



Universidad Autónoma De Tlaxcala

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Posgrado en Ciencias Biológicas

**Efecto del consumo agua azucarada al 5% durante las etapas las etapas
materna y post-natal sobre el testículo y el tejido adiposo perigonadal de
crías de ratas (*Rattus norvegicus*) en edad adulta**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Gabriela Córdoba Sosa

Codirectores

Dr. Jorge Rodríguez Antolín
Dra. Margarita Cervantes Rodríguez

Tlaxcala, Tlax.

Junio, 2022



Universidad Autónoma De Tlaxcala

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta
Posgrado en Ciencias Biológicas

**Efecto del consumo agua azucarada al 5% durante las etapas las etapas
materna y post-natal sobre el testículo y el tejido adiposo perigonadal de
crías de ratas (*Rattus norvegicus*) en edad adulta**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Gabriela Córdoba Sosa

Comité Tutorial

Dr. Jorge Rodríguez Antolín
Dra. Margarita Cervantes Rodríguez
Dra. Estela Cuevas Romero
Dra. Nicté Xelhuantzi Arreguin

Tlaxcala, Tlax.

Junio, 2022

Esta investigación se realizó bajo la codirección de los Drs. Jorge Rodríguez Antolín y Dra. Margarita Cervantes Rodríguez en las instalaciones del Laboratorio de Nutrición y Metabolismo del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, Unidad Periférica del Instituto de Ciencias Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Este proyecto está registrado en el Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, perteneciente al Programa para el Fortalecimiento del Sistema Nacional del Posgrado. Y recibió financiamiento por beca CONACyT (GCS 297919).



**COORDINACIÓN DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
P R E S E N T E**

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que Gabriela Córdoba Sosa realiza para la obtención del grado de Doctora en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es **“Efecto del consumo de agua azucarada al 5% durante las etapas materna y post-natal sobre el testículo y el tejido adiposo perigonadal de crías de ratas (*Rattus norvegicus*) en edad adulta”**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
TLAXCALA, TLAX., JUNIO 03 DE 2022

DRA. ESTELA CUEVAS ROMERO

DRA. LETICIA NICOLÁS TOLEDO

DR. FRANCISCO CASTELÁN

DRA. DORA LUZ CORONA QUINTANILLA

DR. RENÉ ZEMOPALTECA RAMÍREZ



Agradecimientos

Al posgrado en Ciencias Biológicas del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta (CTBC) de la Universidad Autónoma de Tlaxcala por creer en mis capacidades y habilidades al aceptarme como estudiante del programa del Doctorado en Ciencias Biológicas, haciéndome sentir parte de la familia que conforma esta institución y brindarme todo el apoyo requerido para la realización de esta investigación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo brindado a través de la beca 297919 durante el período agosto 2017-julio 2021.

Al apoyo brindado por el Cuerpo Académico de Fisiología del Comportamiento mediante infraestructura para la realización de los experimentos de esta tesis.

Al laboratorio de Metabolismo y Nutrición del CTBC por abrirme sus puertas y brindarme apoyo con el equipo, instalaciones y animales necesarios para la realización de esta investigación.

Al Dr. Jorge Rodríguez Antolín, quien fungió como director y tutor de esta tesis y colaboró activa e indispensablemente en la publicación de este trabajo. Así como a la Dra. Margarita Cervantes Rodríguez, que en conjunto con el Dr. Rodríguez Antolín co-dirigió y asesoró esta investigación. De la misma forma agradezco el apoyo y asesoramiento brindados por la dra. Estela Cuevas Romero y la dra. Nicté Xelhuantzi Arreguin como tutoras del presente trabajo y por su conocimiento brindado para la publicación de esta tesis. También quiero aprovechar para agradecerles por sus enseñanzas y consejos brindados en cada evaluación y duda presentada, ya que sin ustedes no habría logrado concluir exitosamente este proyecto.

A la planta docente, administrativa y de apoyo del posgrado en Ciencias Biológicas del CTBC, ya que sin ellos no habría podido lograr la realización de esta investigación.

Agradecimientos a título personal

Agradezco de forma muy especial e importante, con gran cariño, admiración y respeto al Dr. Jorge Rodríguez Antolín por darme la oportunidad de ser su alumna de doctorado, formar parte de su equipo de trabajo y permitirme aprender de su ejemplo en las enseñanzas tanto de la vida como de la investigación científica. Por su apoyo, participación y colaboración para la escritura y publicación de este trabajo. De verdad, muchísimas gracias, en lo personal, por todo su apoyo y comprensión brindados Dr. Antolín.

Con mucho cariño y de manera muy especial, también agradezco a las doctoras Margarita Cervantes Rodríguez, Estela Cuevas Romero y Nicté Xelhuantzi Arreguín, que además de conformar mi comité tutorial, me apoyaron en mi desarrollo personal con estudiante de posgrado y como futura investigadora. Gracias por su apoyo en cada situación que solicité pues nunca hubo una negativa de su parte y siempre tuve la fortuna de llevarme de cada una un aprendizaje en cada ocasión que coincidimos o platicamos.

De manera muy especial, particularmente agradezco a:

Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de esta investigación, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad, por darme la sabiduría y paciencia necesarias para culminar con esta tesis, por darme la bendición de poner en mi camino a las personas correctas para alcanzar esta meta y por brindarme una vida llena de aprendizajes, experiencias y sobre todo felicidad.

Mis padres, Teodora Sosa Rodríguez que me ha criado, enseñado y educado toda mi vida con el más hermoso, empático, trabajador y amoroso ejemplo de madre y ser humano que he podido tener. Y Jacobo A. Córdoba Ramos por apoyarme en todo momento y recordarme culminar con éxito esta hermosa etapa profesional. A ambos, por los valores que me han inculcado, los aprendizajes que me han brindado y por el inigualable ejemplo de ser humano que siempre me ha dado cada uno. Por la fortaleza que me dan para superarme día a día en lo académico y lo personal. Aún más les agradezco por cuidar de mi Santi para que yo pudiera asistir a cada una de las actividades del posgrado y darme la tranquilidad de cuidado de mi hijo para poder seguir avanzando en mi desarrollo profesional.

A mi hijo, a mi más grande tesoro, a mi Santiago Pérez Córdoba, que se convirtió en el motivo más fuerte para seguir avanzando con más ímpetu en mi desarrollo profesional como investigadora. Porque en esas noches-madrugadas de desvelo y redacción, tu amor y apego se han convertido en el motivo más fuerte y hermoso para escribir esta tesis, el paper y lo que siga. Porque tú eres mi gran maestro de la vida, quién me ha permitido ver, sentir y aprender de situaciones, emociones y cosas que nunca hubiera imaginado, y que sin ellas no habría culminado con éxito esta investigación y su respectiva publicación. Eres la luz de mi vida y la guía más maravillosa también en este, mi camino profesional.

A mi esposo Gilberto Pérez Olvera, por compartir y ejercer tu paternidad en los momentos más necesarios para poder concentrarme totalmente en escribir tanto la presente tesis como su respectiva publicación, y por sus palabras de aliento y ánimo que en los momentos de secreción de cortisol me ayudaron a sobrepasar las dificultades y fueron un motivo importante para culminar con éxito la escritura de la presente tesis y del paper.

A mi hermana Fidelia Córdoba Sosa, por su apoyo moral, emocional y personal en todo momento necesario, quien con sus palabras de aliento y ánimos siempre me ha motivado para no rendirme y alcanzar cada una de mis metas, por siempre ayudarme a salir adelante aún más en los momentos de mayor dificultad. Por su apoyo en el cuidado de mi hijo, que me dieron la tranquilidad necesaria para terminar la tesis y el paper.

A mis suegros, que me han apoyado con el cuidado de mi hijo en los momentos más relevantes para permitirme realizar actividades del posgrado y la redacción del artículo y la presente tesis.

A mis compañeros de laboratorio, principalmente a Verónica Velázquez Orozco y Saret Dávila Santacruz, que con su apoyo y paciencia me brindaron las herramientas de aprendizaje más valiosas para el desarrollo de esta tesis, y con la disposición de su valioso tiempo y conocimiento me ayudaron a encaminarme en este proyecto.

A la Dra. Miriam Ahuactzin Pérez por aceptarme inicialmente en este trabajo de posgrado y encaminarme a la culminación de este proyecto, por su apoyo y conocimientos brindados al inicio de este camino a la investigación.

A la Mtra. Georgina Pérez Montiel y su apreciable familia que me abrieron inicialmente las puertas de su laboratorio, su casa y su corazón para el despegue y desarrollo de mi doctorado, por todo su apoyo y cariño durante mi embarazo para poder continuar con la menor cantidad de dificultades posibles este camino de doctorante.

A mis amigas Rosabel Juárez Barradas y Maribel Méndez Tepepa que me han apoyado profesional e incondicionalmente mediante las pláticas, risas y palabras de aliento brindadas durante los 4 años de doctorado. Por su invaluable y enorme cariño, gracias.

A mi tribu de crianza, Thalía, Asselin y Heriberto, Analí, Lolita y Astrid, cuyo apoyo y compañerismo como madres y amigas me han ayudado a seguir y culminar este proyecto profesional y de vida. A Mari Soto, que cuidó y jugó con mi hijo durante los meses más difíciles al inicio de este proyecto A La Crayola (Miss Clau, Miss Andi y Miss Estefi), que se convirtió en mi hombro en el cual poder apoyarme para el cuidado de lo más valioso en mi vida, con la confianza y tranquilidad de que mi hijo estaba en manos seguras y cariñosas, gracias porque esta fue la ayuda necesaria para culminar este proyecto de vida.

A Leonel y Ariana por permitirme complementar su inicial trabajo y darme la oportunidad de convertirlo en una investigación palpable y de conocimiento compartido.

A todos ustedes mi mayor reconocimiento y gratitud.

Resumen

El desarrollo de afecciones relacionadas con el tracto reproductor masculino se ha asociado con la alta prevalencia de enfermedades metabólicas. Se han descrito diferentes hipótesis sobre su origen, entre las que destaca la fuerte influencia directa por la dieta, en especial por el consumo de carbohidratos. El consumo de dietas altas en azúcares durante una etapa específica de la vida estimula el desarrollo del tejido adiposo y, a su vez, condiciona al organismo a padecer trastornos metabólicos que desencadenen daños en el tracto reproductor masculino. Sin embargo, se desconoce el efecto en la edad adulta que el consumo de azúcares, a lo largo de diferentes etapas del desarrollo, puede provocar en órganos como el tejido adiposo perigonadal (TAP) y el testículo.

Es por ello que en el presente estudio evaluamos el efecto del consumo de sacarosa al 5% durante las etapas materna y post-natales sobre el testículo y el TAP en edad adulta. Se formaron dos grupos (n=6 por grupo) de madres gestantes: el control (C), al que se le proporcionó agua simple y el que consumió sacarosa al 5% (S). Posterior al destete, se formaron cuatro subgrupos con las crías macho: 1) Madre Control - Crío Control (CC), 2) Madre Control – Crío Sacarosa (CS), 3) Madre Sacarosa – Crío Control (SC) y 4) Madre Sacarosa – Crío Sacarosa (SS). Se determinó y cuantificó el peso corporal, consumo de alimento y agua y las medidas morfométricas tanto de las madres durante la gestación, como de las crías macho durante los días post-natales (dPN) 22-120. A través de la revisión histológica de tinciones con H&E de cortes de testículo y TAP se determinó el peso testicular y de TAP, número y área tanto de túbulos seminíferos, como de adipocitos perigonadales de los machos a los 120 dPN. Los datos fueron analizados con una de t-Student y un ANOVA de dos vías con *post hoc* de Tuckey.

Encontramos que el consumo de sacarosa al 5% incrementó el peso de las madres al final de la gestación. El consumo de este disacárido incrementó la ingesta de agua y disminuyó el consumo de alimento sólido (lípidos y proteínas). Sin embargo, el gasto energético total no se modificó en ninguno de los grupos. Al nacimiento, el consumo previo de sacarosa incrementó la longitud de las crías. El peso de los machos al término de la etapa post-natal y la ganancia de peso de los días post-natales 22-120 se incrementó principalmente por efecto del consumo de sacarosa post-natal y en menor medida por la interacción de las dietas consumidas en ambas etapas. Mostrando así, que el efecto sobre estas variables en edad adulta se incrementa con el consumo de sacarosa durante la gestación. Todas las medidas de consumo dietético se vieron afectadas únicamente por la dieta posnatal, con un comportamiento similar al de las madres en cuanto a la ingesta de agua y

alimento sólido en los grupos que consumieron sacarosa post-natalmente. Sin embargo, ninguna de las variables medidas directamente en los testículos resultaron afectadas por el consumo de sacarosa durante las dos etapas evaluadas o por la interacción entre éstas. En contraste con estos hallazgos, el peso relativo del TAP se vio afectado únicamente por la dieta post-natal. Sin embargo, el número de adipocitos contados se incrementó debido al consumo de sacarosa gestacional. También se encontraron adipocitos de mayor tamaño en los grupos CS y SC indicando posibles procesos tanto de hiperplasia como hipertrofia, que son los que conllevan el inicio del desarrollo de sobrepeso y obesidad, enfermedades que estarían teniendo su origen en la programación del desarrollo. Así mismo, el análisis cualitativo de la histología tanto del TAP como del testículo muestra un incremento en el tamaño de vasos sanguíneos, y mayor aglutinación de macrófagos en el espacio intersticial de los túbulos seminíferos, lo que está asociado a procesos inflamatorios probablemente agudos que también acompañan el desarrollo de enfermedades metabólicas.

Estos resultados sugieren que el consumo materno y post-natal de sacarosa al 5%, tiene efectos importantes en el desarrollo del TAP, que a su vez podrían afectar el desarrollo testicular, influyendo en el padecimiento de enfermedades como subfertilidad e infertilidad, entre otras.

Abstract

The development of conditions related to the male reproductive tract has been associated with the high prevalence of metabolic diseases. Different hypotheses about its origin have been described, among which the strong direct influence of diet, especially carbohydrate consumption, stands out. The consumption of diets high in sugars during a specific stage of life stimulates the development of adipose tissue and, in turn, conditions the body to suffer from metabolic disorders that trigger damage to the male reproductive tract. However, the effect in adulthood that the consumption of sugars, throughout different stages of development, can have on organs such as perigonadal adipose tissue (PAT) and the testicle is unknown.

That is why in the present study we evaluated the effect of consuming 5% sucrose during the maternal and postnatal stages on the testis and TAP in adulthood. Two groups (n=6 per group) of pregnant mothers were formed: the control (C), which was given plain water, and the one that consumed 5% sucrose (S). After weaning, four subgroups were formed with the male offspring: 1) Mother Control - Child Control (CC), 2) Mother Control - Child Sucrose (CS), 3) Mother Sucrose - Child Control (SC) and 4) Mother Sucrose – Crio Sucrose (SS). Body weight, food and water consumption, and morphometric measurements of both mothers during gestation and male pups during postnatal days (dPN) 22-120 were determined and quantified. Testicular and TAP weight, number and area of both seminiferous tubules and perigonadal adipocytes of males at 120 dPN were determined through histological review of H&E staining of testis and TAP sections. Data were analyzed with a Student's t-test and a two-way ANOVA with Tuckey's post hoc.

We found that the consumption of 5% sucrose increased the weight of the mothers at the end of gestation. The consumption of this disaccharide increased water intake and decreased consumption of solid food (lipids and proteins). However, total energy expenditure did not change in either group. At birth, previous consumption of sucrose increased pup length. The weight of the males at the end of the postnatal stage and the weight gain of postnatal days 22-120 increased mainly due to the effect of postnatal sucrose consumption and to a lesser extent due to the interaction of the diets consumed. in both stages. Thus showing that the effect on these variables in adulthood increases with the consumption of sucrose during pregnancy. All measures of dietary intake were affected only by postnatal diet, with similar behavior to mothers in terms of water and solid food intake in groups that consumed sucrose postnatally. However, none of the variables measured directly in the testes were affected by the consumption of sucrose during the two stages evaluated or by the interaction between them. In contrast to these findings, the relative

weight of TAP was only affected by postnatal diet. However, the number of adipocytes counted increased due to gestational sucrose consumption. Larger adipocytes were also found in the CS and SC groups, indicating possible processes of both hyperplasia and hypertrophy, which are those that lead to the onset of overweight and obesity, diseases that would be originating from developmental programming. Likewise, the qualitative analysis of the histology of both the TAP and the testicle shows an increase in the size of blood vessels, and greater agglutination of macrophages in the interstitial space of the seminiferous tubules, which is associated with probably acute inflammatory processes that also accompany the development of metabolic diseases.

These results suggest that maternal and postnatal consumption of 5% sucrose has important effects on the development of TAP, which in turn could affect testicular development, influencing the suffering of diseases such as subfertility and infertility, among others.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	3
1.1 Carbohidratos y patologías metabólicas	3
1.2 Consumo de carbohidratos en el embarazo	5
1.3 Consumo de carbohidratos postnatalmente.....	6
1.4 Testículo	6
1.4.1 Desarrollo embrionario y postnatal del testículo.....	15
1.4.2 Cambios epigenéticos y desarrollo testicular	24
1.4.3 Metabolismo de carbohidratos en el testículo.....	25
1.5 Tejido adiposo.....	30
1.5.1 Depósitos de grasa en el cuerpo.....	32
1.5.2 Síntesis de ácidos grasos, lipogénesis y lipólisis	39
1.5.3 Endocrinología del TA durante el desarrollo.....	50
1.6 Nutrición y crecimiento fetal	52
2. ANTECEDENTES	56
2.1 Dieta rica en carbohidratos y adipocidad	56
2.2 Dieta rica en carbohidratos y testículo	57
2.3 Tejido Adiposo Perigonadal y función testicular	59
3. JUSTIFICACIÓN	65
4. OBJETIVO GENERAL	66
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	66
5. HIPÓTESIS	67
6. METODOLOGÍA	68
6.1 Mantenimiento y cuidado de los animales.....	68
6.2 Diseño experimental.....	68
6.2.1 Grupos experimentales (madres – dieta pre/materna)	68
6.2.2 Subgrupos experimentales (crías – dieta post-natal).....	68
6.3 Protocolo de dieta	69
6.4 Análisis hematológico.....	70
6.5 Obtención de muestras sanguíneas, del testículo y el TAP	70
6.6 Técnicas y análisis histológico de testículo	71
6.7 Técnicas y análisis histológico de tejido adiposos perigonadal (TAP).....	71
6.8 análisis estadístico.....	73

7. RESULTADOS	74
7.1 Ganancia de peso, consumo de agua y alimento en madres	74
7.2 Medidas morfométricas y alimentación de las crías al nacimiento y al destete	76
7.3 Consumo de proteínas, lípidos y carbohidratos	79
7.4 Características del testículo	80
7.5 Morfometría del tejido adiposo perigonadal (TAP)	84
8. DISCUSIÓN	89
8.1 Dieta rica en carbohidratos y tejido graso	89
8.2 Dieta rica en carbohidratos y testículo	90
8.3 Tejido adiposo peridonadal y testículo	92
9. CONCLUSIÓN	94
10. PERSPECTIVAS	95
11. REFERENCIAS	96

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Carbohidratos y patologías metabólicas

La nutrición es el conjunto de procesos integrados por los cuales las células, tejidos y órganos de todo el cuerpo adquieren la energía y los nutrientes necesarios para el desarrollo estructural y fisiológico normales, lo que se logra a través del suministro dietético adecuado y la capacidad del cuerpo para transformar los sustratos y cofactores necesarios para el metabolismo (Cederholm et al. 2017). Los nutrientes son las unidades funcionales mínimas que la célula metaboliza, son provistos a través de la alimentación y están conformados por carbohidratos, lípidos (ácidos grasos esenciales), proteínas, aminoácidos, minerales, vitaminas, elementos traza, agua y oxígeno (MSSRF 2020). Por otra parte, la dieta hace referencia a todos aquellos alimentos y bebidas que el organismo consume en el transcurso de un día, por esto, es indispensable que ésta contenga los nutrientes y energía necesarios en cantidades que cubran las necesidades del organismo (WHO 2020). Sin embargo, los excesos o desequilibrios de esta ingesta dietética pueden provocar diferentes afecciones, lo que también es conocido como malnutrición (Cederholm et al. 2017; WHO 2021).

Las significativas modificaciones en la composición de la dieta humana, su cantidad y calidad, la ingesta calórica excesiva y la frecuencia en la sincronización de la ingesta de nutrientes y energía que han sido observadas en los últimos 40 años, representan factores de riesgo potenciales para el desarrollo de enfermedades metabólicas (McCrorry et al. 2016; Aragno y Mastrocola 2017), particularmente aquellas asociadas con el incremento en la ingesta de alimentos apetitosos, que contienen “azúcar” (Bray et al. 2004; Zubiría et al. 2016). Este término describe a los mono y disacáridos en los alimentos, principalmente la glucosa, fructosa y galactosa (Bray et al. 2004; Slavin y Carlson, 2014), que al unirse pueden formar sacarosa [α -Glc (1-2) β -Fru] y lactosa [β -Gal (1-4) Glc], que son disacáridos de rápida asimilación y los consumidos principalmente en las dietas actuales. Específicamente la sacarosa (conocida como “azúcar de mesa”) es añadida a una amplia variedad de alimentos manufacturados (yogurt, cereales, salsas, pasteles, bizcochos) y bebidas elaboradas (té, café, jugos y refrescos) (Thornley et al. 2012) consumidos en gran cantidad actualmente. De acuerdo con el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA por sus siglas en inglés), del año 2015 a la fecha, el consumo mundial de azúcar aumentó aproximadamente de 169 a casi 180 millones de toneladas métricas (USDA 2020). Y la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD por sus siglas en inglés),

considera que la ingesta de azúcares superior al 10 y 5 % de la ingesta total energética diaria en adultos y niños respectivamente es excesiva (OECD 2017).

Los alimentos endulzados con azúcar generan dependencia fisiológica, sin embargo, estas observaciones también reportan que eliminar el azúcar de la dieta provoca hiperactividad, problemas de conducta y trastornos mentales (Hoebel et al. 2009; Aragno y Mastrocola 2017). Los resultados epidemiológicos y en modelos experimentales han confirmado que el consumo de alimentos con azúcares añadidos está asociado a un mayor riesgo de padecer sobrepeso y obesidad (Morgen y Sørensen 2014). En México, durante los últimos 20 años, la prevalencia de obesidad casi se ha duplicado y el sobrepeso afecta a más del 40% de la población masculina (Barquera et al. 2020).

Durante las tres siguientes décadas a 1980, la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) realizó un seguimiento de la tendencia a la prevalencia de estas enfermedades asociada con el consumo de carbohidratos, observando un incremento en su prevalencia, principalmente en países de habla inglesa liderados por Estados Unidos. Durante los últimos 10 años, la investigación nutricional ha mostrado un interés centrado en la fisiología de los carbohidratos (Thornely 2012; Rodríguez-Correa et al. 2020). Es importante recalcar, que el azúcar agregado a los alimentos y bebidas añade calorías considerables sin ningún beneficio y puede reemplazar a otros alimentos ricos en nutrientes en la dieta. Por lo tanto, muchas de las observaciones clínicas y epidemiológicas que indican que la ingesta excesiva de glucosa y fructosa exacerba las complicaciones metabólicas en diferentes tejidos, posiblemente se deban al aumento de la ingesta de calorías (Aragno y Mastrocola 2017).

En modelos animales, se han descrito efectos negativos de la dieta rica en carbohidratos sobre los niveles de triglicéridos (TAG), ácidos grasos libres, e insulina (Fernández-Sada et al. 2017; Burgeiro et al. 2017; Rodríguez-Correa et al. 2020) en órganos como el páncreas (Roncal-Jimenez et al. 2011; Pennington et al. 2017) tejido adiposo (TA) visceral y perigonadal (Cervantes-Rodríguez et al. 2014; Fernández-Sada et al. 2017), hígado, riñón (Nicolás-Toledo et al. 2018; Acosta-Cota et al. 2019; Moreno-Fernández et al. 2018), corazón (Fernández-Sada et al. 2017), testículo (De León-Ramírez et al. 2021) y musculatura pélvica (Corona-Quintanilla et al. 2021).

1.2 Consumo de carbohidratos en el embarazo

En mamíferos, la nutrición materna juega un papel crítico (Cervantes-Rodríguez et al. 2014; Pedrana et al. 2020) ya que, aunque el crecimiento y desarrollo fetal son manejados por la codificación de su genoma, la regulación genética también está influenciada por el entorno intrauterino en el que crece. Un factor crítico para la supervivencia y salud fetal es el suministro de nutrientes y oxígeno por parte de la madre. De la capacidad materna para proporcionar nutrientes a la cría durante la concepción, gestación, lactancia materna e infancia temprana, dependerá el estado nutricional, tamaño, composición corporal y metabolismo de dicha cría. Permitiendo en su etapa fetal, alcanzar su potencial de crecimiento. Sin embargo, cualquier anomalía negativa en el ambiente intrauterino puede ser perjudicial para el crecimiento y desarrollo fetal (Lowensohn et al. 2016).

La plasticidad en el desarrollo fisiológico y estructural permite que las señales ambientales durante la vida temprana, como la nutrición materna, alteren permanentemente el fenotipo post-natal de un individuo y, por lo tanto, modifiquen la susceptibilidad al riesgo de enfermedad (Vieau 2011; Ares Segura et al. 2016; Rando y Simmons 2015). Esto ha llevado al establecimiento de la hipótesis del “origen del desarrollo de la salud y la enfermedad” (DOHAD por sus siglas en inglés), también conocida como hipótesis de Barker, en la que se menciona que un individuo está programado para el ahorro nutricional durante la gestación y la vida post-natal temprana para sobrevivir a las agresiones ambientales causadas por una nutrición deficiente y recursos limitados. Esta teoría trata de explicar cómo un estímulo que actúa durante periodos críticos del crecimiento y desarrollo puede resultar en una alteración permanente de la estructura, fisiología y metabolismo de la descendencia (Barker 1990), estableciendo que la prevalencia en términos de susceptibilidad, para desarrollar enfermedades no transmisibles en el adulto como aterosclerosis, hipertensión arterial, accidente cerebrovascular, diabetes mellitus tipo (DM2), resistencia a la insulina, obesidad, síndrome metabólico y dislipidemias se relacionan con el ambiente intrauterino (Vieau 2011).

La alta ingesta materna de alimentos ricos en energía y pobres en nutrientes puede sugerir que en muchos embarazos las necesidades nutricionales de un feto en crecimiento saludable pueden verse comprometidas (Scherer-Adami et al. 2020; Kominiarek y Rajan 2016; Pennington et al. 2017). De hecho, pocas mujeres logran cumplir con las recomendaciones de nutrición y estilo de vida para planificar un embarazo (Jouanne et al. 2021). Los carbohidratos simples como la

glucosa y fructosa atraviesan la placenta (Holmberg et al. 1956) y pueden alterar la adquisición de nutrientes (Musial et al. 2017).

1.3 Consumo de carbohidratos postnatalmente

Posterior al nacimiento, tanto la lactancia materna como la infancia temprana y la pubertad se consideran etapas críticas para el desarrollo óptimo desde el punto de vista celular, anatómico y fisiológico del adulto futuro; por lo que la nutrición en estas etapas es igual o más importante que durante la gestación (Zambrano et al. 2005; Nicolás-Toledo et al. 2018; Cervantes-Rodríguez et al. 2014). Es así, que cualquier estímulo o daño ocurrido durante estos períodos críticos para el desarrollo pueden causar una respuesta tanto de adaptación fetal como post-natal que conduzca a cambios a largo plazo o permanentes en la estructura o función del cuerpo (Martin-Gronert y Ozanne 2006). La nutrición humana en estas etapas (consideradas ventanas de desarrollo), representan una comprensión tanto de la naturaleza, como de la interacción de dos sistemas principales: uno interno y otro externo. El externo está representado por el sistema alimentario y se refiere a los factores que determinan la capacidad humana para obtener (a partir del entorno más amplio) una dieta completa que proporcione la energía y los nutrientes adecuados. El sistema interno está representado por los procesos bioquímicos, fisiológicos y metabólicos regulados por el cuerpo, en el que las células, tejidos y órganos pueden mantener su estructura y función para garantizar la salud continua (Day y Jackson 2017).

1.4 Testículo

El aparato genital masculino en mamíferos como el ser humano y la rata está formado por los testículos, las vías espermáticas, las glándulas sexuales anexas y el pene (Figura 1). Específicamente, los testículos se encuentran suspendidos y sueltos en la cavidad dentro del escroto, rodeados por varias capas que les permiten mejor movilidad (Liguori et al. 2011); sus dos funciones primarias son la producción de gametos masculinos o espermatozoides (espermatogénesis) y la síntesis de hormonas sexuales masculinas o andrógenos (esteroidogénesis).

El escroto es un saco de piel delgado externo que además de contener a los dos testículos, también resguarda al epidídimo y parte del cordón espermático. Este tejido es una bolsa cutánea dividida superficialmente en dos porciones laterales que se deriva de los pliegues labioescrotales, que, bajo la influencia de la testosterona se hinchan y fusionan para formar sacos escrotales

gemelos, cuyo punto de fusión es el rafe medio, que se extiende desde el ano a lo largo del perineo hasta la superficie ventral del pene. Los testículos adultos son órganos ovoides pares que se encuentran dentro del escroto, fuera de la cavidad abdominal; suspendidos de los cordones espermáticos y adheridos al escroto por los ligamentos escrotales (O'Donnell et al. 2017).

El suministro arterial al testículo surge al nivel de la segunda vértebra lumbar desde la aorta a la derecha y la arteria renal a la izquierda y estos vasos descienden retroperitonealmente a través del canal inguinal formando parte del cordón espermático. La arteria testicular, (una rama directa de la aorta abdominal) ingresa al testículo en su superficie posterior, enviando una red de ramas que se extienden profundamente a la túnica albugínea antes de ingresar al testículo. Cada testículo recibe sangre a través de la arteria espermática (arteria testicular), donde está rodeada por un drenaje venoso que pasa hacia atrás y emerge en el polo superior del testículo como un conjunto de venas denominado plexo venoso pampiniforme (Figura 1), que transporta la sangre desde los testículos hacia las venas abdominales. A medida que estas venas ascienden, rodean la arteria testicular, formando la base de un sistema de intercambio de calor a contracorriente que ayuda a mantener un diferencial de temperatura entre los testículos (2 a 3°C por debajo de la temperatura corporal) y la temperatura intraabdominal. La sangre venosa más fresca proveniente del testículo enfría un poco la sangre arterial antes de que entre en el órgano por un mecanismo de contracorriente intercambiador de calor. Además, el músculo cremáster (Figura 1), cuyas fibras derivan del músculo oblicuo menor del abdomen ubicado en la pared abdominal anterior, responde a los cambios de la temperatura ambiental. Su contracción acerca los testículos a la pared abdominal, mientras que su relajación los descende dentro del escroto (O'Donnell et al. 2017; Patel 2017).

El segmento espinal T10 proporciona las fibras nerviosas simpáticas que inervan los testículos. Viajan a través de los nervios espláncnicos menores y hacen sinapsis en el ganglio celíaco. Las fibras post-ganglionares siguen la arteria testicular a lo largo de su curso hasta su punto de inervación. Las fibras de la raíz sensorial también toman un curso similar y pasan información a través de las células del ganglio de la raíz dorsal del segmento T10. La rama genital (L2) del nervio genitofemoral (L1, L2) del plexo lumbar proporciona inervación sensorial a la túnica vaginal de los testículos (Patel 2017).

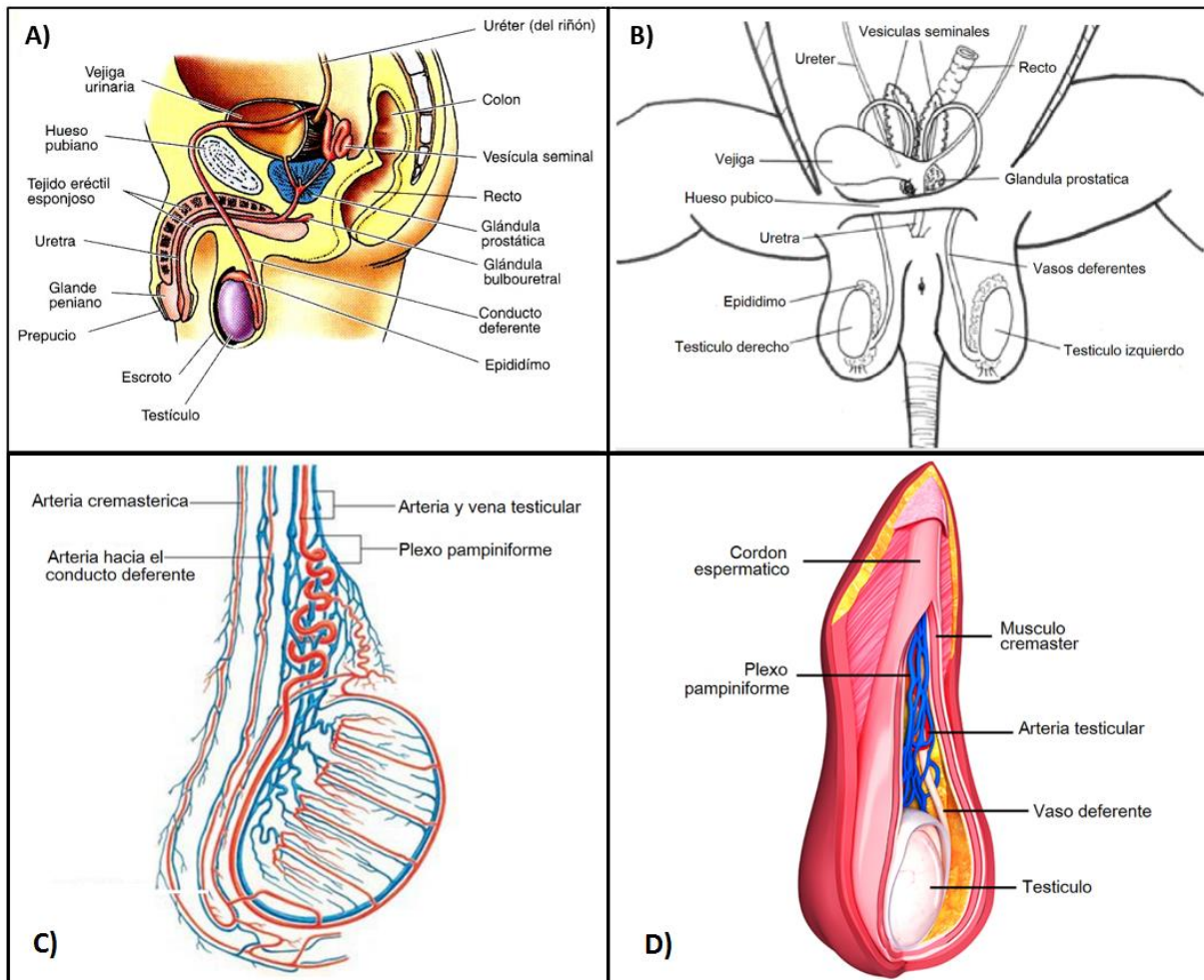


Figura 1. Diagrama esquemático de los componentes del sistema uro-genital masculino en humanos (A) con una vista sagital y en ratas (B) con vista coronal (Modificado de Belanger et al. 2013); irrigación sanguínea (C) y algunos tejidos de sostén y cubierta (D) en testículos humanos (Modificado de Ellis y Mahadevan 2014).

Los testículos tienen una cápsula (que cubre cada uno) de tejido conjuntivo de espesor poco habitual, llamada túnica albugínea. La parte interna de esta cápsula o túnica vascular es una lámina de tejido conjuntivo laxo que contiene vasos sanguíneos. Cada testículo humano está dividido en alrededor de 250 lobulillos por tabiques incompletos de tejido conjuntivo que se proyectan desde la cápsula. Cada lobulillo testicular está compuesto por 1 a 4 túbulos seminíferos en los que se producen los espermatozoides y están soportados por un estroma de tejido conjuntivo intersticial suelto en el que hay células de Leydig. Cada túbulo dentro del lobulillo describe un asa. Está muy contorneado a causa de su considerable longitud y se pliega sobre sí mismo. La red testicular o red de Haller (*rete testis*) es un sistema de conductos anastomosados dentro del mediastino (Figura 2) (O'Donnell et al. 2017).

A lo largo de la superficie posterior del testículo, la túnica albugínea aumenta su espesor y hace protrusión dentro del órgano para formar el mediastino testicular. Los vasos sanguíneos, los vasos linfáticos y la vía espermática atraviesan el mediastino testicular al entrar o salir del testículo. El epitelio seminífero (Figura 2) está rodeado por una lámina (túnica) propia (también llamada tejido peritubular) conformada por tejido conjuntivo multiestratificado; constituyendo una membrana basal, fibras elásticas y células mioides peritubulares que se diferencian en respuesta a una mayor producción de andrógenos durante el inicio de la pubertad. En los seres humanos esta lámina se compone de 3 a 5 capas de células mioides peritubulares contráctiles y fibrillas de colágeno ubicadas por fuera de la lámina basal. En roedores, el testículo tiene una sola capa de células mioides que adoptan una disposición epiteloide. Estas células se encargan de dar soporte estructural al túbulo seminífero y sus contracciones rítmicas crean ondas peristálticas que contribuyen a mover tanto a los espermatozoides y como al líquido testicular a lo largo de los túbulos hacia las vías espermáticas. Dentro de la membrana basal, los túbulos seminíferos están revestidos por un epitelio columnar estratificado complejo, compuesto por dos poblaciones: las células germinales y las células somáticas de Sertoli. Éstas últimas células también son llamadas sustentaculares o de sostén y no se dividen después de la pubertad (O'Donnell et al. 2017).

Las células de Sertoli son células cilíndricas altas que están apoyadas sobre la lámina basal multiestratificada gruesa del epitelio seminífero; poseen prolongaciones apicales y laterales extensas que rodean las células espermátogénicas contiguas y ocupan los espacios entre éstas, dando sostén a los espermatozoides en desarrollo y así, se adhieran a su superficie luego de la meiosis. Proveen de organización estructural a los túbulos porque se extienden a través de todo el espesor del epitelio seminífero. Estas células contienen un retículo endoplásmico liso extenso, un retículo endoplásmico rugoso bien desarrollado y pilas de laminillas anulares. Poseen muchas mitocondrias esferoidales y alargadas, un aparato de Golgi bien desarrollado y cantidades variables de microtúbulos, lisosomas, inclusiones lipídicas, vesículas, gránulos de colágeno y filamentos. Una vaina de filamentos de 7 a 9 nm rodea el núcleo y lo separa de otros organelos. Su núcleo eucromático es una característica muy activa, suele ser ovoide o triangular y puede tener una indentación profunda o más. Su forma y ubicación varían, puede ser aplanado y estar en la porción basal de la célula cerca de la membrana celular basal y paralelo a ésta, o puede ser triangular u ovoide y estar cerca o a cierta distancia de la base de las células (O'Donnell et al. 2017).

Las células de Sertoli adyacentes entre sí están unidas por un complejo que se caracteriza en parte, por una unión muy hermética (zona ocludens) que comprende más de 50 líneas de fusión paralelas en las membranas celulares contiguas. Dos componentes citoplasmáticos son distintivos de este complejo: Una *cisterna* aplanada del retículo endoplásmico rugoso está paralela a la membrana plasmática en la región de la unión en cada célula. *Haces de filamentos de actina* compactados de manera hexagonal, que están interpuestos entre las cisternas del retículo endoplásmico rugoso y las membranas plasmáticas. Un complejo de unión de aspecto similar aparece en las células de Sertoli en el sitio donde están adheridas las espermátides. Sin embargo, aquí no hay zona ocludens y la espermátide no tiene cisternas del retículo endoplásmico rugoso ni haces de filamentos de actina. Otras especializaciones de unión de estas células son las uniones de hendidura que hay entre las mismas células de Sertoli, las uniones de tipo desmosómico que hay entre éstas y las células espermatogénicas iniciales y los hemidesmosomas en la interfaz célula de Sertoli-lámina basal. Las uniones células de Sertoli-células de Sertoli establecen dos compartimientos epiteliales: un compartimiento epitelial basal y uno adluminal. Las espermatogonias y los espermátocitos primarios iniciales (preleptoteno/leptoteno) están restringidos al compartimiento basal entre las uniones células de Sertoli-células de Sertoli y la lámina basal. Los espermátocitos más maduros y las espermátides están restringidos al lado adluminal de estas uniones. Las células de Sertoli fagocitan y degradan tanto los cuerpos residuales formados en la última etapa de la espermiogénesis como aquellas células espermatogénicas que no se diferencien por completo (O'Donnell et al. 2017).

El complejo de unión entre células de Sertoli adyacentes también crea una barrera de difusión, llamada barrera hematotesticular, para crear una compartimentalización fisiológica dentro del epitelio seminífero en lo que se refiere a la composición de iones, aminoácidos, carbohidratos y proteínas. La composición de líquido en los túbulos seminíferos y vías espermáticas difiere considerablemente de la composición de plasma sanguíneo de la linfa testicular (Cheng y Mruk 2002). La barrera hematotesticular crea un microambiente controlado que proporciona los nutrientes, mitógenos y factores de diferenciación apropiados y un ambiente inmunológico protegido requerido para el desarrollo completo de las células germinales. Las proteínas plasmáticas y los anticuerpos circulantes son excluidos de la luz de los túbulos. Los productos de secreción exocrinos de las células de Sertoli, en particular la proteína fijadora de andrógenos, están muy concentrados en la luz de los túbulos y mantienen una concentración elevada de

testosterona, promoviendo un microambiente favorable para las células espermatozógenas en diferenciación (O'Donnell et al. 2017).

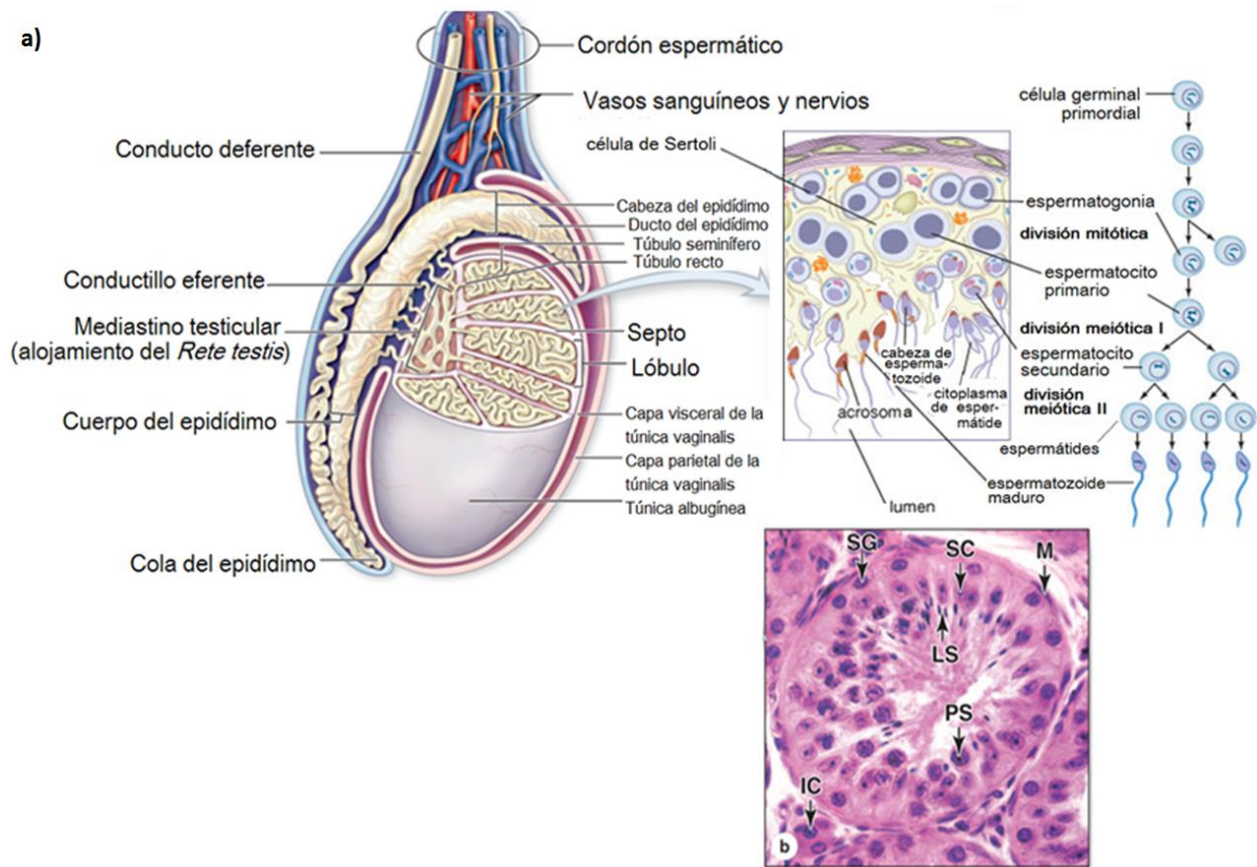


Figura 2. Anatomía del testículo: a) sección sagital de un corte parcial del testículo, en cuya vista transversal se muestra la relación entre las células de Sertoli y las células espermatozógenas, con el epitelio seminífero apoyado sobre la lámina basal y una capa de células peritubulares que lo rodea. Las espermatogonias y los espermatozocitos en proleptono están en el compartimiento basal. Los espermatozocitos primarios en paquinema, las espermátides iniciales y las espermátides avanzadas, con su resto de citoplasma en proceso de separación que se convierte en el cuerpo residual, están por arriba del complejo de unión en el compartimiento adluminal (modificado de Encyclopedia Britannica 2019). b) sección transversal de un túbulo seminífero en el que se muestran las espermatogonias (SG) cerca de la periferia, el núcleo de una célula de Sertoli (SC), espermatozocitos primarios (PS) y espermátides tardías (LS) cerca del lumen con células intersticiales (IC) en el tejido conectivo circundante (400X; H&E). (Modificado de Mescher 2016).

