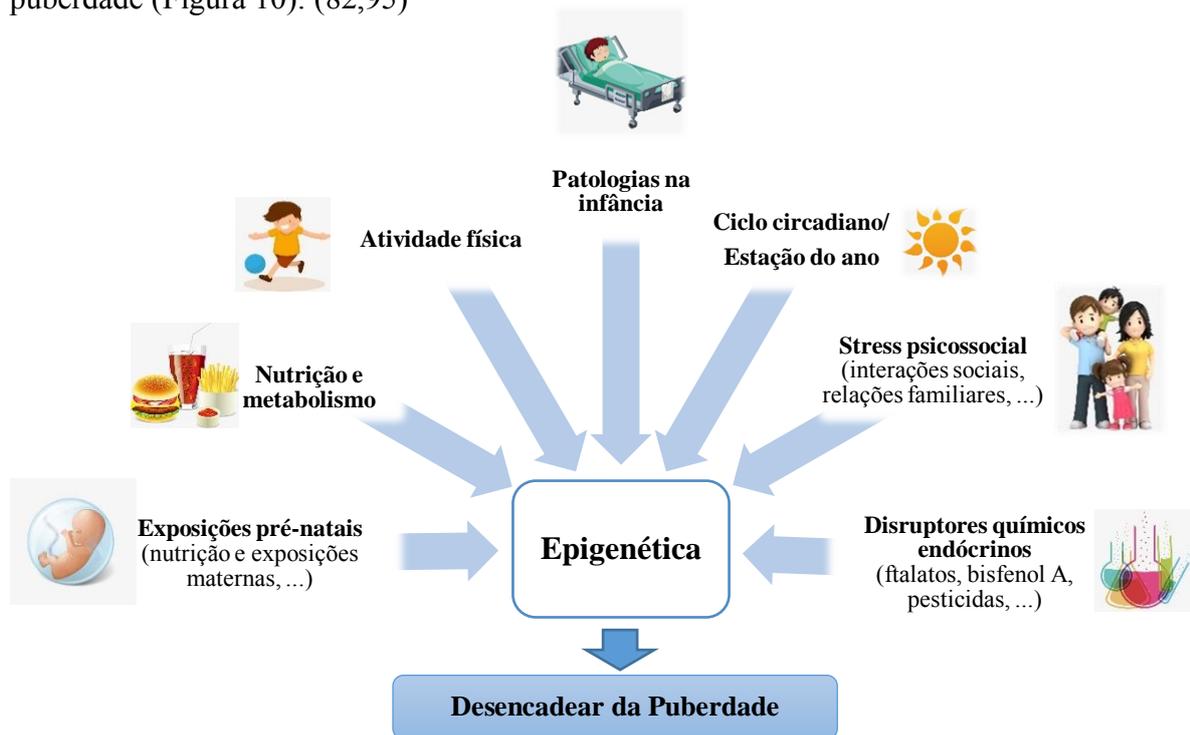


Figura 10 - Fatores que podem influenciar o desencadear da puberdade através de mecanismos epigenéticos. Esquema original da autora elaborado com base em Kumanov *et al.* (47) e Roth *et al.* (95) Imagens retiradas do banco de imagens eletrônico de utilização livre *Pngtree* 2017 (96).

2.1 Ativadores

Diversos genes estimulam o desencadear da puberdade. Os mais estudados são:

i. O Oct-2 é um regulador transcricional da família *POU-domain* de *homeobox-containing genes*. (67) Em mamíferos, os níveis de mRNA hipotalâmico aumentam ao longo da pausa juvenil de forma independente de hormonas esteróides sexuais e o seu bloqueio conduz a atrasos pubertários por diminuição da síntese de TGF α pelos astrócitos. (45) O homólogo

humano (*POU domain, class 2, transcription factor 2 - POU2F2*) pode ser responsável pela puberdade precoce observada em doentes com hamartomas. (82)

ii. No ser humano, os genes TTF1 e EAP1 localizam-se no cromossoma 14 (14q13 e 14q24.3, respetivamente). Foram implicados no controlo da puberdade através de estudos de ligação genética. (31,66) No início da puberdade, o gene TTF-1 é responsável pelo aumento da transcrição dos genes GNRH, receptor tipo 2 do fator de crescimento epidérmico (erbB2) e KiSS1 e pela inibição da atividade do promotor da proencefalina. (45,82) O gene EAP1 ativa a transcrição de genes do eixo ativador (GNRH, entre outros) (82) e inibe genes inibitórios (proencefalina, entre outros). (45). Em modelos animais, a inativação do gene EAP1 associa-se a atraso pubertário. (69) No ser humano, SNPs próximos do gene TTF1 estão relacionados com menarca precoce. (30)

iii. O grupo *Tritorax* (TrxG) é um ativador transcricional (93) cuja atividade aumenta simultaneamente com a inativação do *Polycomb group* (PcG) (descrito no ponto 2.2) (30) Em seres humanos, o seu papel é sugerido pela associação de HH com mutações inativadoras no gene *chromodomain helicase DNA binding protein 7* (CHD7, elemento do TrxG). (30,93)

2.2 Repressores

São desconhecidos todos os mecanismos repressivos transcricionais e pós-transcricionais que intervêm no controlo do início da puberdade. Contudo, parecem apresentar um elevado grau de complexidade. (93) Os mais relevantes são:

i. O gene LIN28B é um elemento repressor pós-transcricional que codifica uma proteína que inibe a maturação do miRNA *let7*. (14,66,67,93) A sua ação foi sugerida pela associação de SNPs próximos deste gene com puberdade precoce e baixa estatura em raparigas. Estudos em modelos animais indicam que o sistema *LIN28B-let-7* apresenta influências complexas, parcialmente específicas para cada sexo no crescimento e desencadear da puberdade. (84)

ii. O *Polycomb group* (PcG) de repressores transcricionais parece constituir um elemento major do componente repressivo, (43) cuja inibição está diretamente associada ao desencadear da puberdade. (66,80,94,97,98) O seu papel em humanos é sugerido pela proximidade de um *locus* associado à idade da menarca com o gene *chromobox protein homolog 7* (CBX7, um dos elementos do PcG). (85) Desconhece-se a importância deste mecanismo no sexo masculino (97) e a forma como regula o desencadear da puberdade em coordenação com outras aferências no sexo feminino. (81)

iii. Para além do papel ativador, o gene EAP1 atua como repressor transcricional de genes do componente inibitório. (67)

2.3 Repressores dos repressores

Diversos genes atuam como repressores transcricionais do componente repressor como os genes que codificam proteínas com o motivo *zinc-finger* (ZNF) e a subfamília de proteínas POK da família poxvírus e *zinc-finger* (POK-ZNF). (66,67,69) Na puberdade humana, o contributo dos genes ZNF foi sugerido pela associação de SNPs localizados próximo dos genes ZNF131, ZNF462 e ZNF483 com menarca precoce em estudos de associação tipo GWA. (99)

De entre estes genes, destaca-se a importância do gene *makorin ring finger protein 3* (MKRN3) que codifica uma E3 ubiquitina *ligase*. (7,13,45) MKRN3 não é crucial na supressão da secreção de GnRH após a mini-puberdade da infância precoce, mas a diminuição da sua expressão é fundamental para a reemergência dos pulsos de GnRH na puberdade. (13) Polimorfismos deste gene estão associados a variação da idade do desencadear da puberdade dentro do intervalo de normalidade e mutações inativadoras a PPC em ambos os sexos, com maior evidência no sexo masculino. MKRN3 é o gene mais frequentemente associado a PPC. (2,7,13,36,37,89)

3. Diferenças entre os sexos

A maioria dos mecanismos genéticos que regulam o momento do desencadear da puberdade são comuns a ambos os sexos. Observou-se uma forte correlação positiva entre os marcadores de desenvolvimento pubertário nos sexos feminino (idade da menarca) e masculino (mudança da voz). (100) Contudo, alguns mecanismos apresentam especificidade de género. (49)

Estudos de associação tipo GWA revelam que algumas variantes apresentam o mesmo efeito, mas impacto diferente (como por exemplo os SNPs rs7759938 e rs2153127 no gene LIN28B e rs10453225 no gene *transmembrane protein 38B* - TMEM38B), outros *loci* apresentam forte associação apenas com um sexo (SNP rs17233066 no gene *special AT-rich sequence binding protein 2* - SAT2B) e outros efeitos opostos em sexos diferentes (rs1324913 em *kruppel like factor 12* - KLF12). (101) Estudos adicionais são fundamentais para compreender o dimorfismo sexual do desencadear da puberdade. As principais etiologias propostas para as diferenças observadas foram sintetizadas na tabela 11.

Tabela 11 - Etiologias propostas para as diferenças da regulação genética da puberdade entre os sexos.

- Hormonas esteróides sexuais. (102)
- Cromossomas sexuais:
 - o Ação de genes específicos de género, como *sex-determining region Y* (SRY), sobre fatores de transcrição.
 - o Influência dos cromossomas sexuais na regulação epigenética da expressão dos autossomas.
 - o Dosagem genética: cerca de 15% dos genes do segundo cromossoma X presente no sexo feminino escapam à inativação. (101)
- Diferenças específicas de sexo em mecanismos epigenéticos independentes da ação de hormonas sexuais: (102) a metilação global dos autossomas é superior no sexo masculino. (101)

IV – PUBERDADE E METABOLISMO

1. Perspetiva global

A função reprodutiva é sensível a alterações no estado metabólico e reservas energéticas. (103) A energia armazenada, traduzida pela percentagem de massa gorda, tem de atingir um determinado limiar para permitir o desencadear da puberdade, mas em excesso pode influenciar o seu início e conduzir a infertilidade. (16) No sexo feminino, o impacto no desencadear da puberdade e capacidade reprodutiva é mais evidente. (16,46) No sexo masculino, a função reprodutiva também é sensível a condições de stresse metabólico. (104)

Entre os séculos XIX e XX verificou-se uma tendência para puberdade mais precoce em raparigas. Como peso crítico para o desencadear da puberdade é semelhante entre os séculos, esta alteração pode ser justificada pelo crescimento mais rápido observado no século XX (2) secundário à melhoria das condições de saúde, higiene e nutrição. (105) Uma nova tendência de decréscimo da idade da menarca foi observada nas últimas décadas nos Estados Unidos da América e Europa, provavelmente associada à obesidade infantil. (10)

No sexo feminino, maior índice de massa corporal (IMC) e massa gorda foram associados a puberdade mais precoce em estudos transversais e longitudinais. (106) Em rapazes, a relação entre o IMC e a idade da puberdade não é linear: o excesso de peso associa-se a puberdade precoce e a obesidade relaciona-se com atraso pubertário. (12)

Estudos de associação tipo GWA confirmaram a existência de correlação entre o IMC e a idade da menarca. Os *loci* partilhados entre os dois traços envolvem 13 regiões genéticas onde se localizam os genes: *fat mass and obesity-associated gene* (FTO), *SEC16 homolog B endoplasmic reticulum export factor* (SEC16B), *transmembrane protein 18* (TMEM18), regulador do crescimento neuronal 1 (NEGR1), *TNNI3 interacting cinase* (TNNI3K), *glucosamine-6-phosphate deaminase 2* (GNPDA2), fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), *BCDIN3 domain containing RNA methyltransferase* (BCDIN3D), *G protein-coupled*

receptor, family C, group 5, member B (GPC5B), polypeptide N-acetylgalactosaminyl-transferase 10 (GALNT10), proteína cinase ativada por mitogénio 5 (MAP2K5), tripartite motif containing 66 (TRIM66) e low density lipoprotein receptor-related protein 1B (LRP1B). (85)

O impacto do metabolismo na puberdade é duradouro. O aumento rápido de peso e massa gorda nos primeiros 6 meses de vida e durante a infância (até aos 8 anos) foi associado a puberdade precoce nos dois sexos, com maior associação no sexo feminino. (11) O atraso de crescimento intrauterino também se relaciona com um início mais precoce da puberdade ao induzir crescimento pós-natal acelerado. (95) Mecanismos epigenéticos desempenham um papel fundamental no impacto de alterações do balanço energético no início da vida, na adolescência e na vida adulta. (30)

2. Ação de hormonas periféricas

2.1 Leptina

A leptina (hormona produzida no tecido adiposo branco e componente crítico da homeostase de energia) constitui um integrador neuroendócrino fundamental das reservas energéticas do organismo em diferentes funções hormonais, incluindo a reprodução. (104) Assim, a leptina informa o sistema nervoso central da adequação das condições metabólicas para suportar o desenvolvimento pubertário (Tabela 12). (45)

Evidências experimentais demonstram que a leptina é indispensável para a maturação do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas, a progressão normal da puberdade e a manutenção da fertilidade (2) enquanto outras contrariam esta hipótese. (39,107) É consensual que não atua como desencadeador da puberdade, mas como fator permissivo. (10,104)

Tabela 12 - Evidências do papel da leptina na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas.