La barrera hematotesticular aísla las células germinales haploides (espermatozocitos secundarios, espermátides y espermatozoides), que son genéticamente diferentes y por ende antigénicas, del sistema inmune del varón adulto. Los antígenos producidos por los espermatozoides o específicos de éstos no pueden alcanzar la circulación sistémica. Inversamente, las globulinas- γ y los anticuerpos anti-espermatozoides específicos que tienen algunos sujetos no pueden de alcanzar

las células espermatogénicas en desarrollo dentro de los túbulos (O'Donnell et al. 2017). Además de estas funciones, las células de Sertoli secretan sustancias exocrinas y endocrinas (Tabla 1) fisiológicamente diferentes y esenciales (O'Donnell et al. 2017; 2022).

Tabla 1. Fisiología de las principales sustancias secretadas por las células de Sertoli (O'Donnell et al. 2017; 2022).

Sustancia	Tipo	Función
Líquido facilitador del paso de los espermatozoides.	Exocrina	Facilita el paso de los espermatozoides en proceso de maduración de los túbulos seminíferos hacia los conductos intratesticulares.
Proteína fijadora de andrógenos	Exocrina	Concentrar la T en el compartimiento adluminal para la maduración de los espermatozoides.
Inhibina	Endocrina	Hormona que participa en el circuito retrocontrol que inhibe la liberación de FSH desde la hipófisis.
Activador del plasminógeno	Endocrina	Convierte el plasminógeno en plasmina (enzima proteolítica activa)
Transferrina	Endocrina	Proteína transportadora de hierro.

Las células espermatogénicas, que con regularidad se dividen y se diferencian en espermatozoides maduros, derivan de las células germinales (procedentes de las células germinales potenciales o primordiales) que colonizan las crestas gonadales durante la etapa inicial del desarrollo de los testículos. Estas células se organizan en capas mal definidas de desarrollo progresivo entre las células de Sertoli contiguas. Las más inmaduras son llamadas espermatogonias y se apoyan sobre la lámina basal interna del túbulo seminífero. Las células más maduras, llamadas espermátides, están adheridas a la porción apical de la célula de Sertoli en contacto con el lumen del túbulo. Estas células germinales maduran mediante un proceso denominado espermatogénesis, mediante el cual, las células inmaduras se dividen, sufren meiosis y se diferencian en espermatozoides haploides altamente especializados. Las células germinales en diferenciación no están distribuidas al azar en el epitelio seminífero. Estos agrupamientos o asociaciones ocurren porque hay puentes intercelulares entre la progenie de cada par de espermatogonias de tipo Ap (Tipo A claras o pálidas) y porque las células sincronizadas pasan tiempos específicos en cada etapa de la maduración. Todas las fases de la diferenciación ocurren en forma secuencial en cualquier sitio dado de un túbulo seminífero porque la progenie de las células germinales permanece conectada por puentes citoplasmáticos y sufre las divisiones mitóticas y meiótica y la maduración sincrónica. Cada agrupamiento reconocible o asociación celular se considera una etapa o estadio de un proceso cíclico. La serie de estadios que hay entre

dos apariciones sucesivas del mismo patrón de asociación celular en cualquier sitio dado el túbulo seminífero constituye un ciclo del epitelio seminífero, es decir, se describen los cambios que con el tiempo ocurren en cualquier sitio del túbulo (Figura 3). El ciclo del epitelio seminífero fue definido como la serie de cambios en un área determinada del túbulo seminífero entre dos apariciones de la misma etapa de desarrollo o asociación celular (Leblond y Clermont 1952). La duración del ciclo y el tiempo necesario para la espermatogénesis son constantes y específicos de cada especie. En los roedores y otros mamíferos estudiados la onda del epitelio seminífero describe la distribución de los patrones de asociación celular (estadios) en toda la longitud del túbulo. Específicamente en la rata se han definido 14 etapas en el ciclo (Figura 3), basándose en las 19 fases de la espermiogénesis. A medida que las espermatogonias tipo A en cualquier área del epitelio progresan a través de la meiosis y la espermiogénesis para convertirse en espermatozoides, el área específica del túbulo pasa por las 14 etapas cuatro veces. En cada progresión, la progenie de las espermatogonias se mueve progresivamente hacia la luz del túbulo. Un corte transversal del túbulo seminífero suele poner de manifiesto un solo patrón de asociaciones celulares. La finalización de un ciclo da como resultado la liberación de espermatozoides maduros en la luz del túbulo; los ciclos se repiten a lo largo de los túbulos, lo que resulta en "pulsos" constantes de producción de esperma. Estos pulsos de liberación de espermatozoides permiten a los testículos producir continuamente millones de espermatozoides, y el hombre normospermico promedio puede producir aproximadamente 1000 espermatozoides por latido cardíaco (O'Donnell et al. 2017).

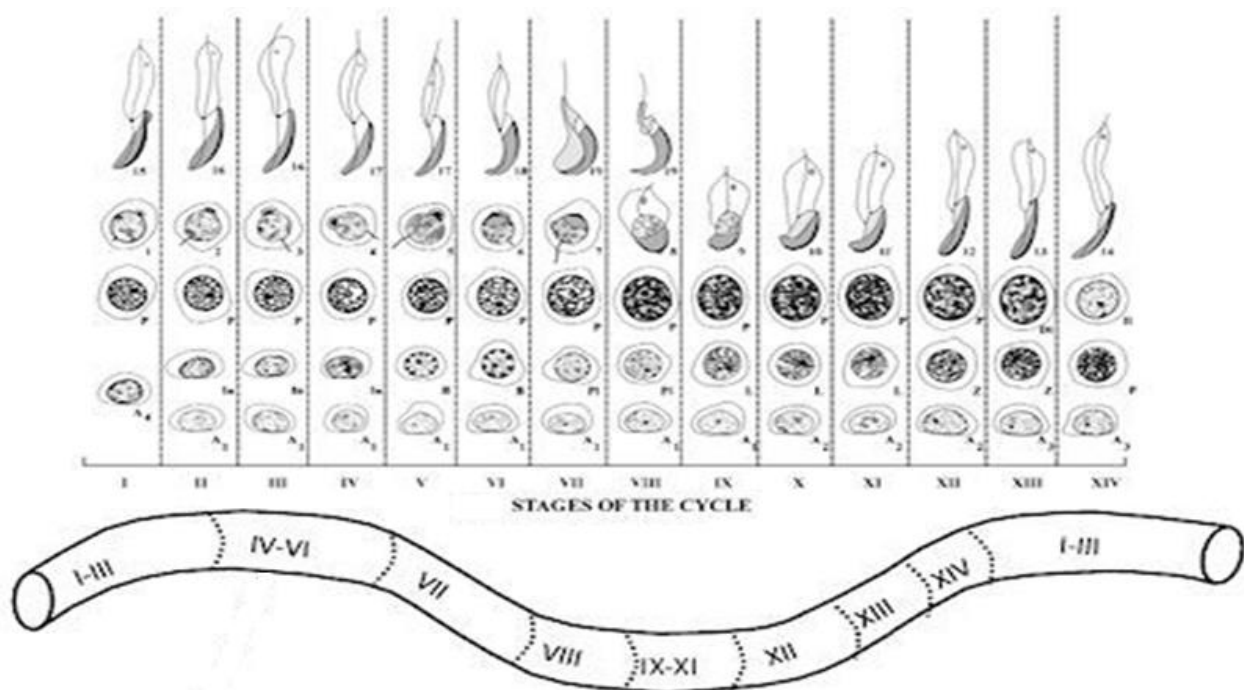


Figura 3. Representación esquemática de las etapas (en números romanos) y tipos celulares en conjunto del ciclo seminífero en la rata. Estas etapas se suceden de manera cíclica a lo largo del túbulo seminífero, (O'Donnell et al. 2017).

Las células de Leydig son aquellas que se ubican en el compartimiento intersticial y son capaces de producir testosterona y factor similar de insulina 3 (INSL3), los cuales se encargan de la diferenciación sexual masculina. Son células poliédricas grandes y eosinófilas que de manera característica contienen inclusiones lipídicas. Al igual que otras células secretoras esteroideas, estas células tienen un retículo endoplásmico liso complejo, asociado con las enzimas necesarias para la síntesis de testosterona a partir de colesterol. En estas células hay mitocondrias con crestas tubulovesiculares para la secreción de esteroides. Se pueden encontrar tres poblaciones de estas células intersticiales en los mamíferos: células intersticiales fetales, neonatales y adultas. Se diferencian entre sí por su morfología, capacidad de síntesis de andrógenos, respuesta a gonadotropinas y factores de crecimiento. Las células de Leydig se diferencian y secretan testosterona durante las primeras etapas de vida fetal, además, su secreción es necesaria durante el desarrollo embrionario, en la madurez sexual y en la función reproductora. En el embrión, la secreción de testosterona y otros andrógenos es indispensable para el desarrollo normal de las gónadas en el feto masculino. En la pubertad, la secreción de testosterona inicia la producción de espermatozoides, la secreción de las glándulas sexuales anexas y el desarrollo de las características sexuales secundarias. En el adulto, la secreción de testosterona es indispensable

para el mantenimiento de la espermatogénesis y de las características sexuales secundarias, las vías espermáticas y las glándulas sexuales anexas (O'Donnell et al. 2017).

1.4.1 Desarrollo embrionario y postnatal del testículo

El sexo genético queda determinado en la fecundación por la presencia o ausencia del cromosoma Y. Sin embargo, en el ser humano, la diferenciación testicular comienza aproximadamente a las 6 semanas después de la concepción (Figura 4), con el desarrollo de los cordones testiculares que contienen a las células de Sertoli y las células germinales potenciales. El número de estos tipos celulares formados durante la vida fetal es esencial para la fertilidad adulta. La diferenciación inicial en el desarrollo de las gónadas masculinas depende del factor determinante testicular, proteína específica codificada por el gen SRY, situado en la región determinante sexual del brazo corto del cromosoma Y. El factor determinante testicular actúa como un factor de transcripción que se encarga de la regulación de otros factores de transcripción, de los cuales el más importante es SOX9. En el ser humano, los testículos se empiezan a formar en la pared posterior de la cavidad abdominal antes de la 4ta semana de gestación (Figura 4). Sin embargo, durante este momento es imposible distinguir a un individuo de sexo masculino o femenino por sus características anatomofisiológicas, por lo que a esta etapa se le denomina periodo indiferenciado del desarrollo sexual (Dyce et al. 1996).

Tanto el aparato urinario como el genital se desarrollan retroperitonealmente en asociación estrecha, específicamente, los testículos tienen los siguientes tres orígenes: mesodermo intermedio que forma las crestas urogenitales en la pared abdominal posterior; el epitelio mesodérmico (mesotelio celómico) que tapiza las crestas urogenitales, y las células germinales primordiales o potenciales que migran hacia las gónadas en desarrollo, donde se dividen y diferencian en espermatogonias. Estas células aparecen (en secciones semidelgadas bajo el microscopio electrónico) como células grandes con un núcleo redondo y un citoplasma claro (Rouiller-Fabre et al. 2009). En los roedores, estas células se denominan gonocitos a lo largo de la vida fetal (Sertoli 2018), y en humanos se han encontrado varios tipos diferentes de estas células: gonocitos, células germinales intermedias y pre-espermatogonias, lo que indica que la población de células germinales es muy heterogénea (Rouiller-Fabre et al. 2009; O'Donnell et al. 2017).

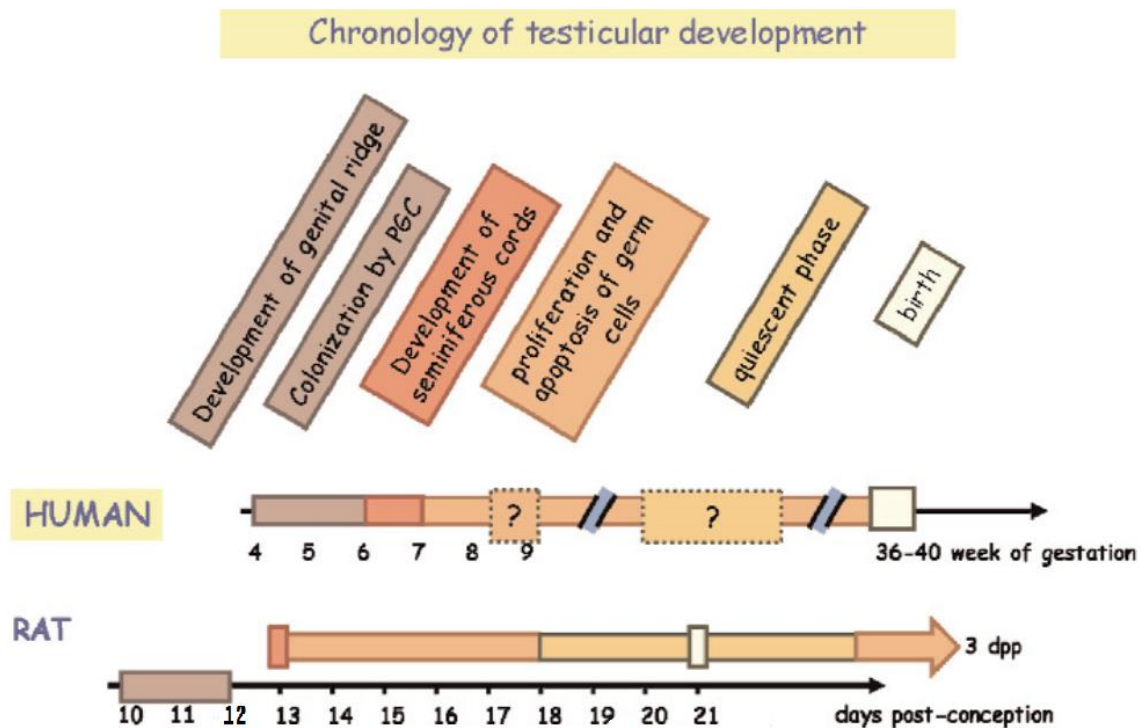


Figura 4. Cronología comparativa del desarrollo testicular fetal en humanos y ratas. (Rouiller-Fabre et al. 2009).

Antes de la 5ta semana de gestación (Figura 4), durante el proceso de formación de los riñones, el cuerpo embrionario desarrolla estructuras separadas para producir finalmente una estructura excretora similar a un riñón (Figura 5). El primer intento es el pronefros, el cual va retrocediendo para formar el mesonefros, que a su vez también retrocede para dar lugar al metanefros (que se desarrollará como el riñón real del organismo maduro). Dentro del techo de la cavidad del epitelio celómico (no dentro del espacio de la cavidad en sí), justo en la zona media y hacia cada lado, comienza la regresión del mesonefros (recubierto por epitelio celómico) y su incorporación con el sistema de conductos internos para el desarrollo de un testículo muy temprano (Figura 5) y eventualmente formar un testículo maduro y funcional. Aquí comienzan a formarse pequeños engrosamientos (hace protrusión) del revestimiento del mesonefros, formando las crestas urogenitales, que ulteriormente se dividirán en crestas gonadales, medialmente y crestas urinarias lateralmente. Las crestas gonadales al inicio son bipotenciales, pero en el caso del desarrollo de un organismo XY darán lugar al desarrollo de los testículos (Figura 5) (Dyce et al. 1996).

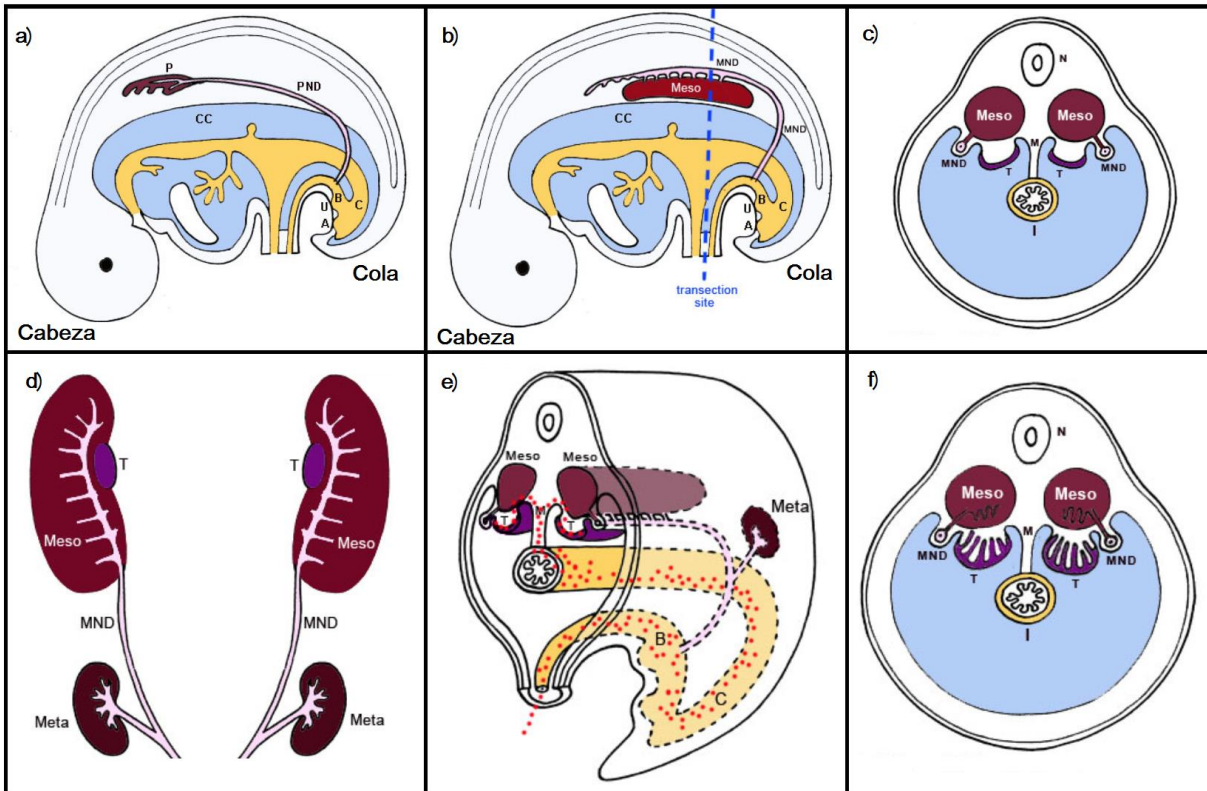


Figura 5. Desarrollo estructural de testículos embrionarios humanos entre 4 y 7 semanas de gestación. a) Vista media de las estructuras internas del embrión en desarrollo, ubicando la cabeza, cola, cavidad celómica (CC), región de eventual apertura del ano (A), uretra (U), vejiga (B), colon y recto (C), el pronefros (P) y los ductos pronefros (PND). b) Se marca una línea punteada en color azul que indica un corte transversal observando la regresión del P para dar lugar al mesonefros (Meso) a cada lado del organismo y los ductos mesonefros (MND). c) vista transversal en la que también se observa el tubo neural (N), el tubo intestinal (I), el mesenterio y los testículos en formación (T), en este momento del desarrollo son crestas gonadales. d) Se observan desde abajo los riñones formados a partir del metanefros (Meta) y las crestas gonadales en desarrollo (T). e) Los puntos rojos muestran el recorrido de las células primordiales germinales desde el saco vitelino y alantoides hasta las crestas gonadales en desarrollo pasando por el tubo vesical (en color naranja). f) Los cordones de las crestas gonadales testiculares crecen hacia adentro desde la superficie y al mismo tiempo, túbulos adyacentes al testículo procedentes del M en regresión comienzan a alargarse hacia el testículo en desarrollo, fusionándose con los cordones testiculares (Dyce et al. 1996).

Las células de Sertoli son las primeras células en diferenciarse en las crestas gonadales indiferentes, y las células primordiales germinales que llegan desde el alantoides son contenidas por dichas células para formar así, el primer signo morfológico de diferenciación testicular, los cordones testiculares, que se observan entre la 6ta y 7ma semana de gestación (Figura 5) (Rouiller-Fabre et al. 2009). A la par, este evento permite la diferenciación y funcionamiento de las células de Leydig.

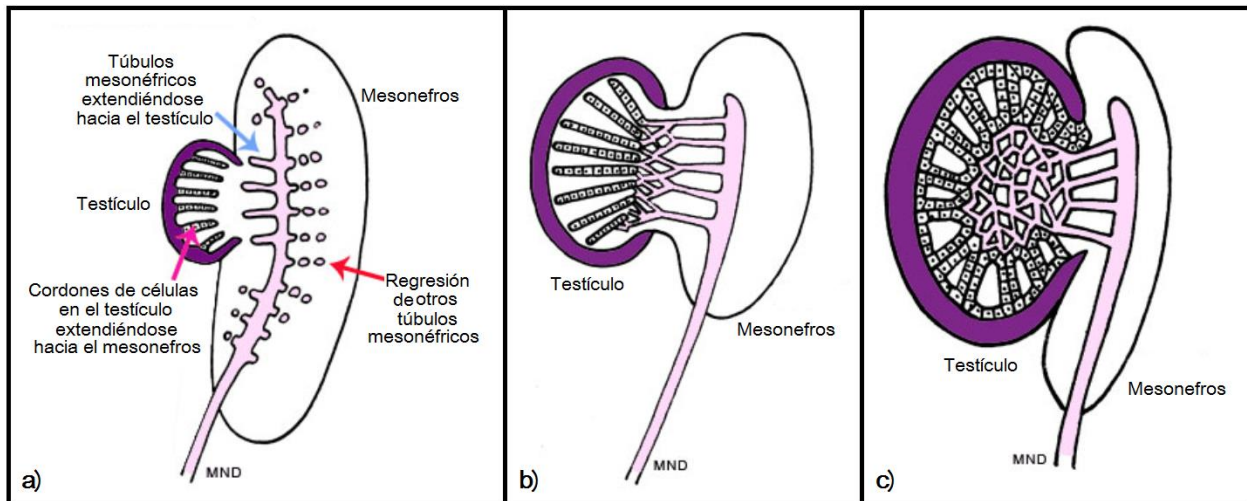


Figura 6. a) Los cordones formados a partir de células en el testículo crecen hacia adentro desde la superficie de las crestas gonadales testiculares (futuros túbulos seminíferos), y al mismo tiempo algunos túbulos del mesonefros en regresión (futuro *rete testis*), adyacentes al testículo, también comienzan a estirarse hacia el testículo en desarrollo. b) Estos conductos de filtración se fusionan con los cordones que se desarrollan en el testículo para formar conductos continuos desde el testículo hasta el ducto mesonefrico (MND). c) En los testículos maduros, los cordones se han organizado en túbulos seminíferos capaces de producir espermatozoides. En un adulto, el *rete testis* atraviesa el centro del testículo recogiendo los espermatozoides formados hacia el conducto mesonefrico (ahora denominado conducto deferente del epidídimo) (Dyce et al. 1996).

Durante el periodo de indiferenciación, las crestas gonadales están constituidas por células mesenquimáticas revestidas de epitelio celómico. A las 4 semanas de gestación, las células germinales primordiales comienzan a migrar desde el tallo de alantoides hasta la gónada bipotencial en la quinta semana (Figura 4 y 5), donde se instalarán y convertirán en las células espermátogénicas que se dividen y maduran a lo largo de la vida del macho para producir espermatozoides (Dyce et al. 1996; Mackay 2000). En esta etapa y durante toda la gestación, las células de Sertoli comienzan a producir la hormona antimulleriana (AMH). Al mismo tiempo, el conducto mesonefrico de Wolff (estructura tubular que corre en sentido longitudinal al eje mayor de la zona gonadal del mesonefros) se forma a partir del conducto pronefrico al incorporarse éste a los sistemas de filtración de desechos a la región de la vejiga para dar origen al epidídimo, conductos deferentes y vesículas seminales (Mackay 2000).

Al final de la 7ma semana de desarrollo, la migración de las células primordiales germinales hacia las crestas gonadales inducirá la proliferación de las células mesodérmicas del epitelio celómico tanto en las crestas gonadales como en las células del mesonefros (Figura 5), formando los testículos fetales y permitiendo el desarrollo de los cordones sexuales primitivos que crecen hacia adentro desde la superficie de las crestas gonadales (Figura 6). Posteriormente, estos

cordones se diferencian en los cordones testiculares que dan origen a los túbulos seminíferos (formados por una población de células de Sertoli y una población de células primordiales germinales), los túbulos rectos y el *rete testis* (Figura 6). Algunos días más tarde comienzan a diferenciarse las células de Leydig a partir de las células mesenquimáticas intersticiales entre los túbulos seminíferos. El *rete testis* atraviesa el centro del testículo recogiendo espermatozoides antes de drenar hacia el conducto mesonéfrico (ahora denominado epidídimo y conducto deferente) a través de una serie de pequeños conductos (denominados conductos eferentes) (Mackay 2000). Aproximadamente, en la vigesimosexta semana de gestación, los testículos descienden desde el abdomen hacia el escroto a través del conducto inguinal, cuando el descenso está obstruido se presenta una patología conocida como criptorquidia (testículo no descendido) (Rouiller-Fabre et al. 2009). Conforme descienden hacia el escroto, los testículos llevan consigo vasos sanguíneos, vasos linfáticos, nervios autónomos y una extensión del peritoneo abdominal (túnica vaginal), que cubre su superficie anterolateral (Dyce et al. 1996; Mackay 2000).

Una vez formados los testículos maduros, los cordones de las células testiculares se han organizado en estructuras glandulares complejas capaces de producir espermatozoides y hormonas, pues los demás aspectos de la masculinización dependen de la función normal de los testículos y la producción de cantidades adecuadas de hormonas (Tabla 2).

El desarrollo de las células testiculares también depende de la acción local hormonal, aunque actualmente no se conocen bien estas vías paracrinas se sabe que los testículos fetales secretan tres hormonas esenciales para una masculinización normal: 1) AMH (para la degeneración de los ductos Mullerianos), 2) andrógenos (que estabilizan los ductos de Wolff y masculinizan los genitales externos) y 3) INSL3 (que junto con la testosterona inducen el descenso testicular). Los datos disponibles en rata sugieren que el desarrollo fisiológico de las células de Leydig fetales se da, al menos inicialmente (Figura 6), sin necesidad de estimulación con la hormona luteinizante (LH). El eje hipotalámico-hipofisiario se desarrolla aproximadamente a la mitad de la gestación en esta especie y estas células poco después se vuelven dependientes de LH (Huhtaniemi y Pelliniemi 1992).

Los receptores de LH testicular, las células intersticiales y el contenido de testosterona testicular aumentan durante la gestación, alcanzando un máximo aproximadamente al momento del nacimiento. Las concentraciones de testosterona disminuyen poco después del nacimiento y los receptores a la hormona folículo estimulante (FSH) de las células de Sertoli aumentan notablemente antes del nacimiento (Figura 7) (Magre y Jost 1991; Mackay 2000). En la vida

fetal, ni los gonocitos ni las células de Sertoli expresan receptores de andrógenos en la rata, y aunque las células mioides peritubulares y algunas células intersticiales expresan receptores de andrógenos (Majdic et al. 1995), se cree que ninguno de estos tipos de células influencia a los gonocitos directamente o hay otro enlace, en el que posiblemente la insuficiencia de andrógenos conduce a una producción alterada de estrógenos y éste actúa sobre los gonocitos (y otros tipos de células). El factor INSL3 producido por las células de Leydig fetales desempeña un papel clave en la guía del testículo durante su fase de descenso transabdominal (Emmen et al. 2000).

Tabla 2. Producción y sitios de acción de hormonas producidas por los testículos fetales que se cree que juegan un papel en el desarrollo reproductivo masculino (Sharpe 2001).

Hormona	Tipo celular de origen	Sitio/Forma de acción
Anti-Mülleriana	Células de Sertoli	Regresión de los ductos Müllerianos Células de Leydig ^{a, b}
Andrógenos (testosterona androstenediona)	Células de Leydig Células de Sertoli ^a	Múltiples tejidos, notablemente ductos de Wolffian, células mioides peritubulares, células intersticiales
Estrógenos (estradiol, estriol, estrona)	Células de Sertoli ^a Células de Leydig ^a Otros tipos celulares ^a	Múltiples tejidos, incluyendo Ductos de Wolffian, células de Sertoli. Gonocitos, células de Leydig
Insulina L3	Células de Leydig	Gubernáculo, Otros tipos celulares ^a

^a Indica incertidumbre sobre la fuente o los sitios de acción o evidencia de que estos pueden mostrar diferencias de una especie a otra. ^b Se sabe que actúa en la generación adulta de células de Leydig, pero no tiene los mismos efectos en las células de Leydig fetales

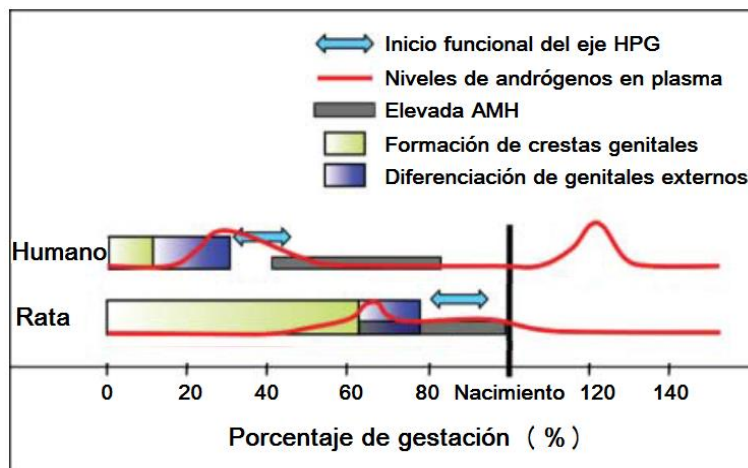


Figura 7 Representación esquemática que resume las diferencias y similitudes entre el humano y la rata en el momento de los eventos críticos en el desarrollo de los testículos durante la gestación. El diagrama se centra en elementos de producción y acción endocrina en los testículos (modificado de O’Shaughnessy y Fowler 2011).

Más de una hormona desempeña un papel en la regulación de la proliferación de células de Sertoli en la vida fetal, pero la más importante es la FSH secretada por la hipófisis. Sus niveles se elevan coincidiendo con la proliferación de células de Sertoli. Otra vía importante que afecta el número final de células de Sertoli es el eje de la hormona tiroidea. Los niveles de hormona tiroidea determinan cuándo las células de Sertoli se diferencian y, por lo tanto, dejan de proliferar. La disminución experimental de los niveles de hormona tiroidea (hipotiroidismo) en ratas retrasa la diferenciación final de las células de Sertoli, mientras que la elevación de los niveles de hormona tiroidea (hipertiroidismo) lo avanza (Sharpe 2001).

Los andrógenos, el factor INSL3 y la AMH son secretados por las células de Leydig y células de Sertoli, asegurando la masculinización de los ductos internos y el desarrollo normal del fenotipo masculino (Figura 7). Las células de Sertoli comienzan a secretar AMH poco después de la diferenciación, conduciendo al proceso de regresión del ducto Mulleriano que se completa a la mitad de la gestación (O'Shaughnessy y Fowler 2014). El desarrollo de las células germinales masculinas se basa en el soporte estructural y nutricional de las células de Sertoli. Los andrógenos y la FSH actúan sobre los receptores dentro de las células de Sertoli. Las células germinales carecen de receptores de andrógenos y FSH, por lo tanto, estas hormonas actúan directamente sobre las células de Sertoli para apoyar la espermatogénesis. Las células de Sertoli regulan el ambiente interno del túbulo seminífero secretando factores paracrinos y expresando los receptores de la superficie celular necesarios para el desarrollo de las células germinales. Las células germinales más inmaduras, incluidas las células germinales potenciales (cerca de la membrana basal) tienen libre acceso a los factores del intersticio, sin embargo, las células germinales que sufren meiosis y la diferenciación de células haploides dependen por completo del microambiente celular de Sertoli. Las células germinales meióticas y postmeióticas se desarrollan después del establecimiento de la tolerancia inmune y, por lo tanto, podrían ser reconocidas como "extrañas" por el sistema inmune, por lo tanto, los túbulos seminíferos, a través de una serie de mecanismos diferentes, incluida la barrera hematotesticular, excluyen activamente a las células inmunes y los factores ingresan a los túbulos seminíferos y se exponen a células germinales meióticas y haploides. La acción tanto de los andrógenos como de la FSH sobre las células de Sertoli es necesaria para que puedan soportar la espermatogénesis completa. Además, la expresión de muchos genes y factores paracrinos dentro de las células de Sertoli es necesaria para la espermatogénesis (O'Shaughnessy y Fowler 2011).

El desarrollo postnatal es un período en el que las interacciones de los individuos con su entorno pueden tener influencias de por vida en la salud y el bienestar, una extensión del concepto DOHaD. El cerebro es excepcionalmente sensible a los efectos de las hormonas gonadales antes de la finalización de la pubertad, con ramificaciones a largo plazo en el comportamiento posterior (Bell 2018).

Tabla 3. Características del desarrollo testicular postnatal en ratas (Picut et al. 2015).

Edad (dPN)	Estado	Morfología	Parámetros neuroendócrinos
0 a 7	Neonatal	<ul style="list-style-type: none"> • Túbulos revestidos por células de Sertoli y gonocitos. • Transición de gonocitos a espermatogonias A. • Tasa mitótica elevada en células de Sertoli. • No hay etapas tubulares aparentes. 	<ul style="list-style-type: none"> • dPN 0 a 3: Alto nivel de testosterona fetal. • Elevados niveles de FSH (se da la transición a gonocitos) que luego disminuyen debido al aumento en el nivel de inhibina. • Regresión de células de Leydig fetales y desarrollo de las células progenitoras de Leydig que producen DHT. • Mitosis de espermatogonias independiente de andrógenos.
8 a 14	Infancia temprana	<ul style="list-style-type: none"> • ↑proliferación/densidad de células de Sertoli y espermatogonias (tipos A y B). • Alta tasa mitótica en todas las poblaciones celulares. • No hay etapas tubulares aparentes. 	<ul style="list-style-type: none"> • Bajo nivel de testosterona. • Bajo nivel de FSH. • dPN 9 a 16: aumentan niveles de E₂.
15 a 20	Infancia tardía	<ul style="list-style-type: none"> • Apoptosis de espermatogonias; disminuye actividad mitótica. • dPN 15: células de Sertoli maduran y dejan de dividirse. • Primera ola de espermatogénesis con aparición de: • dPN 16: espermatocitos en leptoteno/cigoteno. • dPN 18: espermatocitos paquiteno. • dPN 16: Las etapas tubulares se hacen evidentes. • dPN 18: Desarrollo de lumen 	<ul style="list-style-type: none"> • Bajo nivel de testosterona. • pND 16: se desarrolla la barrera hematotesticular. • Altos niveles de DHT apoyan la primera ola de espermatogénesis. • El nivel de E₂ disminuye a medida que se forma la barrera hematotesticular y maduran las células de Sertoli.

		tubular.	
		• dPN 18 a 22: rosetas de doble capa presentes.	
21 a 32	Juvenil	<ul style="list-style-type: none"> • Pérdida de la arquitectura en roseta. • Aumento del diámetro tubular. • Apoptosis de los espermatocitos paquitenos (debido a los bajos niveles de T). • dPN 26: Aparecen espermátides redondas. • dPN 20 a 70: marcado aumento de diámetro tubular. 	<ul style="list-style-type: none"> • El nivel de testosterona comienza a aumentar (producido por células de Leydig inmaduras). • dPN 21: pico de células de Leydig progenitoras. • dPN 28 a 30: La PRL juega un papel en la maduración del eje HPG con niveles crecientes paralelos de LH y testosterona y disminuye la sensibilidad de la retroalimentación.
33 a 55	Peri-puberal	<ul style="list-style-type: none"> • Espermiogénesis. • Aparecen espermátides alargadas. • dPN 46: túbulos en etapa VII; paso 19 de espermatides. • dPN 52: espermatozoides en epidídimo. 	<ul style="list-style-type: none"> • PND 35: máximo de células de Leydig inmaduras. • Altos niveles de FSH estimulan la maduración de células de Leydig y aumentan producción de testosterona. • Elevados niveles de PRL aumentan los receptores de LH en las células de Leydig para estimular mayor producción de testosterona. • dPN 45: pico de los niveles de FSH (importante paramaduración final de las células de Leydig y liberación de espermatocitos). • Se forman células de Leydig maduras. • Al dPN 90: los niveles de testosterona están en niveles de adultos.

DHT, Dihidroxitestosterona; E₂, Estadiol; PRL, prolactina; HPG, hipotálamo-hipófisis-gónada;

A diferencia de los humanos, las ratas no exhiben un período de inactividad testicular en el que haya una interrupción sostenida en la secreción de gonadotropinas. En las ratas, el desarrollo testicular post-natal comienza temprano y la maduración progresa constantemente. Se han descrito 5 etapas en machos para el desarrollo sexual post-natal: un período neonatal desde el nacimiento hasta el dPN 7, un período infantil temprano del dPN 8 al 14, un período infantil tardío del dPN 15 al 20, un juvenil desde el dPN 21 y se extiende hasta los 32 dPN y un período peripuberal hasta los 55 a 60 dPN, que termina cuando se observan espermatozoides maduros en el conducto deferente. Los espermatocitos, que surgen de los gonocitos en los testículos fetales, dejan de dividirse en el día de gestación 18 y muchos se degeneran entre los dPN 3 y 7. El resto (a menudo tan poco como el 25% de los presentes al nacer) comienza a dividirse para formar las

primeras espermatogonias. (Picut et al. 2015). Durante el desarrollo post-natal, los testículos maduran a medida que las células de Leydig pasan por varias etapas de maduración. Las células de Sertoli proliferan y maduran en una población post-mitótica; las espermatogonias se desarrollan y proliferan; y se produce la primera ola de espermatogénesis (Sharpe et al. 2003).

Los cambios dinámicos en los niveles hormonales responsables del desarrollo testicular post-natal, así como la ocurrencia de eventos fisiológicos pertinentes, se describen en la tabla 3.

1.4.2 Cambios epigenéticos y desarrollo testicular

El complejo proceso de formación del cordón seminífero es el resultado de la expresión y activación de una serie de genes que inician y mantienen la diferenciación de las células de Sertoli. Inicialmente, se ha propuesto que SRY desencadena el proceso de diferenciación de las células de Sertoli. El SOX9 ayuda en la determinación del sexo y es posible que se regule o trabaje en cooperación con SRY. Se ha detectado la expresión de otros genes como TGF β 2 y MIS (sustancia inhibidora Müllariana) en células de Sertoli antes de la formación del cordón seminífero. Su función potencial parece ser el mantenimiento de la diferenciación de estas células y la creación de un entorno adecuado para favorecer la diferenciación de los testículos (Levine et al. 2000).

El control de las modificaciones epigenéticas del genoma y la participación de los RNAm es muy importante en el testículo fetal. Los genomas de las células germinales potenciales experimentan una desmetilación generalizada a medida que colonizan la gónada embrionaria; esta eliminación de información epigenética permite el posterior establecimiento de un patrón epigenético específico de la línea germinal que se transmite a la descendencia. Después de la determinación del sexo en las gónadas embrionarias, las células germinales potenciales se comprometen con la vía masculina de diferenciación y dejan de proliferar, entrando en un período de inactividad mitótica. Durante la diferenciación y la quiescencia mitótica subsiguiente, se realizan modificaciones notables en el genoma de la célula germinal masculina. Después de la eliminación de vastas áreas de metilación del ADN en etapas anteriores del desarrollo, las células germinales fetales masculinas se someten al restablecimiento de las marcas de metilación del ADN por parte de las ADN metiltransferasas *de novo*; este proceso es esencial para la gametogénesis y crea un epigenoma que se requiere para el desarrollo embrionario exitoso de la descendencia. Durante este tiempo también hay amplias modificaciones de histonas del genoma que impactan en la estructura de la cromatina (Hogg y Western 2015).

Una característica llamativa de las células germinales fetales masculinas es la regulación de los transposones (secuencias de ADN que pueden moverse de un área del genoma a otra), fundamental para el desarrollo y función exitosos del gameto masculino. Los retrotransposones constituyen la mayoría de los elementos transponibles en el genoma y pueden crear alteraciones hereditarias del genoma. Los transposones pueden modular la expresión génica mediante una variedad de mecanismos, como la modulación de elementos reguladores dentro de las regiones promotoras o la generación de elementos funcionales no codificantes que impactarán en la transcripción y traducción génica. La actividad del transposón potencialmente dañina en el genoma es reprimida por la metilación de las secuencias de ADN del transposón. Sin embargo, la demetilación de todo el genoma que se produce durante la reprogramación de las CPGs masculinas fetales podría dejar al genoma de las células germinales vulnerable a una mayor transposición. Por lo tanto, los procesos que rigen la metilación del ADN de los transposones durante el desarrollo de las células germinales masculinas son esenciales para proteger el genoma contra la actividad no deseada de los elementos transponibles (O'Donnell et al. 2017).

1.4.3 Metabolismo de carbohidratos en el testículo

En los testículos, el metabolismo de la glucosa es un evento fundamental, ya que, por una parte, el mantenimiento de la espermatogénesis *in vivo* depende del metabolismo de la glucosa, aunque haya bajos niveles de ésta en el líquido intratubular (debido a su rápido metabolismo). Por lo que su transporte y el de otros intermediarios metabólicos sanguíneos a las células germinales está altamente controlado, principalmente debido a la presencia de la barrera hematotesticular. Esta barrera también es responsable de mantener diferentes niveles de sustancias y metabolitos entre el fluido del *rete testis* y la linfa o el plasma. Además de ser responsables del transporte de agua desde el espacio intersticial a la luz, las células de Sertoli también controlan el fluido seminífero, el pH y la composición iónica. Este tipo celular es bien conocido por su capacidad para producir lactato que, junto con el piruvato, se consumen a tasas elevadas por los espermátocitos paquitenos y las espermátides redondas (Figura 8) (Alves et al. 2013a).

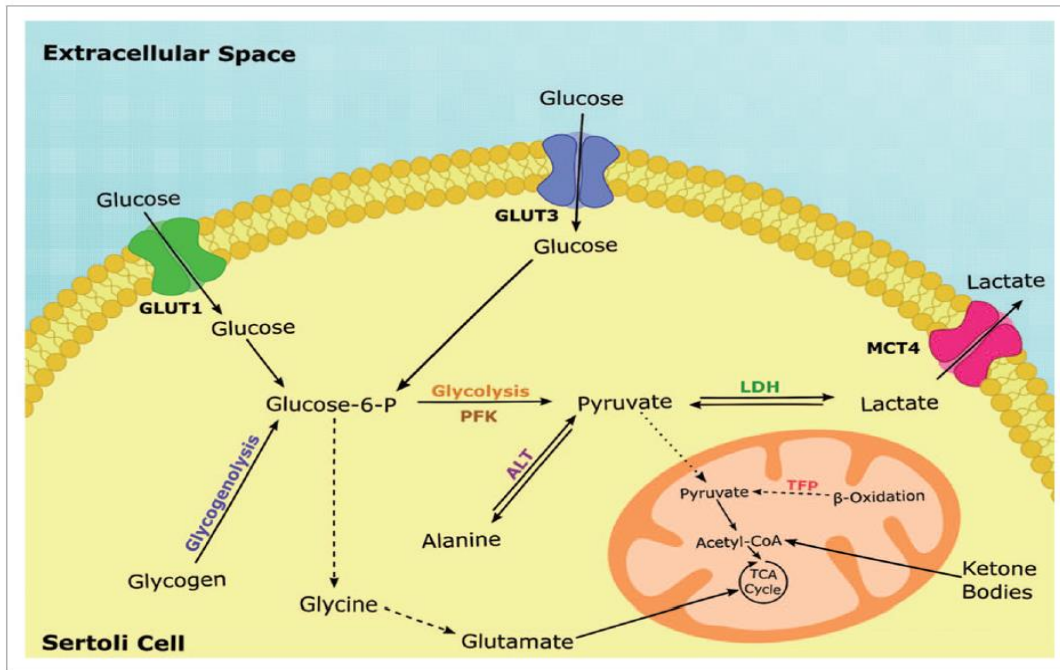


Figura 8. Ilustración esquemática de las principales vías metabólicas de las células de Sertoli (SC). Las SC son capaces de consumir glucosa, lactato, ácidos grasos y aminoácidos; sin embargo, metabolizan activamente la glucosa, siendo la mayoría convertida en lactato y no oxidada en el ciclo TCA. El lactato y el piruvato extracelular se transportan a través de los miembros de la familia de transportadores de membrana plasmática unidos a protones que transportan moléculas que tienen un grupo carboxilato, los transportadores de monocarboxilato (MCT4), mientras que la glucosa se importa a través de miembros específicos de la familia de proteínas de membrana llamados transportadores de glucosa (GLUT1 y GLUT3). Una vez que la glucosa ingresa a la vía glucolítica, se descompone en piruvato que puede (1) convertirse en lactato mediante lactato deshidrogenasa, (2) convertirse en alanina mediante alanina transaminasa o (3) transportarse a la matriz mitocondrial, oxidarse y descarboxilarse mediante la piruvato deshidrogenasa forma los dos carbonos intermedios Acetil-CoA que pueden entrar en el ciclo TCA. La oxidación de estos sustratos se combina con la fosforilación de ADP a través de la cadena de transporte de electrones para formar ATP. Abreviaturas: TCA, ácido tricarbóxico; GLUT, transportador de glucosa; MCT, transportador de monocarboxilato; ALT, alanina transaminasa; LDH, lactato deshidrogenasa; PFK, fosfofructoquinasa; TFP, proteína trifuncional. Siglas de acuerdo con su significado en inglés (Alves et al. 2013b).

Dentro de los testículos, las células de Sertoli presentan un alto flujo glucolítico, crucial para mantener las necesidades energéticas para el desarrollo de las células granulares. La supervivencia de los espermatocitos en paquiteno depende del lactato y piruvato suministrados por las células de Sertoli. Estos sustratos son conocidos por estimular la síntesis de proteínas y ARN en espermátides. El lactato es más que un sustrato metabólico, ya que puede controlar el desarrollo de las células espermátogénicas a través de una vía compleja. Las células de Sertoli dependen de la oxidación de ácidos grasos para mantener sus necesidades energéticas, fagocitan y degradan las células espermátogénicas apoptóticas y los cuerpos residuales para formar lípidos que luego pueden reutilizarse para producir ATP durante la espermátogénesis. En particular, las

células de Sertoli adaptan su metabolismo para garantizar una concentración adecuada de lactato en el líquido intratubular, que es el microambiente donde se desarrollan las células germinales. De hecho, la producción de lactato por células de Sertoli depende de varias vías metabólicas (Figura 8). La glucosa es transportada a través de la barrera hematotesticular por transportadores específicos de glucosa (GLUTs). Luego, sigue a la glucólisis para producir piruvato, que se convierte en lactato por la acción de lactato deshidrogenasa (LDH). El lactato se exporta, a través de la acción de los transportadores de monocarboxilato (MCT) al líquido intratubular, donde las células germinales lo absorben a través de la acción de los MCT. Sin embargo, este no es un proceso simple ya que las células germinales presentan requisitos metabólicos específicos que se alteran a lo largo de su desarrollo. La espermatogonia, que se encuentra en el compartimento basal de la barrera hematotesticular, utiliza la glucosa como combustible para la producción de ATP, mientras que los espermatoцитos en paquitenio metabolizan activamente los ácidos grasos. Cabe destacar que los espermatozoides presentan dos características muy particulares: 1) solo usan glucosa o fructosa para su metabolismo energético, exhibiendo la mayor actividad glucolítica y la menor actividad del ciclo de Krebs en comparación con todas las células germinales; 2) su producción energética está compartimentada, ya que las mitocondrias (y por lo tanto la fosforilación oxidativa) se encuentran en la zona media, mientras que la glucólisis ocurre en la zona principal (Alves et al. 2014).

El transporte pasivo de glucosa a través de la barrera hematotesticular es mediado por GLUTs y es un evento importante para la espermatogénesis. En las células de Sertoli, se han identificado las isoformas GLUT1, GLUT3 y GLUT8 como componentes principales en la barrera hematotesticular. La expresión de GLUT1 y GLUT3 ha mostrado ser sensible a varias sustancias como hormonas, citocinas o factores de crecimiento, que se sabe que regulan la absorción de glucosa por las células de Sertoli. Estudios recientes *in vitro* han reportado que cuando la glucosa o la insulina se eliminan del medio extracelular, las células de Sertoli son capaces de adaptar su maquinaria de transporte de glucosa para asegurar la producción adecuada de lactato. La LDH es fundamental para la producción continua de ATP por glucólisis. Además, las células germinales expresan una isoenzima específica de LDH, conocida como LDH tipo C, que es abundante en espermátides y espermatozoides (Alves et al. 2013a).

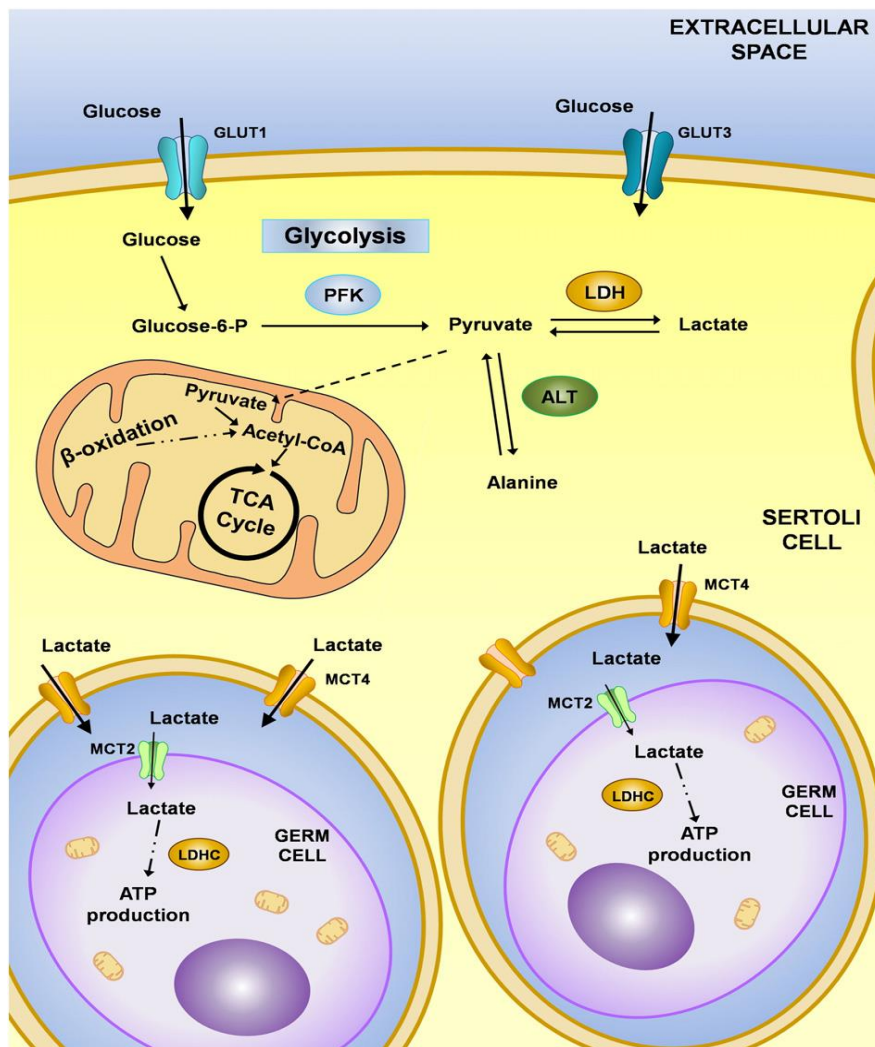


Figura 9. Ilustración esquemática de la cooperación metabólica entre las células de Sertoli y las CG a través de los transportadores de glucosa, principalmente GLUT1 y GLUT3, y es convertida en glucosa-6-fosfato que después se transforma en piruvato por acción de la fosfofructoquinasa (PFK). El piruvato después puede ser: a) transportado dentro de la matriz mitocondrial para formar acetil-CoA; b) convertido en lactato por la LDH; o c) convertido en alanina por alanina aminotransferasa (ALT). El lactato producido por las células de Sertoli es exportado al fluido intratubular por un protón unido a transportadores membranales plasmáticos (MCTs), principalmente MCT4. Las CG consumen el lactato producido por las células de Sertoli a través de los MCTs, el cual es dirigido para la producción de ATP (Alves et al. 2013a).

Después de la absorción de glucosa por las células de Sertoli y la conversión de piruvato a lactato por LDH, es imperativo que este producto de la glucólisis esté disponible para las células germinales en desarrollo (Figura 9). Este evento está mediado por transportadores activos de monocarboxilato de membrana (MCT) que son responsables del transporte de lactato a través de la membrana plasmática de las células de Sertoli. La base molecular del metabolismo de la

glucosa y la importancia de sus subproductos en los testículos van más allá del mantenimiento del estado nutricional de las células germinales. Pacientes que sufren de subfertilidad e infertilidad tienen problemas en la función espermática en lugar de falta de espermatozoides. Las células de Sertoli exhiben una cooperación metabólica particular, ya que las células germinales en desarrollo dependen del lactato producido por las células de Sertoli como combustible metabólico. Las células de Sertoli tienen características metabólicas únicas que les permiten mantener un alto flujo glucolítico para satisfacer las necesidades energéticas de las células germinales en desarrollo. La mayoría de la glucosa consumida por las células de Sertoli se convierte en lactato y el 25% del piruvato derivado de la glucosa se oxida a través del ciclo de Krebs (Robinson y Fritz 1981). El metabolismo de las células de Sertoli está modulado por hormonas esteroides sexuales, melatonina e insulina, lo que demuestra que las hormonas, también controlan la espermatogénesis al modular esta cooperación metabólica (Alves et al. 2014).

La espermatogénesis depende en gran medida del transporte de intermediarios metabólicos desde la sangre hasta las células germinales. Las células de Sertoli son responsables de la conversión de glucosa en lactato. La espermatogénesis se basa en un funcionamiento adecuado de la glucólisis en las células de Sertoli. El acetato es un metabolito central para la síntesis de ácidos grasos y colesterol. El acetato producido por las células de Sertoli se usa durante el desarrollo de células germinales para mantener una alta tasa de síntesis lipídica, que es un proceso esencial para la remodelación constante de la membrana. Los niveles de ATP en los espermatozoides (Figura 10) son mantenidos por sustratos glucolíticos y no glucolíticos, ya que tanto la glucólisis como la respiración mitocondrial son activas en los espermatozoides de los mamíferos. Sin embargo, la formación de espermatozoides se estimula por la glucosa. La pérdida de la competencia funcional de los espermatozoides a menudo se asocia al estrés oxidativo que surge del metabolismo de los espermatozoides, ya que la capacitación de los espermatozoides se logra mediante modificaciones bioquímicas y metabólicas. Por lo tanto, la remodelación metabólica de las células de Sertoli hacia la fosforilación oxidativa (en lugar de la glucólisis) y el impedimento de la exportación de lactato puede proporcionar un mecanismo reversible para detener la espermatogénesis. El metabolismo de la glucosa también es esencial en los espermatozoides, ya que proporciona el ATP necesario para la motilidad, hiperactivación y capacitación de los espermatozoides. Entre las enzimas glucolíticas específicas de los espermatozoides, la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa-S (GAPDH), la fosfoglicerato quinasa-2 (PGK2) y la

LDHC4, están codificadas por genes que solo se expresan durante la espermatogénesis. El gen de GAPDHS, solo se expresa durante la espermatogénesis, que cataliza la conversión de gliceraldehído 3-fosfato en 1,3-bisfosfato de D-glicerato, y es la única GAPDH expresada en esperma (Figura 10), se requiere para la motilidad del esperma y la fertilidad masculina. En particular, el patrón de expresión de las subunidades de LDH es muy específico durante el desarrollo de las células germinales. La isoforma LDHC puede detectarse en espermatoцитos preleptoteno y es abundante en espermátides y espermatozoides, mientras que las LDHA y LDHB están presentes en espermatogonias, espermatoцитos y espermátides (Alves et al. 2014).

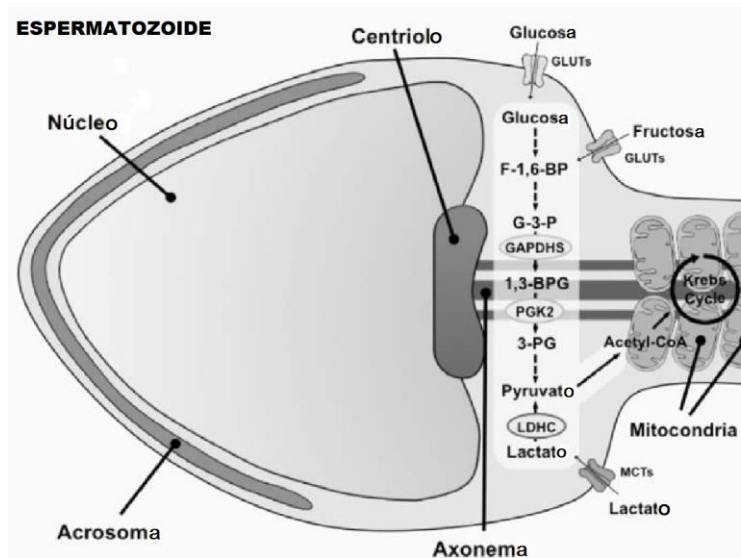


Figura 10. Diagrama esquemático del metabolismo de los espermatozoides. Los espermatozoides solo usan glucosa o fructosa para su metabolismo energético. Estos procesos están compartimentados ya que las mitocondrias (la fosforilación oxidativa) se encuentran en la pieza media, mientras que la glucólisis ocurre en la pieza principal. La glucosa en los espermatozoides proporciona ATP necesario para la motilidad, hiperactivación y capacitación de los espermatozoides. Hay varias enzimas glucolíticas específicas de los espermatozoides codificadas por genes que solo se expresan durante la espermatogénesis, incluyendo: gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa-S (GAPDHS), fosfoglicerato quinasa-2 (PGK2) y LDHC4, que si se inhiben selectivamente, pueden dificultar la funcionalidad del esperma (Alves et al. 2014).

1.5 Tejido adiposo

El tejido adiposo (TA) es un órgano endocrino y metabólicamente activo, que regula la alimentación y el metabolismo en respuesta a las variaciones de energía (McGown et al. 2014). Este gran órgano en animales delgados pesa entre el 15% y 20% del peso corporal total y está compuesto por dos tejidos: el tejido adiposo blanco (TAB) y el pardo (Cinti 2018). El TAB se organiza en depósitos anatómicos discretos identificados como TA subcutáneo y visceral, el

primero se distribuye por debajo de la piel, mientras que el visceral se localiza en la cavidad del tronco en humanos y ratones (Sánchez-Gurmaches y Guertin 2014), y como su nombre lo indica, se ubica cerca o rodeando algunos órganos de la cavidad visceral (coloquialmente denominados vísceras). Su presencia también se encuentra en la piel, el timo, los ganglios linfáticos, la médula ósea, la parótida, el páncreas y otros tejidos. Este TAB puede comprender desde un 5 y hasta 50% del peso corporal, en comparación con el TA pardo, cuya proporción disminuye con la edad, sin embargo, es importante destacar que no existen límites anatómicos claros entre estos dos tipos de TA (Cinti 2007). Los adipocitos pardos están presentes en todos los depósitos subcutáneos (incluidos los límbicos) y viscerales del órgano adiposo ya mencionados, pero las zonas más constantes en jóvenes y adultos en condiciones estándar son la intraescapular, subescapular, axilar y áreas cervicales del depósito anterior subcutáneo. Así como en la parte inguinal del depósito posterior subcutáneo, la parte periaortal del mediastino y la parte interrenal (cerca del hilio de ambos riñones) del depósito perirrenal (Cinti 2007).

Las cantidades relativas de adipocitos blancos y pardos son determinadas genéticamente y dependen de varios factores (principalmente la edad, sexo, temperatura ambiental y estado nutricional). Se han descrito dos tipos adicionales de adipocitos: los beige y rosa (Figura 11). Los primeros presentan características de células grasas tanto cafés como blancas y típicamente se desarrollan dentro del TAB subcutáneo a partir de un subconjunto distinto de preadipocitos, pues análisis de expresión genética indican que las células grasas beige representan un tipo distinto de célula grasa termogénica (Richard et al. 2020). Originalmente se observó que los adipocitos beige surgían en respuesta a la exposición al frío en roedores (Young et al. 1984); ahora se ha identificado que la dieta, el ejercicio, los fármacos pre y probióticos, los agentes farmacéuticos, numerosos bioactivos de origen vegetal e incluso las adipocinas también pueden inducir el "beigismo" u "oscurecimiento" del TAB, que puede proteger contra la obesidad y la disfunción metabólica asociada (Richard et al. 2020). El "beigismo" del TAB es inducible tanto en ratones como en humanos (Ikeda et al. 2018), pero este proceso se observa más en ratones.

Los adipocitos rosados se describieron por primera vez en 2014, surgiendo en el TAB subcutáneo de hembras de ratón durante los días 17-18 de gestación y persistieron durante la lactancia. Estas células grasas parecen derivar de los adipocitos blancos que adquieren características de tipo epitelial para formar alvéolos secretores de leche, lo que le da al tejido un tono rosado (Giordano et al. 2014). Estos adipocitos se caracterizan por gotitas de lípidos compartimentadas, proyecciones citoplasmáticas y orgánulos abundantes que incluyen mitocondrias, peroxisomas y

retículo endoplásmico rugoso, con una estructura más típica de las células epiteliales. Si bien la transdiferenciación reversible parece ser responsable del desarrollo y desaparición de los adipocitos rosados durante el embarazo, la lactancia y la postlactancia en roedores (Cinti 2018), sigue siendo incierto si se forman o no adipocitos rosados en los seres humanos (Giordano et al. 2014).



Figura 11. Tipos de adipocitos y su respectiva distribución de principales organelos (Richard et al. 2020).

Los tipos de adipocitos se diferencian especialmente por su color y su principal característica depende de la capacidad para almacenar lípidos; los adipocitos blancos, marrones, beige y rosados comparten esta propiedad. Sin embargo, cada tipo de célula adiposa es especializada y tiene una distribución intracelular de organelos y perfil de expresión génica distintos. Todos los adipocitos tienen aparte de Golgi y retículo endoplásmico, pero su proporción varía dependiendo del tipo del que se trate (Figura 11) (Richard et al. 2020).

1.5.1 Depósitos de grasa en el cuerpo

El órgano adiposo es un órgano con múltiples depósitos cuya fisiología y ambiente metabólico e inmunológico difieren entre sí de forma compleja dependiendo de la zona anatómica en que se encuentran. Aunque existen diferencias entre estos depósitos grasos entre mamíferos, también hay relaciones análogas en el contexto de la adiposidad asociada con el sobrepeso y la obesidad

entre humanos y algunos roedores (Chusyd et al. 2016). Durante el aumento de peso, diferentes depósitos se agrandan a través de hiperplasia, hipertrofia o ambas (Tchoukalova et al. 2010), y los nuevos adipocitos se generan más fácilmente en algunos depósitos en comparación con otros. Las diferencias de agrandamiento fisiológico entre depósitos probablemente estén influenciadas por factores tanto extrínsecos como intrínsecos, independientemente de la diferencia entre roedores y humanos. Hay tres depósitos de grasa anatómicos humanos regionales principales: intrabdominal, subcutáneo de la parte superior del cuerpo/abdominal y subcutáneo de la parte inferior del cuerpo (Figura 12). Intrabdominal se refiere al TA visceral (TAV), que rodea los órganos internos y además se puede dividir en omental, mesentérico, retroperitoneal, gonadal y pericárdico. El TA subcutáneo (TAS) de la parte superior del cuerpo se puede categorizar según se encuentre superficial o profundamente hacia la fascia superficial. El TA debajo de la fascia es el compartimiento del TAS profundo, mientras que el TA ubicado superficialmente a esta fascia es el compartimiento del subcutáneo superficial. Aunque el TAS se distribuye por todo el cuerpo humano, los depósitos principales se encuentran en el abdomen, las nalgas y los muslos. Las nalgas y los muslos forman el TAS de la parte inferior del cuerpo y se denominan depósito glúteofemoral (Chusyd et al. 2016).

Al igual que los humanos, el tejido adiposo en los roedores es un órgano con múltiples depósitos (Figura 12), pero a diferencia de los humanos, que tienen dos depósitos subcutáneos principales ubicados en la región abdominal y glúteofemoral, los roedores tienen dos almohadillas subcutáneas principales ubicadas en la parte anterior y posterior. La almohadilla anterior se ubica entre las escápulas, descendiendo desde el cuello hasta las axilas, mientras que la almohadilla posterior, o almohadilla grasa inguinal, se extiende desde la región dorsolumbar hasta la región glútea. La almohadilla de grasa inguinal es comparable en términos de ubicación al gran depósito subcutáneo glúteofemoral en humanos (Chusyd et al. 2016). Hay bolsas de grasa visceral ubicadas dentro del tórax (mediastino) y abdomen (omental, mesentérico, perirrenal, retroperitoneal, parametrial, periovárico, epididimal y perivescical) (Sebo y Rodeheffer 2019). En la región perigonadal, estas bolsas son conocidas como epidídimales en los machos y periováricas en las hembras, las bolsas de grasa retroperitoneales se ubican en los riñones y la bolsa de grasa mesentérica a lo largo del tracto intestinal. La almohadilla de grasa mesentérica es ampliamente promocionada como la más análoga al TA intrabdominal humano tanto en su ubicación como en su biología, porque tiene acceso a la vena porta. Sin embargo, este depósito no está bien estudiado en roedores (Chusyd et al. 2016). Los depósitos subcutáneos discretos

también se encuentran a nivel de las principales articulaciones de las extremidades. Es bien sabido que el dimorfismo sexual está asociado con el almacenamiento e incremento del TAB, y en el caso de modelos animales como los roedores, ocurren varias similitudes en este contexto. Además, se ha reconocido que el desarrollo de depósitos adiposos durante el balance energético positivo difiere según el sexo. Hasta la fecha, el dimorfismo sexual observado en humanos está menos documentado en roedores (Grove et al. 2010; Macotela et al. 2009), aunque se han hecho algunas inferencias. Al igual que los humanos, las ratas hembra tienen niveles de leptina en plasma más altos en comparación con los machos (Clegg et al. 2006), independientemente de las diferencias en la composición corporal (Wu-Peng et al. 1999). Pero los machos han demostrado mayor sensibilidad central a la insulina (Clegg et al. 2006).

Los adipocitos blancos son capaces de almacenar y liberar moléculas muy energéticas conocidas como ácidos grasos. Su morfología es ideal para obtener la mayor concentración de moléculas utilizadas para hacer energía en un mínimo espacio (Cinti 2018). De hecho, la mejor forma geométrica para este logro es la forma esférica y los adipocitos son células esféricas que asumen esta forma en etapas muy tempranas de desarrollo (Figura 11 y 13). Su anatomía es bastante simple porque alrededor del 90% de su volumen está ocupado por una sola gota de TAG (gota lipídica) (Figura 13). Esta gota lipídica está contenida en el citoplasma, pero no está delimitada por una membrana plasmática, como lo están otros organelos. En la interfaz con el citoplasma, esta gota presenta una línea densa, visible por microscopía electrónica, debido a la presencia de proteínas que juegan un papel importante en la fisiología de transporte y metabolismo de los ácidos grasos. Una de estas proteínas es la perilipina 1 (PLIN1), que protege a la gota lipídica de la lipólisis (Cinti 2018).

En los adipocitos blancos, sorprendentemente, el citoplasma y los organelos no se distribuyen uniformemente alrededor del borde de la célula, sino que forman numerosos nódulos citoplasmáticos discretos conectados a través de una capa delgada de citoplasma. El nódulo más grande también contiene el núcleo, que está rodeado por una capa más gruesa de citoplasma (Figura 13) (Cinti 2018).

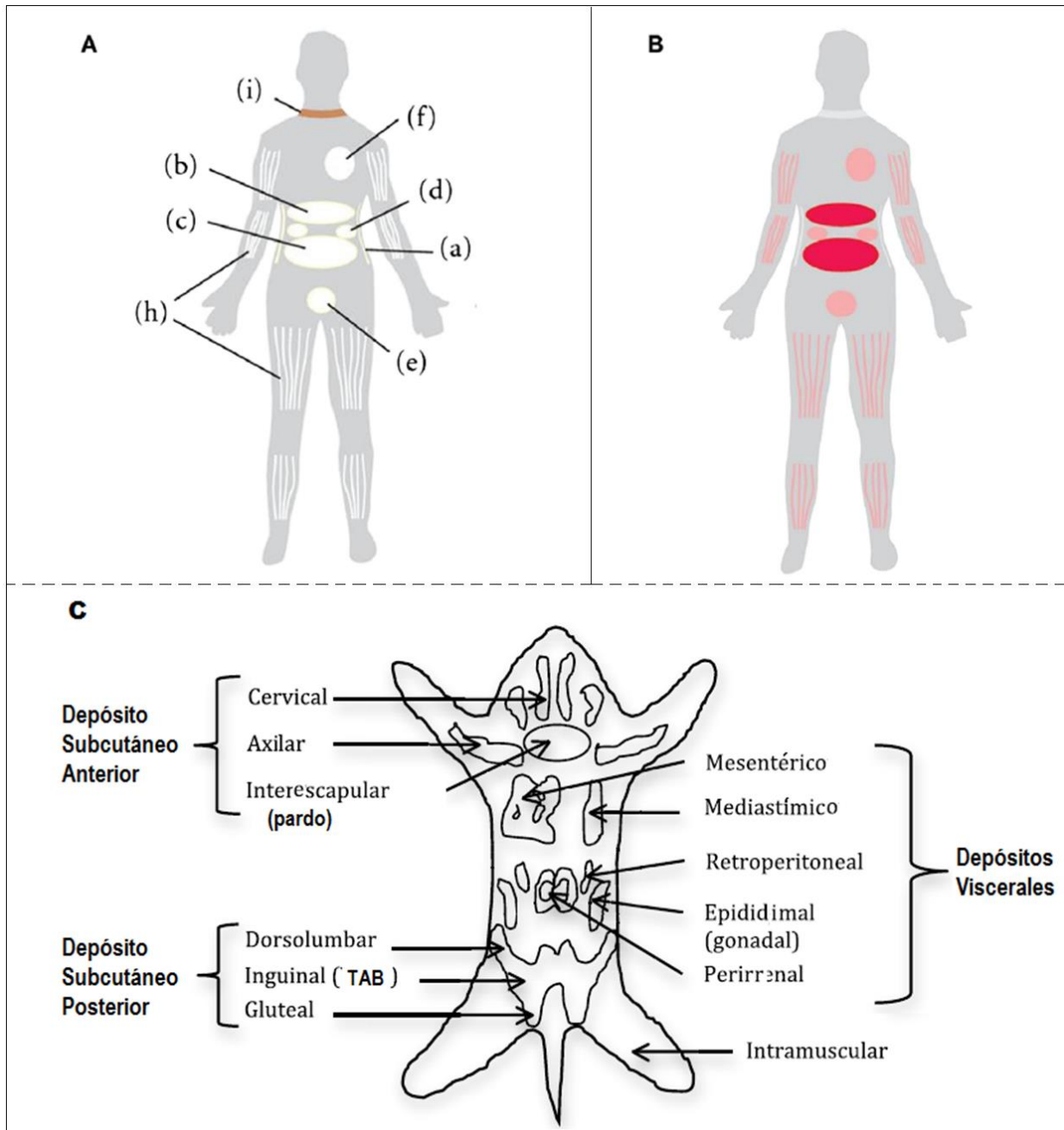


Figura 12. Distribución frontal de los principales depósitos de grasa en humanos (A) en condiciones normales. El TAB se encuentra en el tejido adiposo subcutáneo (TAS) abdominal (a) e intramuscularmente (h). Así como en el tejido adiposo visceral (TAV), cuyos depósitos son omental (b), mesentérico (c), retroperitoneal (d), gonadal (e) y pericárdico (f). El tejido adiposo pardo se encuentra supraclavicularmente (i). Aquellos depósitos asociados con el riesgo de padecer comorbilidades y mortalidad relacionadas con la obesidad se marcan en rojo (B). Distribución frontal de almohadillas de grasa en ratón (C), conformadas por grasa subcutánea y visceral (modificado de Chusyd et al. 2016).

Además, se pueden visualizar gotas de lípidos nacientes adicionales que brotan del retículo endoplásmico liso (Richard et al. 2020). Los organelos de estas células se pueden apreciar

claramente con microscopía electrónica (Figura 13). El núcleo tiene forma de media luna exprimido por la gota de lípido en la periferia de la célula, tanto en adipocitos maduros como en desarrollo, incluso desde etapas muy tempranas de su desarrollo. Las mitocondrias de estos adipocitos son delgadas, alargadas y forman una red ramificada visible mediante técnicas de microscopía confocal (Detmer y Chan 2007). Por microscopía electrónica se pueden distinguir sus crestas cortas y orientadas aleatoriamente. El retículo endoplásmico está compuesto por cisternas lineales alargadas en la parte rugosa y pequeñas cisternas en la parte lisa. Este último suele estar en contacto con la superficie lipídica, lo que sugiere relaciones funcionales. El aparato de Golgi suele ser pequeño y se ubica en el área perinuclear. Una serie de microvesículas de varios tamaños a menudo se difunden en el borde delgado del citoplasma. Varias vesículas pinocitóticas están presentes en la membrana celular. En el lado externo de la membrana celular, una lámina externa distintiva es visible por microscopía electrónica. Su composición molecular es similar a la de otras células derivadas del mesénquima, como las células musculares. Los datos de inmunohistoquímica han mostrado la presencia de colágeno IV, laminina y heparín-sulfato que corresponden con la lámina externa en adipocitos subcutáneos humanos maduros (Cinti 2018).

El tamaño de los adipocitos maduros es variable y depende de la técnica utilizada para su determinación (Figura 13). Datos de grasa fresca fijada muestran que cerca de un 20% a 30% son más largos que aquellos reportados usualmente en tejido incluido en parafina. En los adultos delgados de pequeños mamíferos, los adipocitos más grandes generalmente se localizan en la grasa subcutánea abdominal y perigonadal visceral con tamaños que varían de 50 a 70 μm de diámetro. Los adipocitos blancos más pequeños generalmente se encuentran en otros depósitos viscerales o intraorgánicamente (médula ósea, glándula paratiroidea, glándula parótida, corazón, timo, tracto gastrointestinal, músculos esqueléticos y ganglios linfáticos). Su tamaño es variable, pero aproximadamente se puede considerar alrededor de $2/3$ del de los adipocitos blancos subcutáneos.

Los adipocitos blancos se organizan para formar el TAB (Figura 13) porque su color es blanco en los pequeños mamíferos, pero en los humanos parece amarillo. Este tejido está compuesto por varios tipos celulares (Figura 14), que incluyen células vasculares (endotelio, pericitos, células musculares y células adventicias), nerviosas (células de Schwann, células perineurales y neuronas) e inmunitarias (macrófagos, eosinófilos, linfocitos y mastocitos) (Cinti 2018).

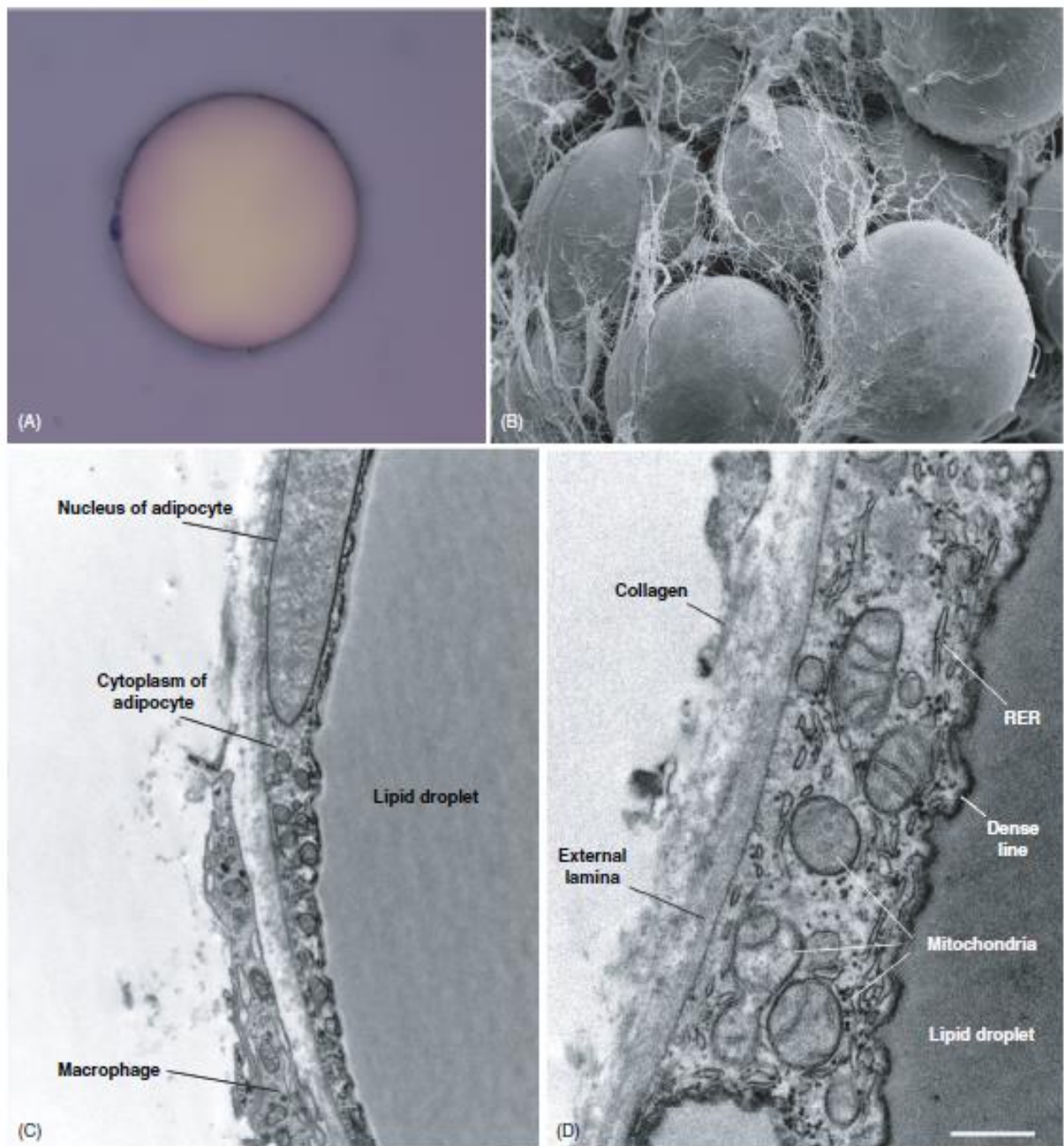


Figura 13. Morfología de un adipocito humano aislado, visto a través de microscopía óptica (A) y microscopía electrónica (A). TAB murino (B, por microscopía electrónica de barrido). Adipocitos subcutáneos humanos (C y D, microscopía electrónica de transmisión). Escala: en A, 15 μ m; en B, 20 μ m; en C, 1.2 μ m y en D 0.3 μ m (Cinti 2018).

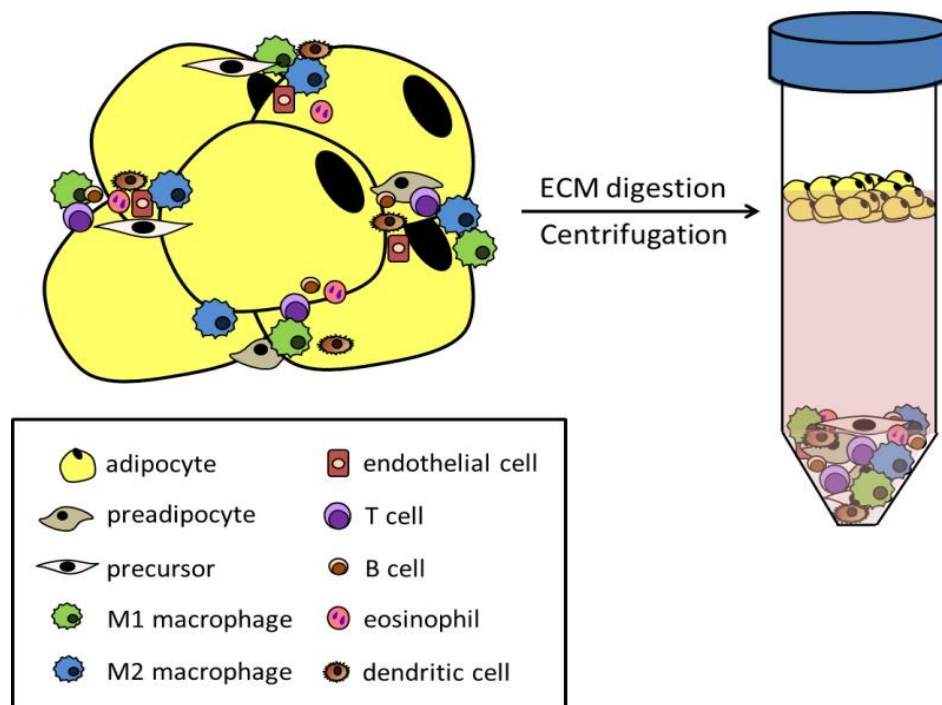


Figura 14. Algunos tipos celulares constituyentes del TAB. Izquierda: adipocitos funcionales maduros, células precursoras y células relacionadas con la vasculatura y función inmunológica. Derecha: las células no adipocitarias se denominan colectivamente fracción vascular estromal (FVS), y la FVS puede separarse de los adipocitos que contienen lípidos digiriendo la matriz extracelular y centrifugando la mezcla celular. La FVS forma un gránulo en la parte inferior del tubo, mientras que los adipocitos flotan y forman una capa lipídica visible en la parte superior del medio acuoso. Esta técnica de separación es fundamental para estudiar la composición celular del tejido adiposo y obtener información sobre las funciones individuales de estos diversos y distintos tipos de células en condiciones fisiológicas y fisiopatológicas (Richard et al. 2020).

Los fibroblastos y las células inmunitarias son las células intersticiales más comunes que se encuentran en el TAB. Una cantidad variable de precursores de adipocitos suele estar presente en el espacio pericapilar (MacDougald y Lane 1995; Pellegrinelli et al. 2016; Sun et al. 2011). Los fibroblastos tienen forma de huso y se caracterizan por presentar abundante RER dilatado. Son responsables de la formación de la matriz extracelular, incluidas las fibrillas de colágeno. Los macrófagos tienen forma irregular con proyecciones citoplasmáticas delgadas y sinuosas alargadas, abundantes lisosomas primarios y secundarios y aparato de Golgi bien desarrollado. Los eosinófilos muestran gránulos clásicos con un cristal discoide en posición ecuatorial. Los linfocitos tienen una relación núcleo/citoplasma muy alta, con heterocromatina nuclear característica. Los mastocitos son redondeados, enriquecidos con grandes gránulos citoplasmáticos densos y estructurados. Estos cinco tipos celulares carecen de membrana externa,

que, en cambio, es una característica distintiva de los adipocitos y precursores de adipocitos. A menudo hay pequeñas gotas de lípidos y gránulos de glucógeno. Las células vasculares y nerviosas, además de sus características ultraestructurales celulares específicas, presentan relaciones topográficas, intrínsecas a su organización anatómica, lo que permite una identificación aún más fácil por microscopio electrónico (Cinti 2018). El TAB tiene una densa inervación vascular y nerviosa, formada por fibras nerviosas noradrenérgicas amielínicas y nervios sensibles mielinizados. Muchas fibras están presentes en las áreas perivasculares, pero también se pueden encontrar pequeñas fibras noradrenérgicas raras en el parénquima (es decir, en contacto con adipocitos) (Cinti 2018).

El órgano adiposo se difunde en el organismo y la mayoría de sus depósitos reciben irrigación vascular a través de haces vasculares regionales nerviosos parietales o viscerales. Los haces específicos están presentes en los dos depósitos subcutáneos principales (órgano adiposo murino). El depósito subcutáneo anterior está formado por dos haces simétricos que llegan al depósito en las extremidades laterales. En los haces laterales superiores, están presentes cuatro nervios grandes y dos pequeños. El mismo paquete también contiene una arteria y una vena. El haz lateral inferior no contiene nervios, solo tiene una arteria y una vena. El depósito subcutáneo posterior es alcanzado por dos haces vasculares-nerviosos principales. El primero es colateral del tracto vascular-nervio femoral y llega al depósito en la parte inguinal; el segundo es un pedúnculo del haz parietal y alcanza el depósito en la parte dorsolumbar. La extensión de la red capilar es bastante diferente en las partes blancas y marrones del órgano. En las zonas marrones la densidad de los capilares es mucho mayor que en las zonas blancas (Cinti 2007; Li et al. 2019).

1.5.2 Síntesis de ácidos grasos, lipogénesis y lipólisis

La primera función reconocida de los adipocitos fue el almacenamiento de energía en forma de triacilgliceroles o triacilglicéridos (TAG). Así, el TA almacena la grasa corporal como TAG neutrales y representa el principal depósito de energía dentro de los mamíferos. Los adipocitos blancos se caracterizan por sus grandes gotas lipídicas centrales uniloculares. Sin embargo, la biogénesis de las gotas lipídicas uniloculares en los adipocitos no se comprende bien debido a la frágil naturaleza del TAB (Richard et al. 2020). Los adipocitos almacenan TAG en condiciones de exceso de energía y liberan ácidos grasos para suministrarlos a otros tejidos durante el ayuno o momentos de alta demanda energética. Como tal, el TA es fundamental para la regulación del metabolismo de los lípidos sistémicos, y sus señales nutricionales y hormonales sirven para equilibrar el almacenamiento y la degradación de los lípidos dentro de la célula adiposa. El

almacenamiento se lleva a cabo a través de dos procesos (Figura 15). En el primero, en condiciones normales de alimentación diaria, los adipocitos absorben los lípidos de la dieta de la circulación en forma de ácidos grasos libres, liberados de los TAG circulantes mediante la acción de la lipoproteína lipasa (LPL) (Kersten 2014). Los adipocitos secretan LPL, que se transporta a la luz capilar adyacente para catalizar la hidrólisis de los ácidos grasos libres de las lipoproteínas circulantes que contienen triglicéridos, como los quilomicrones producidos en el intestino delgado y las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) sintetizadas por el hígado (Luo y Liu 2016). Los adipocitos también absorben glucosa, que se convierte en glicerol para la esterificación secuencial de ácidos grasos para formar TAG. El paso final en la síntesis de TAG es la reesterificación de ácidos grasos libres circulantes, mediada por diacilglicerol aciltransferasa (Smith et al. 2000).