Evidência clínica
- Associação entre deficiência de leptina e alterações do seu recetor, atraso pubertário e HH em ambos os sexos. (22,90) - Desenvolvimento pubertário normal de indivíduos com deficiência congénita de leptina por mutação do gene LEP (107) após terapia substitutiva com leptina, sem indução de puberdade precoce. (3) - Reversão da amenorreia hipotalâmica associada a balanço energético negativo persistente após administração de leptina em mulheres. (108) - Aumento gradual dos níveis séricos de leptina antes do início da puberdade e diminuição do recetor solúvel da leptina em adolescentes de ambos os sexos. (6)
Evidência experimental
- Indução de avanço pubertário por administração crónica de leptina em condições que não alteram o peso corporal em fêmeas de roedores pré-púberes. (107,109) - Evidência de atrasos pubertários em condições de restrição de energia através da administração crónica de leptina em fêmeas de roedores pré-púberes. (104)

A leptina exerce a sua função principalmente a nível hipotalâmico, contudo os alvos primários e os mecanismos de ação não se encontram completamente esclarecidos. (45)

Em adultos do sexo feminino, foi documentado que desempenha funções diretas a nível do ovário. As ações periféricas na puberdade ainda não foram comprovadas. (104)

2.2 Grelina

A grelina (peptídeo gastro-entero-pancreático sintetizado pelo estômago) constitui um sinal periférico de deficiência de energia (2,45) e é considerada um elemento relevante no controlo metabólico da puberdade e reprodução (Tabela 13). É predominantemente inibitória, ou seja, atua como antagonista funcional da leptina (104) através da ação direta no hipotálamo e hipófise. (2) O sexo masculino parece mais sensível à sua ação, por exemplo, em roedores do sexo masculino o atraso pubertário induzido pela administração repetida de grelina é mais acentuado. (104)

No ser humano, a relevância funcional da diminuição dos níveis de grelina no eixo hipotálamo-hipófise-gónadas durante a transição pubertária é ainda desconhecida.

Tabela 13 - Evidências do papel da grelina na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas.

Evidência clínica
- Diminuição progressiva dos níveis de grelina durante a puberdade nos sexos feminino e masculino. (104) - Associação entre níveis elevados de grelina em jovens atletas amenorreicas e diminuição da secreção pulsátil de LH. (67) - Supressão da secreção de gonadotrofinas após administração central e periférica de grelina em adultos. (110)
Evidência experimental
- Atraso no início da puberdade após administração repetida de grelina em roedores pré-púberes dos sexos feminino e masculino. - Supressão da secreção de LH após injeção de grelina em fêmeas de roedores ovariectomizadas. (104)

No sexo feminino, foi documentado que a grelina desempenha funções diretas a nível do ovário, inibindo a esteroidogénese e a função lútea. Estes dados podem sugerir que esta hormona atua a nível gonadal durante puberdade. (104)

2.3 Insulina

A insulina (hormona peptídica sintetizada nas células β pancreáticas) desempenha múltiplos papéis na homeostase central e periférica de energia (67) e contribui para a regulação da fertilidade ao transmitir sinais estimuladores/permisivos ao eixo hipotálamo-hipófise-gónadas (Tabela 14). (27)

Tabela 14 - Evidências do papel da insulina na regulação do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas.

Evidência clínica
- Associação entre níveis baixos ou nulos de insulina (por exemplo, na diabetes <i>mellitus</i> tipo 1 descontrolada) e amenorreia hipotalâmica, supressão dos níveis de gonadotrofinas e alterações reprodutivas. (27) - Associação entre insulinoresistência, níveis elevados de insulina na Síndrome do Ovário Poliquístico e pulsatilidade acelerada de GnRH com produção de níveis elevados de LH. - Forte evidência epidemiológica da contribuição do aumento da resistência à insulina e hiperinsulinémia para uma puberdade mais precoce em ambos os sexos. (29)
Evidência experimental
- Indução de hipogonadismo por défice de GnRH na ausência de recetores neuronais de insulina em roedores. (109) - Aumenta da secreção de LH em mulheres com o aumento dos níveis séricos de insulina. (27)

Estudos sugerem que a insulina atua no hipotálamo para modular a secreção de GnRH de forma predominantemente indireta. Atua igualmente a nível da hipófise.

A insulina é um estímulo major para a secreção de leptina, pelo que alguns dos seus efeitos podem ser mediados por esta hormona. (27)

2.4 Outras hormonas

Diversas hormonas sofrem alterações significativas na puberdade: a hormona do crescimento (GH) ou somatotropina e o IGF-1 aumentam na puberdade. (2) Têm sido descritas como responsáveis pelas alterações metabólicas observadas (como a insulinoresistência e o aumento da resposta das células β pancreáticas à glicose) e pelo pico de crescimento. (67)

No sexo feminino, a importância da GH no desencadear da puberdade é demonstrada pela correlação entre a idade óssea e a idade de início da puberdade e pela associação de alterações da maturação óssea (como o défice de GH) e alterações da idade do desencadear da puberdade. (6)

Em seres humanos, a expressão de IGF-1 aumenta na puberdade. (110) A importância desta hormona no crescimento encontra-se bem estabelecido, contudo não parece ser imprescindível para o desencadear da puberdade. Experiências em roedores salientam o papel da IGF-1 na determinação do momento do início da puberdade. (29,109)

O papel de adipocinas como a adiponectina e a resistina no eixo hipotálamo-hipófise-gónadas é ainda desconhecido. (47) Em rapazes, os níveis plasmáticos de adiponectina diminuem progressivamente em associação com o desenvolvimento pubertário. (67) No sexo feminino mantêm-se estáveis. (22)

A nível hipotalâmico a nefastina-1 sinaliza suficiência energética, provavelmente de forma independente da leptina. Estudos em roedores fêmeas salientam a sua importância na modulação metabólica do desencadear da puberdade e evidenciam uma interação com a via das kisspeptinas. A importância em seres humanos ainda não foi comprovada. (43)

3. Vias neuroendócrinas

A proximidade entre os terminais dendríticos de neurónios secretores de GnRH e os órgãos circumventriculares permite a regulação por fatores circulantes no sangue. (29) Todavia, a transmissão da informação metabólica aos neurónios secretores de GnRH é efetuada através de vias intermédias. (51,111) Esta afirmação é evidenciada pela baixa expressão de recetores para as hormonas periféricas em neurónios secretores de GnRH *in vivo* (10,27,104) e pela ausência de impacto na puberdade após a sua eliminação. (27)

No ser humano, as vias que permitem a regulação do controlo metabólico da puberdade ainda não se encontram caracterizadas. A tabela 15 sumaria as principais vias de transmissão que poderão intervir no controlo metabólico do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas. Todo o conhecimento deriva de observações diretas e indiretas obtidas a partir de experiências *in vitro* e *in vivo* em modelos experimentais, principalmente roedores, pelo que a sua importância e função podem divergir no ser humano.

Nos seres humanos, o estudo destes mecanismos apresenta um futuro potencial terapêutico na restauração da função reprodutiva em doentes com condições de balanço energético negativo como diabetes *mellitus* e anorexia nervosa. (39)

4. Vias de sinalização intracelular

Evidências em roedores relevam que diversos sensores de energia celular, como a proteína alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR) e a proteína cinase ativada por adenosina monofosfato (AMPK), parecem desempenhar um papel fundamental na integração de estímulos metabólicos na rede neuroendócrina responsável pela regulação do desencadear da puberdade. A via de sinalização celular mTOR parece ser responsável por avaliar a disponibilidade nutricional (principalmente de aminoácidos), (110) por mediar os efeitos da leptina e, possivelmente, também da grelina. (10,43) AMPK é ativado por níveis plasmáticos baixos de glicose e medeia os efeitos da leptina e da grelina (46).

Tabela 15 - Principais vias neuroendócrinas implicadas no controlo metabólico do eixo hipotálamo-hipófise-gónadas.

População neuronal	Localização	Neuropéptidos e neurotransmissores	Ações principais
Neurónios secretores de POMC/CART	ARC (111)	α -MSH β -endorfina CART GABA Glutamato (27)	- Elemento central no reconhecimento das reservas energéticas e transmissão da informação metabólica periférica para o eixo reprodutivo. (27) - Alvo primário responsável pela transmissão das ações da insulina e leptina. (27,45,111) - Ação sobre neurónios kisspeptinérgicos (42) e secretores de GnRH: (111) a β -endorfina inibe a secreção de GnRH em condições de deficiência de energia enquanto a α -MSH tem ação estimuladora. A α -MSH também pode desempenhar ações inibitórias. CART desempenha ações estimuladoras sobre neurónios kisspeptinérgicos. (27,42) - Interação recíproca com neurónios secretores de NPY/Arg. (27)
Neurónios secretores de NPY/Arg	ARC (111)	AgRP GABA NPY (27)	- Alvo primário responsável pela transmissão das ações da leptina (27,45,111) e insulina que regulam negativamente o sistema. (27,45) Evidências indiretas sugerem que a grelina tem ação estimuladora. (111) - Ação predominantemente inibitória sobre neurónios kisspeptinérgicos e secretores de GnRH por ação do GABA. - Interação recíproca com neurónios secretores de POMC. (27)
Neurónios localizados nos PMV	PMV (22) (111)	Glutamato Neuropéptidos desconhecidos (27)	- Alvo primário responsável pela transmissão das ações da leptina. (43,110) - Ação sobre neurónios kisspeptinérgicos (10,42) através da secreção de glutamato (27) e neurónios secretores de GnRH. (42,43)
Neurónios secretores de NO	POA (112)	NO GABA (112)	- Mediação dos efeitos da leptina. (110,111) - Ação através da sinalização por GABA sobre neurónios kisspeptinérgicos (27) e neurónios secretores de GnRH. (112) - Alvo da ação de neurónios kisspeptinérgicos. (27)
Neurónios secretor de GABA	ARC (27)	GABA (27)	- Transmissão e integração da informação metabólica veiculada pela leptina. (110,113) - Ação predominantemente indireta sobre neurónios secretores de GnRH provavelmente através de neurónios kisspeptinérgicos. (27,110)
Neurónios KNDy	ARC (42)	Kisspeptinas NKB Dyn Glutamato (42)	- Integração da informação metabólica no eixo-hipotálamo-hipófise-gónadas. (27) - Alvo possível da ação direta da leptina, (27,42) grelina, (42,104,110) insulina (2,27,42) e nefastina. (42) - Alvo da ação de inúmeras vias indiretas. (27) - Ação estimuladora direta sobre neurónios POMC e inibitória indireta sobre neurónios AgRP/NPY através da secreção de glutamato. (42)

POMC: Pró-opiomelanocortina; CART: transcrito regulado pela cocaína e anfetamina; KNDy: kisspeptina, neurocinina e dinorfina; ARC: núcleo arqueado; α -MSH: hormona estimuladora dos melanócitos α ; GABA: ácido γ -aminobutírico; GnRH: hormona estimuladora das gonadotrofinas; NPY: neuropéptido Y; AgRP: péptido relacionado com o gene *agouti*; PMV: núcleos ventrais pré-mamilares; NO: óxido nítrico; NKB: neurocinina B; Dyn: dinorfina A;

V – PUBERDADE: GENÉTICA E PRÁTICA CLÍNICA

A importância da compreensão da fisiologia e genética da puberdade normal na prática clínica é evidenciada pelo contributo no esclarecimento da etiopatogenia de diversos distúrbios pubertários. Algumas das patologias associadas ao desenvolvimento e puberdade mais frequentes e os genes mais estudados em cada patologia são referenciados na tabela 16.

Tabela 16 - Distúrbios do desenvolvimento e puberdade associados a mutações dos genes relacionados com o eixo hipotálamo-hipófise.

Patologia	Etiopatogenia	Referências
Síndrome Kallman	Alteração da migração neuronal dos neurónios secretores de GnRH por mutação dos genes KAL1, FGF8, FGFR1, NELF, PROK2, PROKR2 ou CHD7 (Síndrome CHARGE).	(6,11,22,23)
Hipogonadismo Hipogonadotrófico Congénito (HHC)	Deficiência isolada de GnRH por mutação monogénica dos genes GNRH1, GNRHR, KISS1, KISS1R, SNRPN, LEP, LEPR, TAC3, TAC3R, PCSK1 e perda de função do gene 15q11-q13 paterno ou dissomia uniparental materna (Síndrome de Prader-Willi).	(6,11,22,23)
Deficiência de múltiplas hormonas hipofisárias	Hipopituitarismo por mutações de genes envolvidos no desenvolvimento hipofisário: HESX1 (Displasia Septo-óptica), PROP1, OTX2, LHX3, LHX4, DAX1 e PHF6 (Síndrome de Borjeson-Lehmann).	(6,11,23)
Atraso constitucional do crescimento e puberdade	Atualmente diagnóstico de exclusão. Associação com variantes raras em 283 genes relacionados com o metabolismo e o desencadear da puberdade. Possível associação com mutação homozigótica que condiciona perda parcial de função do gene GNRHR.	(14,114)
Puberdade precoce central (PPC) de etiologia genética	Mutações dos genes MKRN3, LIN28B, KISS1, KISS1R e TAC3.	(7,9)

Foram excluídas cromossomopatias, alterações primárias das gónadas e glândula supra-renal por ultrapassarem o âmbito desta monografia.

DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O processo complexo do desencadear da puberdade está gradualmente a ser elucidado. Ao longo das últimas décadas foram realizadas inúmeras descobertas no que concerne aos mecanismos moleculares e endócrinos responsáveis pelo início da puberdade; um fenómeno cuja relevância é evidenciada pela diversidade de transformações que ocorrem durante esta etapa do desenvolvimento e o impacto que alterações substanciais no momento do seu início podem ter em diversas causas de mortalidade e morbidade na vida adulta.