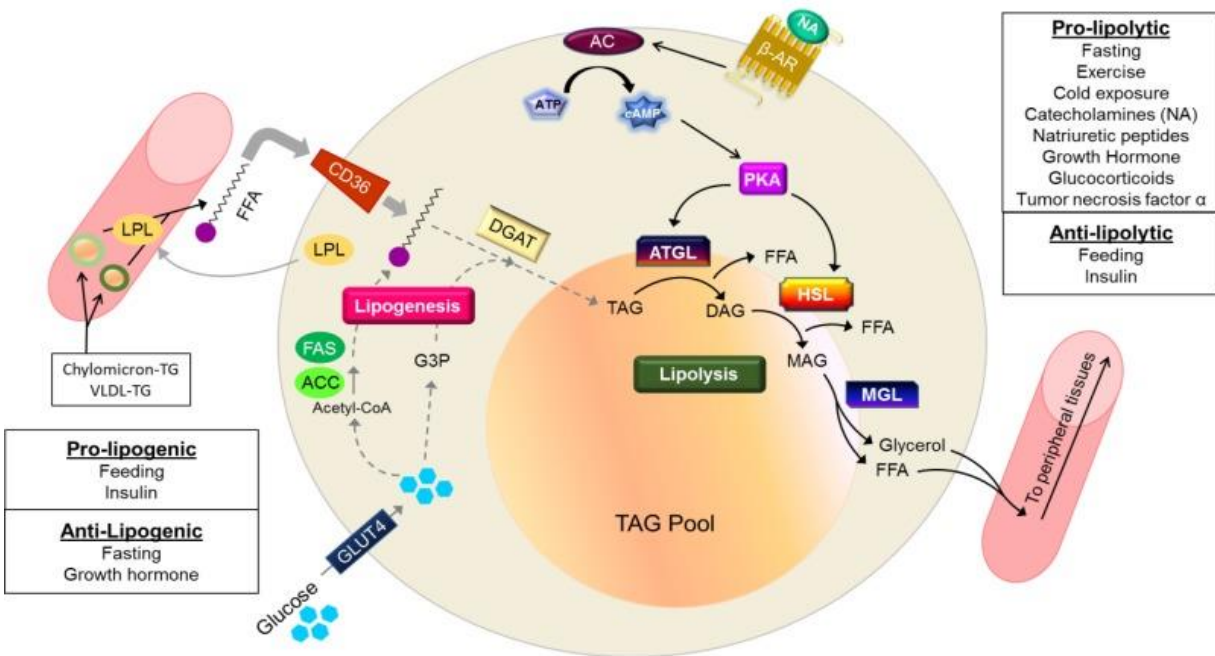


Figura 15. Se debe establecer un equilibrio crítico entre la lipogénesis y la lipólisis dentro de los adipocitos para mantener la sensibilidad a la insulina y la homeostasis energética de todo el cuerpo. La lipogénesis se muestra a la izquierda (las flechas grises marcan la vía), mientras que la lipólisis se muestra a la derecha y está marcada con flechas negras. Las señales nutricionales y hormonales regulan ambos procesos. Las proteínas asociadas a las gotitas de lípidos no se muestran, pero desempeñan funciones importantes en la lipólisis. CD36 es un transportador de ácidos grasos que facilita la entrada de ácidos grasos libres en la célula. La insulina estimula la captación de glucosa en las células grasas al aumentar la localización del transportador de glucosa sensible a la insulina, GLUT4, dentro de la membrana plasmática. Otras abreviaturas: VLDL-TG – lipoproteína de muy baja densidad que contiene triglicéridos; LPL – lipoproteína lipasa; ACC - acetil-CoA carboxilasa 1; FAS – ácido graso sintasa; G3P – glicerol 3 fosfato; DGAT - diacilglicerol aciltransferasa; β -AR – receptor β -adrenérgico; NA – noradrenalina; AC - adenilil ciclasa; PKA – proteína quinasa A; ATGL - triglicérido lipasa de adipocitos; HSL - lipasa sensible

a hormonas; MGL - monoacilglicerol lipasa; TAG; DAG – diacilglicerol; MAG – monoacilglicerol (Richard et al. 2020).

El segundo proceso es por lipogénesis *de novo*, a partir de acetil-coenzima A (acetil-CoA) se van esterificando los ácidos grasos a una cadena principal de glicerol que produce TAG (Figura 15), dentro de los propios adipocitos. La lipogénesis *de novo* puede ocurrir en los estados de ayuno y alimentación (Luo y Liu 2016). Después de una comida, especialmente una rica en carbohidratos, el exceso de oxidación de la glucosa produce niveles elevados de acetil-CoA que se convierten en sustrato para generar ácidos grasos. Esto ocurre a través de las acciones de las enzimas de la lipogénesis *de novo* acetil-CoA carboxilasa 1 y ácido graso sintasa para convertir acetil-CoA en palmitato, que luego puede alargarse y desaturarse para formar otras especies de ácidos grasos (Song et al. 2018).

En condiciones fisiológicas cuando los combustibles metabólicos son bajos y/o la demanda de energía es alta, como el ayuno, el ejercicio y la exposición al frío, los adipocitos movilizan sus reservas de TAG a través del proceso catabólico de la lipólisis para suministrar combustible a los tejidos periféricos (Braun et al. 2018). La lipólisis es un proceso bioquímico altamente regulado que genera glicerol y ácidos grasos libres a partir de la escisión enzimática de los TAG por las lipasas y puede ocurrir en todos los tejidos, aunque es más prevalente en el TAB, donde se almacena la mayor parte de los TAG. Estos TAG se descomponen en diacilgliceroles y monoacilgliceroles mediante la acción secuencial de la lipasa de triglicéridos de adipocitos, la lipasa sensible a hormonas y la lipasa de monoacilglicerol. En cada paso se libera un solo ácido graso, y en el paso final la monoacil glicerol lipasa libera el esqueleto de glicerol del último ácido graso. Estos productos de degradación pueden reesterificarse dentro del adipocito o liberarse a la circulación para ser utilizados por otros tejidos (Luo y Liu 2016, Braun et al. 2018).

El equilibrio entre el almacenamiento, la movilización y el uso de lípidos se regula homeostáticamente a través de una interacción compleja de señalización hormonal, entrada neurológica y flujo de nutrientes a menudo redundantes. Es por esto, que es importante resaltar algunas funciones endocrinológicas ya conocidas de los adipocitos blancos. Los adipocitos y otras células del TA secretan una variedad de mediadores, incluidos exosomas, micro ARN, lípidos, citocinas inflamatorias y hormonas peptídicas que actúan tanto paracrino como endocrinamente (Fasshauer y Blüher 2015). Aunque los adipocitos secretan una gran variedad de moléculas bioactivas (también llamadas adipocinas) con efectos sistémicos generalizados que contribuyen a numerosos procesos fisiológicos y patológicos, las acciones autocrinas y paracrinas

de estas moléculas son muy complejas y la comprensión de estos procesos aún es mínima. Sin embargo, se ha logrado un progreso sustancial en el estudio de tres hormonas endocrinas que se producen casi exclusivamente en los adipocitos y funcionan para regular la ingesta de alimentos, el eje reproductivo, la sensibilidad a la insulina y las respuestas inmunitarias. Estas hormonas son la leptina, adiponectina y resistina. La desregulación de cualquiera de estas hormonas puede contribuir a la disfunción metabólica sistémica, así como a la patogénesis de enfermedades metabólicas crónicas y algunos tipos de cáncer. A mediados de la década de 1980 se revelaron las funciones secretoras del TA y la producción de proteínas específicas de los adipocitos. Uno de los más importantes de estos descubrimientos fue el de la leptina, una hormona derivada de los adipocitos que claramente actúa no solo como una señal aferente de "adipostato" de masa grasa hacia los centros centrales del cerebro en la regulación del peso corporal, sino que también tiene acciones periféricas que impactan el metabolismo de la glucosa (Richard et al. 2020) y la función inmunológica (La Cava y Matarese 2004).

El TAB empieza su desarrollo *in útero*. Sin embargo, el momento y la velocidad de formación del TA varían entre especies (Nakagami 2013). En humanos se sabe que el TA (en forma de lóbulos de grasa sin almacenamiento de lípidos) aparece por primera vez entre las 14 y 24 (inicio del segundo trimestre) semanas de embarazo en ambos sexos (Poissonnet et al. 1983; 1984). El momento preciso puede depender hasta cierto punto del tamaño o peso fetal; los fetos más grandes desarrollan adipocitos identificables antes que los más pequeños. Para el tercer trimestre (28 semanas), los depósitos de tejido adiposo ya están establecidos (Poissonnet et al. 1984). En cambio, en los roedores, el TA se desarrolla principalmente entre el final de la gestación y las 4 semanas de edad post-natal (Greenwood y Hirsch 1974). Un estudio en el modelo de ratón llamado "AdipoChaser", un sistema que puede detectar los adipocitos ya presentes de los que se han formado recientemente, reveló que el desarrollo del TA subcutáneo ocurre temprano durante la embriogénesis, en los días embrionarios 14-18. Por el contrario, los adipocitos del epidídimo (perigonadales) se diferencian principalmente después del nacimiento (Wang et al. 2013), cuyas células precursoras no se encuentran en la almohadilla epididimaria naciente hasta el dPN 4 (Han et al. 2011).

El TA tanto en humanos como en roedores permanece hasta cierto punto en expansión desde el nacimiento hasta la adolescencia, pues en esta etapa, cesa dicha expansión. En los seres humanos, aproximadamente el 8% de los adipocitos se renuevan aproximadamente cada año, mientras que, en los ratones, el 0,6% de los adipocitos se renuevan cada día. Curiosamente, el número absoluto

de adipocitos renovados en individuos con obesidad es aproximadamente del doble en comparación con individuos delgados. Sin embargo, el mayor desarrollo del TA coincide con períodos de plasticidad, como la gestación y lactancia, cuando las señales hormonales, nutricionales y epigenéticas influenciadas por la madre probablemente programan cambios permanentes en el TA de la descendencia (Moreno-Méndez et al. 2020).

La comprensión inicial del origen de la capa germinal de los adipocitos se basó en análisis histológicos hechos por Walther Flemming en la década de 1870, observando longitudinalmente el desarrollo adiposo del ratón y descubriendo que al menos algunos adipocitos emergen de un análogo del tejido conectivo que se sabe, deriva del mesodermo. Por lo que, los adipocitos se han considerado un tipo celular predominantemente mesodérmico durante más de 100 años. Sin embargo, el mesodermo se compone de diminutos y numerosos progenitores celulares, cada uno con trayectorias de desarrollo únicas. Por lo tanto, clasificar a los adipocitos únicamente como células mesodérmicas es una excesiva simplificación. Existe una jerarquía de linaje notablemente compleja para los adipocitos derivados del mesodermo. El mesodermo se divide transitoriamente en tres subcapas después de la gastrulación: las somitas, las placas laterales y el mesodermo intermedio. Las somitas son las subcapas mesodérmicas más dorsales y se forman en segmentos diádicos a medida que el embrión se alarga posteriormente. Cada somita se divide en esclerotomo, miotomo y dermomioto (Figura 16). Las células progenitoras que componen estos dominios somáticos albergan distintos potenciales de desarrollo, donde el esclerotomo produce tejidos cartilagosos y osteoides de la columna vertebral, y el miotomo produce músculo. Por el contrario, los tipos celulares progenitores del dermomioto exhiben la mayor diversidad en el destino celular, dan lugar a la dermis de la espalda, así como a los adipocitos de varios depósitos adiposos. El mesodermo de la placa lateral se compone de dos bolsas simétricas bilateralmente que llenan la presunta región abdominal del embrión. Estas bolsas se dividen en capas espláncicas y somáticas (Figura 16), que también contribuyen a la formación de adipocitos en los depósitos subcutáneos viscerales y asociados a las extremidades. El mesodermo intermedio, que se intercala entre las somitas y las placas laterales, es el más pequeño de estos subcompartimentos, y contribuye con la mayor parte del tracto urogenital, pero no se ha demostrado que produzca adipocitos (Berry et al. 2018; Sebo y Rodeheffer 2019).

El metabolismo de los lípidos demuestra una modulación paralela de la acción de la insulina de los adipocitos y la sensibilidad a la insulina sistémica o la tolerancia a la glucosa. En roedores, la lipogénesis *de novo* es relativamente baja en el TAB y el hígado, y juega un papel aún menor en

el almacenamiento de lípidos de TAB en humanos en condiciones fisiológicas (Letexier et al. 2003). La actividad de la lipogénesis *de novo* hepática excede la del TA y es un contribuyente más sustancial a los lípidos circulantes generados por lipogénesis *de novo*. En los seres humanos alimentados con HCHD, la lipogénesis *de novo* hepática contribuye solo con una pequeña porción de la biosíntesis de la grasa total *de novo*, lo que sugiere que el TA contribuye significativamente a la lipogénesis *de novo* de todo el cuerpo cuando hay un excedente de carbohidratos (Song et al. 2018). La lipogénesis *de novo* de los adipocitos suele ser bastante baja, pero se ha demostrado que es importante para el metabolismo del sustrato de todo el cuerpo, ya que la inhibición de la lipogénesis *de novo* del TAB se asocia con la resistencia a la insulina (Kawahito et al. 2009; Crewe et al. 2019; Herman et al. 2012).

Después de una comida, el aumento posprandial de la insulina circulante suprime fácilmente la lipólisis al aumentar la actividad de la fosfodiesterasa 3 (PDE3B) y disminuye los niveles de AMPc. En ayunas, los niveles de insulina disminuyen y se libera noradrenalina, lo que promueve la lipólisis. Fisiológicamente, el ejercicio es otro importante estímulo pro-lipolítico en los seres humanos. La hormona del crecimiento, junto con la noradrenalina, la adrenalina y el cortisol aumentan con la intensidad del ejercicio, mientras que los niveles de insulina disminuyen. Estos cambios culminan en una respuesta lipolítica general, cuya magnitud depende de la intensidad y duración del ejercicio (Gjedsted et al. 2007; Nielsen et al. 2016).

Un regulador transcripcional primario de la lipogénesis *de novo* de los adipocitos es la proteína de unión al elemento de respuesta a los carbohidratos (ChREBP) (Song et al. 2018). Los ratones que carecen de ChREBP en el TA tienen una disminución de lipogénesis *de novo* y resistencia a la insulina (Vijayakumar et al. 2017). El otro regulador principal de la lipogénesis *de novo* en el TA es la proteína de unión al elemento regulador de esteroides 1 (SREBP1). El ChREBP es activado por la glucosa e inhibido por el glucagón y los ácidos grasos, está presente en TA humano y de roedores, pero no se ha demostrado un papel activo de ChREBP en el control de la lipogénesis *de novo* del TA. Los experimentos de cultivo celular han demostrado que la expresión de ChREBP es inducida por troglitazona, glucosa e insulina, y se reduce en respuesta a los ácidos grasos, mientras que estudios *in vivo* anteriores han sugerido que ChREBP no responde al ayuno, pero aumenta en respuesta a la alimentación (Iizuka et al. 2020).

Los ratones knockout de SREBP1 en todo el cuerpo no muestran una disminución de la expresión génica lipogénica en el TA, por lo que respaldan a ChREBP como el principal factor de transcripción lipogénico que impulsa la lipogénesis *de novo* del TA. Sin embargo, un nuevo

modelo de ratón demostró que varios mecanismos compensadores agudos y crónicos específicos del adipocito blanco se activan para restaurar la lipogénesis *de novo* del adipocito en ausencia de la actividad de SREBP1. La disminución de la actividad de SREBP1 antes de esta compensación y durante las condiciones en las que la compensación se inactivó da como resultado una disminución de la expresión de genes lipogénicos, un deterioro de la tolerancia a la glucosa en todo el cuerpo y un aclaramiento de lípidos elevado (Crewe et al. 2019), lo que sugiere que tanto SREBP1 como ChREBP desempeñan funciones importantes en la lipogénesis *de novo* de los adipocitos. En modelos animales, los ésteres de ácido palmítico de ácidos hidroxil estéricos (PAHSA) reducen la inflamación y mejoran la sensibilidad a la insulina en todo el cuerpo. La evidencia reciente de un modelo de ratón de resistencia a la insulina inducida por una dieta rica en grasas demuestra que los PAHSA actúan a través de mecanismos directos e indirectos para mejorar la sensibilidad a la insulina en múltiples tejidos metabólicos, entre ellos, el TA (Richard et al. 2020).

Los procesos de diferenciación de los distintos depósitos de TAB aún no están claros, pero se sabe que los adipocitos blancos de los depósitos retroperitoneal y anterior subcutáneo tienen una firma transcripcional de tipo miogénico incluido el factor 5 de expresión miogénica (Myf5) y del antígeno de diferenciación miogénica (MyoD) (Sanchez-Gurmaches y Guertin, 2014). Estos hallazgos fueron inesperados, ya que se pensaba que las propiedades funcionales divergentes de los adipocitos blancos y pardos se explicaban, al menos en parte, por su proximidad ontogenética con los miocitos (Rosen y Spiegelman, 2014; Timmons et al. 2007).

La asignación de progenitores dermomiótomas a linajes de estos adipocitos puede explicarse mejor por su ubicación física a lo largo del eje dorsoventral del dermomiótomo. De hecho, mediante la superposición conceptual de múltiples mapas de destino de un solo gen, es posible construir un árbol de linaje de trabajo para los adipocitos que surgen de subdominios del dermomiótomo. El dominio de expresión embrionario para Pax3-Cre incluye células de la cresta neural y el dermomiótomo completo; acoplar Cre con mTmG da como resultado un patrón de etiquetado ligeramente más amplio que el observado en el caso del etiquetado Myf5-Cre:mTmG (es decir, el TA pardo perirrenal y un subconjunto de adipocitos blancos perigonadales masculinos, pero no femeninos, también son mGFP+). Esto sugiere que los adipocitos mGFP + en el sistema Pax3-Cre:mTmG que no se superponen con los adipocitos mGFP + en el sistema Myf5-Cre:mTmG se derivan de la cresta neural o de una región del dermomiótomo en la que

Myf5 no se expresa apreciablemente, particularmente del labio ventrolateral (Sebo y Rodeheffer 2019).

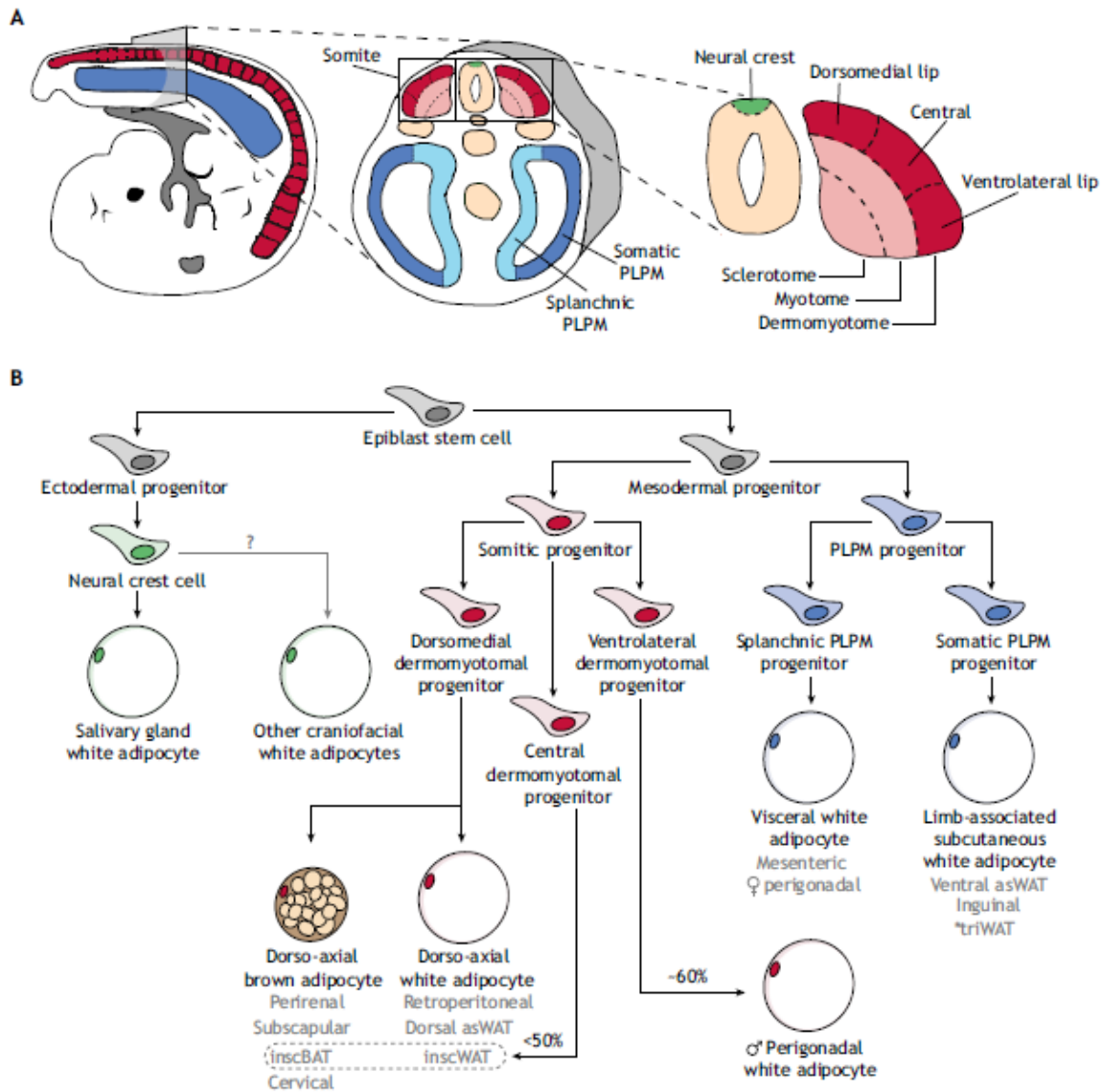


Figura 16. Patrón embrionario de linajes de adipocitos. (A) Esquema de un embrión de ratón de ~9.5 días. Las vistas transversales muestran subcompartimentos mesodérmicos y neuroectodérmicos relevantes. (B) Modelo de un árbol de linaje de adipocitos. Este árbol se construyó con base en los datos actuales de rastreo de linaje en ratones. *El depósito de TAB del tríceps (triWAT) no es un depósito de TAS, más bien, es un depósito supramuscular interno. El texto gris indica depósitos adiposos específicos; las flechas indican la progresión del linaje celular; '?' indica una incógnita en el campo. El inscBAT e inscWAT se describen como <50 % de los adipocitos en estos depósitos que se derivan de progenitores del dermomiótomo central. asWAT, TABS anterior; inscBAT, TA pardo interescapular; inscWAT, TAB interescapular; PLPM, mesodermo de placa lateral posterior. (Sebo y Rodeheffer 2019). Siglas en inglés.

El mapeo del destino pan-somitas utilizando el sistema Meox1-Cre:mTmG refleja el patrón de etiquetado de adipocitos de Pax3-Cre:mTmG, al menos para los depósitos adiposos analizados en estos estudios (Sebo et al. 2018). Este patrón de etiquetado incluye un subconjunto de adipocitos que residen en la almohadilla de grasa perigonadal masculina. Sugiriendo que los progenitores dermomiótomas del labio ventrolateral en lugar de las células de la cresta neural contribuyen a una proporción de adipocitos perigonadales masculinos, pero no femeninos. Las células precursoras de los adipocitos no contribuyen al miotomo durante su historia de desarrollo y que los adipocitos perigonadales surgen de distintos subcompartimentos mesodérmicos en machos y hembras (Figura 16), lo que sugiere que la anatomía específica del sexo de la almohadilla de grasa perigonadal en ratones está modelada coordinadamente con los órganos reproductores internos y, por lo tanto, codificada de forma única por genomas masculinos y femeninos (Sebo y Rodeheffer 2019). La formación de TA en ratones post-natales se divide tanto espacial como temporalmente, de modo que cada depósito emerge en una secuencia de desarrollo estereotipada en lugar de todos a la vez. Los adipocitos inguinales y retroperitoneales se vuelven morfológicamente distinguibles poco después del parto, mientras que los adipocitos perigonadales no son visibles hasta la semana de edad (Birsoy et al. 2011; Han et al. 2011). Por lo tanto, es probable que la segregación del linaje de adipocitos y la adipogénesis sean eventos de desarrollo coordinados en ratones y humanos (Berry et al. 2018). La adipogénesis es el proceso por el cual las células precursoras se diferencian en adipocitos para almacenar lípidos y mantener la homeostasis energética. La adipogénesis está regulada por cientos de factores, incluidos nutrientes, vías de señalización celular, micro ARN (miARN), proteínas citoesqueléticas y hormonas endocrinas como la hormona del crecimiento, el factor de crecimiento 1 similar a la insulina, la insulina y varias hormonas esteroides, así como citocinas. Las citocinas proinflamatorias inhiben la adipogénesis, aunque ejercen efectos opuestos (Sarjeant y Stephens 2012).

El receptor nuclear gamma activado por el factor de transcripción proliferador de peroxisomas (PPAR γ) se considera el principal regulador de la adipogénesis (Moreno-Méndez et al. 2020). Los ratones con delección de PPAR γ específica de adipocitos tienen una masa de TA disminuida y son resistentes a la insulina. PPAR γ se une a moléculas lipofílicas endógenas, que incluyen: ácidos grasos de cadena larga, ácidos grasos oxidados o nitrados, prostaglandinas y derivados del ácido araquidónico. Muchos de los ligandos de PPAR γ endógenos mejoran la diferenciación de

los adipocitos y regulan las funciones de las células grasas como la lipólisis, la captación de glucosa y la lipogénesis a través de métodos independientes y dependientes de PPAR γ . Las proteínas de unión a potenciador/CCAAT (C/EBP) son factores de transcripción ampliamente expresados que regulan la proliferación y diferenciación de varios tipos de células en mamíferos, específicamente las isoformas α , β y δ son importantes reguladores de la adipogénesis. Las C/EBP β y δ promueven la diferenciación de las células grasas durante la adipogénesis temprana para al inducir la expresión de C/EBP α y PPAR γ . La familia de factores de transcripción transductores de señales y activadores de transcripción en el TA regula la expresión génica durante la adipogénesis y se induce durante la diferenciación de pre-adipocitos murinos y humanos (Richard et al. 2020). De las tres isoformas de proteínas de unión a elementos de respuesta a esteroides (SREBP-1a, SREBP-1c y SREBP-2), SREBP-1c es la forma predominante expresada en TAB y es un importante regulador de los genes de lipogénesis y promotor en la adipogénesis *in vitro*, mientras que SREBP -2 regula la expresión de genes de biosíntesis de colesterol (Richard et al. 2020).

Los precursores de adipocitos, también llamados células madre/progenitoras de adipocitos, muestran un perfil de marcador de superficie celular único (CD45⁻CD31⁻CD34⁺CD29⁺SCA1⁺CD24^{+/-}) y están separados funcionalmente por la presencia de CD24. Los precursores de adipocitos residentes en el TA naciente son altamente proliferativos antes de su diferenciación y llenado de lípidos. La diferenciación de estas células depende de su comunicación con varios tipos celulares en el anágeno adiposo. Por ejemplo, interrumpir la angiogénesis (formación de vasos sanguíneos) y reducir el número de macrófagos residentes del depósito resultan en un desarrollo adiposo perigonadal defectuoso (Han et al. 2011). De acuerdo con esto, se ha demostrado que las células endoteliales residentes de TA son componentes estructurales y funcionales esenciales del nicho en el que residen los precursores de adipocitos. Por tanto, el microambiente del TA naciente es un regulador importante de la adipogénesis del desarrollo. En el caso de la obesidad, el desarrollo de esta enfermedad se produce por un aumento del número de adipocitos a través del proceso de adipogénesis (hiperplasia) y/o un aumento del tamaño de los adipocitos existentes (hipertrofia). Curiosamente, la adipogénesis obesogénica parece tener lugar preferentemente en precursores de adipocitos que expresan el marcador pericito, *Pdgfrb*. Además, la adipogénesis obesogénica y la adipogénesis del desarrollo parecen iniciarse por distintas vías de señalización de traducción, ya que *Akt2* es necesario para desencadenar hiperplasia de adipocitos inducida por una dieta rica en grasas, pero no para el

establecimiento del desarrollo de los adipocitos, lo que indica que este gen es necesario para el mantenimiento normal del TA normal. Aproximadamente el 10% de los adipocitos se reemplazan anualmente en humanos en condiciones homeostáticas. La pérdida de la función de *Akt2* puede afectar la renovación de los adipocitos homeostáticos, lo que resulta en la pérdida progresiva de masa de TA (Sebo y Rodeheffer 2019). Con la dieta rica en grasas, los precursores de adipocitos llevan a cabo más adipogénesis que los ubicados en la región posterior del depósito, independientemente del linaje de precursores de adipocitos (Sebo et al. 2018). Ratones macho PDGFR β -Cre: mTmG alimentados con una dieta Surwit (58% kcal de aceite de coco/soja y sacarosa) resulta en altos niveles de adipocitos mGFP⁺ en los depósitos adiposos visceral (~35%) y subcutáneo (~70%) después de 4 semanas (Gao et al. 2018; Sebo y Rodeheffer 2019). El comportamiento de los precursores de adipocitos está fuertemente influenciado y regulado por señales de la dieta, hormonas circulantes y el microambiente dentro del depósito (Figura 17) (Sebo y Rodeheffer 2019).

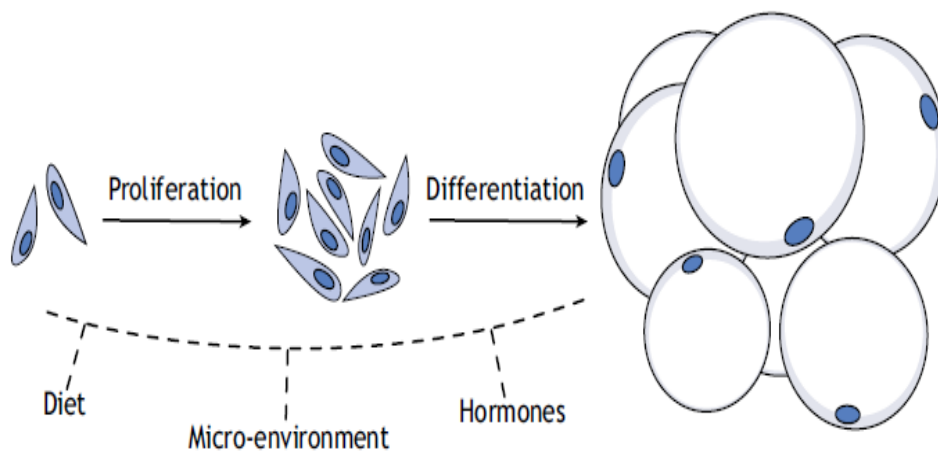


Figura 17. La hiperplasia de adipocitos está regulada por señales dietéticas, microambientales y hormonales. Se forman nuevos adipocitos a través de la proliferación y diferenciación de células precursoras de adipocitos residentes en el depósito. Este proceso está regulado conjuntamente *in vivo*. Sin embargo, los mecanismos moleculares por los cuales las diferentes señales influyen en la hiperplasia de adipocitos apenas comienzan a comprenderse (Sebo y Rodeheffer 2019).

1.5.3 Endocrinología del TA durante el desarrollo

El TA secreta numerosos péptidos, hormonas y moléculas (llamadas adipocinas), que actúan de manera auto, para y endocrina. Las adipocinas participan en la señalización del estado funcional del TA hacia las células blanco en cerebro, hígado, páncreas, la vasculatura, músculos y otros tejidos (Tabla 4). Las adipocinas participan en la regulación de varios procesos fisiológicos en el TA y a nivel sistémico. La secreción de adipocinas, principalmente leptina y adiponectina, modula el apetito, alimenta el metabolismo, la función inmunitaria innata y la reproducción (Moreno-Méndez et al. 2020). Durante el período gestacional y el nacimiento se ha demostrado una correlación entre las hormonas maternas y el peso al nacer. Una hormona importante en función de la edad gestacional es el factor de crecimiento similar a la insulina-1 (IGF1); tanto en animales como en humanos su concentración en circulación es reducida cuando en neonatos hubo restricción de crecimiento intrauterina y al administrarla en madres con esta restricción se promueve la transferencia placentaria de nutrientes, así como con el incremento en la entrega de glucosa al feto en etapas avanzadas de gestación en ratas (Dimasuay et al. 2016), donde también se ve incrementada la expresión de GLUT. En padecimientos como el sobrepeso y la obesidad durante la gestación, son característicos los elevados niveles de leptina e insulina séricas maternas. Los altos niveles de estas hormonas activan las vías de señalización de la insulina IGF-1/mTOR (blanco de la rapamicina en mamíferos) y leptina placentaria, aumentando el transporte de aminoácidos y determinando el sobrecrecimiento fetal. Además del tejido adiposo tanto fetal como adulto, la placenta es un importante sitio de producción de leptina. La circulación materna de la leptina incrementa durante la gestación y la evidencia indica que puede participar en la angiogénesis placentaria, inmunomodulación, transporte de nutrientes y crecimiento (Henson y Castracane 2006). La presencia de su receptor en los sincitiotrofoblastos/citotrofoblastos (una de las tres capas de las vellosidades de la placenta) en la interfaz materna es evidencia de la importancia de la leptina como factor de crecimiento fetal.

Tabla 4. Adipocinas y su papel potencial en la programación del tejido adiposo en la obesidad (Moreno-Méndez et al. 2020).

Adipocina	Proceso biológico	Papel potencial en la programación del TA
Adiponectina	Incrementa sensibilidad a la insulina, efectos antidiabéticos y anti-inflamatorios.	Bajos niveles de adiponectina en madres con obesidad se asocian a recién nacidos grandes para su edad gestacional.
IL-6	Citocina pro-inflamatoria, incrementa la resistencia a la insulina. La placenta se considera el principal sitio de secreción de IL-6 tanto en la circulación materna como fetal durante la gestación. IL-6 estimula la transferencia de ácidos grasos desde la circulación materna a la placenta.	La exposición materna a IL-6 en ratas aumenta el peso corporal, el tejido adiposo y la resistencia a la insulina en la descendencia masculina. La IL-6 plasmática es más alta en el día 18 de gestación en madres con obesidad inducida por dieta alta en grasas, lo que coincide con un aumento en la acumulación de TAG hepáticos fetales.
Leptina	Modula la saciedad en el hipotálamo, incrementa el gasto energético e induce el crecimiento.	La obesidad pregestacional en modelo de ratón aumenta la leptina sérica durante la gestación. Los niveles séricos de leptina se correlacionan con el IMC (índice de masa corporal) y la adiposidad en niños, jóvenes y adultos a lo largo de la vida.
MCP-1	Reclutamiento de monocitos/macrófagos; efectos pro-inflamatorios.	MCP-1 se ve incrementado en madres con obesidad.
Resistina	Proinflamatorio; aumenta la resistencia a la insulina en roedores. Su expresión aumenta en el TA humano y se correlaciona positivamente con el contenido de grasa corporal. Sin embargo, se desconoce la función exacta de la resistina derivada del tejido adiposo en humanos.	Los niveles de resistina sérica aumentan durante la gestación. Los niveles de resistina del suero materno, la sangre del cordón umbilical y la placenta disminuyen en madres con obesidad. La resistina puede desempeñar un papel como un efecto inhibitorio sobre la adipogénesis. Por lo tanto, un nivel más bajo de resistina en madres con obesidad puede reducir el efecto inhibitorio sobre la adipogénesis y aumentar el tejido adiposo en el feto.
TNF- α	Proinflamatorio, participa en la inflamación sistémica y el desarrollo de resistencia a la insulina en la obesidad.	Los machos de rata de madres expuestas al tratamiento con TNF- α durante el embarazo aumentan el peso corporal, el tejido adiposo y la insulina en ayunas. La obesidad materna aumenta la expresión del gen TNF- α en la zona laberíntica del sitio de placentación de la rata.

MCP-1, proteína quimioatrayente de monocitos 1; TNF- α , Factor de Necrosis Tumoral α .

La coexpresión temporal de las isoformas largas (OB-R β) del receptor de leptina y sus ligandos en los tejidos mesenquimales durante el desarrollo fetal hace que la leptina actúe como factor paracrino o autocrino durante la vida fetal (Vickers et al. 2005). Tanto la insulina como la leptina pueden activar la adipogénesis, por lo que sus elevados niveles incrementan la adipogénesis y la lipogénesis, resultando en mayor masa de TA y adipocitos hipertrofiados en la descendencia (Lecoutre et al. 2016). La testosterona y el estrógeno son importantes reguladores de la fisiología del TA y tienen un papel importante en el DOHAD. La testosterona limita la masa grasa y su deficiencia incrementa la grasa abdominal y se ha asociado con un incremento en los depósitos de grasa en monos y peso corporal incrementado, hipertensión, disbiosis de la microbiota intestinal, mayor expresión de adiponectina y leptina en TAB de ratas. Los estrógenos aumentan el TA subcutáneo (especialmente glúteo) y limitan el TA visceral. La eliminación específica del ER α en el TA aumenta la grasa corporal total, debido a un aumento en el TA gonadal en hembras de ratón. El ER es necesario para promover la identidad y diferenciación de las células progenitoras adiposas blancas (Moreno-Méndez et al. 2020). El aumento de las concentraciones circulantes de hormonas maternas, como la leptina y la insulina, constituye un vínculo mecánico entre el sobrepeso u obesidad maternas y el sobrecrecimiento fetal, mediado por la modulación del transporte de nutrientes y el crecimiento placentario (Lecoutre et al. 2016). Pudiendo encontrar efectos similares específicamente en órganos adyacentes al TA que sintetizan y liberan hormonas reproductivas de las ya mencionadas anteriormente.

1.6 Nutrición y crecimiento fetal

La sobrealimentación puede resultar en cambios endocrinos asociados a la adiposidad adulta (McMillen et al. 2004). Esta hipótesis se ha utilizado para estudiar los efectos a largo plazo de las manipulaciones nutricionales durante la vida materna y post-natal temprana (Figura 18). Varios estudios en modelos humanos y en roedores han demostrado que la perturbación de los factores circulantes, como los nutrientes y/o las hormonas inducidas por la dieta durante el desarrollo fetal, aumentan el riesgo de obesidad durante la infancia y la edad adulta (Figura 18) (Lecoutre y Breton 2015; Ross y Desai 2013). Neonatos masculinos de madres alimentadas con una dieta alta en grasas antes y durante la gestación y lactancia han mostrado una rápida ganancia de peso durante la lactancia (Moreno-Mendez et al. 2020), lo que concuerda con el período clave de desarrollo del TA en roedores (Greenwood y Hirsch 1974).

Una dieta materna alta en grasa durante la gestación solamente programa el aumento de adiposidad en las crías con peso corporal normal, mientras que esta misma dieta materna durante la lactancia aumenta tanto el peso corporal como la adiposidad (Desai et al. 2014). Las razones detrás de esta discrepancia no se comprenden, pero pueden depender de las diferencias en la intervención nutricional, como la duración de la dieta materna, el contenido de lípidos en la dieta y/o en los diferentes antecedentes genéticos de los roedores. La descendencia adulta de ratas de madres obesas alimentadas con dieta de cafetería durante la gestación y la lactancia exhiben un aumento en el contenido de TAG del tejido adiposo con actividad enzimática lipogénica elevada, junto con anomalías en la composición de ácidos grasos (Bayol et al., 2005). Estos hallazgos indican que la exposición perinatal a un medio diabético caracterizado por niveles elevados de glucosa y/o insulina puede programar procesos de desarrollo como la adipogénesis (Lecoutre y Breton 2014). El consumo de dietas ricas en fructosa está en aumento y se cree que está asociado con la obesidad y enfermedades cardiometabólicas. Evidencia adicional de humanos respalda el papel del aumento de la actividad de lipogénesis *de novo* y ChREBP en el mantenimiento de la salud metabólica. Estos incluyen la restauración de la lipogénesis *de novo* en TAB después de la pérdida de peso inducida por cirugía bariátrica y lipogénesis *de novo* elevada en TAB en otros estados metabólicamente favorables, incluida la restricción calórica y la termogénesis adaptativa. En conjunto, estos estudios en ratones y en humanos respaldan un papel potencial de la lipogénesis *de novo* en TAB en la salud metabólica (Moreno-Mendez et al. 2020).

En roedores, el desarrollo del tejido adiposo es particularmente activo durante el período perinatal, especialmente en la última semana de gestación y la vida post-natal temprana (Poissonnet et al. 1983; Poissonnet et al. 1984; Greenwood y Hirsch 1974). Las crías de madres desnutridas o sobrealimentadas presentan alteraciones en el TA, como cambios en la distribución/composición de la grasa, aumento de la adipogénesis, alteración de los niveles hormonales y sensibilidad a las mismas (especialmente el sistema glucocorticoide), a influencias ambientales y a mecanismos epigenéticos. Todos estos factores modifican la programación del TA durante el período perinatal (Lukaszewski et al. 2013). En los seres humanos, los períodos críticos para el establecimiento de la composición corporal durante el período neonatal y la primera infancia pueden verse por el IMC materno previo al embarazo, la adiposidad, el aumento de peso gestacional, la nutrición materna, las concentraciones maternas de TAG, el tabaquismo materno y la inflamación durante la gestación (Weden et al. 2012). Además, la tasa de ganancia de peso durante el primer año, particularmente de la grasa periférica, es un indicador

de la masa grasa del tronco y afecta la tasa de ganancia de peso durante los primeros 6 meses de vida (McMillen et al. 2014).

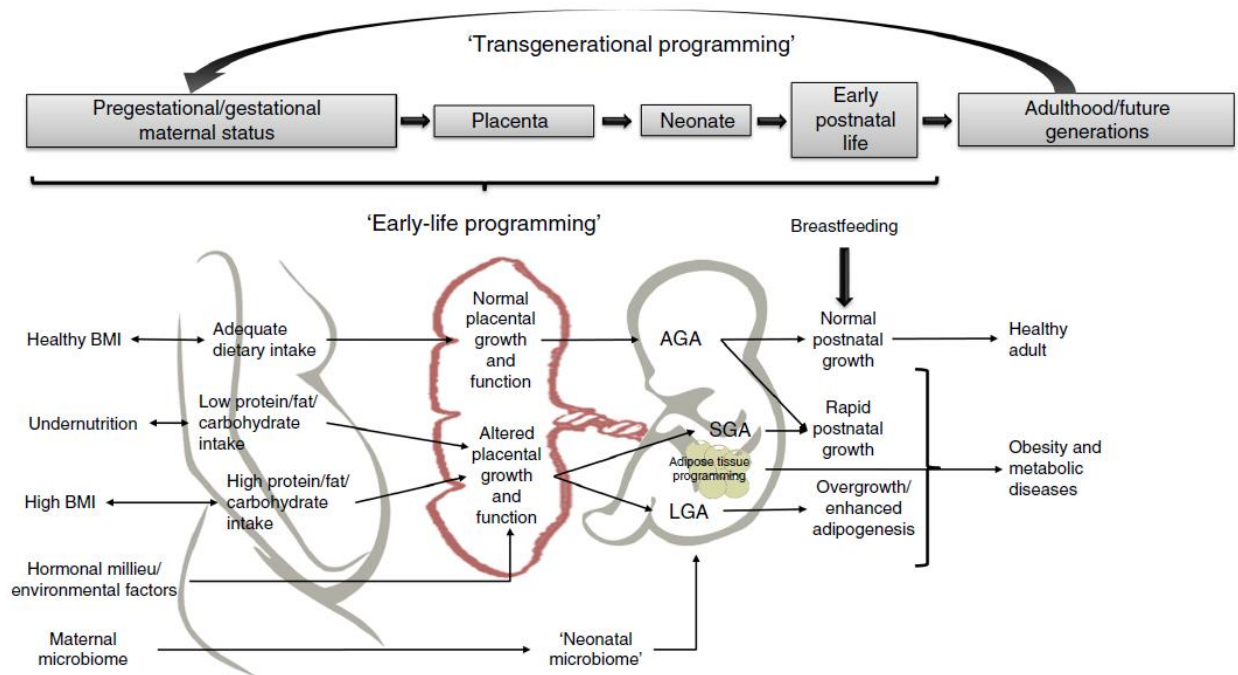


Figura 18. Mecanismos potenciales que vinculan los factores de la vida temprana durante el embarazo que pueden conducir a la obesidad en niños y adultos. De acuerdo con la abreviatura en inglés: AGA, adecuado para la edad gestacional; SGA, pequeño para la edad gestacional (Moreno-Mendez et al. 2020).

Varios estudios han asociado el crecimiento infantil temprano con el riesgo posterior a padecer sobrepeso, lo que sugiere que la primera infancia es una ventana crucial de la programación metabólica (Young et al. 2012). Incluso se sugiere que las primeras semanas y meses de vida están particularmente asociados con el estado de peso posterior, que son un momento crítico en el que puede ocurrir la programación metabólica, similar al período intrauterino, porque los órganos de los bebés aún mantienen una plasticidad considerable para la adaptación a exposiciones nutricionales y ambientales (Weden et al. 2012; Chandler-Laney et al. 2013). Por lo tanto, esta edad temprana (primera infancia) brinda una oportunidad crítica para las intervenciones dirigidas a tener un impacto en la salud metabólica futura. La leche materna representa la principal fuente de nutrientes en los primeros meses de vida de los lactantes, aportando diferentes nutrientes y factores bioactivos, especialmente hormonas y factores de crecimiento como la leptina, la grelina, la insulina y el IGF-1. También desempeña un papel en la regulación de la ingesta de alimentos, el metabolismo y la composición corporal (Savino et al. 2010). La composición de la leche

materna es dinámica y variable entre las mujeres. La grasa es un componente digerible importante y comprende más del 50 % de la energía de la leche materna (Hassiotou et al. 2013). La ingesta de macronutrientes, los mecanismos hormonales y conductuales relacionados con la composición de la leche materna (es decir, proteínas, ácidos grasos poliinsaturados, oligosacáridos, citoquinas y hormonas, en particular leptina, adiponectina y resistina), junto con la propia práctica de amamantar, pueden influir en el comportamiento y la regulación de la alimentación del lactante, del crecimiento y el control del apetito en la edad adulta. Además, la leptina de la leche materna puede participar en el desarrollo post-natal, posiblemente contribuyendo a elevar los niveles circulantes de esta hormona en el neonato. Por otro lado, la composición de los ácidos grasos de la leche humana está influenciada por la dieta materna. El contenido de ácidos grasos *trans* en la dieta materna incrementa el riesgo de incremento de adiposidad en el neonato y se ha asociado con enfermedades crónicas en etapas posteriores de la vida (Moreno-Mendez et al. 2020).

Los adipocitos juegan un papel fundamental en la homeostasis energética de todo el cuerpo y la regulación endocrina en todas las etapas de la vida. La gestación y la vida post-natal temprana son períodos plásticos críticos para la programación de la biología del TA, ya que el desarrollo y la fisiología de los adipocitos pueden ser modelados por varios factores maternos, como la genética, influencia ambiental, cambios epigenéticos, señalización hormonal, el estado nutricional y el balance energético. Esta programación puede conducir al sobrepeso y la obesidad y sus comorbilidades en la descendencia, con mayor transmisión transgeneracional y el desarrollo de enfermedades crónicas más adelante en la vida (Moreno-Mendez et al. 2020).

2. ANTECEDENTES

2.1 Dieta rica en carbohidratos y adipocidad

Barker y su grupo (1993) evaluaron la tolerancia a la glucosa en individuos de 64 años mostrando una fuerte asociación entre bajo peso al nacimiento y enfermedades metabólicas. Los neonatos con peso menor de 2.500 al nacimiento, tenían 7,5 mayor riesgo de padecer DM2 o intolerancia a la glucosa, en comparación con los que pesaron más 4.000 g. Estudios poblacionales realizados después de hambrunas históricas como las de los Austria (Thurner *et al.* 2013), Holanda (Schulz 2010) y China (Huang *et al.* 2010; Li *et al.*, 2011) han proporcionado valiosa información acerca de la importancia del equilibrio dietético y su influencia en la programación epigenética durante el período temprano del desarrollo embrionario. La descendencia nacida durante e inmediatamente después de estas hambrunas ha aumentado el riesgo de padecer DM2, hipertensión arterial y síndrome metabólico, destacando así las consecuencias de los trastornos metabólicos establecidos y persistentes en la salud a largo plazo de un individuo. Específicamente en el ámbito reproductivo, los desequilibrios metabólicos asociados con el sobrepeso y la obesidad pueden ser el detonante patológico en el sistema reproductivo. En 2004, Jensen *et al.*, examinaron la relación entre el IMC y la calidad del semen entre hombre daneses jóvenes de la población general. Reportando que la testosterona sérica, la globulina transportadora de hormonas sexuales y la inhibina disminuyen con el aumento de IMC, así como la FSH sérica. Mientras que el índice de andrógenos libres y el E2 incrementan con un IMC elevado. Y los porcentajes de espermatozoides normales se redujeron entre los hombres con IMC alto o bajo. Con resultados similares, Kort *et al.*, (2006) y Martini *et al.* (2010) también demostraron que en varones americanos (con nacionalidad en E.U.A. y Argentina) existe una relación importante entre el IMC y parámetros de fertilidad, pues hay una relación inversa entre el incremento en el IMC y el número de células espermáticas normales, el índice de fragmentación de ADN de los espermatozoides y la calidad seminal.

En nuestro grupo de trabajo en 2014 se comenzó a utilizar un modelo de consumo de una dieta deficiente en proteína como primer reto y consumo de agua azucarada como segundo reto. Este modelo se aplicó a ratas hembra que, durante la gestación consumieron el primer reto y su descendencia masculina desde el destete y hasta la edad adulta consumieron el agua azucarada. Con este modelo, Cervantes-Rodríguez *et al.*, demostraron que: 1) el consumo de azúcar al 30, 15

y 5% disminuye la ingesta alimenticia en un 74, 57 y 40% respectivamente, teniendo efectos significativos sobre el consumo energético y de deficiencia en proteína, las diluciones de azúcar al 30 y 15%, por lo que, para evitar este efecto por deficiencia de proteína, se escogió una dilución de azúcar al 5% como segundo reto; 2) el consumo crónico de azúcar como segundo reto conduce a hiperinsulinemia, aumento de las concentraciones de TAG, colesterol y leptina séricas, así como una acentuación de la predisposición a hiperleptinemia y 3) la ingesta de sacarosa al 5% desde el destete hasta la edad adulta incrementa la proporción de adipocitos grandes en la descendencia masculina adulta. Ellos proponen que la ingesta de bebidas enriquecidas con carbohidratos podría promover la expresión o acentuación de mecanismos que pueden haber sido programados por condiciones intrauterinas adversas pero que se acentúan cuando son desafiados por un segundo reto. Y concluyendo que los factores ambientales posnatales son los principales potenciadores a considerar en la etiología de la enfermedad metabólica del adulto.

Oliveira et al., (2020) observaron que una dieta alta en azúcares consumida en ratas macho a partir del destete y hasta la edad adulta induce, en comparación con una dieta estándar, un aumento significativo en el peso corporal y del TAB de las almohadillas disectadas, entre las que se encontró la epididimal. Observando una respuesta metabólica adaptativa al consumo de la dieta alta en azúcares post-destete, reflejada también en el peso corporal mantenido las primeras 12 semanas de tratamiento. Sin embargo, en el TA retroperitoneal observaron hiperplasia e hipertrofia de sus adipocitos. Así como incrementos en los niveles séricos de triglicéridos y lipoproteínas de muy baja densidad. Concluyendo que el desequilibrio homeostático desencadenado por el consumo crónico de este macronutriente conduce al desarrollo del síndrome metabólico, independientemente de la ingesta calórica. Corroborando que el azúcar contribuye directamente a las enfermedades metabólicas independientemente de un balance energético positivo.

2.2 Dieta rica en carbohidratos y testículo

En 2018, Nicolás-Toledo et al., utilizaron el modelo establecido previamente de consumo de sacarosa post-natal al 30% para determinar sus efectos en el hígado, tanto en machos como en hembras de ratas adultas. Encontrando que este consumo incrementa el peso relativo del hígado, área transversal de los hepatocitos, contenido adiposo hepático y variables asociadas con el estrés oxidativo hepático.

Mao et al., (2018) probaron que la exposición *in útero* a una dieta alta en grasa y azúcar induce intolerancia materna a la glucosa y que tanto el consumo de la misma dieta postnatalmente en la descendencia masculina como la interacción de ambos factores altera la espermatogénesis y reduce la producción de esperma. Dando soporte a la hipótesis de que la exposición a la intolerancia de glucosa *in útero* establece y exacerba los efectos de una dieta alta en grasa durante la edad adulta sobre la ganancia de peso y la fertilidad masculina. Reportaron que el consumo postnatal de esta dieta, a partir del destete y durante 8 semanas, suprime la apoptosis de las células germinales de los testículos. Uno de 7 ratones expuestos peri y post-natalmente a la dieta alta en grasa y azúcar presentó azoospermia las 11 semanas de edad. A la misma edad reportaron un incremento considerable de testosterona sérica a la misma edad, pero únicamente dado por el consumo postnatal de esta dieta, y una disminución considerable, pero en el grupo que consumió la dieta únicamente perinatalmente. Esta dieta postnatal suprimió significativamente la apoptosis durante la espermatogénesis y la muerte celular de espermatogonias y pocos espermatozoides.

De León-Ramírez et al. (2021), evaluaron el efecto del consumo de sacarosa al 30% post destete en testículo y parámetros de fertilidad de machos infantiles (52 días de nacidos). Encontrando incrementado el consumo calórico total, el peso de los testículos. Con respecto a la morfometría testicular, reportan que el consumo de azúcar al 30% post destete disminuye el tamaño del área transversal de los túbulos seminíferos y la proporción de epitelio germinal (visiblemente alterado y ausente completamente en varios túbulos), sin embargo, incrementa la proporción de lumen, área intersticial y se observaron más células de Leydig. En este grupo de animales también se presentó una disminución significativa del conteo total de espermatozoides y de la viabilidad, concentración y motilidad espermática. Y de manera inversa, un aumento significativo en las concentraciones de leptina y testosterona séricas, concentración de TAG testiculares y expresión de LDH en el área luminal de los túbulos seminíferos. Concluyendo que una dieta rica en sacarosa en ratas macho lactantes conduce a una alteración morfológica significativa en el epitelio testicular (túbulos seminíferos, y espacio intersticial), conduciendo a una reducción en el número y calidad del esperma en ratas púberes sin obesidad. Asociando estos resultados con problemas de infertilidad en la vida adulta.

Corona-Quintanilla et al., en 2021, con el modelo de consumo de agua azucarada establecido para el desarrollo de la presente tesis, determinaron si el consumo de agua con sacarosa durante las etapas de gestación, lactancia y post destete afecta la actividad del músculo pubococcígeo durante el reflejo urogenital en ratas macho adultas. Encontraron que tanto madres gestantes, como la

descendencia de machos que consumen sacarosa incrementan el consumo energético de carbohidratos y disminuyen el de proteínas y lípidos, además de que el consumo de agua aumenta y disminuye el del alimento. En cuanto a su peso, también, tanto hembras gestantes y lactantes, como descendientes macho adultos que consumen sacarosa incrementan tanto el peso como la ganancia de peso en comparación con los animales que nunca consumieron sacarosa. Sus resultados sugieren que la combinación de una dieta rica en sacarosa durante la gestación, lactancia y el post-destete incrementa la presión máxima del reflejo urogenital, pero disminuye su duración; disminuyendo así la activación del Pcm durante el reflejo peneano, probablemente por el incremento en el desarrollo de masa grasa que promueve el incremento de adipocitos intramusculares y fibrosis, alterando el metabolismo muscular. Y dado que el reflejo uretrogenital se asemeja al de la eyaculación espinal, estas ratas podrían tener una disfunción del pene equivalente a la eyaculación precoz en los hombres.

2.3 Tejido Adiposo Perigonadal y función testicular

Dentro de los depósitos adiposos intra-abdominales, se encuentran los referidos al TABv, que rodean los órganos internos. Esta variedad incluye al omental, mesentérico, retroperitoneal, pericárdico y gonadal (Bjørndal et al. 2011). En roedores, un importante albergue de grasa visceral se encuentra en la región perigonadal, que al no hacer distinción de género se le da el mismo nombre que esta región (*i. e.* tejido adiposo perigonadal-TAP). Sin embargo, este depósito específicamente en machos es comúnmente denominado epididimal y en hembras como periovárico. Estas bolsas o almohadillas de grasa perigonadal suelen ser los depósitos de grasa más grandes y de más fácil acceso en roedores masculinos y se encuentran rodeando los testículos (Figura 19). Por esta y otras razones, son de las que se usan más frecuentemente en la literatura.

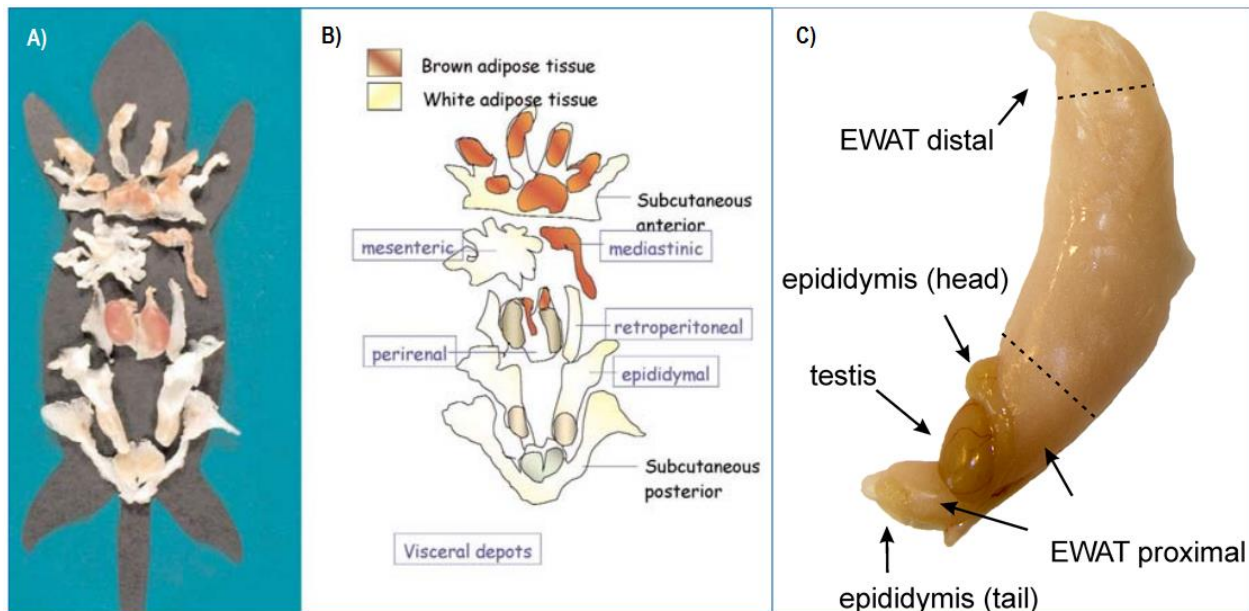


Figura 19. (A) Órgano adiposo de ratón C57/BL adulto en condiciones estándar, conformado por los depósitos subcutáneos y viscerales. De los depósitos viscerales se muestran los que se presentan riñones y testículos diseccionados junto con los depósitos. (B) El esquema indica las áreas blancas formadas por TAB y las áreas pardas por TA pardo (Modificada de Cinti 2019). (C) Ubicación de las zonas proximal y distal del TA epididimal en ratón. Con el extremo distal del depósito limitado por la línea discontinua superior, indicado como tejido adiposo distal. El tejido adiposo asociado con la cabeza y cola del epidídimo se indica por la línea discontinua inferior y se denomina TA proximal (Caesar et al. 2010).

A pesar de las diferencias entre depósitos de TAB anatómicamente distintos, la grasa corporal total a menudo se considera una unidad funcional que modula las respuestas reproductivas y otras respuestas fisiológicas/conductuales (Rodríguez-Castelán et al. 2017; Caesar et al. 2010). En la inhibición del sistema reproductivo, cuando desafíos energéticos específicos afectan indirectamente la grasa corporal, también afectan directa o indirectamente a muchos otros sistemas fisiológicos (Zambrano et al. 2005). En este contexto, las demandas fisiológicas de la reproducción son energéticamente costosas, y se ha visto que el comportamiento de apareamiento y las respuestas fisiológicas se inhiben cuando las reservas de combustible o la ingesta de alimentos son limitadas, pues el uso inadecuado de combustible metabólico es el factor común de la infertilidad nutricional (Schneider 2004; De León-Rodríguez et al. 2021). De las fuentes de energía almacenada que se pueden aprovechar para satisfacer estos requisitos de energía reproductiva, el depósito más grande es el TAB (Bertile et al. 2003).

La grasa del epidídimo de ratón es una parte del depósito de grasa visceral y en función de sus características histoquímicas, se divide en 2 partes, la distal o proximal en función de sus características histoquímicas. Aunque la formación de la almohadilla de grasa epididimal

comienza antes del nacimiento, no se ha revelado un procedimiento adipogénico detallado su desarrollo inicial. La almohadilla de grasa del epidídimo aumenta de tamaño y se gasta con la edad, y los cambios en la expresión de numerosos genes están asociados con la maduración de los tejidos grasos. Ya se han determinado los patrones de expresión de los genes relacionados con la grasa del TA epididimal distal del ratón a los 2, 5, 8 y 12 meses de edad post-natal. Sugiriendo que la expansión de la grasa del epidídimo distal del ratón durante el período post-natal está acompañada de una expresión diferencial de varias moléculas asociadas a los adipocitos (Lee y Kim 2019).

En el ser humano y otras especies el TAB en general juega un papel directo en los procesos reproductivos y es necesaria una mínima cantidad de grasa para un desarrollo reproductivo normal tanto en machos como en hembras.

Sin embargo, en especies como la rata (Faust et al. 1976; Srinivasan et al. 1986) ya se sabe que el depósito perigonadal es indispensable para el correcto mantenimiento del ambiente gonadal y su fisiología. Pues, específicamente en machos, la eliminación del TAP inhibe la espermatogénesis de ratas albinas de laboratorio (Srinivasan et al. 1986; Hansel 2010). Además de la inhibición de la espermatogénesis por un mecanismo local (mediante algún factor trófico o nutritivo local de acción directa sobre los testículos adyacentes), también se ha visto que la extirpación tanto bi- como unilateral del TAP disminuye el tamaño y peso de los testículos adyacentes a la extirpación, incluso si después de la eliminación de estas almohadillas se administra testosterona. Así como el número de túbulos seminíferos positivos a espermatozoides, el número de espermatozoide y el grosor de la pared celular de los túbulos. Sin embargo, a pesar de que el patrón eyaculatorio y los componentes conductuales de la cópula no se ven afectados, sí disminuye significativamente la deposición de esperma y aumenta al doble la concentración de hormona FSH (Chu et al. 2010).

Se ha planteado que los defectos en la espermatogénesis son causados principalmente por el aumento en la apoptosis y la disminución en la proliferación de células germinales. Análisis transcriptómicos sugieren que la lipectomía podría interrumpir el privilegio inmunitario y activar las respuestas inmunitarias en los testículos. Además, el análisis lipidómico en el testículo han mostrado que los niveles de metabolitos lipídicos como la carnitina libre se elevan, mientras que los niveles de glicerofosfolípidos como las fosfatidilcolinas y las fosfatidiletanolaminas disminuyen, indicando que el nicho metabólico también se altera. Sugiriendo que el TA

epididimal es sumamente importante para mantener los nichos metabólicos e inmunológicos normales (Yang et al. 2022).

Durante la alimentación rica en grasas se han observado diferencias en hiperplasia e hipertrofia dependientes del depósito (Lemonnier 1972). También se han descrito diferencias dentro de los depósitos adiposos, incluida la composición de ácidos grasos y el control de la lipólisis (Pond 2005).

Las diferencias en la fisiología del TA dependientes del sitio anatómico, se han estudiado en el contexto de funciones locales especializadas en las que las adipocinas y/o los ácidos grasos liberados por los adipocitos afectan la función de los tejidos circundantes. Un ejemplo de esto es la interacción con los vasos sanguíneos donde se ha demostrado que el TA perivascular ejerce un papel regulador dual en la modulación de la función de los vasos, liberando factores vasoconstrictores y vasorelajantes (Gao et al. 2006). Modificaciones en el entorno metabólico de los roedores pueden llevar a incrementos en el peso y cambios metabólicos de las almohadillas epididimales, los cuáles se han vinculado con un mayor riesgo de mortalidad y desarrollo de morbilidades relacionadas con la obesidad (Bjørndal et al. 2011). Macotela et al. (2009) demostraron que la almohadilla de grasa periovárica era más sensible a la insulina que la de grasa inguinal. En otro un estudio de micromatrices en almohadillas de grasa inguinal y epididimal aisladas de ratas se mostraron por primera vez marcadas diferencias en estos tejidos, incluida una mayor expresión de resistina, angiotensinógeno, adiponectina y PPAR γ en el tejido epididimal. Einstein et al. (2005) demostraron por primera vez que cuando las ratas estaban expuestas a hiperglucemia e hiperinsulinemia, en el TA epididimal la expresión de resistina, adiponectina, leptina, PAI-1 y angiotensinógeno, aumentaba notablemente de 2 a 10 veces.

Uno de los factores que puede desencadenar cambios importantes en el ambiente metabólico del TAP es la dieta, pues se ha reportado que el TA epididimal está específicamente incrementado en roedores alimentados con dieta de cafetería (Bjørndal et al. 2011). En un estudio transgeneracional, la descendencia de machos de madres alimentadas con una dieta alta en grasas, tuvo mayor expresión de la proteína 423 (*zfp423*) del dedo de Zn y una disminución de la metilación del ADN de su promotor en las células progenitoras de grasa epididimal en comparación con la descendencia de madres control de adecuada complejidad, coincidiendo con una mayor diferenciación del TA en este período (Liang et al. 2016). Además, las crías macho en edad adulta descendientes de madres alimentadas con una dieta alta en grasa están predispuestos

a la acumulación de grasa, mostrando aumentada la almohadilla de grasa gonadal entre otras, junto con hiperleptinemia.

Caesar et al. (2010), mediante un análisis de microarreglos comparativo usando ratones ApoE3 Leiden alimentados con una dieta alta en grasas demostró que había falta de control de la lipogénesis *de novo* en el TA epididimal, específicamente en la zona proximal en respuesta a la dieta. La novedosa observación de que este depósito adiposo se divide en zonas con propiedades fisiológicas potencialmente diferentes, destaca que los tejidos adiposos son diversos. Las proporciones de ácido linoleico y ácido α -linolénico se incrementan en TAB epididimal en comparación con otros depósitos adiposos. La acumulación de estos ácidos grasos en la dieta puede ser causada por la baja actividad lipogénica en este depósito.

El supuesto papel de los esteroides sexuales en el control de la lipogénesis *de novo* indica una interacción entre los órganos reproductivos y la almohadilla de grasa local, donde la secreción de testosterona de los testículos provoca la acumulación local de ácidos grasos esenciales (Byeon y Lee 2016). Esta hipótesis está respaldada por la observación de que la testosterona inyectada en los testículos y el epidídimo circula hacia la almohadilla de grasa del epidídimo (Einer-Jensen 1974). En otro estudio, se estudiaron las alteraciones en la lipólisis entre los adipocitos mesentéricos y perigonadales en ratones. Reportando que la lipólisis se regula de manera diferente entre los adipocitos perigonadales y mesentéricos, y estas diferencias específicas de depósito podrían explicarse por la regulación alterada de perilipina (Wueest et al. 2012).

El control de la lipogénesis *de novo* en TA epididimal proximal se suprime independientemente de la dieta, y de acuerdo con Caesar et al (2010), el control de nutrientes parece ser abolido por el control de esteroides sexuales, encontrando que los espermatozoides están altamente enriquecidos en ácidos grasos poliinsaturados, especialmente DHA y ácido araquidónico y se ha propuesto un modelo en el que los esteroides sexuales suprimen la lipogénesis *de novo* en el TA asociado con los testículos y, por lo tanto, optimizan este tejido para el almacenamiento de ácidos grasos dietéticos como precursores durante la espermatogénesis (Figura 19). De acuerdo con este modelo, el ácido linoleico y el ácido α -linolénico se transportan desde el TA epididimal al epidídimo y, potencialmente, a los testículos, donde son procesados por delta-5 y delta-6 desaturasas (Saether et al. 2003; 2007).

Una dieta a largo plazo enriquecida en ácidos grasos saturados y monoinsaturados agota el almacenamiento de ácido linoleico y ácido α -linolénico y, eventualmente, también cambia la composición de ácidos grasos de los espermatozoides. Se ha demostrado que los espermatozoides

aislados de animales mantenidos con una dieta libre de grasas durante seis semanas exhiben niveles ligeramente reducidos en ácidos grasos poliinsaturados, lo que indica que los ácidos grasos almacenados se utilizan como componentes básicos durante la espermatogénesis y pueden sostener la demanda durante largos períodos de tiempo con una cantidad insuficiente de suministro de ácidos grasos en la dieta. Se ha visto que los ácidos grasos omega-6 y omega-3 en TAB epididimal son parcialmente reemplazados por ácidos grasos monoinsaturados durante una dieta alta en grasas, sugiriendo que esta dieta a largo plazo agota la reserva de precursores de aminoácidos almacenados en el TA, y puede afectar la calidad del esperma a largo plazo y el suministro de ácidos grasos, lo que sugiere un papel potencial de los ácidos grasos almacenados en la producción de espermatozoides viables (Saether et al. 2007).

3. JUSTIFICACIÓN

El desarrollo de enfermedades propias del tracto reproductivo (como infertilidad, subfertilidad, y/o cáncer, entre otras) han llevado a tratar de explicar su origen desde diferentes puntos de vista. Uno de los más relevantes es el de la programación de estas enfermedades en ventanas tempranas del desarrollo por deficiencias o excesos nutricionales. Las observaciones epidemiológicas en humanos y modelos animales, sugieren que la nutrición recibida en el ambiente intrauterino (gestación), a través de la lactancia materna y durante diferentes etapas postnatales modula y modifica la función de varios tejidos con actividad metabólica en la vida adulta.

Usando diferentes modificaciones nutricionales en modelos animales, incluyendo restricción hipocalórica de nutrientes, restricción isocalórica de proteína y sobrenutrición hipercalórica; se han podido observar algunos efectos en diferentes niveles del desarrollo en la descendencia en tejidos reproductivos, como el testículo (Mao et al. 2018) y el TAP (Cervantes-Rodríguez et al. 2014; Zambrano et al. 2014; Zambrano y Nathanielsz 2017) por separado. Y dado que ambos tejidos y sus sistemas de control hormonal se establecen durante la vida fetal, embrionaria y perinatal, esclarecer el efecto del incremento en el consumo de carbohidratos simples durante las etapas previamente mencionadas en la edad adulta y su interrelación, representa un importante objetivo de estudio para la programación de desarrollo.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cómo afectará el consumo pre/materno (gestación-lactancia) y post-natal (destete-adultez) de agua azucarada al 5% la morfometría del testículo y el TAP de crías masculinas de rata (*Rattus norvegicus*) en edad adulta?

4. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto del consumo pre/materno (gestación-lactancia) y post-natal (destete-adultez) de sacarosa al 5% sobre el testículo y el TAP en ratas (*Rattus norvegicus*) adultas.

4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar los parámetros morfométricos y las condiciones nutricionales de las madres durante la gestación y lactancia que consumieron o no sacarosa al 5%.
- Evaluar los parámetros morfométricos y las condiciones nutricionales de las crías macho desde el nacimiento y hasta la edad adulta (dPN 120), que consumieron o no sacarosa al 5%.

En la descendencia masculina adulta que consumió agua con y sin sacarosa al 5%:

- Determinar el peso testicular y del TAP, número y área transversal (CSA) de los túbulos seminíferos y de los adipocitos perigonadales.
- Caracterizar y describir mediante una tinción de H&E la histología del testículo y el TAP.

5. HIPÓTESIS

Efecto por dieta materna: El consumo de sacarosa durante la etapa materna (gestación-lactancia) incrementará los niveles de glucosa en sangre que atravesarán la placenta, programando un incremento en el peso relativo del TAP, CSA y número de adipocitos contados, así como el aumento en el peso testicular y el CSA de los seminíferos, pero una disminución del número de túbulos seminíferos contados. El ANOVA realizado dará el mayor y único porcentaje de variación a la dieta materna.

Efecto por dieta postnatal: El consumo de azucarada al 5% en los críos desde el destete y hasta la edad adulta, incrementará sus niveles de glucosa en sangre, provocando un incremento en las variables del peso relativo del TAP, CSA y número de adipocitos contados, así como el aumento en el peso y CSA de los túbulos seminíferos, pero disminuirá número de túbulos seminíferos contados, independientemente del consumo materno de sacarosa. El ANOVA realizado dará el mayor y único porcentaje de variación a la dieta de los críos.

Efecto por la interacción: La dieta materna con sacarosa al 5% programará el establecimiento del incremento de los valores en las variables de peso relativo del TAP, CSA y número de adipocitos contados, así como el aumento en el peso y CSA de los túbulos seminíferos, pero una disminución en el número de túbulos seminíferos contados; y dichos valores se acentuarán más con el consumo de sacarosa postnatal (destete-adultez). El ANOVA realizado dará el mayor y único porcentaje de variación a la interacción, y un porcentaje importante además de darle un porcentaje de variación significativo a uno de los dos factores.

6. METODOLOGÍA

6.1 Mantenimiento y cuidado de los animales

Se utilizaron 12 ratas hembra adultas de la raza Wistar (*Rattus norvegicus*) de tres meses de edad, con un peso de 220 a 240 g. Se colocaron aleatoriamente en jaulas independientes (37 x 27 x 16 cm) y se mantuvieron en condiciones de bioterio con un ciclo de luz-oscuridad invertido de 12/12 horas y una temperatura de controlada de 20 ± 2 °C, con alimento y agua *ad libitum* (Corona-Quintanilla et al. 2021). Todos los procedimientos experimentales se realizaron de acuerdo con la regulación establecida en el Manual de Seguridad en el Trabajo de Laboratorio del Centro Tlaxcala Biología de la Conducta y en las especificaciones descritas en la Norma Oficial Mexicana en el Cuidado y Uso de Animales de Laboratorio NOM-062-ZOO-1999.

6.2 Diseño experimental

Se utilizó un diseño bifactorial mixto, donde el primer factor fue el periodo del consumo de agua con o sin azúcar, con 2 niveles: materno (gestación-madres) y post-natal (lactancia a edad adulta-crías). El segundo factor fue el consumo de agua también con dos niveles (simple o azucarada al 5%) (figura 20) (Córdoba-Sosa et al. 2022).

6.2.1 Grupos experimentales (madres – dieta pre/materna)

Seis ratas hembras por grupo experimental fueron apareadas con machos expertos. El día del apareamiento fue considerado el día 0 (cero) de la gestación. A partir del día uno, se midió el consumo diario de agua, alimento y peso corporal. Se asignaron aleatoriamente a las ratas en los diferentes grupos:

- Grupo control (C, Madre Control), ratas alimentadas con una dieta Chow 5001 de Purina® y agua simple *ad libitum* durante la gestación y lactancia.
- Grupo sacarosa (S, Madre Sacarosa), ratas alimentadas con una dieta Chow 5001 de Purina® y agua con sacarosa al 5% *ad libitum* durante la gestación y lactancia.

6.2.2 Subgrupos experimentales (crías – dieta post-natal)

Posterior al parto, las camadas se ajustaron con 8-10 crías para estandarizar la demanda alimenticia durante la lactancia. El destete se realizó al día 22 post-natal, y se asignaron los

machos aleatoriamente a los grupos experimentales correspondientes, formando cuatro subgrupos en total (Figura 20):

- Subgrupo 1 (CC, Madre Control – Cría Control), se le proporcionó dieta Chow 5001 Purina® y agua simple *ad libitum*.
- Subgrupo 2 (CS, Madre Control – Cría Sacarosa), se le proporcionó dieta Chow 5001 de Purina® y agua con sacarosa al 5% *ad libitum*.
- Subgrupo 3 (SC, Madre Sacarosa – Cría Control), se le proporcionó dieta Chow 5001 de Purina® y agua simple *ad libitum*.
- Subgrupo 4 (SS, Madre Sacarosa– Cría Sacarosa), se le proporcionó dieta Chow 5001 de Purina® y agua con sacarosa al 5% *ad libitum*.

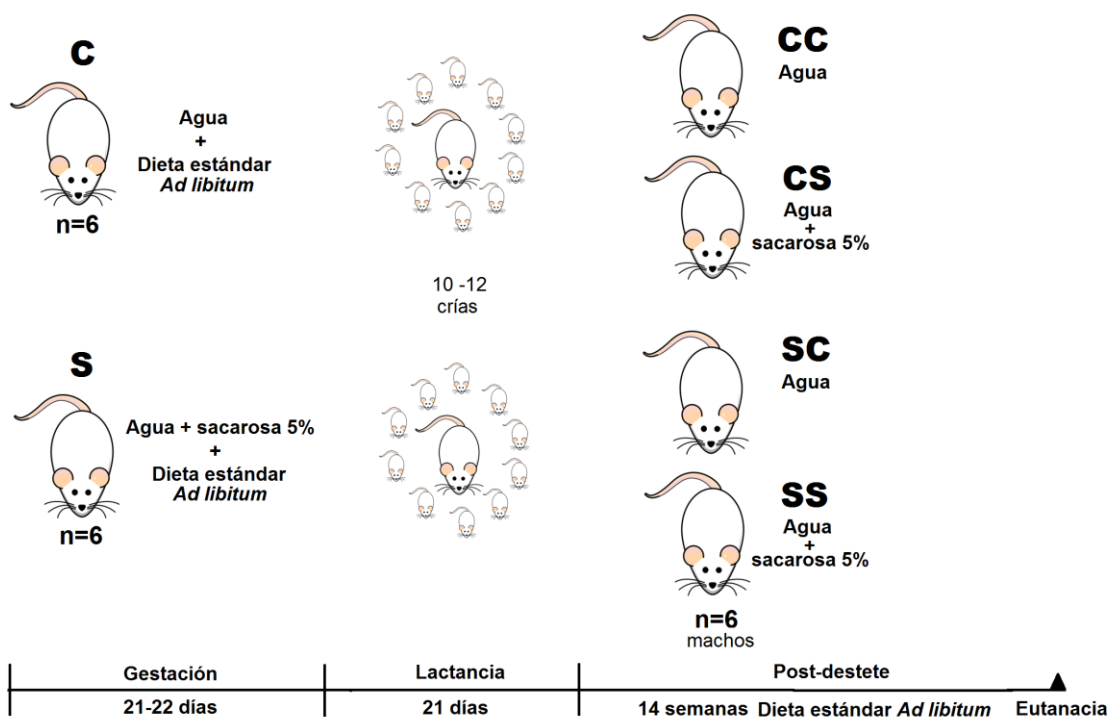


Figura 20. Diseño experimental. Grupos de hembras durante la gestación, lactancia y machos post-destete alimentados con dieta estándar y agua de grifo (C) y con sacarosa al 5% (S) (Córdoba-Sosa et al. 2022).

6.3 Protocolo de dieta

Todas las ratas fueron alimentadas con dieta normal Chow 5001 de Purina. Los grupos S recibieron 5% de sacarosa estándar comercial en el agua que consumieron, las ratas del grupo C consumieron agua simple. Durante el periodo experimental, se hizo el registro diario del peso

corporal, consumo de alimento y agua. Diariamente se colocaron 150 ± 1 g de alimento y 250 ml de agua en cada jaula obteniendo la cantidad remanente 24 horas después. La ingesta total de calorías se determinó a partir de la cantidad de alimento ingerido (Tabla 5) y el consumo de sacarosa (evaluado como ml de agua/100g peso corporal x g de azúcar/ml de agua x 4 kcal/g de azúcar).

Tabla 5. Aporte calórico por cada 100 gramos de alimento de dieta Chow 5001 de Purina®

NUTRIMENTO	%	Kcal
Proteínas	23	92
Lípidos	4.5	40.5
Carbohidratos	62.5	250
Otros	10	0
total	100	382.5

6.4 Análisis hematológico

La sangre fresca se centrifugó a 5,000 xg durante 5 min para la determinación directa del hematocrito (Hto), utilizando el lector de tubos de microhematocrito modelo Critocaps® (Oxford, McCormick Scientific). La estimación de la hemoglobina se efectuó empleando la tabla de valores normales del volumen globular por el Hto.

6.5 Obtención de muestras sanguíneas, del testículo y el TAP

Las ratas previas al sacrificio se mantuvieron en ayuno de 12 horas (solo permanecieron con agua *ad libitum*). Se sacrificaron por decapitación e Inmediatamente posterior a esta se recolectó la sangre troncal y a temperatura ambiente se dejó coagular para obtener el suero por centrifugación. (3500 rpm por 10 min), dividiendo la muestra en alícuotas de 300µl y almacenándolas a -30°C para posteriores análisis.

Se realizó una incisión longitudinal sobre la línea media ventral de la rata, se extrajeron los testículos en conjunto con el epidídimo y el TAP, posteriormente fueron separados para ser pesados. El testículo y el TAP del lado derecho se almacenaron inmediatamente a -30°C para posteriores análisis y los tejidos del lado izquierdo fueron lavados en solución salina, para retirar el exceso de sangre, después se depositaron en solución de bouin, como proceso de fijación por 24 horas antes de comenzar las técnicas de deshidratación, aclaramiento e inclusión.

6.6 Técnicas y análisis histológico de testículo

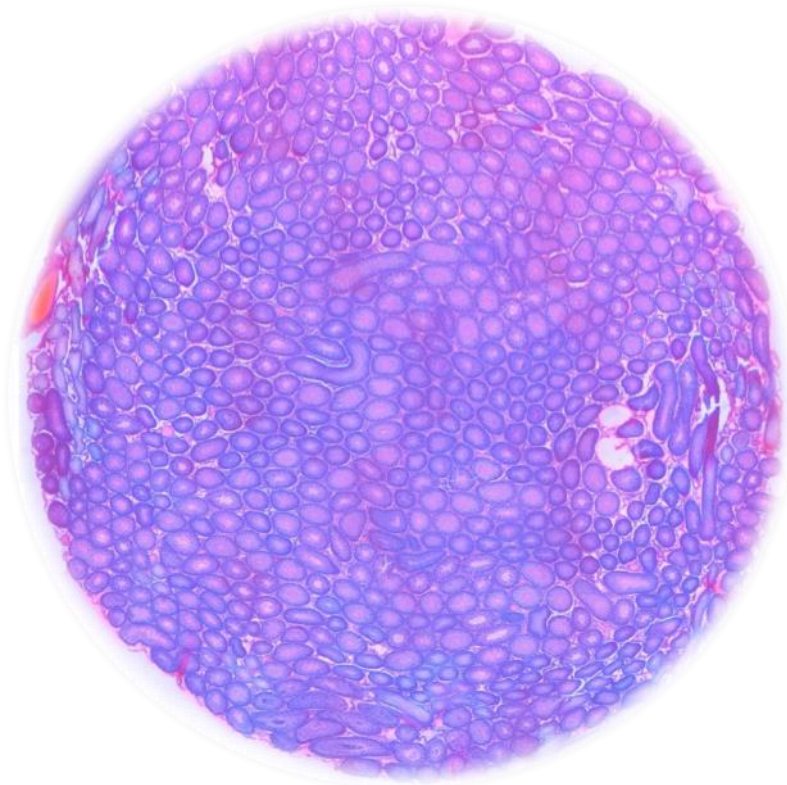
Los testículos fueron cortados a la mitad a través de un corte transversal. Ambas partes fueron sometidas a las técnicas de deshidratación con alcohol etílico en concentraciones de 70, 80, 96 y 100% y aclaración con xileno; posteriormente se incluyó en paraplast Plus (Sigma-Aldrich). Una vez incluido el tejido se dejó reposar por 24 horas, después de ese tiempo se realizaron cortes transversales de 7 μ M de grosor en un micrótopo de la marca Leica[®] RM 2135 y se recolectaron en laminillas formando 2 series de 6 cortes, los cuáles se dejaron secar a temperatura ambiente durante una semana. Finalmente se tiñeron con la técnica de hematoxilina-eosina (H&E) y se montaron con Cytoseal TM 60 (De León-Ramírez et al. 2021).

Para realizar las observaciones se utilizó un microscopio óptico de la marca Zeiss (Axio Imager A1). Se tomaron microfotografías con una cámara digital OLYMPUS C-5060 a 4X, 10X y 40X. Para realizar la cuantificación de los túbulos seminíferos, se realizó la reconstrucción de las microfotografías a 4X de un corte transversal del testículo izquierdo por cada individuo con el programa Adobe Illustrator CS5 (figura 21) y como criterio para medir los túbulos seminíferos se tomaron en cuenta aquellos que cumplían la característica de haber sido cortados transversalmente y midiendo así, el área del corte transversal (CSA Figura 21). El análisis de las características histológicas del epitelio seminífero se realizó de acuerdo con Morales et al. (2014).

6.7 Técnicas y análisis histológico de tejido adiposo perigonadal (TAP)

Se deshidrató y aclaró el TA con alcohol etílico en concentraciones de 70, 80, 96 y 100% y Xilol. Posteriormente, se incluyó en paraplast X-tra, se dejó reposar 24 h y se realizaron cortes longitudinales en un micrótopo de la marca Leica[®] RM 2135 y se recolectaron en laminillas de 7 μ m de grosor, formando una serie de 10 cortes y desechando 10 hasta conseguir 30 cortes, los cuales se dejaron secando 3 días. Los tejidos se desparafinaron, se tiñeron con la tinción de H&E y se montaron utilizando Cytosel TM 60 (Cervantes-Rodríguez *et al.*, 2014). El tejido se observó con un microscopio óptico de la marca Zeiss, tomando 3 fotografías por animal con una cámara digital OLYMPUS C-5060 a 10X y 40X para medir el área del corte transversal (CSA) de los adipocitos con el programa de AxionVision Rel. 4.8 (Carl Zeiss MicroImaging, Inc.).

A



B

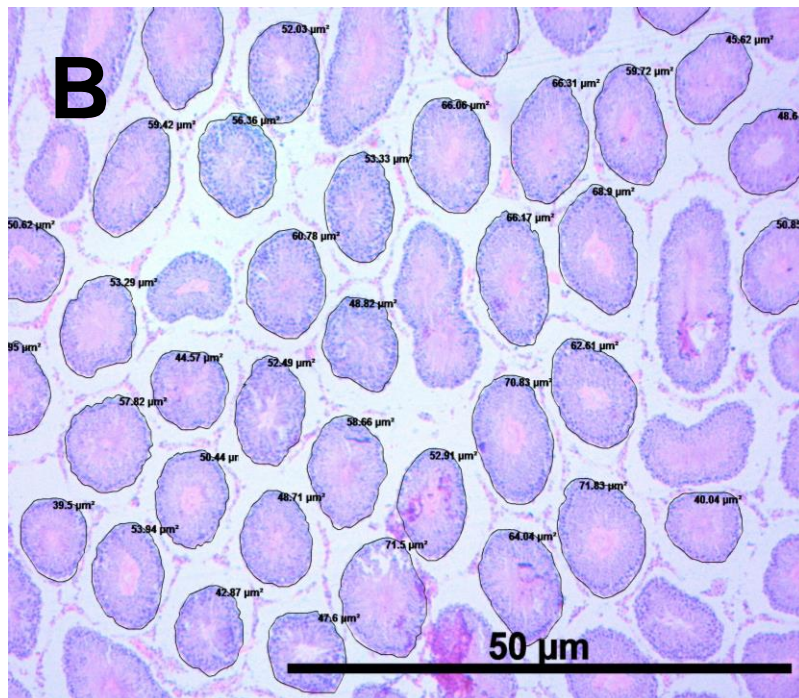


Figura 21. A) Reconstrucción del testículo. Microfotografías donde se muestra la reconstrucción de un corte histológico del testículo con tinción H&E (4x). B) Túbulo seminífero medido. Microfotografía de los túbulo seminífero teñidos con H&E y medidos (4x). Se muestran las mediciones realizadas a los túbulo seminífero.