A regulação da secreção de GnRH, responsável pelo desencadear da puberdade, ainda não se encontra totalmente compreendida. Atualmente defende-se que a ativação do pulso secretor de GnRH é determinada por alterações na sinalização mediada por neurónios kisspeptinérgicos, secretores de glutamato, GABA, péptidos da família RF-amida e opióides e pela sinalização por células da glia.

Redes de regulação genética (que coordenam os substratos neuronais e gliais já conhecidos) e mecanismos epigenéticos (que permitem a integração de sinais ambientais e a adaptação ao ambiente por alteração da expressão genética) começam a ser desvendados.

A importância de alterações do estado metabólico e das reservas energéticas é consensual, substanciada pela caracterização dos efeitos de diversas hormonas metabólicas na função reprodutiva. Contudo, o estudo das vias neuroendócrinas que permitem a integração de estímulos metabólicos encontra-se nos primórdios, baseado sobretudo em estudos em modelos experimentais.

Descobertas recentes e fascinantes, como a identificação de novos neuropeptídeos e mecanismos moleculares envolvidos no controle do desencadear da puberdade (norepinefrina, galanina, serotonina, entre outros), permitem prever que este tema continuará a constituir uma área de pesquisa nos próximos anos com o intuito de esclarecer uma das etapas de desenvolvimento mais intrigantes e complexas na vida do ser humano.

Todavia, muitas questões continuam em aberto: (i) a importância do feedback negativo de hormonas esteróides sexuais; (ii) a interação entre as diferentes vias trans-sinápticas e gliais; (iii) o papel da kisspeptina periférica; (iv) a resposta de neurónios secretores de GnRH ao neurotransmissor GABA, predominantemente estimuladora, mas também inibitória; (v) o dimorfismo sexual do desencadear da puberdade, entre outras.

Uma compreensão integral das interações metabolismo-puberdade não é relevante apenas do ponto de vista fisiológico, mas também crítica para decifrar a base fisiopatológica de patologias como a obesidade, os distúrbios pubertários e a infertilidade. Face à epidemia crescente de obesidade, é fundamental compreender o impacto das reservas energéticas no momento do desencadear da puberdade, nomeadamente as consequências endócrinas da obesidade em crianças e adolescentes possibilitando uma melhor abordagem preventiva e terapêutica.

É pertinente compreender as causas e antever as consequências da tendência de puberdade mais precoce observada nas últimas décadas no mundo ocidental.

O estudo da fisiologia normal da puberdade é uma área com grande potencial de pesquisa clínica e biomédica integrada em benefício da prática clínica possibilitando a criação de estratégias diagnósticas e terapêuticas para distúrbios pubertários, infertilidade, contraceção e até tratamento de neoplasias através da *downregulation* de esteróides sexuais em tumores dependentes destas hormonas.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Dra. Maria Margarida Santos Antunes Catarino Bastos Ferreira pela orientação.

Agradeço ao Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, pela oportunidade de realizar este trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. De Silva NK, Tschirhart J. Puberty - Defining Normal and Understanding Abnormal. *Curr Treat Options Pediatr.* 2016;2(3):121–30.
2. Abreu AP, Kaiser UB. Pubertal development and regulation. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016;4(3):254–64.
3. Livadas S, Chrousos GP. Control of the onset of puberty. *Curr Opin Pediatr.* 2016;28(4):551–8.
4. Patton GC, Sawyer SM, Santelli JS, Ross DA, Afifi R, Allen NB, et al. Our future: a Lancet commission on adolescent health and wellbeing. Vol. 387, *Lancet* (London, England). 2016. p. 2423–78.
5. Choi J, Yoo H. Control of puberty: genetics, endocrinology, and environment. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2013;20(1):62–8.
6. Sperling MA, editor. *Pediatric Endocrinology.* 4th ed. Philadelphia: Elsevier; 2014. p.600-95.
7. Shin YL. An update on the genetic causes of central precocious puberty. *Ann Pediatr Endocrinol Metab.* 2016;21(2):66–9.
8. Dunkel L, Quinton R. Transition in endocrinology: Induction of puberty. *Eur J Endocrinol.* 2014;170(6):229–39.
9. Latronico AC, Brito VN, Carel J-C. Puberty 2 Causes, diagnosis, and treatment of central precocious puberty. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2016;4(3):265–74.
10. Tena-Sempere M. Keeping puberty on time. Novel signals and mechanisms involved. *Curr Top Dev Biol.* 2013;105:299–329.
11. Wei C, Crowne EC. Recent advances in the understanding and management of delayed puberty. *Arch Dis Child.* 2016;101:481–8.
12. Tinggaard J, Mieritz MG, Sørensen K, Mouritsen A, Hagen CP, Aksglaede L, et al. The physiology and timing of male puberty. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2012;19(3):197–203.
13. Abreu AP, Macedo DB, Brito VN, Kaiser UB, Latronico AC. A new pathway in the control of the initiation of puberty: the MKRN3 gene. *J Mol endocrinol.* 2015;54(3):131–9.
14. Gajdos ZK, Henderson KD, Hirschhorn JN, Palmert MR. Genetic determinants of pubertal timing in the general population. *Mol Cell Endocrinol.* 2010;324(1–2):21–9.
15. Grumbach MM. The neuroendocrinology of human puberty revisited. *Horm Res.* 2002;57(suppl. 2):2–14.
16. Navarro VM, Tena-Sempere M. Neuroendocrine control by kisspeptins: Role in metabolic regulation of fertility. *Nat Rev Endocrinol.* 2012;8(1):40–53.
17. Herbison AE. Control of puberty onset and fertility by gonadotropin-releasing hormone neurons. *Nat Rev Endocrinol.* 2016;12(8):452–66.
18. Plant TM, Zeleznik AJ, editors. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction.* 4th ed. Pittsburgh: Elsevier; 2015. p.412–1520.
19. Grachev P, Millar RP, O'Byrne KT. The role of neurokinin B signalling in reproductive neuroendocrinology. *Neuroendocrinology.* 2014;99(1):7–17.
20. Pinilla L, Aguilar E, Dieguez C, Millar RP, Tena-Sempere M. Kisspeptins and Reproduction: Physiological Roles and Regulatory Mechanisms. *Physiol Rev.* 2012;92(3):1235–316.