Posteriormente se midieron con ayuda de una cuadrícula, tomando en cuenta aquellos que se encontraban en el centro (Figura 22). Los histogramas de frecuencia relativa se representaron gráficamente con intervalos del CSA de $200 \mu\text{m}^2$ (es decir, 0-200, 201-400, 401-600 μm^2) hasta el máximo intervalo del CSA observada. Los puntos de corte para los adipocitos pequeños, medios y grandes se definieron respectivamente en función de los percentiles 25 y 75 de la distribución relativa del CSA del grupo CC y el análisis mediante comparaciones no paramétricas.

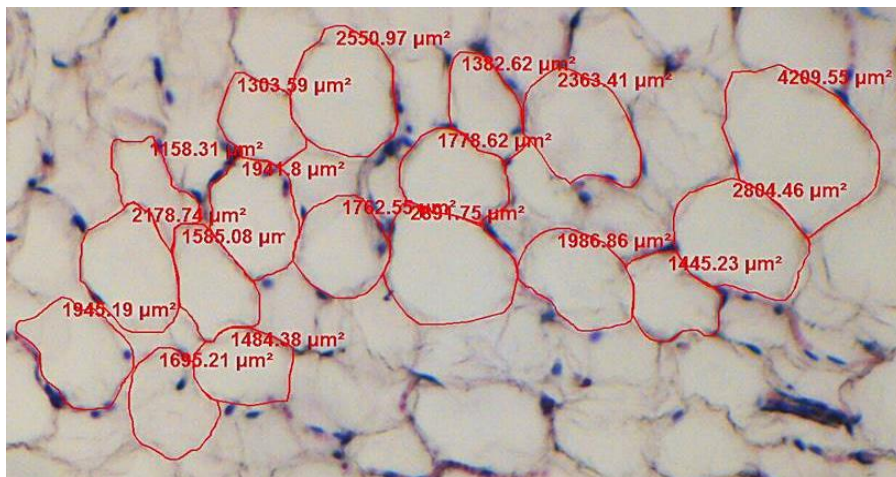


Figura 22. Ejemplo de la medición del área de los adipocitos perigonadales.

6.8 análisis estadístico

El tamaño de la muestra en cada grupo fue de 6 ratas. Los factores considerados para el análisis fueron la dieta (control y 5% de sacarosa) y la etapa de desarrollo (prenatal: gestación / lactancia y postnatal: niñez / pubertad / adultez). Siguiendo la normalidad de los datos, la comparación de grupos de madres durante el embarazo y la lactancia se realizó mediante la prueba *t*-Student. Para el análisis de los grupos de machos post-destete se aplicó un ANOVA de dos vías con una prueba post-hoc de Tuckey. Solo para el tamaño de los adipocitos (pequeño, medio y grande), la determinación de la proporción y la comparación por el tamaño de su distribución y del CSA de los túbulos seminíferos se utilizó una prueba de Fisher con un análisis de X^2 . Se utilizó el paquete estadístico del programa GraphPad Prism Versión 6.0 para Windows y todas las variables medidas se expresaron como la media \pm error estándar de la media (SEM). Se consideraron diferencias significativas con una $P \leq 0.05$.

7. RESULTADOS

7.1 Ganancia de peso, consumo de agua y alimento en madres

Como se observa en la figura 23a, no hubo diferencias entre el peso de las hembras al inicio de la gestación (C: 232.42 ± 3.09 , S: 240.3 ± 3.51 , $P= 0.1235$) ni en la ganancia de peso (Figura 23c) (C: 134.2 ± 3.20 , S: 142.5 ± 6.25 , $P= 0.2613$) pero sí en el peso obtenido al final de la gestación (C: 366.6 ± 2.05 , S: 382.8 ± 6.30 ; $P = 0.0342$) (Figura 23b). Durante la lactancia, considerada parte de la etapa prenatal en este trabajo, tampoco hubo diferencias en los pesos inicial o final de las madres ni en su ganancia de peso exclusivamente durante los 21 días de lactancia (Tabla 6).

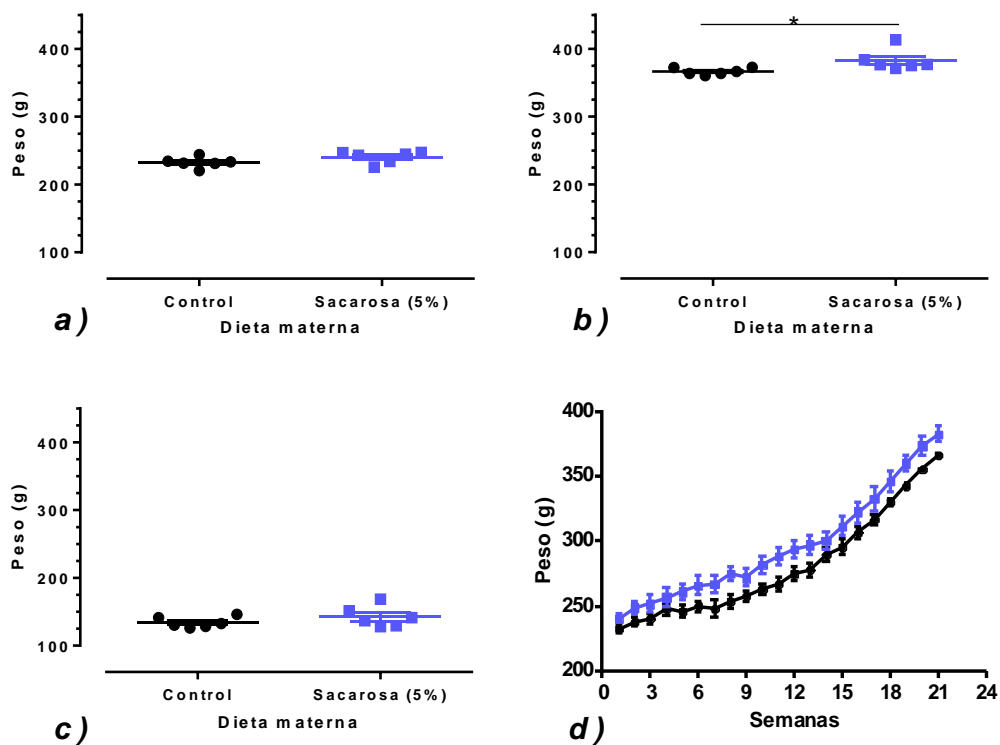


Figura 23. Peso inicial (a), final (b) y ganancia de peso (c) en hembras gestantes que consumieron dieta C y S. Progresión de la ganancia de peso (d) durante la gestación de las madres alimentadas con agua simple (C) (cuadros en color azul) y agua con sacarosa al 5% (S) (cuadros en color negro).

A lo largo de la gestación (etapa prenatal), las madres del grupo S incrementaron significativamente el consumo de agua y la ingesta de carbohidratos y paralelamente disminuyeron ~23% el consumo de alimento sólido (lípidos y proteínas); lo que no afectó el consumo energético total (Tabla 6), pero sí el peso obtenido al final de la gestación (C: 366.6 ± 2.05 , S: 382.8 ± 6.30 ; $P = 0.0342$) (Figura 23b).

Tabla 6. Crecimiento y parámetros metabólicos de hembras adultas que consumieron agua simple (C) y con sacarosa al 5% (S) durante la gestación.

	Hembras gestantes		Variación (%)	Valor de P
	C	S		
Peso corporal al inicio de la lactancia (dPN 1) (g/d/100g PC)	274.7 ± 6.51	270.2 ± 7.33	1.63 ^d	0.6506
Peso corporal al final de la lactancia (dPN 21) (g/d/100g PC)	308.0 ± 10.40	300.0 ± 5.55	3.59 ^d	0.5150
Ganancia de peso durante la lactancia (dPN 1-21) (g/d/100g PC)	38.87 ± 2.57	34.73 ± 4.91	10.65 ^d	0.4728
Consumo gestacional de alimento (g/d/100g PC)	8.77 ± 0.17	6.74 ± 0.31	23.14 ^d	0.0002
Consumo gestacional de agua (ml/d/100g PC)	21.65 ± 1.22	42.87 ± 6.69	98.01 ⁱ	0.0109
Consumo gestacional de carbohidratos (g/100g PC)	88.11 ± 2.77	108.6 ± 4.89	23.25 ⁱ	0.0045
Ingesta energética gestacional de carbohidratos (kcal/100g PC)	352.4 ± 11.09	434.4 ± 19.58	23.26 ⁱ	0.0045
Consumo gestacional de lípidos (g/100g PC)	18.78 ± 0.37	14.44 ± 0.68	23.10 ^d	0.0002
Ingesta energética gestacional de lípidos (kcal/100g PC)	169.0 ± 3.37	130.0 ± 6.14	23.07 ^d	0.0002
Consumo gestacional de proteínas (g/100g PC)	41.94 ± 0.83	32.26 ± 1.52	23.08 ^d	0.0002
Ingesta energética gestacional de proteínas (kcal/100g PC)	167.8 ± 3.34	129.0 ± 6.09	23.12 ^d	0.0002
Total energy intake (kcal/100g PC)	689.2 ± 14.97	693.5 ± 18.91	0.62 ⁱ	0.8613

Se observan los valores de la media \pm SEM (n = 6).

ⁱincremento, ^ddisminución en el porcentaje de variación de parámetros metabólicos respecto al grupo control. DG: día gestacional, dPN: día postnatal, PC: peso corporal.

7.2 Medidas morfométricas y alimentación de las crías al nacimiento y al destete

Al inicio y final de la lactancia (21 dPN) se tomaron los pesos de a descendencia de machos y se determinó su ganancia de peso, mediante la diferencia entre el peso adquirido hasta el dPN 21 y el peso al nacer, sin mostrar diferencias entre los grupos S y C (Tabla 7). Las variables morfométricas determinadas al nacimiento de esta descendencia de machos tampoco presentaron diferencias (Tabla 7).

Tabla 7. Medidas morfométricas al nacimiento y obtención de peso al inicio y final de la lactancia (dPN 1 a 21) con su ganancia obtenida durante esta etapa en la descendencia de machos cuyas madres durante la gestación y la lactancia consumieron agua simple (C) y con sacarosa al 5% (S).

	Crías		Valor <i>P</i>
	C	S	
Peso al dPN 1 (g)	7.12 ± 0.29	7.50 ± 0.29	0.3819
Peso al dPN 21 (g)	38.22 ± 2.58	39.04 ± 1.58	0.7929
Ganancia de peso del dPN 1 al 21 (g)	31.06 ± 2.42	31.54 ± 1.78	0.8787
Longitud (mm)	49.4 ± 0.8	51.9 ± 0.9	0.8027
Circunferencia cefálica (mm)	12.03 ± 0.31	11.76 ± 0.24	0.5083
Circunferencia abdominal (mm)	14.81 ± 0.89	15.44 ± 0.42	0.5440
Distancia ano-genital (mm)	3.45 ± 0.15	3.42 ± 0.18	0.9071

En la figura 24 se muestra que el consumo de sacarosa durante la dieta materna ($P = 0.5732$, $F_{1,20} = 0.3280$), post-natal ($P = 0,1960$, $F_{1,20} = 1,790$) o su interacción ($P = 0.4807$, $F_{1,20} = 0.5163$) no modificó el peso corporal de las crías al inicio del periodo post-natal, es decir, al dPN 22 (CC: 57.49 ± 2.25 , CS: 64.09 ± 2.87 , SC: 57.95 ± 3.29 , SS: 59.94 ± 4.14). Sin embargo, sí hubo un aumento en la progresión del peso después de 10 semanas (Figura 25a), en los grupos que consumieron sacarosa en algún período de su desarrollo en comparación con el grupo CC (Figura 25b-25e). Este aumento de peso varió de acuerdo con el período de consumo de sacarosa. De la semana 12 a la 17 debido a la ingesta prenatal (CC vs SC, Figura 25b), durante la semana 7 y de la 12 a la 17 por consumo posnatal (CC vs CS, Figura 25c) y de la semana 13 a la 17 debido a la interacción del consumo en ambos periodos (CS vs SC, CC vs SS; Figura 25d y 25e). El peso al dPN 120 aumentó significativamente (CC: 379.28 ± 3.55 , CS: 422.71 ± 3.76 , SC: 401.73 ± 3.74 , SS: 414.93 ± 3.63) con diferencias entre grupos debido al consumo de sacarosa (CC vs CS $P \leq 0.0001$; CC vs SC $P \leq 0,005$; CC vs SS $P \leq 0,0001$; CS vs SC $P \leq 0,005$). Así como la ganancia de peso del dPN 22 al 120 (CC: 321.79 ± 3.73 , CS: 358.62 ± 5.31 , SC: 343.78 ± 4.05 , SS: 354.99

± 6.01), con diferencias significativas entre los grupos (CC vs CS $P \leq 0.05$; CC vs SC $P \leq 0.05$; CC vs SS $P \leq 0.005$) (Figura 24b y 24c). El principal efecto tanto en el peso corporal al dPN 120 ($P = < 0.0001$, $F_{1,20} = 59.46$) como en la ganancia de peso ($P = < 0.0001$, $F_{1,20} = 24.36$) se debió al consumo posnatal de sacarosa (Figura 24b y 24c). Sin embargo, en ambas variables hubo un efecto significativo debido a la interacción de las dietas materna y post-natal (peso final: $P = 0.0005$, $F_{1,20} = 16.95$; ganancia de peso: $P = 0.0160$, $F_{1,20} = 6.928$). De esta manera se potenció el efecto de la dieta posnatal por la dieta materna (peso final $P = 0.0596$, $F_{1,20} = 3.988$; ganancia de peso $P = 0.0740$, $F_{1,20} = 3.553$).

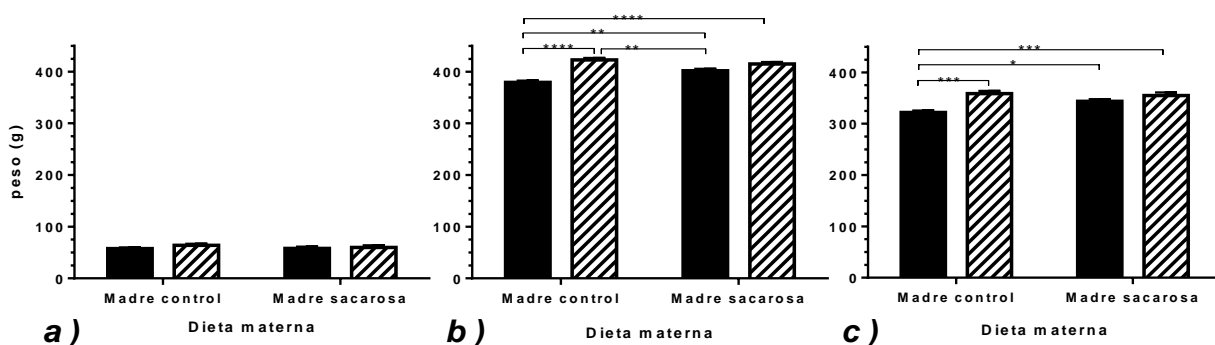


Figura 24. Diferencias en el peso corporal al inicio de la etapa post-natal o destete (a), al final de la etapa post-natal o adultez (b), y en la ganancia de peso (c) de machos que consumieron sacarosa al 5% (barra con líneas perpendiculares) y agua de grifo (barra negra) durante el periodo postnatal y cuyas madres durante la gestación fueron alimentadas con las mismas dietas. Datos analizados con un ANOVA de 2-vías y una prueba post-hoc de Tukey. Los asteriscos representan las diferencias respecto al grupo. Se observan los valores de la media \pm SEM ($n = 6$) * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

El consumo de alimento inicial ($F_{1,20} = 8.506$), final ($F_{1,20} = 24.98$) y total ($F_{1,20} = 20.35$) en la etapa post-natal se vio reducido única y significativamente en los grupos que consumieron sacarosa al 5% por efecto de la dieta post-natal. Al inicio no hubo diferencias entre los grupos, en comparación con el consumo final y total, en donde sí se observaron diferencias (Tabla 8). El consumo de agua inicial no se vio afectado por ninguno de los factores de la dieta materna ($F_{1,20} = 1.783$) o post-natal ($F_{1,20} = 2.574$), ni por la interacción ($F_{1,20} = 0.2482$). Sin embargo, de manera similar al consumo de alimento, pero de forma inversa, el consumo de agua final ($F_{1,20} = 33.07$) y total ($F_{1,20} = 31.31$) en la etapa post-natal se vio incrementado única y significativamente en los grupos que consumieron sacarosa al 5% por efecto de la dieta post-natal (Tabla 8) con diferencias significativas entre los grupos.

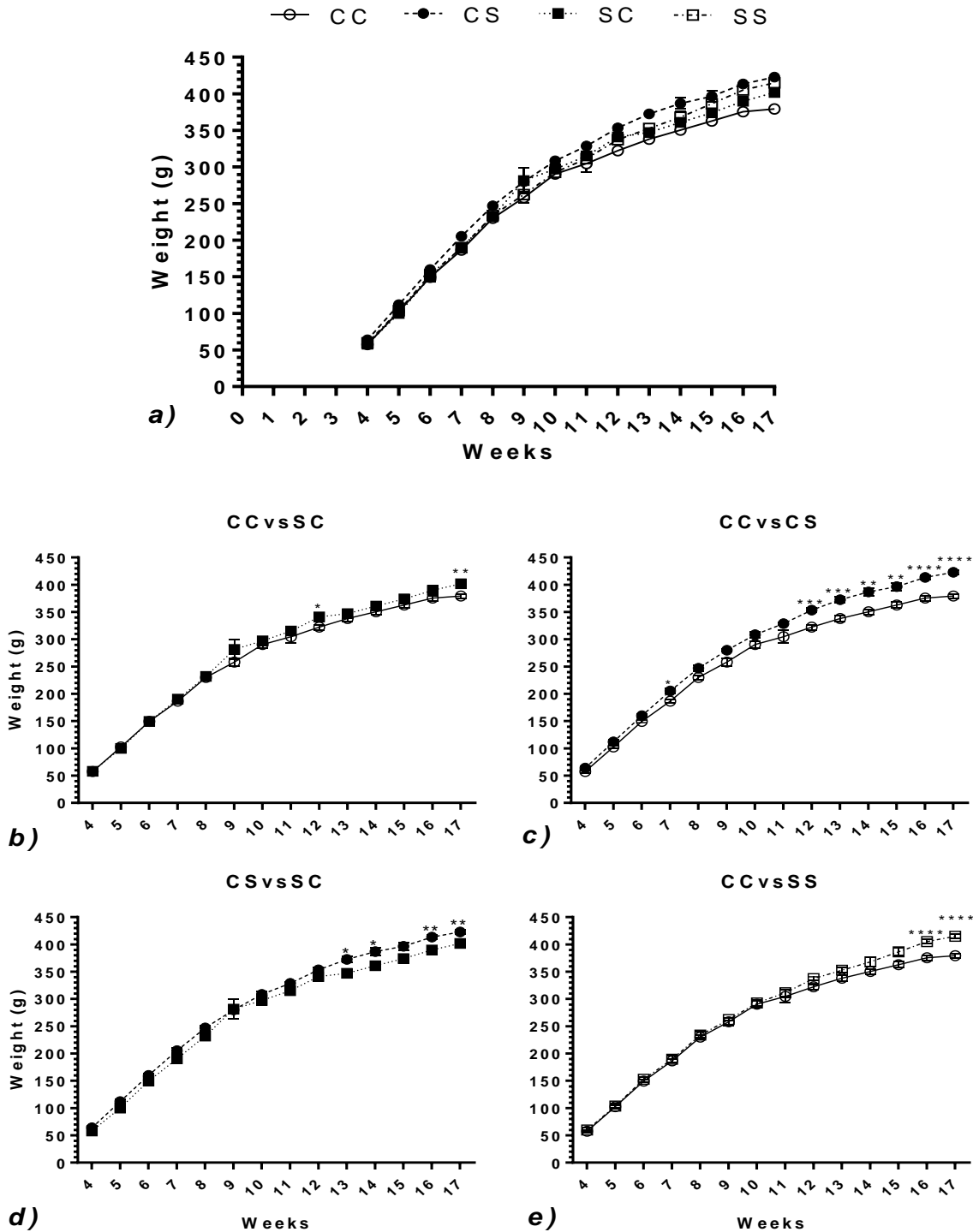


Figura 25. Ganancia de peso semanal (a) de los grupos de machos CC (círculos blancos y línea continua), CS (círculos negros y línea discontinua), SC (cuadrados negros con línea punteada), and SS (cuadrados blancos con línea punteada) desde el destete (semana 4) al dPN 120 (semana 17). Las comparaciones por semana entre los grupos de machos que presentaron diferencias por la dieta materna (b), o la dieta postnatal (c) y la interacción (d, e). Se observan los valores de la media \pm SEM (n = 6). Datos analizados con un ANOVA de 2-vías y una prueba post-hoc de Tukey. * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, *** $P < 0.0001$.

Tabla 8. Peso e ingesta de agua y alimento obtenidos durante el periodo post-natal (del dPN 22 al 120) de la descendencia de machos que consumieron agua simple (CC y SC) y con sacarosa al 5% (CS and SS), y cuyas madres durante la gestación consumieron las mismas dietas. Se observa el efecto de la dieta materna (DM), post-natal (DPN) y su interacción (DM x DPN).

	Grupos de la descendencia de machos				Valor de P		
	CC	CS	SC	SS	DM	DPN	Interacción MD x PND
Ingesta promedio inicial de alimento (dPN 21) (g/d/100g PC)	17.36 ± 0.88	15.18 ± 0.24	17.01 ± 1.44	14.00 ± 0.50	0.398 8	0.0085	0.6484
Ingesta promedio final de alimento (dPN 120) (g/d/100g PC)	6.57 ^a ± 0.32	4.43 ^b ± 0.23	5.90 ^a ± 0.44	4.35 ^b ± 0.41	0.382 4	<0.000 1	0.4984
Ingesta promedio total de alimento (g/d/100g PC)	9.47 ^a ± 0.33	7.61 ^{bc} ± 0.13	9.00 ^{ac} ± 0.49	7.53 ^b ± 0.42	0.453 9	0.0002	0.6058
Ingesta inicial de agua (dPN 21) (ml/d/100g PC)	37.61 ± 3.47	46.25 ± 5.02	34.17 ± 4.75	38.72 ± 2.78	0.196 8	0.1243	0.6238
Ingesta inicial de agua (dPN 120) (ml/d/100g PC)	15.02 ^a ± 1.29	30.52 ^b ± 2.83	13.17 ^a ± 1.98	29.46 ^b ± 4.12	0.606 0	<0.000 1	0.8882
Ingesta total de agua (ml /d/100g PC)	19.70 ^a ± 1.19	31.59 ^b ± 1.79	19.26 ^a ± 2.40	30.19 ^b ± 2.50	0.656 4	<0.000 1	0.1079

Se observan los valores de la media ± SEM (n = 6). Letras en superíndice indican diferencias entre grupos. Datos analizados con un ANOVA de 2-vías y una prueba post-hoc de Tukey
DM: dieta materna, DPN: dieta postnatal, dPN: día postnatal, PC: peso corporal.

7.3 Consumo de proteínas, lípidos y carbohidratos

La disminución en el consumo tanto de proteínas ($F_{1,20}=20.49$) como de lípidos ($F_{1,20}=20.50$) y de su respectivo cálculo energético ($F_{1,20}=20.49$ y $F_{1,20}=20.50$ respectivamente) en los grupos (CS y SS) que consumieron sacarosa durante la etapa post natal (dPN 22-120) se debió al efecto extremadamente significativo (correspondiente con el 49% de la varianza en dichas variables) de la adición de sacarosa al 5% en la dieta, además de que se observaron diferencias significativas entre los grupos (Tabla 9). La disminución proteica fue de 19.19%, 4.55% y 20.13% para los grupos CS, SC y SS respectivamente, por lo que no se considera que haya un déficit de este nutriente. De forma similar pero inversa (Tabla 9), el incremento tanto en el consumo de los carbohidratos ($F_{1,20}=6.267$,) como de su cálculo energético ($F_{1,20}=12.59$) en los grupos que CS y SS se vio afectado directamente por la adición de la sacarosa al 5% en la dieta desde el final de la lactancia y hasta la edad adulta. Sin embargo, el efecto sobre estas variables por el consumo adicional de sacarosa al 5% no se vio tan severamente afectado por esta condición (contando con

el 23 y 37 % de la varianza respectivamente). De forma tal, que únicamente se presentaron diferencias significativas entre los grupos para el cálculo energético del consumo de carbohidratos (Tabla 9). Tanto el consumo calórico total como el nivel del hematocrito en los machos adultos de los 4 grupos no se vieron afectados por las dietas materna y/o post-natal, ni por su interacción (Tabla 9).

Tabla 9. Consumo total e ingesta calórica de proteínas, lípidos y carbohidratos durante el periodo postnatal (del dPN 22 al 120) en los grupos de la descendencia de machos que consumieron agua simple (CC y SC) y con sacarosa al 5% (CS and SS), y cuyas madres durante la gestación consumieron las mismas. Se observa el efecto de la dieta materna (DM), post-natal (DPN) y su interacción (DM x DPN).

	Grupos de la descendencia de machos				Valor de P		
	CC	CS	SC	SS	DM	DPN	Interacción DM x DPN
Ingesta total de proteína (g/d/100g PC)	31.53 ^a ± 1.00	25.47 ^{bc} ± 0.44	30.10 ^{ac} ± 1.63	25.18 ^b ± 1.41	0.484 0	0.0002	0.6446
Ingesta calórica de proteína (kcal/d/100g PC)	126.12 ^a ± 4.00	101.92 ^b ^c ± 1.78	120.40 ^a ^c ± 6.53	100.72 ^b ± 5.66	0.483 7	0.0002	0.6453
Ingesta total de lípidos (g/d/100g PC)	14.11 ^a ± 0.44	11.40 ^{bc} ± 0.20	13.47 ^{ac} ± 0.73	11.27 ^b ± 0.63	0.484 2	0.0002	0.6433
Ingesta calórica de lípidos (kcal/d/100g PC)	127.05 ^a ± 4.03	102.66 ^b ^c ± 1.80	121.28 ^a ^c ± 6.57	101.46 ^b ± 5.70	0.483 6	0.0002	0.6448
Ingesta total de carbohidratos (g/d/100g PC)	64.25 ^a ± 2.04	73.94 ^{ab} ± 1.02	61.33 ^{ac} ± 3.32	72.44 ^a ± 4.10	0.451 5	0.0017	0.8078
Ingesta calórica de carbohidratos (kcal/d/100g PC)	257.00 ^a ± 8.16	295.75 ^a ^b ± 4.09	245.33 ^a ^c ± 13.30	289.76 ^a ± 16.41	0.451 9	0.0017	0.8075
Ingesta calórica total (kcal/100g PC)	510.18 ± 16.20	500.34 ± 5.65	487.02 ± 26.41	491.96 ± 27.33	0.458 2	0.9076	0.7267
Hematocrito al dPN 120 (%)	68.50 ± 1.79	66.35 ± 1.49	69.16 ± 0.56	62.16 ± 8.20	0.684 3	0.2997	0.5780

Se observan los valores de la media ± SEM (n = 6). Letras en superíndice indican diferencias entre grupos. Datos analizados con un ANOVA de 2-vías y una prueba post-hoc de Tukey
DM: dieta materna, DPN: dieta postnatal, dPN: día postnatal, PC: peso corporal.

7.4 Características del testículo

El peso relativo, CSA y número de cortes contados de los túbulos seminíferos de los testículos no se vieron afectados por las dietas prenatal y/o post-natal o su interacción (Tabla 10). Se realizó un

análisis de frecuencia de la distribución relativa del CSA de los túbulos seminíferos contados, tanto totales (Figura 26), como separando las obtenidas en la parte superior y/o inferior (datos no mostrados) del testículo. Los túbulos seminíferos mostraron áreas en un rango de 20 a 120 μm^2 , encontrando el porcentaje más alto entre los 40 a 59 μm^2 . No hubo diferencias en la disposición celular o la presencia típica de células de Sertoli en el área basal o células germinales (espermatozonias, espermatozonitos, espermátides y espermatozoides) (Figura 27). La túnica propia (tejido peritubular de células mioideas) de cada túbulo observado se encontró inalterada, así como las células de Leydig y otras poblaciones de células intersticiales. Sin embargo, en los grupos que consumieron sacarosa en alguna etapa de su desarrollo, se observó un mayor número de células intersticiales, entre las que se destaca una mayor proporción de macrófagos y mastocitos en comparación con el grupo CC (Figura 27). Sin embargo, en el grupo SS se observó una mayor cantidad de células intersticiales. En los grupos CS y SS también se observó una mayor proporción de macrófagos en comparación con el grupo CC.

Tabla 10. Parámetros testiculares en la descendencia que consumió agua simple (CC y SC) y con sacarosa al 5% (CS and SS) durante el periodo postnatal (del dPN 22 al 120), y cuyas madres durante la gestación consumieron las mismas dietas. Se observa el efecto de la dieta materna (DM), postnatal (DPN) y su interacción (DM x DPN).

	Grupos de la descendencia de machos				Valor de <i>P</i>		
	CC	CS	SC	SS	DM	DPN	Interacción DM x DPN
Peso relativo del testículo (g)	0.482 ± 0.01	0.449 ± 0.01	0.471 ± 0.03	0.481 ± 0.02	0.6355	0.6143	0.3634
Número de cortes transversales de túbulos seminíferos contados	468.50 ± 60.69	553.25 ± 51.48	489.38 ± 38.0	562.36 ± 56.65	0.7740	0.1416	0.9102
Área de cortes transversales de túbulos seminíferos (μm^2)	52.18 ± 3.35	45.97 ± 1.61	51.34 ± 2.85	47.10 ± 2.05	0.9548	0.0550	0.7061

Se observan los valores de la media ± SEM (n = 6). Letras en superíndice indican diferencias entre grupos. Datos analizados con un ANOVA de 2-vías y una prueba post-hoc de Tukey.

DM: dieta materna, DPN: dieta postnatal, dPN: día postnatal, PC: peso corporal.

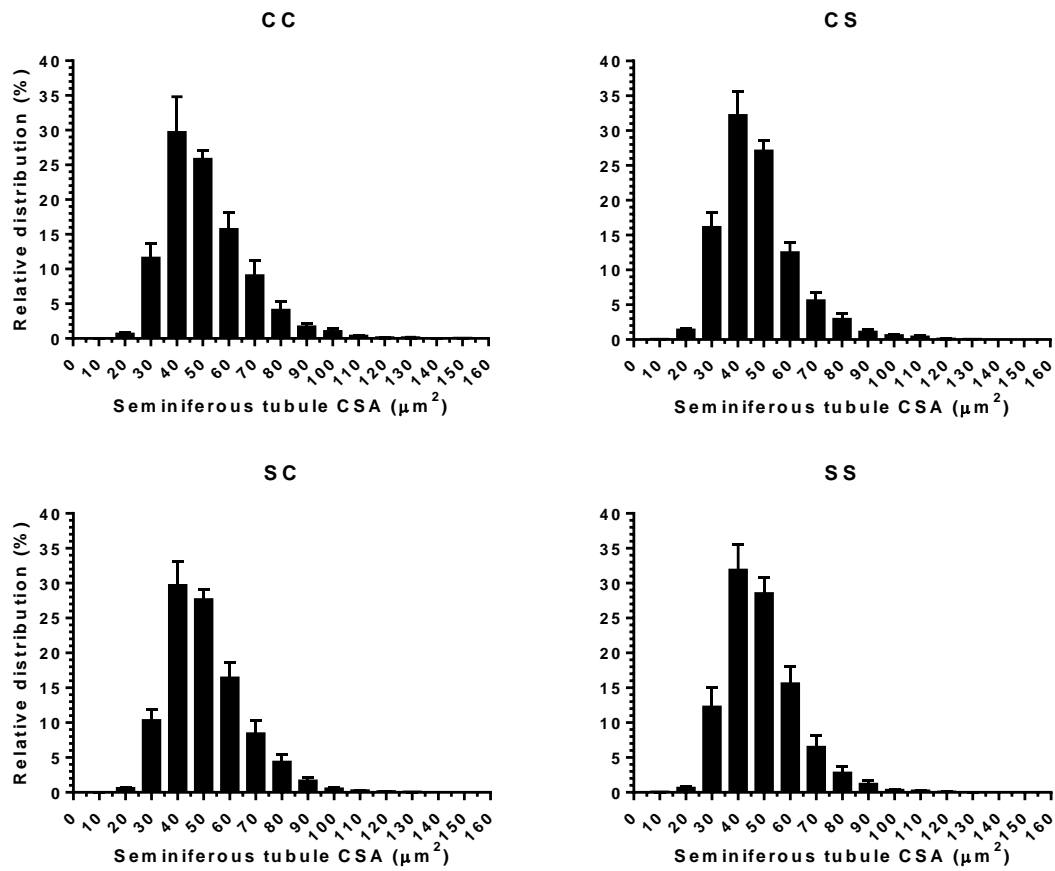


Figura 26. Porcentaje de la distribución relativa del área contada de los cortes transversales (CSA) en los túbulos seminíferos en los grupos de la descendencia de machos que consumieron agua simple (CC y SC) y con sacarosa al 5% (CS and SS) durante el periodo postnatal (del dPN 22 al 120), y cuyas madres durante la gestación consumieron las mismas dietas.

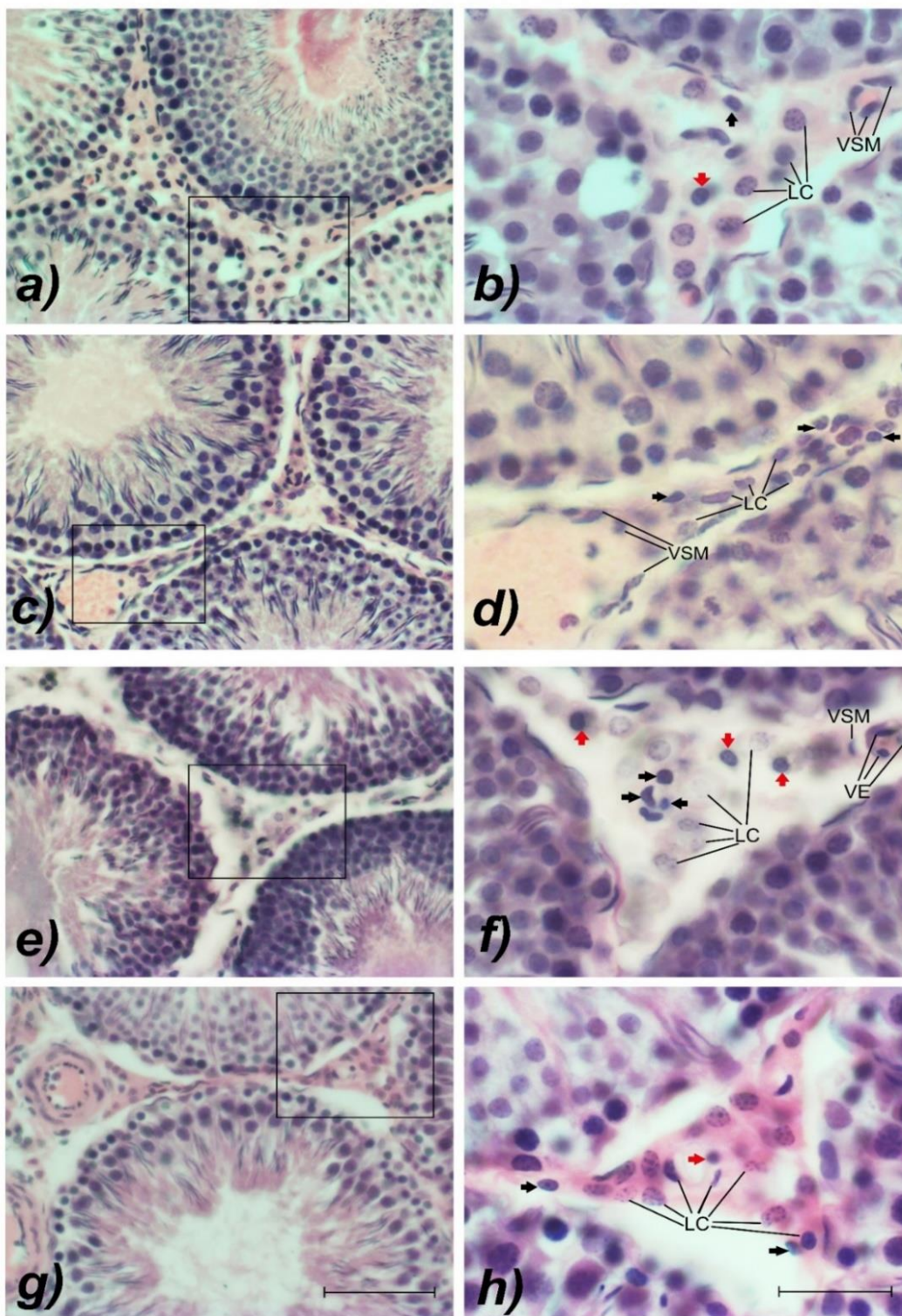


Figura 27. Microfotografías del área del corte transversal (CSA) de los testículos teñidos con H&E, tomadas a 10X (barra de escala = 100 µm) (a, c, e, g) y 40X (barra de escala = 50 µm) (b, d, f, h) de los grupos de machos CC (a, b), CS (c, d), SC (e, f) y SS (g, h). Observando en el espacio intersticial las células de Leydig (LC), vasos sanguíneos (BV) constituidos por células epiteliales vasculares (VE) y de músculo liso vascular (VSM), así como una mayor presencia de macrófagos (flechas negras) y mastocitos (flechas rojas) en machos que consumieron sacarosa en alguna etapa de su desarrollo.

7.5 Morfometría del tejido adiposo perigonadal (TAP)

El peso relativo del TAP (Figura 28a) en los grupos CS (0.672 ± 0.11) y SS (0.702 ± 0.07) se incrementó significativamente, en comparación con los grupos CC (0.417 ± 0.05) y SC (0.471 ± 0.06); lo que se debió únicamente (20.27 % de variación) al efecto del consumo post-natal de sacarosa al 5% ($F_{1,36} = 9.230$, $P=0.0044$). Ni la dieta materna ($P=0.6047$) ni la interacción ($P=0.8774$) de las dietas en ambas etapas tuvo algún efecto sobre esta variable. Sin embargo, pesar de este incremento, al correr la prueba post-hoc no hubo diferencias entre grupos. En el caso particular del número de adipocitos contados (Figura 28b), fue la única variable que se vio afectada (17.64% de variación) principalmente por la dieta materna ($F_{1,20} = 6.525$, $P=0.0189$), así como por la interacción ($F_{1,20} = 6.230$, $P=0.0214$), a pesar de que la dieta posnatal ($F_{1,20} = 4.236$, $P=0.0528$) parece estar cercana a afectar esta variable. Esto indica que el consumo de sacarosa postnatal potencia el efecto del consumo de sacarosa establecido durante la gestación, incrementando así, el número de adipocitos contados. Dicho resultado es rigurosamente marcado al realizar la post-hoc, en la que el único grupo diferente es el SS (54.33 ± 2.44), que consumió sacarosa al 5% como dieta materna y post-natal, en comparación con los grupos CC (36.77 ± 1.44) CS (35.11 ± 4.71) y SC (37.00 ± 5.25). El área promedio de los adipocitos (Figura 28c) no se modificó por efecto de las dietas materna ($F_{1,20} = 2.086$, $P=0.1642$) y post-natal ($F_{1,20} = 0.2396$, $P=0.6299$) o por su interacción ($F_{1,20} = 3.185$, $P=0.0895$). Se presentó una distribución de tipo Gaussiana para los 4 grupos de machos, con los mayores porcentajes de la distribución del área de los adipocitos ubicados entre los intervalos de 1000 a 2000 μm^2 en todos los grupos (Figura 29a-29d), pero cargada hacia el extremo izquierdo, con mayor proporción de adipocitos con áreas menores a 2000 μm^2 . Resaltando que únicamente los grupos que consumieron sacarosa en alguna etapa de su vida presentaron proporciones de adipocitos con áreas superiores a los 3600 μm^2 , especialmente el grupo SC y SS cuya proporción de adipocitos con áreas entre 4800 y 9000 μm^2 fue constante en casi todos los intervalos establecidos (Figura 29c y 29d). Los puntos de corte de los adipocitos pequeños y grandes se definieron con base en los percentiles 25th y 75th de la distribución del grupo CC (Figure 29a), los cuales fueron de 1050.58 μm^2 para los adipocitos pequeños y de 1788.59 μm^2 para los grandes. Al comparar el porcentaje relativo de los adipocitos pequeños, promedio y grandes entre los grupos, únicamente se encontraron diferencias significativas en las proporciones de pequeños y grandes del grupo CC con los grupos que consumieron sacarosa en alguna etapa de su vida (Figura 28d). Los mayores porcentajes de la distribución del área de los adipocitos CC se ubicaron entre los intervalos de 1000 a 2000 μm^2 en

todos los grupos (Figura 29a). Al realizar esta distribución y hacer comparaciones (usando una X^2) entre los intervalos de los grupos para observar diferencias por la dieta materna (CC vs SC y SS vs CS) o la dieta post-natal (CC vs CS y SS vs SC), encontramos que sí se presentan dichas diferencias (Figura 29a y 2b) únicamente por la dieta post-natal (CC vs CS) en los intervalos de 1000 a 1199 μm^2 ($P=0.0400$) y 1200 a 1399 μm^2 . ($P=0.0400$). El consumo de sacarosa post-natal disminuyó la proporción de adipocitos considerados pequeños ($\leq 1050.58 \mu\text{m}^2$), resultando en un aumento de proporciones para adipocitos grandes ($\geq 1788.59 \mu\text{m}^2$), en donde aproximadamente el 6% de los adipocitos tienen áreas desde 3600 y hasta 9000 μm^2 .

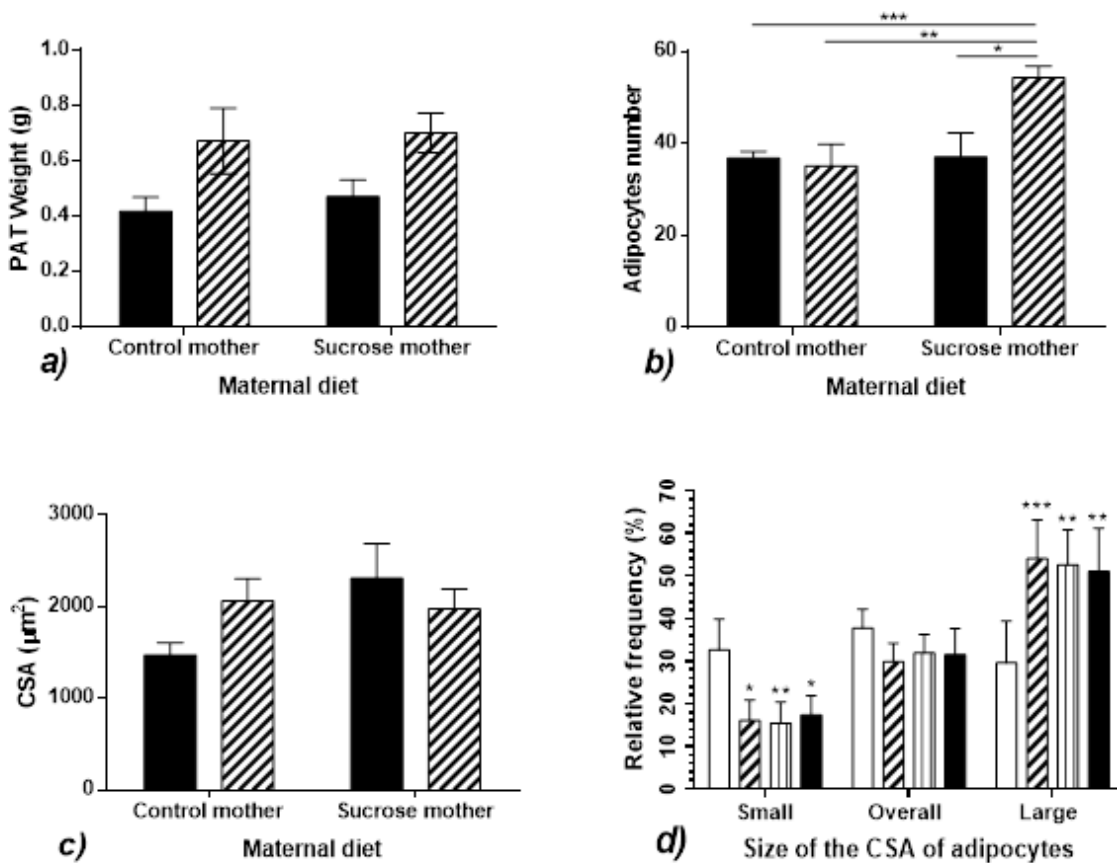


Figura 28. Diferencias en el peso relativo del TAP (a), número (b) y área del corte transversal (CSA) (c) de adipocitos de machos que consumieron sacarosa al 5% (barras con líneas perpendiculares negras) y agua del grifo (barras negras) durante el período posnatal y cuyas madres durante la gestación fueron alimentadas con las mismas dietas. Datos analizados con un ANOVA de 2-vías y una prueba post-hoc de Tukey. Se determinó el porcentaje relativo de adipocitos CSA (d) según su clasificación de tamaño en los grupos CC (barras blancas), CS (barras con líneas diagonales), SC (barras con líneas verticales) y SS (barras negras). Los asteriscos representan las diferencias con el grupo CC en la misma clasificación de tamaño. Datos analizados con una X^2 y diferencias entre grupos mediante la prueba de Fisher. Se observan los valores de la media \pm SEM ($n = 6$). * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$, *** $P < 0.0001$.

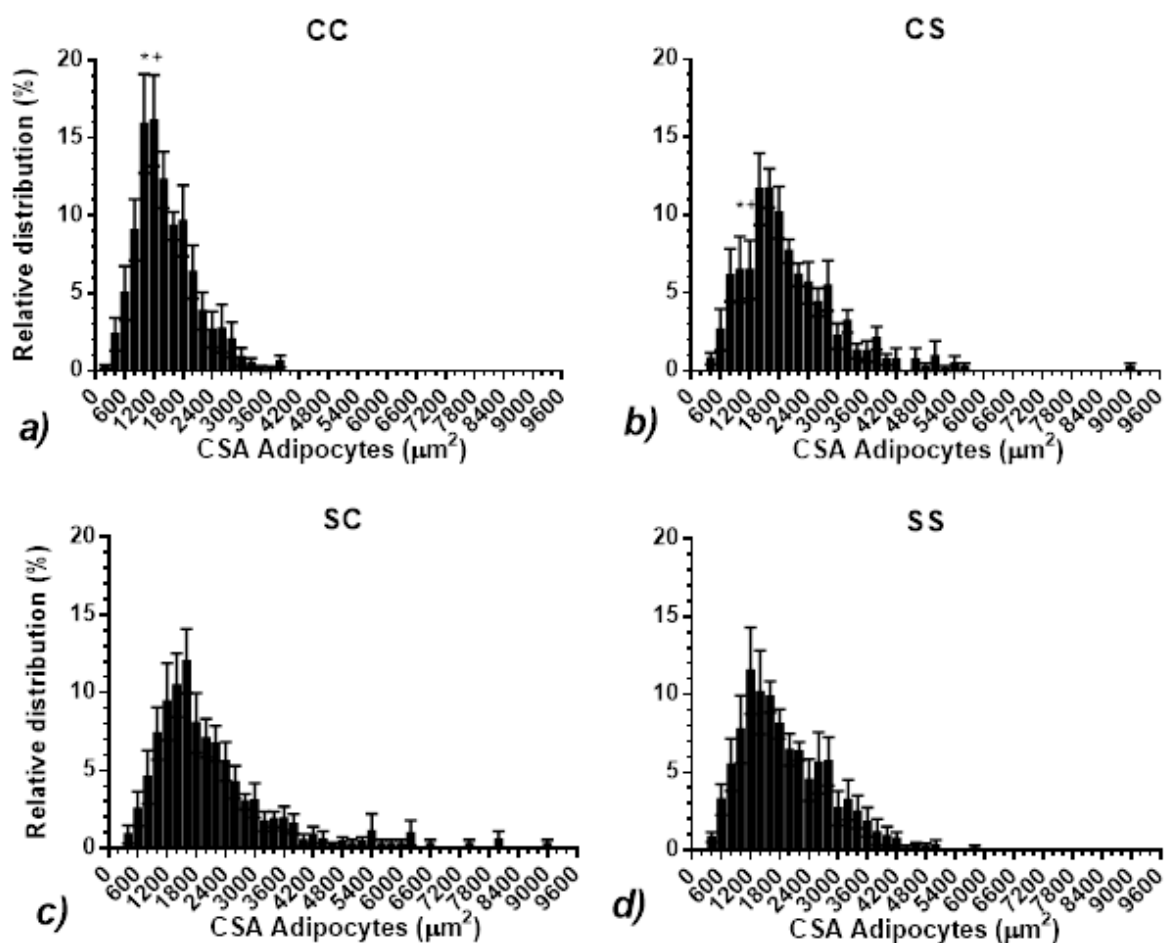


Figura 29. Distribución relativa de los adipocitos contados de acuerdo con el área del corte transversal (CSA) medida de cada uno en los grupos masculinos CC (a), CS (b), SC (c) y SS (d), quienes consumieron sacarosa al 5% durante la etapa posnatal y cuyas madres durante la gestación fueron alimentadas con las mismas dietas. Se observan los valores de la media \pm SEM ($n = 6$). Datos analizados con una prueba de Fisher X^2 . Se muestran diferencias significativas entre los intervalos con el mismo signo. *+ $P < 0.05$.

Realizando comparaciones entre los grupos con intervalos de 400 unidades (Tabla 11) se encontraron diferencias significativas en los adipocitos con áreas de 800 a 1199 μm^2 por la dieta materna (CC vs SC) y en los de 1200 a 1599 μm^2 por la dieta posnatal (CC vs CS). Para corroborar estos resultados, se hicieron 2 histogramas con intervalos de frecuencias de 600 y 1200 μm^2 (tabla 11), encontrando el mismo patrón de diferencias en el rango de 1200 a 1799 y de 1200 a 2399 μm^2 ($P=0.0005$) por la dieta materna (CC vs SC), así como por la dieta posnatal (CC vs CS) en el rango de 1200 a 1799 μm^2 ($P=0.0072$) y de 1200 a 2399 μm^2 ($P=0.0022$). En todas comparaciones el consumo de sacarosa afectó de alguna forma, el desarrollo de adipocitos

de mayor tamaño, dando como resultado una disminución en el porcentaje de frecuencia de los adipocitos pequeños.

Tabla 11. Diferencias significativas entre grupos con diferente frecuencia de intervalos de distribución de las áreas de adipocitos.

Rango (μm^2)	Diferencias por dieta materna		Diferencias por dieta postnatal	
	CC vs SC	SS vs CS	CC vs CS	SS vs SC
801-1200 ^a	$P=0.0281$	NS	NS	NS
1201-1600 ^a	NS	NS	$P=0.0414$	NS
1201-1800 ^b	$P=0.0178$	NS	$P=0.0072$	NS
1201-2400 ^c	$P=0.0005$	NS	$P=0.0022$	NS

Se presentan los valores de P de las diferencias significativas entre los porcentajes de la distribución relativa de las áreas de adipocitos. Datos analizados con una X^2 y una prueba de Fisher. NS: No significativo. Rangos de ^a400, ^b600 y ^c1200 unidades.

Estos datos obtenidos con efecto por la dieta materna dan más soporte (junto con el número de adipocitos contado) a la teoría de la programación fetal en etapas importantes del desarrollo, como son la gestación y lactancia. Los adipocitos de los machos del grupo control (CC) se observaron en proporciones similares amorfos y redondeados (Figura 30a y 30b) y de mayor tamaño en comparación con los del grupo CS. De los machos que consumieron sacarosa durante la etapa materna y postnatal (grupos CS, SC y SS), sus adipocitos presentaron una morfología más simétrica, redondeada y algunos de tamaño visiblemente más grande (Fig. 30c-30g). En la figura 30 se observan de color azul los adipocitos pequeños, en rojo los de tamaño promedio, en vino los grandes y destacan en color morado aquellos con tamaños superiores a $4000 \mu\text{m}^2$. Cabe destacar que, así como en el espacio intersticial de los túbulos seminíferos del testículo, en el TAP se observó un incremento en el número y tamaño de los vasos sanguíneos circundantes a los adipocitos en los grupos que consumieron sacarosa en alguna etapa de su desarrollo.

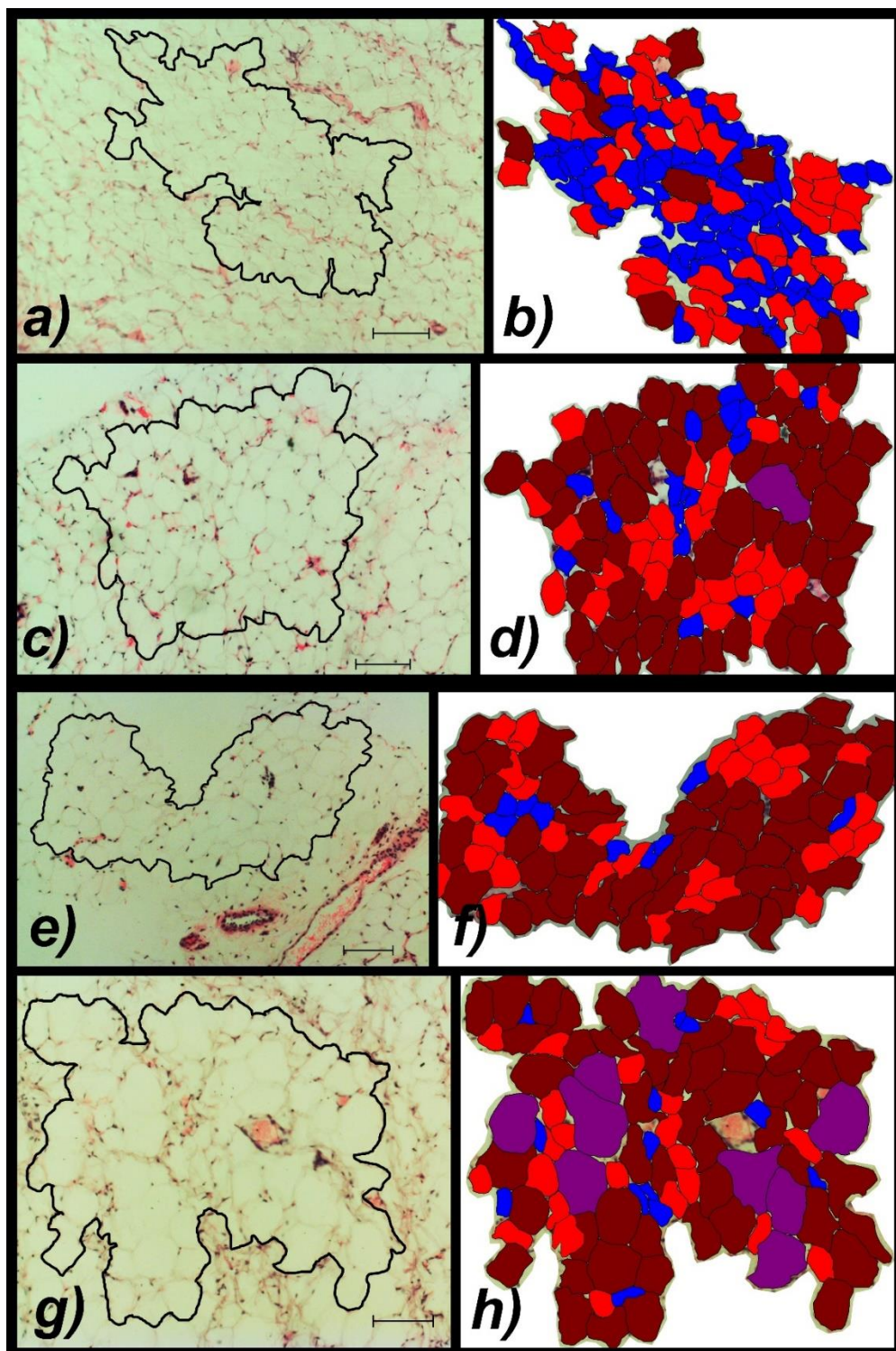


Figura 30. Fotomicrografías del área del corte transversal (CSA) de adipocitos perigonadales teñidos con H&E de los grupos de machos CC (a, b), CS (c, d), SC (e, f) y SS (g, h). Tomadas a 10X (barra de escala = $100\mu m$) (a, c, e, g) y marcando con una línea negra el contorno de aquellos que según su tamaño fueron ampliados (b, d, f, h) para resaltar en azul (pequeño, $\leq 1050.58 \mu m^2$), rojo (promedio, de $1050.59-1788.58 \mu m^2$) y rojo vino (grande, $\geq 1788.59 \mu m^2$), destacando en esta última clasificación aquellos con un CSA mayor a $5000 \mu m^2$ en morado.

8. DISCUSIÓN

8.1 Dieta rica en carbohidratos y tejido graso

En los últimos 30 años, el aumento en el desarrollo de enfermedades y afecciones asociadas al tracto reproductivo masculino en personas con un IMC >25 kg/m² (sobrepeso y obesidad) (Jensen et al. 2004; Kort et al. 2006; Martini et al. 2010; Hajshafihah et al. 2013; Jastrzębska et al. 2014) o animales con dietas altas en calorías (De León-Ramírez et al. 2021; Mao et al. 2018) ha llevado a tratar de explicar su origen, ya que es bien sabido que azúcares como la glucosa y la fructosa atraviesan la placenta humana (Holmberg et al. 1956) y pueden alcanzar y afectar el desarrollo post-natal (Regnault et al. 2013 Mao et al. 2018). Además, de que el feto en desarrollo carece de la capacidad para establecer la gluconeogénesis, por lo que depende del transporte de glucosa a través de la sangre de la madre (Bibee et al. 2011) y uno de los órganos particularmente vulnerable a los cambios nutricionales es el tejido adiposo (Ojha et al. 2015); lo que puede promover futuro sobrepeso en infantes y adultos (Cervantes-Rodríguez et al. 2014) a través de la programación fetal. En este contexto se ha demostrado que existen diferencias significativas en la metilación de ciertos genes y posiciones CpG de espermatozoides de hombres obesos en comparación con aquellos delgados, y que dicho patrón de metilación es remodelado rápidamente después de disminuir su IMC. Además de que existen “puntos calientes” para cambios en la metilación en el genoma asociados con cambios en la ingesta nutricional (Donkin et al. 2016). Es por esto, que el principal objetivo del presente estudio fue probar que la exposición *in útero* y durante la lactancia y hasta la edad adulta, de una dieta rica carbohidratos (sacarosa al 5%), en alguna de estas dos etapas o mediante su interacción, altera el peso y la organización y morfología histológicas del testículo y el TAP adultos.

Como ya se ha reportado previamente, el consumo excesivo de azúcar durante la etapa gestacional está asociado positivamente con la ganancia de peso materna al final de esta etapa (Renault et al. 2015), del mismo modo, nosotros demostramos que las madres que consumieron sacarosa a lo largo de la gestación incrementan significativamente tanto el consumo de agua con sacarosa como el de los carbohidratos totales, resultando en un incremento de peso significativo al final de esta etapa. Esto se debe principalmente al incremento en el consumo de carbohidratos que consecuentemente lleva a una acumulación de estos en forma de triglicéridos en los diferentes depósitos de TA, el cual, con el paso del tiempo incrementa su tamaño y su peso en forma general (Richard et al. 2020). Tanto en las madres gestantes como en los grupos de machos

adultos, al mismo tiempo que el consumo de alimento sólido se vio disminuido en un ~23%, la ingesta de la solución con sacarosa se incrementó en la misma proporción. Esto está relacionado positivamente con un incremento en el peso corporal y la ganancia de peso de los animales al final de los tratamientos alcanzado por la dieta post-natal y la interacción de esta con la dieta materna, así como se ha reportado recientemente en ratón (Mao et al. 2018) y rata (Corona-Quintanilla et al. 2021); resaltando que este incremento de peso comienza después de la 3ra semana del consumo de sacarosa. Este comportamiento en las variables asociadas con el peso corporal ya se ha descrito previamente con dietas altas en carbohidratos como la sacarosa y/o fructosa (Shibata y Fukuwatari 2013; Cervantes Rodríguez et al. 2014; Adekunbi et al. 2016; De León-Ramírez et al. 2021; Mao et al. 2018), indicando que el consumo de estos azúcares (independientemente de si es mono o di-sacárido) está asociado con la regulación de la ingesta de alimento sólido para poder adaptar la energía proporcionada por el incremento en el consumo de agua azucarada (Cervantes-Rodríguez et al. 2014). Específicamente en el caso del consumo de proteínas, es importante resaltar que, a pesar de que se redujo su aporte calórico, ello no implicó una deficiencia en el consumo de este nutriente, ya que tanto en hembras gestantes que consumieron sacarosa (S, 18.5 %), como en la descendencia adulta que la consumió postnatalmente (CS, 19,4%; SS, 19,2%) y en aquellos controles machos que provenían de madres que consumieron durante el embarazo y la lactancia (SC, 23%), este consumo varió de 15 y 20% del aporte calórico total, que se considera dentro del rango óptimo, incluso entre 20 y 25%, lo que es deseable para estos animales (Moro et al. 2021).

8.2 Dieta rica en carbohidratos y testículo

Encontramos que el testículo no se vio afectado en ninguna etapa de desarrollo por la ingesta de sacarosa. La morfología, tipos celulares y dimensiones del testículo no mostraron cambios significativos, así como ya se ha visto en otros modelos de malnutrición con dietas no muy altas en energía (sacarosa al 10%) (Rato et al. 2013) o con altas concentraciones de sacarosa por determinados periodos de tiempo (Adekunbi et al. 2016) en adultos jóvenes que recién alcanzan la madurez sexual. En comparación con trabajos en los que las altas concentraciones de sacarosa afectan la organización morfológica de los tipos celulares del epitelio seminífero, ya sea en etapas temporales, como la infancia (De León-Ramírez et al. 2021) o a lo largo de la vida pre-gestacional, gestacional y post-natal hasta la edad adulta, viéndose incrementado tanto el peso testicular únicamente por efecto de la dieta post-natal, como los niveles de apoptosis en

espermatogonias y algunos espermatoцитos, por el consumo de la dieta post-natal y su interacción con la dieta materna a partir de las 19 semanas post-natales (Mao et al. 2018). Estos resultados contrastan con los obtenidos en nuestro estudio quizá por la combinación en la dieta consumida, alta tanto en sacarosa (17% Kcal) como en grasas; a las etapas de ingesta (pre-gestacional y gestacional consideras como una sola) y al modelo animal usado. Además de que es importante considerar que en este estudio no se evaluó el estado nutricional ni corporal del padre de las crías adultas, pues se ha reportado que el estado de metilación del ADN en ubicaciones específicas del genoma del embrión en desarrollo se hereda a través de la línea paterna (Rakyan et al. 2003). Y que se ha comprobado que hay cambios importantes el estado de metilación del ADN de espermatozoides en adultos con un IMC de 31.8 kg/m² en comparación con aquellos de 22.9 kg/m², tales como incrementos en la densidad de histonas con sitios enriquecidos en islas CpG y alrededor de sitios iniciales de transcripción, la remodelación de marcadores epigenéticos (*MCR-4*, *BDNF*, *NPY*, *FTO*, *CHST8*) para genes que controlan el metabolismo y cambios significativos en 1509 y 3910 genes únicos una semana y un año después respectivamente de una cirugía bariátrica. Sugiriendo que pueden ocurrir cambios epigenéticos durante los últimos estados de maduración espermática en hombres obesos (Donkin et al. 2016). Sin embargo, aún se desconoce hasta qué punto, estos cambios epigenéticos gaméticos pueden influir en el perfil metabólico de su descendencia

Debido a que se presentó una disminución en el consumo de proteína tanto en la etapa gestacional como post-natal, se llegó a hipotetizar que esto podría afectar el desarrollo de los testículos, ya que se ha reportado que una dieta baja en proteína puede tener efectos nocivos en el desarrollo testicular (Zambrano et al. 2005; Pedrana et al. 2019). Esto puede deberse por una parte a que el metabolismo testicular presenta características únicas, al ser altamente dependiente del metabolismo de la glucosa (Boussouar y Benahmed 2004; Alves et al. 2013a), especialmente por el largo y continuo proceso de desarrollo celular que implica la espermatogénesis, y que puede adaptarse a fluctuaciones en la glucosa periférica que se presentan, por ejemplo en condiciones diabéticas (Oliveira et al. 2012; Alves et al. 2013a; 2014) o pre-diabéticas, en las que se ha demostrado que estas dietas estimulan la mayor expresión y actividad de enzimas y receptores como la PFK1, LDH, ALT, GLUT1, GLUT3 y MCT4 para favorecer el consumo de glucosa por CS y germinales y al mismo tiempo optimizar el metabolismo glucolítico para la producción de lactato (Rato et al. 2013). Y por otra, a que a pesar de que el peso testicular ha mostrado ser más sensible que otros órganos (cerebro, hígado y riñones) a cambios en la

composición de carbohidratos en la dieta, estos cambios solamente han sido significativos al consumir elevadas concentraciones de fructosa (Shibata y Fukuwatari 2013) una vez alcanzada la madurez sexual y con sacarosa en etapas infantiles (De León-Ramírez et al. 2021) en rata, probablemente por alteraciones importantes en la secreción de insulina y leptina (Cervantes-Rodríguez et al. 2014; De León-Ramírez et al. 2021). Sin embargo, se ha observado al mismo tiempo un efecto protector de concentraciones moderadas de la glucosa en la misma dieta (Shibata y Fukuwatari 2013) y dado que la sacarosa está estructuralmente conformada tanto por fructosa como por glucosa y la concentración empleada en nuestro modelo fue moderada, ésta no fue suficiente para alterar directamente el peso testicular a pesar de ser consumida en importantes ventanas del desarrollo (gestación, lactancia y pubertad). A pesar de no haber encontrado cambios en la morfología, peso testicular, área y número de cortes transversales de túbulos seminíferos, es muy probable que pueda estar afectada la testosterona sérica y testicular (Rato et al. 2013; Adekunbi et al. 2016; De León-Ramírez et al. 2021), así como la expresión de RNAm y actividad de transportadores (GLUT1, GLUT3, y MCT4), enzimas (LDH) (Rato et al. 2013; De León-Ramírez et al. 2021) receptores (OB-Re) (Rato et al. 2013) y factores transcripcionales (PPAR γ) (Mao et al. 2018).

8.3 Tejido adiposo peridonadal y testículo

La dieta materna disminuyó el porcentaje relativo de adipocitos pequeños ($< 1200 \mu\text{m}^2$) (Nielsen et al. 2016) en la edad adulta, generando un aumento en el porcentaje de adipocitos de mayor tamaño. Estas observaciones ya habían sido demostradas con cambios en la dieta materna en trabajos previos (Nielsen et al. 2016; Ibáñez et al. 2018) y pueden ser el resultado de un proceso inicial de hipertrofia (Ibáñez et al. 2018), lipogénesis (Richard et al. 2020) y un incremento en la acumulación de triglicéridos en este tejido y en sangre, como se ha visto en fetos con hipertrigliceridemia y mayor contenido de triglicéridos hepáticos cuyas madres durante la gestación consumieron fructosa (Vickers et al. 2005; Rodríguez et al. 2013). Por otro lado, durante la vida post-natal y hasta la edad adulta, la ingesta de sacarosa disminuye la proporción de aquellos adipocitos de tamaño promedio (1200 a $3200 \mu\text{m}^2$) pero incrementa el peso del TAP, como se ha reportado en roedores con un incremento de peso en el TA en el periodo posterior a la pubertad (Fuente-Martín *et al.* 2012). Así como en el caso del consumo de sacarosa post-natal, donde también hemos observado un incremento en el peso de TA que rodea al riñón por el consumo de sacarosa en esta etapa (Corona-Quintanilla et al. 2021), elevados niveles de TAG y

leptina y un incremento significativo en la proporción de adipocitos grandes de todo el TA en adultos (Cervantes-Rodríguez et al. 2014). Todo esto puede ser atribuido a que el consumo de agua azucarada estimula la secreción suficiente de insulina para mantener niveles normales de glycemia pero al mismo tiempo incrementa las concentraciones de TAG, colesterol y leptina maternas y fetales (Rodríguez et al. 2013) y en machos adultos (Cervantes-Rodríguez et al. 2014).

También es sabido que durante el consumo excesivo de nutrientes, la capacidad de expansión del TA alcanza su límite y existe una fuerte asociación entre el tamaño y muerte de los adipocitos (Strissel et al. 2007), en respuesta a lo que, los macrófagos pro-inflamatorios producen citosinas (IL-6, TNF α y oncostatina M) de forma aguda (Crewe et al. 2017), que en procesos como la obesidad, al menos en ratones, esta producción necesaria para la expansión del tejido (DiSpirito y Mathis 2015, Wernstedt et al. 2014; Elks et al. 2016), se vuelve crónica y conduce a una alteración de la señalización de la insulina en los adipocitos, mayor inflamación y empeoramiento continuo de la disfunción del TA (Crewe et al. 2017, Cinti et al. 2005; Lumeng et al. 2007). Sin embargo, también es importante destacar que, aunque la inflamación del TA tiene claramente efectos perjudiciales, la evidencia también indica roles adaptativos y homeostáticos para la señalización pro-inflamatoria en la expansión y función de la TA (Richard et al. 2020). Esto nos indica que una ingesta no muy elevada de carbohidratos durante la etapa materna (gestación lactancia materna) tiene efectos importantes en la estimulación de mecanismos que pueden llevar a la programación del desarrollo en la descendencia, para incrementar el peso y tamaño del tejido adiposo. Pero si este consumo, por parte de la descendencia es sólo el necesario (para cubrir adecuadamente los requerimientos nutricionales para su cuerpo) durante el resto de las etapas de su vida, esta programación podría disminuir radicalmente e incluso mermar su desarrollo. Sin embargo, aun cuando en etapas maternas, no se consuma sacarosa, si la descendencia, ingiere crónicamente cantidades de azúcar por arriba de lo recomendado, desde la etapa post-natal hasta la edad adulta, se pueden desencadenar alteraciones en el TA de forma severa. En comparación con la ingesta de elevadas cantidades de sacarosa durante etapas temporales, como la infancia, en las que el desarrollo del TAP ya establecido en etapas como la gestación y lactancia materna, permite que no haya cambios en el peso de este tejido (De-León-Ramírez et al. 2021), probablemente debido al intento metabólico de mantener la homeostasis en una etapa aun de desarrollo. Confirmando con nuestros resultados, la mayor sensibilidad a cambios nutricionales en el TA de la descendencia durante etapas maternas (Ojha et al. 2015).

9. CONCLUSIÓN

Nuestros resultados demostraron que, durante la gestación y lactancia materna, el consumo materno de dietas ricas en carbohidratos simples (como la sacarosa) puede programar el desarrollo metabólico para procesos de hiperplasia e hipertrofia en el TAP de la descendencia masculina. Y que el establecimiento e incremento de la hiperplasia e hipertrofia en este tejido depende significativamente de la cantidad y tipo de carbohidrato ingerido a lo largo de la vida posnatal, pues a pesar de no consumir sacarosa como parte de la dieta materna durante la gestación y lactancia, estos procesos pueden desencadenarse en la edad adulta de la descendencia. Y los efectos de estos procesos podrían modificar de manera importante el ambiente metabólico e inmunológico de los testículos, que tienen comunicación directa con el TAP. Desarrollando efectos adversos sobre la fertilidad u otros trastornos patológicos.

Esto nos invita a prestar especial atención al consumo innecesario de carbohidratos simples durante las etapas de gestación, lactancia materna y primera infancia de la descendencia. Y también considerar que, a pesar de mantener hábitos saludables de consumo de carbohidratos en estas etapas, su ingesta innecesaria y/o excesiva crónicamente en etapas posteriores, como la adolescencia y adultez puede llevar al desarrollo de hiperplasia e hipertrofia de TAB asociado con patologías reproductivas. Además de sugerir la necesidad de más estudios para determinar el papel de marcadores genéticos, moleculares e inflamatorios, en ratas macho adultas que a lo largo de su vida consumen una dieta rica en carbohidratos y aquellas que descienden de madres con la misma dieta, específicamente en TAP y el testículo.

10. PERSPECTIVAS

- Determinar el papel de marcadores genéticos y moleculares en el TAP, como PPAR γ , leptina, aromatasa, colágeno fibrilar, PLIN1, factores de transcripción (KLFs, AP-1) y citocinas y células proinflamatorias (IL-6, oncostatina M, macrófagos, TNF α , MCP1) de ratas adultas que a lo largo de su vida consumen una dieta rica en carbohidratos y aquellos que descienden de madres con la misma.
- Determinar el papel de marcadores moleculares en testículo, como: T, IL-6, macrófagos, células T, células B, mastocitos, leptina, OB-Re, GLUT1, GLUT3, estradiol, AR, ER α y ER β en la descendencia adulta que ha consumido sacarosa a lo largo de su vida y cuyas madres también la consumieron durante etapas maternas (gestación, lactancia).

11. REFERENCIAS

1. Acosta-Cota SJ, Aguilar-Medina EM, Ramos-Payán R, Ruiz-Quiñónez AK, Romero-Quintana JG, Montes-Avila J, et al. (2019). Histopathological and biochemical changes in the development of nonalcoholic fatty liver disease induced by high-sucrose diet at different times. *Can J Physiol Pharmacol.* 97(1):23-36. doi: 10.1139/cjpp-2018-0353.
2. Adekunbi DA, Ogunsola OA, Oyelowo OT, Aluko EO, Popoola AA, Akinboboye OO. (2016) Consumption of high sucrose and/or high salt diet alters sperm function in male Spague-Dawley rats. *Egyptian Journal of Basic and Applied Sciences.* 2016; 3(2), 194-201. doi: 10.1016/j.ejbas.2016.03.003
3. Alves MG, Dias TR, Silva BM, Oliveira PF. (2014) Metabolic cooperation in testis as a pharmacological target: from disease to contraception. *Curr Mol Pharmacol.* 7(2):83-95. doi: 10.2174/1874467208666150126153830.
4. Alves MG, Martins AD, Cavaco JE, Socorro S, Oliveira PF. (2013b). Diabetes, insulin-mediated glucose metabolism and Sertoli/blood-testis barrier function. *Tissue Barriers.* 1(2):e23992. doi: 10.4161/tisb.23992.
5. Alves MG, Martins AD, Rato L, Moreira PI, Socorro S, Oliveira PF. (2013a). Molecular mechanisms beyond glucose transport in diabetes-related male infertility. *Biochim Biophys Acta.* 1832(5):626-35. doi: 10.1016/j.bbadis.2013.01.011.
6. Aragno M. y Mastrocola R. (2017). Dietary Sugars and Endogenous Formation of Advanced Glycation Endproducts: Emerging Mechanisms of Disease. *Nutrients.* 9, 385. doi: 10.3390/nu9040385
7. Ares Segura S, Arena Ansótegui J, Díaz-Gómez NM; en representación del Comité de Lactancia Materna de la Asociación Española de Pediatría. (2016). The importance of maternal nutrition during breastfeeding: Do breastfeeding mothers need nutritional supplements? *An Pediatr (Barc).* 84(6): 347.e1-7. doi: 10.1016/j.anpedi.2015.07.024.
8. Armitage JA, Lakasing L, Taylor PD, Balachandran AA, Jensen RI, Dekou V, et al. (2005). Developmental programming of aortic and renal structure in offspring of rats fed fat-rich diets in pregnancy. *J Physiol.* 565(Pt 1):171-84. doi: 10.1113/jphysiol.2005.084947.

9. Atzmon G, Yang XM, Muzumdar R, Ma XH, Gabriely I, Barzilai N. (2002). Differential gene expression between visceral and subcutaneous fat depots. *Horm Metab Res.* 34(11–12):622–8. doi:10.1055/s-2002-38250
10. Banerjee RR, Rangwala SM, Shapiro JS, Rich AS, Rhoades B, Qi Y, et al. (2004). Regulation of fasted blood glucose by resistin. *Science.* 303(5661):1195-8. doi: 10.1126/science.1092341.
11. Barker DJP. (1990). The fetal and infant origins of adult disease. *BMJ.* 301, 1110-1111.
12. Barker DJ, Gluckman PD, Godfrey KM, Harding JE, Owens JA, Robinson JS. (1993). Fetal nutrition and cardiovascular disease in adult life. *Lancet.* 341(8850):938-41. doi: 10.1016/0140-6736(93)91224-a.
13. Barquera S., Hernández-Barrera L., Trejo-Valdivia B., Shamah T., Campos-Nonato I., Rivera-Dommarco J. (2020). Obesidad en México, prevalencia y tendencias en adultos. *Ensanut 2018-19. Salud Publica Mex.* 62 (6):682-692. doi: 10.21149/11630. PMID:
14. Bayol SA, Simbi BH, Stickland NC. (2005). A maternal cafeteria diet during gestation and lactation promotes adiposity and impairs skeletal muscle development and metabolism in rat offspring at weaning. *J Physiol.* 567(Pt 3):951-61. doi: 10.1113/jphysiol.2005.088989.
15. Belanger RM, Conant SB, Grabowski GM. (2013). Using Castration Surgery in Male Rats to Demonstrate the Physiological Effects of Testosterone on Seminal Vesicle Anatomy in an Undergraduate Laboratory Setting. *Bioscene.* 39(2): 25-31.
16. Bell M. R. (2018). Comparing Postnatal Development of Gonadal Hormones and Associated Social Behaviors in Rats, Mice, and Humans. *Endocrinology.* 159(7), 2596–2613. doi: 10.1210/en.2018-00220.
17. Berry DC, Jiang Y, Graff JM. Emerging Roles of Adipose Progenitor Cells in Tissue Development, Homeostasis, Expansion and Thermogenesis. *Trends Endocrinol Metab.* 2016; 27(8), 574-585 [Epub 2016 Jun 1].
18. Bertile F, Criscuolo F, Oudart H, Le Maho Y, Raclot T. (2003) Differences in the expression of lipolytic-related genes in rat white adipose tissues. *Biochem Biophys Res Commun.* 307(3):540-6. doi: 10.1016/s0006-291x(03)01196-3
19. Bibee KP, Illsley NP, Moley KH. (2011). Asymmetric syncytial expression of GLUT9 splice variants in human term placenta and alterations in diabetic pregnancies. *Reprod Sci.* 18(1), 20-27. doi: 10.1177/1933719110380276.

20. Birsoy K, Berry R, Wang T, Ceyhan O, Tavazoie S, Friedman JM, et al. (2011). Analysis of gene networks in white adipose tissue development reveals a role for ETS2 in adipogenesis. *Development*. 138(21):4709-19. doi: 10.1242/dev.067710.
21. Bjørndal B, Burri L, Staalesen V, Skorve J, Berge RK. (2011). Different Adipose Depots: Their Role in the Development of Metabolic Syndrome and Mitochondrial Response to Hypolipidemic Agents. *Journal of Obesity*. 15 paginas. doi:10.1155/2011/490650.
22. Boney CM, Verma A, Tucker R, Vohr BR. (2005). Metabolic syndrome in childhood: association with birth weight, maternal obesity, and gestational diabetes mellitus. *Pediatrics*. 115(3):e290-6. doi: 10.1542/peds.2004-1808.
23. Boussouar F, Benahmed M. (2004). Lactate and energy metabolism in male germ cells. *Trends Endocrinol Metab*. 15(7), 345–350.
24. Braun K, Oeckl J, Westermeier J, Li Y, Klingenspor M. (2018). Non-adrenergic control of lipolysis and thermogenesis in adipose tissues. *J Exp Biol*. 221(Pt Suppl 1):jeb165381. doi: 10.1242/jeb.165381.
25. Bray GA, Nielsen SJ, Popkin BM. (2004). Consumption of high fructose corn syrup in beverages may play a role in the epidemic of obesity. *Am J Clin Nutr*. 79 (4): 537-43. doi: 10.1093/ajcn/79.4.537.
26. Burgeiro, A, Cerqueira MG, Varela-Rodríguez BM, Nunes S, Neto P, Pereira FC, et al. (2017). Glucose and Lipid Dysmetabolism in a Rat Model of Prediabetes Induced by a High-Sucrose Diet. *Nutrients*. 9(6), 638. doi:10.3390/nu9060638
27. Byeon HR, Lee SH. (2016). Expression of Steroidogenesis-related Genes in Rat Adipose Tissues. *Dev. Reprod*. 20(3), 197-205.
28. Byers S, Graham R, Dai HN, Hoxter B. Hoxter B. (1991). Development of Sertoli cell junctional specializations and the distribution of the tight-junction associated protein ZO-1 in the mouse testis. *Am J Anat*. 191:35e47.
29. Caesar R, Manieri M, Kelder T, Boekschoten M, Evelo C, Müller M, et al. (2010) A combined transcriptomics and lipidomics analysis of subcutaneous, epididymal and mesenteric adipose tissue reveals marked functional differences. *PLoS One*. 5(7):e11525. doi: 10.1371/journal.pone.0011525.
30. Camilo ME. (2003). Disease-related malnutrition: an evidence-based approach to treatment. 22(6): P.585. Stratton RJ, Green CJ, Elia M. (Eds.) CABI Publishing, Wallingfor, UK.

31. Cardot P, Chambaz J, Thomas G, Rayssiguier Y, Bereziat G. (1987). Essential Fatty Acid Deficiency during Pregnancy in the Rat: Influence of Dietary Carbohydrates. *The Journal of Nutrition*. 117(9):1504–1513. doi:10.1093/jn/117.9.1504.
32. Casas R, Castro-Barquero S, Estruch R. (2020). Impact of Sugary Food Consumption on Pregnancy: A Review. *Nutrients*. 12 (11), 3574.
33. Cederholm T, Barazzoni R, Austin, Ballmer P, Biolo G, Bischoff SC, et al. 2017. ESPEN guidelines on definitios and terminology of clinical nutrition. *Clin Nutr*. 36(1): 49-64. doi: 10.1016/j.clnu.2016.09.004.
34. Cervantes-Rodríguez M, Martínez-Gómez M, Cuevas E, Nicolás L, Castelán F, Nathanielsz PW, et al. (2014). Sugared consumption by adult offspring of mothers fed a protein-restricted diet during pregnancy results in increased offspring adiposity: the second hit effect. *Br J Nutr*. 111(4), 616-624. doi: 10.1017/S0007114513003000.
35. Chadio, S and Kotsampasi, B. (2018). Maternal Undernutrition and Developmental Programming: Implications for Offspring *Reproductive Potential*. doi: 10.1007/978-3-319-40007-5_43-1. En: *Famine, Starvation, and Nutrient Deprivation From Biology to Policy*. Preedy V.R., Patel V.B. (Eds.) (pp. Capítulo 60). Springer International.
36. Chandler-Laney PC, Gower BA, Fields DA. (2013). Gestational and early life influences on infant body composition at 1 year. *Obesity (Silver Spring)*. 21(1):144-8. doi: 10.1002/oby.20236.
37. Cheng CY, Mruk DD. (2002). Cell junction dynamics in the testis: Sertoli-germ cell interactions and male contraceptive development. *Physiol Rev*. 82(4):825-74. doi: 10.1152/physrev.00009.2002.
38. Chu Y, Huddleston GG, Clancy AN, Harris RBS, Bartness TJ. (2010). Epididymal fat is necessary for spermatogenesis, but not testosterone production or copulatory behavior. *Endocrinology*. 151(12), 5669-5679. doi: 10.1210/en.2010-0772
39. Chusyd DE, Wang D, Huffman DM, Nagy TR. (2016). Relationships between Rodent White Adipose Fat Pads and Human White Adipose Fat Depots. *Front Nutr*. 3:10. doi: 10.3389/fnut.2016.00010.
40. Cinti S. (2018). Adipose Organ Development and Remodeling. *Compr Physiol*. 8(4):1357-1431. doi: 10.1002/cphy.c170042.
41. Cinti, S. (2007). The Adipose Organ. En: Fantuzzi, G., Mazzone, T. (Eds) *Adipose Tissue and Adipokines in Health and Disease. Nutrition and Health*. Humana Press. doi: 10.1007/978-1-59745-370-7_1.

42. Clegg DJ, Brown LM, Woods SC, Benoit SC. (2006). Gonadal hormones determine sensitivity to central leptin and insulin. *Diabetes*. 55(4):978–87. doi:10.2337/diabetes.55.04.06.db05-1339
43. Clermont Y, Huckins C. (1961). Microscopic anatomy of the sex cords and seminiferous tubules in growing and adult male albino rats. *Am J Anat*. 108, 79–97.
44. Córdoba-Sosa G, Nicolás-Toledo L, Cervantes-Rodríguez M, Xelhuantzi-Arreguín N, Arteaga-Castañeda ML, Zambrano E, et al. (2022). Consumption Increases Perigonadal Adipose Tissue Hyértrophy and Negatively Affects the Testis Histological Organization in Adult Rats. *Front. Cell Dev. Biol*. 10: 893099. doi: 10.3389/fcell.2022.893099.
45. Corona-Pérez A, Díaz-Muñoz M, Cuevas-Romero E, Luna-Moreno D, Valente-Godínez H, Vázquez-Martínez O, et al. (2017). Interactive effects of chronic stress and a high-sucrose diet on nonalcoholic fatty liver in young adult male rats. *Stress*. 20(6):608-617. doi: 10.1080/10253890.2017.1381840.
46. Corona-Quintanilla DL, Velázquez-Orozco V, Xicohténcatl-Ruggerio I, Lara-García O, Cuevas E, Martínez-Gómez, M, et al. (2021). Sucrose exposure during gestation lactation and postweaning periods increase the pubococcygeus muscle reflex activity in adult rats. *Int. J. Impot. Res*. doi: 10.1038/s41443-021-00450-7
47. Crewe C, An YA, Scherer PE. (2017). The ominous triad of adipose tissue dysfunction: inflammation, fibrosis, and impaired angiogenesis. *J. Clin. Invest*. 127(1):74-82. doi: 10.1172/JCI88883.
48. Crewe C, Zhu Y, Paschoal VA, Joffin N, Ghaben AL, Gordillo R, et al. (2019). SREBP-regulated adipocyte lipogenesis is dependent on substrate availability and redox modulation of mTORC1. *JCI Insight*. 5(15):e129397. doi: 10.1172/jci.insight.129397.
49. Day C, Jackson A. (2017). Review of Nutrition and Human Health Research. Medical Research Council. National Institute for Health Research.
50. De León-Ramírez YM, Lara-García M, Pacheco P, Lara-García O, Martínez-Gómez M, Cuevas-Romero E, et al. (2021). Histomorphological testicular changes and decrease in the sperm count in pubertal rats induced by a high-sugar diet. *Ann Anat*. 235:151678. doi: 10.1016/j.aanat.2021.151678.
51. Denroche HC, Huynh FK, Kieffer TJ. (2012). The role of leptin in glucose homeostasis. *J Diabetes Investig*. 3(2):115-29. doi: 10.1111/j.2040-1124.2012.00203.x.