21. Uenotama Y, Feng V, Tsukamura H, Maeda K. The roles of kisspeptin revisited: inside and outside the hypothalamus. *J Reprod Dev.* 2016;62(6):537–45.
22. Melmed S, Polonsky KS, Larsen PR, Kronenberg HM, editors. *Williams textbook of endocrinology.* 13th ed. Philadelphia: Elsevier; 2016. p.1074–1218.
23. Saraiva J, Gomes L, Carvalheiro M. Causas genéticas de hipopituitarismo. *Rev Port Endocrinol Diabetes e Metab.* 2012;7:58–67.
24. Dagklis T, Ravanos K, Makedou K, Kourtis A, Rousso D. Common features and differences of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in male and female. *Gynecol Endocrinol.* 2015;31(1):14–7.
25. Kuirri-Hänninen T, Sankilampi U, Dunkel L. Activation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in infancy: Minipuberty. *Horm Res Paediatr.* 2014;82:73–80.
26. Uenoyama Y, Tsukamura H, Maeda K. KNDy neuron as a gatekeeper of puberty onset. *J Obstet Gynaecol Res.* 2014;40(6):1518–26.
27. Manfredi-Lozano M, Roa J, Tena-Sempere M. Connecting metabolism and gonadal function: Novel central neuropeptide pathways involved in the metabolic control of puberty and fertility. *Front Neuroendocrinol.* 2017 (in press).
28. Barb CR, Hausman GJ, Kraeling RR. Luteinizing hormone secretion as influenced by age and estradiol in the prepubertal gilt. *Anim Reprod Sci.* 2010;122(3–4):324–7.
29. Wolfe A, Divall S, Wu S. The regulation of reproductive neuroendocrine function by insulin and insulin-like growth factor-1 (IGF-1). *Front Neuroendocrinol.* 2014;35(4):558–72.
30. Lomniczi A, Wright H, Ojeda SR. Epigenetic regulation of female puberty. *Front Neuroendocrinol.* 2015;36:90–107.
31. Ojeda SR, Lomniczi A, Sandau U, Matagne V. New concepts on the control of the onset of puberty. *Endocr Dev.* 2010;17:44–51.
32. Tng EL. Kisspeptin signalling and its roles in humans. *Singapore Med J.* 2015;56(12):649–56.
33. Yun S, Kim DK, Furlong M, Hwang JI, Vaudry H, Seong JY. Does kisspeptin belong to the proposed RF-amide peptide family? *Front Endocrinol.* 2014;5(134):22–6.
34. Skorupskaite K, George JT, Anderson RA. The kisspeptin-GnRH pathway in human reproductive health and disease. *Hum Reprod Update.* 2014;20(4):485–500.
35. León S, Barroso A, Vázquez MJ, García-Galiano D, Manfredi-Lozano M, Ruiz-Pino F, et al. Direct Actions of Kisspeptins on GnRH Neurons Permit Attainment of Fertility but are Insufficient to Fully Preserve Gonadotropic Axis Activity. *Sci Rep.* 2016;6:19206.
36. Macedo DB, Silveira LFG, Bessa DS, Brito VN, Latronico AC. Sexual precocity - Genetic bases of central precocious puberty and autonomous gonadal activation. *Endocr Dev.* 2016;29:50–71.
37. Bulcao Macedo D, Nahime Brito V, Latronico AC. New causes of central precocious puberty: the role of genetic factors. *Neuroendocrinology.* 2014;100(1):1–8.
38. Hrabovszky E, Ciofi P, Vida B, Horvath MC, Keller E, Caraty A, et al. The kisspeptin system of the human hypothalamus: Sexual dimorphism and relationship with gonadotropin-releasing hormone and neurokinin B neurons. *Eur J Neurosci.* 2010;31(11):1984–98.
39. Zeeshan Javed, Unaiza Qamar TS. The role of kisspeptin signalling in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis - current perspective. *Endokrynol Pol.* 2015;66(6):534–47.
40. Hrabovszky E. Neuroanatomy of the human hypothalamic kisspeptin system. *Neuroendocrinology.* 2014;99(1):33–48.

41. Oakley AE, Clifton DK, Steiner RA. Kisspeptin signaling in the brain. *Endocr Rev.* 2009;30(6):713–43.
42. De Bond JAP, Smith JT. Kisspeptin and energy balance in reproduction. *Reproduction.* 2014;147(3):57–63.
43. Tena-Sempere M. Deciphering puberty: Novel partners, novel mechanisms. *Eur J Endocrinol.* 2012;167(6):733–47.
44. Babiker A, Al Shaikh A. Current Highlights The role of kisspeptin signalling in control of reproduction in genetically similar species. *Sudan J Paediatr.* 2016;16(1):9–16.
45. Beccuti G, Ghizzoni L. Normal and Abnormal Puberty. [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com. [cited 2018 Oct 1]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279>
46. Roa J, Tena-Sempere M. Energy balance and puberty onset: Emerging role of central mTOR signaling. *Trends Endocrinol Metab.* 2010;21(9):519–28.
47. Agarwal A, Kumanov P, editors. *Puberty: Physiology and Abnormalities.* Switzerland: Springer Nature; 2016. p.1–20.
48. Castellano J, Navarro V, Fernández-Fernández R, Castaño J, Malagón M, Aguilar E. Ontogeny and mechanisms of action for the stimulatory effect of kisspeptin on gonadotropin-releasing hormone system of the rat. *Mol Cell Endocrinol.* 2006;258:75–83.
49. Hussain MA, Song W, Endocrinology P. There is Kisspeptin - and then there is Kisspeptin. *Trends Endocrinol Metab.* 2016;26(10):564–72.
50. García-galiano D, Schenau DVI, Leon S, Krajnc-franken MAM, Manfredi-lozano M, Romero-ruiz A, et al. Kisspeptin Signaling Is Indispensable for Neurokinin Secretion in Mice. *Endocrinology.* 2012;153(1):316–28.
51. Navarro VM, Castellano JM, Mcconkey SM, Pineda R, Ruiz-pino F, Pinilla L, et al. Interactions between kisspeptin and neurokinin B in the control of GnRH secretion in the female rat. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011;7290:202–10.
52. Topaloglu AK, Reimann F, Guclu M, Yalin AS, Kotan LD, Porter KM, et al. TAC3 and TACR3 mutations in familial hypogonadotropic hypogonadism reveal a key role for Neurokinin B in the central control of reproduction. *Nat Genet.* 2009;41(3):354–8.
53. Boehm U, Bouloux P-M, Dattani MT, Roux N, Dodé C, Dunkel L, et al. European Consensus Statement on congenital hypogonadotropic hypogonadism—pathogenesis, diagnosis and treatment. *Nat Rev Endocrinol.* 2015;11(9):547–654.
54. Decourt C, Robert V, Anger K, Galibert M, Madinier J, Liu X, et al. A synthetic kisspeptin analog that triggers ovulation and advances puberty. *Sci Rep.* 2016;6:26908.
55. Onaga T. Tachykinin: Recent developments and novel roles in health and disease. *Biomol Concepts.* 2014;5(3):225–43.
56. Oishi S, Fujii N. Neuropeptide Derivatives to Regulate the Reproductive Axis: Kisspeptin Receptor (KISS1R) Ligands and Neurokinin-3 Receptor (NK3R) Ligands. *Biopolymers.* 2016;106(4):588–97.
57. Claypool L, Kasuya E, Saitoh Y, Marzban F, Regional W. N-Methyl D, L-Aspartate Induces the Release of Luteinizing Hormone-Releasing Hormone in the Prepubertal and Pubertal Female Rhesus Monkey as Measured by in Vivo Push-Pull Perfusion in the Stalk- Median Eminence. *Endocrinology.* 2000;141(1):219–28.

58. Iremonger KJ, Constantin S, Liu X, Herbison AE. Glutamate regulation of GnRH neuron excitability. *Brain Res.* 2010;1364:35–43.
59. Terasawa E, Fernandez DL. Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates. *Endocr Rev.* 2001;22(1):111–51.
60. Aronica E, Iyer A, Zurolo E, Gorter JA. Ontogenetic modifications of neuronal excitability during brain maturation: Developmental changes of neurotransmitter receptors. *Epilepsia.* 2011;52(SUPPL. 8):3–5.
61. Clasadonte J, Poulain P, Hanchate NK, Corfas G, Ojeda SR, Prevot V. Prostaglandin E2 release from astrocytes triggers gonadotropin-releasing hormone (GnRH) neuron firing via EP2 receptor activation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2011;108(38):16104–9.
62. Garcia-Segura LM, Lorenz B, DonCarlos LL. The role of glia in the hypothalamus: Implications for gonadal steroid feedback and reproductive neuroendocrine output. *Reproduction.* 2008;135(4):419–29.
63. Prevot V, Hanchate NK, Bellefontaine N, Sharif A, Parkash J. Frontiers in Neuroendocrinology Function-related structural plasticity of the GnRH system A role for neuronal-glia- endothelial interactions. *Front Neuroendocrinol.* 2010;31(3):241–58.
64. W. L. Dees, J. K. Hiney and VKS. Alcohol Alters Hypothalamic Glial-Neuronal Communications Involved in the Neuroendocrine Control of Puberty: In Vivo and In Vitro Assessments. *Lancet Psychiatry.* 2015;4(7):631–7.
65. Srivastava VK, Hiney JK, Les Dees W. Hypothalamic glial-to-neuronal signaling during puberty: Influence of alcohol. *Int J Environ Res Public Health.* 2011;8(7):2876–94.
66. Ojeda SR, Lomniczi A, Loche A, Matagne V, Kaidar G, Sandau US, et al. The Transcriptional Control of Female Puberty. *Brain Res.* 2010;1364:164–74.
67. Ojeda SR, Dubay C, Lomniczi A, Kaidar G, Matagne V, Sandau US, et al. Gene Networks and the Neuroendocrine Regulation of Puberty. *Mol Cell Endocrinol.* 2010;324(1–2):3–11.
68. Clasadonte J, Prevot V. The special relationship: glia-neuron interactions in the neuroendocrine hypothalamus. *Nat Rev Endocrinol.* 2018;14(1):25–44.
69. Lomniczia A, Wrighta H, Castellano JM, Sonmez K, Ojeda SR. A System Biology Approach to Identify Regulatory Pathways Underlying the Neuroendocrine Control of Female Puberty in Rats and Nonhuman Primates Alejandro. *Horm Behav.* 2013;64(2):175–86.
70. Han S, Todman MG, Herbison AE, Cb C. Endogenous GABA Release Inhibits the Firing of Adult Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons. *Endocrinology.* 2015;145(2):495–9.
71. Watanabe M, Fukuda A, Nabekura J. The role of GABA in the regulation of GnRH neurons. *Front Neurosci.* 2014;8(387).
72. Herbison AE, Moenter SM. Depolarising and hyperpolarising actions of GABAA receptor activation on GnRH neurons: towards an emerging consensus. *J Neuro.* 2011;23(7):557–69.
73. Camille Melón L, Maguire J. GABAergic regulation of the HPA and HPG axes and the impact of stress on reproductive function. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2016;160:196–203.
74. Lomniczi A, Loche A, Castellano JM, Ronnekleiv OK, Bosch M, Kaidar G, et al. Epigenetic control of female puberty. *Nat Neurosci.* 2013;16(3):281–9.
75. Kriegsfeld LJ, Gibson EM, Williams WP, Zhao S, Mason AO, Bentley GE, et al. The Roles of RFamide-related peptide-3 in mammalian reproductive function and behaviour. *J Neuroendocrinol.* 2010;22(7):692–700.

76. Lima CJG, Cardoso SC, Lemos EFL, Zingler E, Capanema C, Menezes LD, et al. Mutational Analysis of the Genes Encoding RFamide-Related Peptide-3, the Human Orthologue of Gonadotrophin-Inhibitory Hormone, and its Receptor (GPR147) in Patients with Gonadotrophin-Releasing Hormone-Dependent Pubertal Disorders. *J Neuroendocrinol.* 2014;26(11):817–24.
77. Poling MC, Kauffman AS. Regulation and function of RFRP-3 (GnIH) neurons during postnatal development. *Front Endocrinol.* 2015;6(150).
78. Böttcher B, Seeber B, Leyendecker G, Wildt L. Impact of the opioid system on the reproductive axis. *Fertil Steril.* 2017;108(2):207–13.
79. Vuong C, Van Uum SHM, O'Dell LE, Lutfy K, Friedman TC. The effects of opioids and opioid analogs on animal and human endocrine systems. *Endocr Rev.* 2010;31(1):98–132.
80. Ojeda SR, Lomniczi A. Unravelling the mystery of puberty. *Nat Rev Endocrinol.* 2013;10(2):67–9.
81. Rzczkowska PA, Hou H, Wilson MD, Palmert MR. Epigenetics: A new player in the regulation of mammalian puberty. *Neuroendocrinology.* 2014;99(3–4):139–55.
82. Dunkel L, Howard S. The Genetic Basis of Delayed Puberty. *Neuroendocrinol.* 2017 (in press).
83. Day FR, Thompson DJ, Helgason H, Chasman DI, Finucane H, Sulem P, et al. Genomic analyses identify hundreds of variants associated with age at menarche and support a role for puberty timing in cancer risk. *Nat Genet.* 2017;49(6):834–41.
84. Cousminer DL, Stergiakouli E, Berry DJ, Ang W, Ko A, Ring S, et al. Genome-wide association study of sexual maturation in males and females highlights a role for body mass and menarche loci in male puberty. 2014;23(16):4452–64.
85. Day FR, Perry JRB, Ong KK. Genetic Regulation of Puberty Timing in Humans. *Neuroendocrinology.* 2015;102(4):247–55.
86. Bonomi M, Libri DV, Guizzardi F, Guarducci E, Maiolo E, Pignatti E, et al. New understandings of the genetic basis of isolated idiopathic central hypogonadism. *Asian J Androl.* 2012;14(1):49–56.
87. Dwyer AA, Raivio T, Pitteloud N. Management of endocrine disease: Reversible hypogonadotropic hypogonadism. *Eur J Endocrinol.* 2016;174(6):267–74.
88. Xin X, Zhang J, Chang Y, Wu Y. Association study of TAC3 and TACR3 gene polymorphisms with idiopathic precocious puberty in Chinese girls. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2015;28(1–2):65–71.
89. Bessa DS, Macedo DB, Brito VN, França MM, Montenegro LR, Cunha-Silva M, et al. High Frequency of MKRN3 Mutations in Male Central Precocious Puberty Previously Classified as Idiopathic. *Neuroendocrinology.* 2017;105(1):17–25.
90. Sadaf Farooqi I, O'Rahilly S. Human disorders of leptin action. *J Endocrinol.* 2014;223(1):63–70.
91. Chen Y-C, Chen L-M, Lin H-H, Chen B-H, Chao M-C, Hsiao H-P. Association study of LIN28B in girls with precocious puberty. *J Pediatr Endocrinol Metab.* 2017 Jan 24;30(6):663–7.
92. Leka-Emiri S, Chrousos GP, Kanaka-Gantenbein C. The mystery of puberty initiation: genetics and epigenetics of idiopathic central precocious puberty (ICPP). *J Endocrinol Invest.* Springer International Publishing; 2017;40(8):789–802.
93. Lomniczi A, Ojeda SR. The Emerging Role of Epigenetics in the Regulation of Female Puberty. *Endocr Dev.* 2016;29:1–16.

94. Semaan SJ, Kauffman AS. Emerging concepts on the epigenetic and transcriptional regulation of the *Kiss1* gene. *Int J Dev Neurosci*. 2013;31(6):452–62.
95. Roth CL, DiVall S. Consequences of early life programming by genetic and environmental influences: A synthesis regarding pubertal timing. *Endocr Dev*. 2016;29:134–52.
96. Png Tree Vectors, Photos and PSD files [Internet]. 2017 [cited 2017 Jan 17]. Available from: <https://pt.pngtree.com>
97. McCarthy MM. A piece in the puzzle of puberty. *Nat Neurosci*. 2013;16(3):251–3.
98. Uenoyama Y, Tomikawa J, Inoue N, Goto T, Minabe S, Ieda N, et al. Molecular and Epigenetic Mechanism Regulating Hypothalamic *Kiss1* Gene Expression in Mammals. *Neuroendocrinology*. 2016;103(6):640–9.
99. Lomniczi A, Wright H, Castellano JM, Matagne V, Toro CA, Ramaswamy S, et al. Epigenetic regulation of puberty via Zinc finger protein-mediated transcriptional repression. *Nat Commun*. 2015;6:10195.
100. Day FR, Bulik-Sullivan B, Hinds DA, Finucane HK, Murabito JM, Tung JY, et al. Shared genetic aetiology of puberty timing between sexes and with health-related outcomes. *Nat Commun*. Nature Publishing Group; 2015;6:8842.
101. Cousminer DL, Widén E, Palmert MR. The genetics of pubertal timing in the general population: recent advances and evidence for sex-specificity. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes*. 2016;23(1):57–65.
102. McCarthy MM, Nugent BM, Lenz KM. Neuroimmunology and neuroepigenetics in the establishment of sex differences in the brain. *Nat Rev Neurosci*. 2017;18(8):471–84.
103. Castellano JM, Bentsen AH, Mikkelsen JD, Tena-Sempere M. Kisspeptins: Bridging energy homeostasis and reproduction. *Brain Res*. 2010;1364:129–38.
104. Castellano JM, Tena-Sempere M. Metabolic control of female puberty: potential therapeutic targets. *Expert Opin Ther Targets*. 2016;20(10):1181–93.
105. Willemsen RH, Dunger DB. Normal variation in pubertal timing: Genetic determinants in relation to growth and adiposity. *Endocr Dev*. 2016;29:17–35.
106. Elizondo-Montemayor L, Hernández-Escobar C, Lara-Torre E, Nieblas B, Gómez-Carmona M. Gynecologic and Obstetric Consequences of Obesity in Adolescent Girls. *J Pediatr Adolesc Gynecol*. 2017;30(2):156–68.
107. Elias CF, Purohit D. Leptin signaling and circuits in puberty and fertility. *Cell Mol Life Sci*. 2013;70(5):841–62.
108. Chou SH, Chamberland JP, Liu X, Matarese G, Gao C, Stefanakis R, et al. Leptin is an effective treatment for hypothalamic amenorrhea. *Proc Natl Acad Sci*. 2011;108(16):6585–90.
109. Chehab FF. Leptin and Reproduction: Past Milestones, Present Undertakings and Future Endeavors. *J Endocrinol*. 2014;223(1):37–48.
110. Roa J, Tena-Sempere M. Connecting metabolism and reproduction: Roles of central energy sensors and key molecular mediators. *Mol Cell Endocrinol*. 2014;397(1–2):4–14.
111. Celik O, Aydin S, Celik N, Yilmaz M. Peptides: Basic determinants of reproductive functions. *Peptides*. 2015;72:34–43.
112. Chachlaki K, Garthwaite J, Prevot V. The gentle art of saying NO: how nitric oxide gets things done in the hypothalamus. *Nat Rev Endocrinol*. 2017;13(9):521–35.

113. Louis GW, Greenwald-Yarnell M, Phillips R, Coolen LM, Lehman MN, Myers MG. Molecular mapping of the neural pathways linking leptin to the neuroendocrine reproductive axis. *Endocrinology*. 2011;152(6):2302–10.
114. Howard SR, Guasti L, Poliandri A, David A, Cabrera CP, Barnes MR, et al. Contributions of function-altering variants in genes implicated in pubertal timing and body mass for self-limited delayed puberty. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017 (in press).

ANEXO 1 - EQUAÇÕES DE PESQUISA

"Puberty"[Mesh] AND ("Puberty/genetics"[Mesh] OR "Puberty/metabolism"[Mesh] OR "Puberty/physiology"[Mesh]) AND (Review[ptyp] AND hasabstract[text] AND ("2010/01/01"[PDAT]: "2017/11/01"[PDAT])) AND "humans"[MeSH Terms] AND (English[lang] OR Portuguese[lang]) AND ("female"[MeSH Terms] OR "male"[MeSH Terms]))

('puberty'/exp OR 'puberty') AND ('physiology'/exp OR 'physiology' OR 'genetics'/exp OR 'genetics' OR 'metabolism'/exp OR 'metabolism') AND [review]/lim AND ([english]/lim OR [portuguese]/lim) AND ([male]/lim OR [female]/lim) AND [humans]/lim AND [abstracts]/lim AND [embase]/lim AND [2010-2017]/py