- 52.** Desai M, Jellyman JK, Han G, Beall M, Lane RH, Ross MG. (2014). Maternal obesity and high-fat diet program offspring metabolic syndrome. *Am J Obstet Gynecol.* 211(3):237.e1-237.e13. doi: 10.1016/j.ajog.2014.03.025
- 53.** Detmer SA, Chan DC. (2007). Functions and dysfunctions of mitochondrial dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 8: 870-879.
- 54.** Dimasuay KG, Boeuf P, Powell TL, Jansson T. (2016). Placental Responses to Changes in the Maternal Environment Determine Fetal Growth. *Front Physiol.* 7:12. doi: 10.3389/fphys.2016.00012.
- 55.** DiSpirito JR, Mathis D. (2015). Immunological contributions to adipose tissue homeostasis. *Semin Immunol.* 27: 1–17. doi:10.1016/j.smim.2015.10.005
- 56.** Donkin I, Versteyhe S, Ingerslev LR, Qian K, Mechta M, Nordkap L, et al. (2016). Obesity and Bariatric Surgery Drive Epigenetic Variation of Spermatozoa in Humans. *Cell Metab.* 2016; 23(2):369-378. doi: 10.1016/j.cmet.2015.11.004.
- 57.** Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. (Eds.). (1996). *The Urogenital Apparatus.* En: *Textbook of Veterinary Anatomy.* 2nd ed. Sydney, WB Saunders Company.
- 58.** Einer-Jensen N. (1974). Local recirculation of injected (3H)testosterone from the testis to the epididymal fat pad and the corpus epididymidis in the rat. *J Reprod Fertil.* 37(1):145-8. doi: 10.1530/jrf.0.0370145.
- 59.** Einstein FH, Atzmon G, Yang XM, Ma XH, Rincon M, Rudin E, et al. (2005). Differential responses of visceral and subcutaneous fat depots to nutrients. *Diabetes.* 54(3):672-8. doi:10.2337/diabetes.54.3.672.
- 60.** Ellis H, Mahadevan V. (2014). Scrotum, testis and epididymis. *Surgery (Oxford),* 32(1): e9-e16. doi: 10.1016/j.mpsur.2013.04.022.
- 61.** Elks CM, Zhao P, Grant RW, Hang H, Bailey JL, Burk DH, et al. (2016) Loss of oncostatin M signaling in adipocytes induces insulin resistance and adipose tissue inflammation in vivo. *J Biol Chem.* 291:17 066–17 076. doi:10.1074/jbc.M116.739110.
- 62.** Emmen JM, McLuskey A, Adham IM, Engel W, Verhoef-Post M, Themmen AP, et al. (2000) Involvement of insulin-like factor 3 (Insl3) in diethylstilbestrol-induced cryptorchidism. *Endocrinology.* 141(2):846-9. doi: 10.1210/endo.141.2.7379.
- 63.** Encyclopedia Britannica (2019). Spermatogenesis. Acceso el 20 de junio de 2019. En <https://www.britannica.com/science/spermatogenesis#/media/1/559418/143155>

- 64.** Enriori PJ, Evans AE, Sinnayah P, Jobst EE, Tonelli-Lemos L, Billes SK, *et al.* (2007). Diet-induced obesity causes severe but reversible leptin resistance in arcuate melanocortin neurons. *Cell Metab.* 2007 Mar;5(3):181-94. doi: 10.1016/j.cmet.2007.02.004.
- 65.** FAO, IFAD, UNICEF, WFP y WHO. (2017). The State of Food Security and Nutrition in the World 2017. Building resilience for peace and food security. Rome, FAO.
- 66.** Fasshauer M, Blüher M. (2015). Adipokines in health and disease. *Trends Pharmacol Sci.* 36(7):461-70. doi: 10.1016/j.tips.2015.04.014.
- 67.** Faust IM, Johnson PR, Hirsch J. (1976). Noncompensation of adipose mass in partially lipectomized mice and rats. *Am J Physiol.* 231(2):539-44. doi: 10.1152/ajplegacy.1976.231.2.538.
- 68.** Fernández-Sada E, Torres-Quintanilla A, Silva-Platas C, García N, Willis BC, Rodríguez-Rodríguez C, *et al.* (2017). Proinflammatory Cytokines Are Soluble Mediators Linked with Ventricular Arrhythmias and Contractile Dysfunction in a Rat Model of Metabolic Syndrome. *Oxid Med Cell Longev.* 2017:7682569. doi: 10.1155/2017/7682569.
- 69.** Fernandez-Twinn DS, Ozanne SE. (2006). Mechanisms by which poor early growth programs type-2 diabetes, obesity and the metabolic syndrome. *Physiol Behav.* 88(3):234-43. doi: 10.1016/j.physbeh.2006.05.039.
- 70.** Frungieri M, Calandra RS, Lustig L, Meineke V, Köhn FM, Vogt HJ, *et al.* (2002). Number, distribution pattern, and identification of macrophages in testes of infertile men. *Fertil Steril.* 78(2):298-306. doi: 10.1016/s0015-0282(02)03206-5.
- 71.** Fuente-Martín E, Granado M, García Cáceres C, Sanchez-Garrido MA, Frago LM, Tena-Sempere M, *et al.* (2012). Early nutritional changes induce sexually dimorphic long-term effects on body weight gain and the response to sucrose intake in adult rats. *Metabolism.* 61(6), 812-822. doi: 10.1016/j.metabol.2011.11.003.
- 72.** Gao YJ, Takemori K, Su LY, An WS, Lu C, Sharma AM, *et al.* (2006). Perivascular adipose tissue promotes vasoconstriction: the role of superoxide anion. *Cardiovasc Res.* 71(2):363-73. doi: 10.1016/j.cardiores.2006.03.013.
- 73.** Gao Z, Daquinag AC, Su F, Snyder B, Kolonin MG. (2018). PDGFR α /PDGFR β signaling balance modulates progenitor cell differentiation into white and beige adipocytes. *Development.* 145(1):dev155861. doi: 10.1242/dev.155861.

- 74.** Giordano A, Smorlesi A, Frontini A, Barbatelli G, Cinti S. (2014). White, brown and pink adipocytes: the extraordinary plasticity of the adipose organ. *Eur J Endocrinol.* 170(5):R159-71. doi: 10.1530/EJE-13-0945.
- 75.** Gjedsted J, Gormsen LC, Nielsen S, Schmitz O, Djurhuus CB, Keiding S, et al. (2007). Effects of a 3-day fast on regional lipid and glucose metabolism in human skeletal muscle and adipose tissue. *Acta Physiol (Oxf).* 191(3):205-16. doi: 10.1111/j.1748-1716.2007.01740.x.
- 76.** Greenwood MR, Hirsch J. (1974). Postnatal development of adipocyte cellularity in the normal rat. *J Lipid Res.* 15(5):474-83.
- 77.** Grove KL, Fried SK, Greenberg AS, Xiao XQ, Clegg DJ. (2010). A microarray analysis of sexual dimorphism of adipose tissues in high-fat-diet-induced obese mice. *Int J Obes (Lond).* 34(6):989–1000. doi:10.1038/ijo.2010.12
- 78.** Hajshafiha M, Ghareaghaji R, Salemi S, Sadegh-Asadi N, Sadeghi-Bazargani H. (2013). Association of body mass index with some fertility markers among male partners of infertile couples. *In J Gen Med.* 6, 447-451. doi: 10.2147/IJGM.S41341.
- 79.** Han J, Lee JE, Jin J, Lim JS, Oh N, Kim K, et al. (2011). The spatiotemporal development of adipose tissue. *Development.* 138(22):5027-37. doi: 10.1242/dev.067686.
- 80.** Hansel W. (2010). The Essentiality of the Epididymal Fat Pad for Spermatogenesis. *Endocrinology.* 151(12), 5565–5567. doi: 10.1210/en.2010-1146.
- 81.** Hassanin AM, Ayad E. (2016). The impact of chronic testicular inflammatory infiltration on spermatogenesis in azoospermic men, evidencebased pilot study. *Middle East Fertil Soc J.* 21(1):31-35. doi: 10.1016/j.mefs.2015.07.003.
- 82.** Hassiotou F, Hepworth AR, Williams TM, Twigger AJ, Perrella S, Lai CT, et al. (2013). Breastmilk cell and fat contents respond similarly to removal of breastmilk by the infant. *PLoS One.* 8(11):e78232. doi: 10.1371/journal.pone.0078232.
- 83.** Henson MC, Castracane VD. (2006). Leptin in pregnancy: an update. *Biol Reprod.* 74(2):218-29. doi: 10.1095/biolreprod.105.045120.
- 84.** Herman MA, Peroni OD, Villoria J, Schön MR, Abumrad NA, Blüher M, et al., (2012). A novel ChREBP isoform in adipose tissue regulates systemic glucose metabolism. *Nature.* 484(7394):333-8. doi: 10.1038/nature10986.
- 85.** Hickman DL, Johnson J, Vemulapalli TH, Crisler JR, Shepherd, R. (2017). Commonly Used Animal Models. *Principles of Animal Research for Graduate and Undergraduate Students*, 117–175. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802151-4.00007-4>

- 86.** Hoebel BG, Avena NM, Bocarsly ME, Rada P. (2009). Natural addiction: a behavioral and circuit model based on sugar addiction in rats. *J Addict Med.* 3(1), 33-41.
- 87.** Hogg K, Western PS. (2015). Refurbishing the germline epigenome: Out with the old, in with the new. *Semin Cell Dev Biol.* 45: 104-13. doi: 10.1016/j.semcd.2015.09.012
- 88.** Holmberg NG, Kaplan B, Karvonen MJ, Lind J, Malm M. (1956). Permeability of human placenta to glucose, fructose, and xylose. *Acta Physiol Scand.* 36(4), 291-299.
- 89.** Horan MK, McGowan CA, Gibney ER, Donnelly JM; McAuliffe FM. (2014). Maternal low glycaemic index diet, fat intake and postprandial glucose influences neonatal adiposity—Secondary analysis from the ROLO study. *Nutr. J.* 13:78. doi: 10.1186/1475-2891-13-78.
- 90.** Hu E, Liang P, Spiegelman BM. (1996). AdipoQ is a novel adipose-specific gene dysregulated in obesity. *J Biol Chem.* 271(18):10697-703. doi: 10.1074/jbc.271.18.10697.
- 91.** Huang C, Li Z, Wang M, Martorell R. (2010). Early Life Exposure to the 1959–1961 Chinese Famine Has Long-Term Health Consequences. *J Nutr.* 140(10):1874-1878. doi: 10.3945/jn.110.121293.
- 92.** Huhtaniemi I, Pelliniemi LJ. (1992). Fetal Leydig cells: cellular origin, morphology, life span, and special functional features. *Proc Soc Exp Biol Med.* 201(2):125-140. doi: 10.3181/00379727-201-43493.
- 93.** Hussein MR, Abou-Deif ES, Bedaiwy MA, Said TM, Mustafa MG, Nada E, et al. (2005). Phenotypic characterization of the immune and mast cell infiltrates in the human testis shows normal and abnormal spermatogenesis. *Fertil Steril.* 83(5):1447-1453. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.11.062.
- 94.** Ibáñez CA, Vázquez-Martínez M, León-Contreras JC, Reyes-Castro LA, Rodríguez-González GL, Bautista CJ, et al. (2018) Different Statistical Approaches to Characterization of Adipocyte Size in Offspring of Obese Rats: Effects of Maternal or Offspring Exercise Intervention. *Front Physiol.* 2018; 9,1571. doi: 10.3389/fphys.2018.01571.
- 95.** Ikeda K, Maretich P, Kajimura S. (2018). The Common and Distinct Features of Brown and Beige Adipocytes. *Trends Endocrinol Metab.* 29(3):191-200. doi: 10.1016/j.tem.2018.01.001.
- 96.** Itoh M, Chen XA, Takeuchi Y, Miki T. (1995). Morphological demonstration of the immune privilege in the testis using adjuvants: Tissue responses of male reproductive organs in mice injected with *Bordetella pertussigens*. *Arch Histol Cytol.* 58(5):575-579. doi: 10.1679/aohc.58.575.

- 97.** Itoh M, Miyake M, Miki T, Takeuchi Y, de Rooij DG. (1994). Immunohistological localization of autoantigens detected by serum autoantibodies from mice with experimental autoimmune orchitis without using adjuvants. *Arch Androl.* 32(1):45-52. doi: 10.3109/01485019408987766.
- 98.** Itoh M, Terayama H, Naito M, Ogawa Y, Tainosho S. (2005). Tissue microcircumstances for leukocytic infiltration into the testis and epididymis in mice. *J Reprod Immunol.* 67(1-2):57-67. doi: 10.1016/j.jri.2005.06.007.
- 99.** Jastrzębska S, Walczak-Jędrzejowska R, Kramek E, Marchlewska K, Oszukowska E, Filipiak E, et al. (2014). Relationship between sexual function, body mass index and levels of sex steroid hormones in young men. *Endokrynol Pol.* 65(3):203-209. doi: 10.5603/EP.2014.0028.
- 100.** Jensen TK, Andersson AM, Jørgensen N, Andersen AG, Carlsen E, Petersen JH, et al. (2004). Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men. *Fertil Steril.* 82(4):863-70. doi: 10.1016/j.fertnstert.2004.03.056
- 101.** Jost A, Magre S, Agelopoulos R. (1981). Early stages of testicular differentiation in the rat. *Hum Genet.* 58(1):59-63. doi: 10.1007/BF00284150.
- 102.** Jouanne M, Oddoux S, Noël A, Voisin-Chiret AS. (2021). Nutrient Requirements during Pregnancy and Lactation. *Nutrients.* 13(2):692. doi: 10.3390/nu13020692.
- 103.** Kawahito S, Kitahata H, Oshita S. (2009). Problems associated with glucose toxicity: role of hyperglycemia-induced oxidative stress. *World J Gastroenterol.* 15(33):4137-42. doi: 10.3748/wjg.15.4137.
- 104.** Kersten S. (2014). Physiological regulation of lipoprotein lipase. *Biochim Biophys Acta.* 1841(7):919-33. doi: 10.1016/j.bbali.2014.03.013.
- 105.** Knight ZA, Hannan KS, Greenberg ML, Friedman JM. (2010). Hyperleptinemia is required for the development of leptin resistance. *PLoS One.* 5(6):e11376. doi: 10.1371/journal.pone.0011376.
- 106.** Kominiarek MA, y Rajan P. (2016). Nutrition Recommendations in Pregnancy and Lactation. *Med Clin North Am.* 100(6):1199-1215. doi: 10.1016/j.mcna.2016.06.004.
- 107.** Kort HI, Massey JB, Elsner CW, Mitchell-Leef D, Shapiro DB, Witt MA, et al. (2006). Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *J Androl.* 27(3):450-2. doi: 10.2164/jandrol.05124.

- 108.**Koski KG, Hill FW, Hurley LS. (1986). Effect of low carbohydrate diets during pregnancy on embryogenesis and fetal growth and development in rats. *J. Nutr.* 116(10): 1922-1937. doi: 10.1093/jn/116.10.1922.
- 109.**Koski KG, Hill FW. (1986). Effect of low carbohydrate diets during pregnancy on parturition and postnatal survival of the newborn rat pup. *J Nutr.* 116(10):1938-48. doi: 10.1093/jn/116.10.1938.
- 110.**Koski, KG, Hill FW. (1990). Evidence for a critical period when maternal dietary carbohydrate is essential for survival of newborn rats. *J. Nutr.* 120: 1016-1027.
- 111.**La Cava A, Matarese G. (2004). The weight of leptin in immunity. *Nat Rev Immunol.* 4(5):371-9. doi: 10.1038/nri1350.
- 112.**Leblond CP, Clermont Y (1952) Definition of the stages of the cycle of the seminiferous epithelium in the rat. *Ann N Y Acad Sci.* 55(4): 548-73. doi: 10.1111/j.1749-6632.1952.tb26576.x.
- 113.**Lecoutre S, Breton C. (2014). The cellularity of offspring's adipose tissue is programmed by maternal nutritional manipulations. *Adipocyte.* 3(4):256-62. doi: 10.4161/adip.29806.
- 114.**Lecoutre S, Breton C. (2015). Maternal nutritional manipulations program adipose tissue dysfunction in offspring. *Front Physiol.* 6:158. doi: 10.3389/fphys.2015.00158.
- 115.**Lecoutre S, Deracinois B, Laborie C, Eberlé D, Guinez C, Panchenko PE, et al. (2016). Depot- and sex-specific effects of maternal obesity in offspring's adipose tissue. *J Endocrinol.* 230(1):39-53. doi: 10.1530/JOE-16-0037.
- 116.**Lee KH, Kim NH. (2019). Differential Expression of Adipocyte-Related Molecules in the Distal Epididymal Fat of Mouse during Postnatal Period. *Dev. Reprod.* 23(3): 213-221. doi: 10.12717/DR.2019.23.3.213.
- 117.**Lemonnier D. (1972). Effect of age, sex, and sites on the cellularity of the adipose tissue in mice and rats rendered obese by a high-fat diet. *J Clin Invest.* 51: 2907-2915. doi: 10.1172/JCI107115.
- 118.**Letexier D, Pinteur C, Large V, Fréring V, Beylot M. (2003). Comparison of the expression and activity of the lipogenic pathway in human and rat adipose tissue. *J Lipid Res.* 44(11):2127-34. doi: 10.1194/jlr.M300235-JLR200.
- 119.**Levine E, Cupp AS, Skinner MK. (2000). Role of Neurotrophins in Rat Embryonic Testis Morphogenesis (Cord Formation). *Biology of Reproduction.* 62(1):132–142. doi: 10.1095/biolreprod62.1.132.

- 120.**Li X, Mao Z, Yang L, Sun K. (2019). Co-staining Blood Vessels and Nerve Fibers in Adipose Tissue. *J Vis Exp.* 2019; 144, 10.3791/59266.
- 121.**Li Y, Jaddoe VW, Qi L, He Y, Wang D, Lai J, et al. (2011). Exposure to the chinese famine in early life and the risk of metabolic syndrome in adulthood. *Diabetes care.* 34(4), 1014–1018. doi:10.2337/dc10-2039.
- 122.**Liang X, Yang Q, Fu X, Rogers CJ, Wang B, Pan H, et al. (2016). Maternal obesity epigenetically alters visceral fat progenitor cell properties in male offspring mice. *J Physiol.* 594(15), 4453–4466. doi: 10.1113/JP272123.
- 123.**Liguori G, Ollandini G, Napoli R, Mazzon G, Petrovic M, Trombetta C. (2011). Anatomy of the Scrotum. En *Scrotal Pathology, Medical Radiology. Diagnostic Imaging.* Bertolotto M y Trombetta C. (eds.) *Scrotal Pathology.* doi: 10.1007/174_2011_170. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- 124.**Lowensohn RI, Stadler DD, Naze C. (2016). Concepts of Maternal Nutrition. *Obstet Gynecol Surv.* 71(7): 413-26. doi: 10.1097/OGX.0000000000000329.
- 125.**Lukaszewski MA, Eberlé D, Vieau D, Breton C. (2013). Nutritional manipulations in the perinatal period program adipose tissue in offspring. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 305(10):E1195–207. doi: 10.1152/ajpendo.00231.2013.
- 126.**Lumeng CN, Deyoung SM, Saltiel AR. (2007). Macrophages block insulin action in adipocytes by altering expression of signaling and glucosa transport proteins. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 292:E166–E174. doi:10.1152/ajpendo.00284.2006.
- 127.**Luo L, Liu M. (2016). Adipose tissue in control of metabolism. *J Endocrinol.* 231(3):R77-R99. doi: 10.1530/JOE-16-0211.
- 128.**MacDougald OA, LaneMD. (1995). Adipocyte differentiation. When precursors are also regulators. *Curr Biol* 5(6): 618-621. doi: 10.1016/s0960-9822(95)00125-4.
- 129.**Mackay S. (2000). Gonadal development in mammals at the celular and molecular leves. *Int Rev Cytol.* 200:47-99. doi: 10.1016/s0074-7696(00)00002-4.
- 130.**Macotela Y, Boucher J, Tran TT, Kahn CR. (2009). Sex and depot differences in adipocyte insulin sensitivity and glucose metabolism. *Diabetes.* 58(4):803–12. doi:10.2337/db08-1054
- 131.**Magre S, Jost A. (1991). Sertoli cells and testicular differentiation in the rat fetus. *J Electron Microsc Tech.* 19(2):172-88. doi: 10.1002/jemt.1060190205.

- 132.**Majdic G, Millar MR, Saunders PT. (1995). Immunolocalisation of androgen receptor to interstitial cells in fetal rat testes and to mesenchymal and epithelial cells of associated ducts. *J Endocrinol.* 147(2):285-93. doi: 10.1677/joe.0.1470285.
- 133.**Mao J, Pennington KA, Talton OO, Schulz LC, Sutovsky M, Sutovsky P. (2018). *In Utero* and Postnatal Exposure to High Fat, High Sucrose Diet suppressed Testis Apoptosis and Reduced Sperm Count. *Sci Rep.* 8(1), 7622. doi: 10.1038/s41598-018-25950-3.
- 134.**Martin-Gronert MS, Ozanne SE. (2006). Maternal nutrition during pregnancy and health of the offspring. *Biochem Soc Trans.* 34(Pt 5): 779-82. doi: 10.1042/BST0340779.
- 135.**Martini AC, Tissera A, Estofán D, Molina RI, Mangeaud A, de Cuneo MF, et al. (2010). Overweight and seminal quality: a study of 794 patients. *Fertil Steril.* 94(5):1739-43. doi: 10.1016/j.fertnstert.2009.11.017.
- 136.**Mattacks CA, Sadler D, Pond CM. (2004). Site-specific differences in fatty acid composition of dendritic cells and associated adipose tissue in popliteal depot, mesentery, and omentum and their modulation by chronic inflammation and dietary lipids. *Lymphat Res Biol.* 2(3):107-29. doi: 10.1089/lrb.2004.2.107.
- 137.**McCrary MA, Shaw AC, Lee JA. (2016). Energy and Nutrient Timing for Weight Control: Does Timing of Ingestion Matter? *Endocrinol Metab Clin North Am.* 45 (3), 689-718. doi: 10.1016/j.ecl.2016.04.017. PMID: 27519140.
- 138.**McGown C, Birerdinc A, Younossi ZM. (2014). Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *Clinics in Liver Disease.* 18(1): 41-58. doi: 10.1016/j.cld.2013.09.012.
- 139.**McMillen IC, Muhlhausler BS, Duffield JA, Yuen BS. (2004). Prenatal programming of postnatal obesity: fetal nutrition and the regulation of leptin synthesis and secretion before birth. *Proc Nutr Soc.* 63(3):405-12. doi: 10.1079/pns2004370.
- 140.**Mescher A.L.(Ed.). (2016). The male reproductive system. *Junqueira's Basic Histology, 14e.* McGraw Hill.
<https://accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1687§ionid=109634128>
- 141.**Morales CR, Hermo L, Robaire B. (2014). A man for all seasons: Celebrating the scientific career of Yves Clermont. *Biol Reprod.* 90(3):51. doi: 10.1095/biolreprod.113.116822.
- 142.**Moreno-Fernández S, Garcés-Rimón M, Vera G, Astier J, Landrier JF, Miguel M. (2018). High Fat/High Glucose Diet Induces Metabolic Syndrome in an Experimental Rat Model. *Nutrients.* 10(10):1502. doi: 10.3390/nu10101502.

- 143.**Moreno-Mendez E, Quintero-Fabian S, Fernandez-Mejia C, Lazo-de-la-Vega-Monroy ML. (2020). Early-life programming of adipose tissue. *Nutr Res Rev.* 33(2):244-259. doi: 10.1017/S0954422420000037.
- 144.**Morgen C. S. y Sørensen T. I. (2014). Obesity: Global trends in the prevalence of overweight and obesity. *Nat Rev Endocrinol.* 10 (9):513-4. doi: 10.1038/nrendo.2014.124.
- 145.**Moro, J., Chaumontet, C., Even, P.C., Blais, A., Piedcoq, J., Gaudichon C., et al. (2021). Severe protein deficiency induces hepatic expression and systemic level of FGF21 but inhibits its hypothalamic expression in growing rats. *Sci. Rep.* 11, 12436. doi: 10.1038/s41598-021-91274-4
- 146.**Mruk DD, Yan CC. (2015). The mammalian blood-testis barrier: its biology and regulation. *Endocr Rev.* 36(5):564-591. doi: 10.1210/er.2014-1101.
- 147.**Münzberg H, Morrison CD. (2015). Structure, production and signaling of leptin. *Metabolism.* 64(1):13-23. doi: 10.1016/j.metabol.2014.09.010.
- 148.**Musial B, Vaughan OR, Fernandez-Twinn DS, Voshol P, Ozanne SE, Fowden AL, et al. (2017). A Western-style obesogenic diet alters maternal metabolic physiology with consequences for fetal nutrient acquisition in mice. *J Physiol.* 595(14):4875-4892. doi: 10.1113/JP273684.
- 149.**Nakagami H. (2013). The mechanism of white and brown adipocyte differentiation. *Diabetes Metab J.* 37(2):85-90. doi: 10.4093/dmj.2013.37.2.85.
- 150.**Nakata H, Wakamaya T, Sonomura T, Honma S, Hatta T, Iseki S. (2015). Three-dimensional structure of seminiferous tubules in the adult mouse. *J Anat.* 227(5), 686-694. doi: 10.1111/joa.12375.
- 151.** National Research Council, 1995. Nutritional Requirements of Laboratory Animals, fourth ed. National Academy Press, Washington, DC.
- 152.**Nicolás-Toledo L, Cervantes-Rodríguez M, Cuevas-Romero E, Corona-Quintanilla DL, Pérez-Sánchez E, Zambrano E, et al. (2018). Hitting a triple in the non-alcoholic fatty liver disease field: sucrose intake in adulthood increases fat content in the female but not in the male rat offspring of dams fed a gestational low-protein diet. *J Dev Orig Health Dis.* 9(2), 151-159. doi: 10.1017/S204017441700099X.
- 153.**Nielsen MO, Hou L, Johnsen L, Khanal P, Bechshøft CL, Kongsted AH, et al. (2016). Do very small adipocytes in subcutaneous adipose tissue (a proposed risk factor for insulin insensitivity) have a fetal origin? *Clin Nutr Exp.* 8, 9-24. doi: 10.1016/j.yclnex.2016.05.003.
- 154.**O'Donnell L, Stanton P, de Kretser DM. (2017). Endocrinology of the Male Reproductive System and Spermatogenesis. En: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, Chrousos G, de Herder

WW, Dhatariya K, et al., editors. Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279031/>

155.Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). (2017). Obesity Update 2017. En: <https://www.oecd.org/els/health-systems/Obesity-Update-2017.pdf>. [Acceso en Enero 17, 2019].

156.Ogundipe E, Johnson MR, Wang Y, Crawford MA. (2016). Peri-conception maternal lipid profiles predict pregnancy outcomes. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids*. 2016; 114, 35-43. doi: 10.1016/j.plefa.2016.08.012.

157.Ojha S, Fainberg HP, Sebert S, Budge H, Symonds ME. (2015). Maternal health and eating habits: metabolic consequences and impact on child health. *Trends Mol Med*. 21(2), 126-133. doi: 10.1016/j.molmed.2014.12.005.

158.Oliveira DT, Fernandes IDC, Sousa GG, Santos TAPD, Paiva NCN, Carneiro CM, et al., (2020). High-sugar diet leads to obesity and metabolic diseases in ad libitum -fed rats irrespective of caloric intake. *Arch Endocrinol Metab*. 64(1):71-81. doi: 10.20945/2359-3997000000199.

159.Oliveira PF, Alves MG, Rato L, Laurentino S, Silva J, Sá R, et al. (2012). Effect of insulin deprivation on metabolism and metabolism-associated gene transcript levels of in vitro cultured human Sertoli cells. *Biochim Biophys Acta*. 1820(2), 84-89. doi: 10.1016/j.bbagen.2011.11.006.

160.Oliver P, Picó C, Serra F, Palou A. (2003). Resistin expression in different adipose tissue depots during rat development. *Mol Cell Biochem*. 252(1-2):397-400. doi: 10.1023/a:1025500605884.

161.Orth JM, Gunsalus GL, Lamperti AA. (1988). Evidence from Sertoli cell-depleted rats indicates that spermatid number in adults depends on numbers of Sertoli cells produced during perinatal development. *Endocrinology*. 122(3):787-94. doi: 10.1210/endo-122-3-787.

162.O'Shaughnessy PJ, Fowler PA. (2011). Endocrinology of the mammalian fetal testis. *Reproduction*. 141(1):37-46. doi: 10.1530/REP-10-0365.

163.O'Shaughnessy PJ, Fowler PA. (2014). Development of the human fetal testis. *Ann Endocrinol (Paris)*. 75(2):48-53. doi: 10.1016/j.ando.2014.03.009.

164.Otto GM, Franklin CL, Clifford CB. (2015). Biology and Diseases of Rats. *Laboratory Animal Medicine*, 151–207. doi: 10.1016/B978-0-12-409527-4.00004-3.

165.Patel AP. (2017). Anatomy and physiology of chronic scrotal pain. *Transl Androl Urol*. 6(Suppl 1):S51-S56. doi: 10.21037/tau.2017.05.32.

- 166.** Pedrana G, Viotti H, Lombide P, Cavestani D, Martin GB, Vickers MH, et al. (2020). Maternal undernutrition during pregnancy and lactation affects testicular morphology, the stages of spermatogenic cycle, and the testicular IGF-I system in adult offspring. *J Dev Orig Health Dis.* 11(5); 473-483. doi: 10.1017/S2040174420000306.
- 167.** Peelman F, Zabeau L, Moharana K, Savvides SN, Tavernier J. (2014). 20 years of leptin: insights into signaling assemblies of the leptin receptor. *J Endocrinol.* 223(1):T9-23. doi: 10.1530/JOE-14-0264.
- 168.** Pellegrinelli V, Carobbio S, Vidal-Puig A. (2016). Adipose tissue plasticity: How fat depots respond differently to pathophysiological cues. *Diabetologia.* 59(6): 1075-1088. doi: 10.1007/s00125-016-3933-4.
- 169.** Pennington KA, van der Walt N, Pollock KE, Talton OO, Schulz LC. (2017). Effects of acute exposure to a high-fat, high-sucrose diet on gestational glucosa tolerance and subsequent maternal health in mice. *Biol Reprod.* 96(2):435-445. doi: 10.1095/biolreprod.116.144543.
- 170.** Picut CA, Remick AK, de Rijk EP, Simons ML, Stump DG, Parker GA. (2015). Postnatal development of the testis in the rat: morphologic study and correlation of morphology to neuroendocrine parameters. *Toxicol Pathol.* 43(3):326-342. doi: 10.1177/0192623314547279.
- 171.** Poissonnet CM, Burdi AR, Bookstein FL. (1983). Growth and development of human adipose tissue during early gestation. *Early Hum Dev.* 8(1):1-11. doi: 10.1016/0378-3782(83)90028-2.
- 172.** Poissonnet CM, Burdi AR, Garn SM. (1984). The chronology of adipose tissue appearance and distribution in the human fetus. *Early Hum Dev.* 10(1-2):1-11. doi: 10.1016/0378-3782(84)90106-3.
- 173.** Pond CM. (2005). Adipose tissue and the immune system. Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids. 73(1):17-30. doi: 10.1016/j.plefa.2005.04.005.
- 174.** Qu N, Naito M, Li J, Terayama H, Hirai S, Itoh M. (2012). Xenogenic and endogenous spermatogenesis following transplantation of rat germ cells into testes of immunocompetent mice. *Reprod Fertil Dev.* 24:337-343. doi: 10.1071/RD10349.
- 175.** Qu N, Ogawa Y, Kuramasu M, Nagahori K, Sakabe K, Itoh M. (2019). Immunological microenvironment in the testis. *Reprod Med Biol.* 9(1):24-31. doi: 10.1002/rmb2.12293.
- 176.** Quinn, R. (2005). Comparing rat's to human's age: how old is my rat in people years? *Nutrition.* 21(6):775-7. doi: 10.1016/j.nut.2005.04.002.

- 177.**Rakyan VK, Chong S, Champ ME, Cuthbert PC, Morgan HD., Luu KV, et al. (2003). Transgenerational inheritance of epigenetic states at the murine Axin(Fu) allele occurs after maternal and paternal transmission. *PNAS USA*. 100(5):2538–2543. doi: 10.1073/pnas.0436776100.
- 178.**Rando OJ, Simmons RA. (2015). I'm eating for two: parental dietary effects on offspring metabolism. *Cell*. 161(1):93-105. doi: 10.1016/j.cell.2015.02.021.
- 179.**Rato L, Alves MG, Dias TR, Lopes G, Cavaco JE, Socorro S, et al. (2013). High-energy diets may induce a pre-diabetic state altering testicular glycolytic metabolic profile and male reproductive parameters. *Andrology*. 1(3), 495-504. doi: 10.1111/j.2047-2927.2013.00071.x.
- 180.**Regnault TRH, Gentili S, Sarr O, Toop CR, Sloboda DM. (2013). Fructose, pregnancy and later life impacts. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2013; 40(11), 824-837. doi: 10.1111/1440-1681.12162.
- 181.**Renault KM, Carlsen EM, Nørgaard K, Nilas L, Pryds O, Secher NJ, et al. (2015). Intake of Sweets, Snacks and Soft Drinks Predicts Weight Gain in Obese Pregnant Women: Detailed Analysis of the Results of a Randomised Controlled Trial. *PLoS ONE*. 10(7):e0133041. doi: 10.1371/journal.pone.0133041.
- 182.**Richard AJ, White U, Elks CM, Stephens JM. Adipose Tissue: Physiology to Metabolic Dysfunction. En: Endotext [Internet]. (Eds. Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, et al.), Updated 2020 Apr 4. Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000-.
- 183.**Robinson R, Fritz IB. (1981). Metabolism of glucose by Sertoli cells in culture. *Biol. Reprod*. 24: 1032-1041.
- 184.**Rodríguez L, Panadero MI, Roglans N, Otero P, Alvarez-Millán JJ, Laguna JC, et al. (2013). Fructose during pregnancy affects maternal and fetal leptin signaling. *J Nutr Biochem*. 24(10), 1709–1716. doi: 10.1016/j.jnutbio.2013.02.011.
- 185.**Rodríguez-Castelán J, Méndez-Tepepa M, Carrillo-Portillo Y, Anaya-Hernández A, Rodríguez-Antolín J, Zambrano E, et al. (2017). Hypothyroidism Reduces the Size of Ovarian Follicles and Promotes Hypertrophy of Periovarian Fat with Infiltration of Macrophages in Adult Rabbits. *Biomed Res Int*. 2017:3795950. doi: 10.1155/2017/3795950.
- 186.**Rodríguez-Correa E., González-Pérez I., Clavel-Pérez P. I., Contreras-Vargas Y., Carvajal K. (2020). Biochemical and nutritional overview of diet-induced metabolic syndrome models in rats: what is the best choice. *Nutr Diabetes*. 10(1): 24. doi: 10.1038/s41387-020-0127-4.

- 187.**Rodríguez-González GL, Vega CC, Boeck L, Vázquez M, Bautista CJ, Reyes-Castro LA, et al. (2015). Maternal obesity and overnutrition increase oxidative stress in male rat offspring reproductive system and decrease fertility. *Int J Obes (Lond)*. 39(4):549-56. doi: 10.1038/ijo.2014.209.
- 188.**Roncal-Jimenez CA, Lanaspá MA, Rivard CJ, Nakagawa T, Sanchez-Lozada LG, Jalal D, et al. (2011). Sucrose induces Fatty Liver and Pancreatic Inflammation in Male Breeder Rats Independent of Excess Energy Intake. *Metabolism*. 60(9):1259-70. doi: 10.1016/j.metabol.2011.01.008.
- 189.**Rosen ED, Spiegelman BM. (2014). What we talk about when we talk about fat. *Cell*. 16;156(1-2):20-44. doi: 10.1016/j.cell.2013.12.012.
- 190.**Ross MG, Desai M. (2013). Developmental programming of offspring obesity, adipogenesis, and appetite. *Clin Obstet Gynecol*. 56(3):529-36. doi: 10.1097/GRF.0b013e318299c39d.
- 191.**Rouiller-Fabre V, Muczynski V, Lambrot R, Lécureuil C, Coffigny H, Pairault C, et al. (2009). Ontogenesis of testicular function in humans. *Folia Histochem Cytobiol*. 47(5): S19-24. doi: 10.2478/v10042-009-0065-4.
- 192.**Rudnicki M, Abdifarkosh G, Rezvan O, Nwadozi E, Roudier E, Haas TL. (2018). Female Mice Have Higher Angiogenesis in Perigonadal Adipose Tissue Than Males in Response to High-Fat Diet. *Front. Physiol*. 9:1452. doi: 10.3389/fphys.2018.01452.
- 193.**Saether T, Tran TN, Rootwelt H, Christophersen BO, Haugen TB. (2003). Expression and regulation of delta5-desaturase, delta6-desaturase, stearoyl-coenzyme A (CoA) desaturase 1, and stearoyl-CoA desaturase 2 in rat testis. *Biol Reprod*. 69(1):117-24. doi: 10.1095/biolreprod.102.014035.
- 194.**Saether T, Tran TN, Rootwelt H, Grav HJ, Christophersen BO, Haugen TB. (2007). Essential fatty acid deficiency induces fatty acid desaturase expression in rat epididymis, but not in testis. *Reproduction*. 133(2):467-77. doi: 10.1530/REP-06-00294.
- 195.**Sanchez-Gurmaches J, Guertin DA. (2014). Adipocyte lineages: tracing back the origins of fat. *Biochim Biophys Acta*. 1842(3):340-51. doi: 10.1016/j.bbadis.2013.05.027.
- 196.**Sarjeant K, Stephens JM. (2012). Adipogenesis. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 4(9):a008417. doi: 10.1101/cshperspect.a008417.
- 197.**Saunders PT, Fisher JS, Sharpe RM, Millar MR. (1998). Expression of oestrogen receptor beta (ER beta) occurs in multiple cell types, including some germ cells, in the rat testis. *J Endocrinol*. 156(3):R13-7. doi: 10.1677/joe.0.156r013.

- 198.**Savino F, Liguori SA, Lupica MM. (2010). Adipokines in breast milk and preterm infants. *Early Hum Dev.* 86 Suppl 1:77-80. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2010.01.011.
- 199.**Scherer-Adami F., Dutra-Rosolen M., Schedler F., Carreno I., Alves MN. 2020. Nutritional status and dietary intake of pregnant woman. *Rev. Salud Pública.* 22(1):1-5. doi: 10.15446/rsap.V22n1.72795.
- 200.**Schulz LC. (2010). The Dutch Hunger Winter and the developmental origins of health and disease. *Proc Natl Acad Sci USA.* 107(39):16757-8. doi: 10.1073/pnas.1012911107.
- 201.**Sebo ZL, Jeffery E, Holtrup B, Rodeheffer MS. (2018). A mesodermal fate map for adipose tissue. *Development.* 145(17):dev166801. doi: 10.1242/dev.166801.
- 202.**Sebo ZL, Rodeheffer MS. (2019). Assembling the adipose organ: adipocyte lineage segregation and adipogenesis *in vivo*. *Development.* 146, dev172098. doi: 10.1242/dev.172098.
- 203.**Sengupta P, Bhattacharya K, Dutta S. Leptin and male reproduction. *Asian Pac J Reprod.* 2019; 8(5), 220-226.
- 204.**Sengupta, P. (2013). The laboratory Rat: Relating Its Age with Human's. *Int. j Prev. Med.*4(6): 624-630. PMID: 23930179.
- 205.**Sertoli E. (2018). The structure of seminiferous tubules and the development of [spermatids] in rats. *Biol Reprod.* 99(3):482-503. doi: 10.1093/biolre/i0y134.
- 206.**Sharpe RM, McKinnell C, Kivlin C, Fisher JS. (2003). Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood. *Reproduction.* 125(6):769-84. doi: 10.1530/rep.0.1250769.
- 207.**Sharpe RM. (1998). The roles of oestrogen in the male. *Trends Endocrinol Metab.* 9(9):371-7. doi: 10.1016/s1043-2760(98)00089-7.
- 208.**Sharpe RM. (2001). Hormones and testis development and the possible adverse effects of environmental chemicals. *Toxicol Lett.* 120(1-3):221-32. doi: 10.1016/s0378-4274(01)00298-3.
- 209.**Shibata K, Fukuwatari. (2013). High d(+)-fructose diet adversely affects testicular weight gain in weaning rats-protection by moderate d(+)-glucose diet. *Nutr Metab Insights.* 6, 29-34. doi: 10.4137/NMI.S12584.
- 210.**Siega-Riz AM, Bodnar LM, Savitz DA. (2002). What are pregnant women eating? Nutrient and food group differences by race. *Am J Obstet Gynecol.* 186(3): 480-6. doi: 10.1067/mob.2002.121078.

- 211.**Skinner MK, Anway MD. (2005). Seminiferous cord formation and germ-cell programming: epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors. *Ann N Y Acad Sci.* 1061:18–32. doi: 10.1196/annals.1336.004
- 212.**Slavin J, Carlson J. (2014). Carbohydrates. *Advances in Nutrition.* 5(6):760-761. doi: 10.3945/an.114.006163.
- 213.**Smith SJ, Cases S, Jensen DR, Chen HC, Sande E, Tow B, et al., (2000). Obesity resistance and multiple mechanisms of triglyceride synthesis in mice lacking Dgat. *Nat Genet.* 25(1):87-90. doi: 10.1038/75651.
- 214.**Song Z, Xiaoli AM, Yang F. (2018) Regulation and Metabolic Significance of *De Novo* Lipogenesis in Adipose Tissues. *Nutrients.* 10(10):1383. doi: 10.3390/nu10101383.
- 215.**Srinivasan V, Thombre DP, Lakshmanan S, Chakrabarty A. (1986). Effect of removal of epididymal fat on spermatogenesis in albino rats. *Indian J Exp Biol.* 24(8):487-8.
- 216.**Strissel KJ, Stancheva Z, Miyoshi H, Perfield JW 2nd, DeFuria J, Jick Z, et al. (2007). Adipocyte death, adipose tissue remodeling, and obesity complications. *Diabetes.* 2007; 56(12), 2910-2918. doi: 10.2337/db07-0767.
- 217.**Sun K, Kusminski CM, Scherer PE. (2011). Adipose tissue remodeling and obesity. *J Clin Invest* 121(6): 2094-2101. doi: 10.1172/JCI45887.
- 218.**Taylor SA, Shrader RE, Koski KG, Zeman FJ. (1983). Maternal and Embryonic Response to a “Carbohydrate-Free” Diet Fed to Rats. *J Nutr.* 113(2): 253-267. doi: 10.1093/jn/113.2.253.
- 219.**Tchoukalova YD, Votruba SB, Tchkonina T, Giorgadze N, Kirkland JL, Jensen MD. (2010). Regional differences in cellular mechanisms of adipose tissue gain with overfeeding. *Proc Natl Acad Sci USA* 107(42):18226-31. doi:10.1073/pnas.1005259107
- 220.**Thornley S., Tayler R., Sikaris K. (2012). Sugar restriction: the evidence for a drug-free intervention to reduce cardiovascular disease risk. *Intern Med J.* 5:46-58. doi: 10.1111/j.1445-5994.2012.02902.x.
- 221.**Thurner S, Klimek P, Szell M, Duftschmid G, Endel G, Kautzky-Willer A, et al. (2013). Quantification of excess risk for diabetes for those born in times of hunger, in an entire population of a nation, across a century. *Proc Natl Acad Sci USA.* 110(12):4703-7. doi: 10.1073/pnas.1215626110.
- 222.**Timmons JA, Wennmalm K, Larsson O, Walden TB, Lassmann T, Petrovic N, et al. (2007). Myogenic gene expression signature establishes that brown and white adipocytes originate from distinct cell lineages. *Proc Natl Acad Sci USA.* 104(11):4401-6. doi: 10.1073/pnas.0610615104.

- 223.**Turer AT, Scherer PE. (2012). Adiponectin: mechanistic insights and clinical implications. *Diabetologia*. 55(9):2319-26. doi: 10.1007/s00125-012-2598-x
- 224.**Tzanetakou IP, Mikhailidis DP, Perrea DN. (2011). Nutrition During Pregnancy and the Effect of Carbohydrates on the Offspring's Metabolic Profile: In Search of the "Perfect Maternal Diet". *Open Cardiovasc Med J*. 5:103-9. doi: 10.2174/1874192401105010103.
- 225.**United States Department of Agriculture (USDA). (2020). Sugar: World Markets and Trade. Disponible en línea: <https://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/sugar.pdf> (acceso el 12 de Julio de 2020).
- 226.**Vickers MH, Gluckman PD, Coveny AH, Hofman PL, Cutfield WS, Gertler A, et al. (2005). Neonatal leptin treatment reverses developmental programming. *Endocrinology*. 146(10):4211-6. doi: 10.1210/en.2005-0581.
- 227.**Vieau D. 2011. Perinatal nutritional programming of health and metabolic adult disease. *World J Diabetes*. 2(9): 133-136. doi: 10.4239/wjd.v2.i9.133
- 228.**Vijayakumar A, Aryal P, Wen J, Syed I, Vazirani RP, Moraes-Vieira PM, et al. (2017). Absence of Carbohydrate Response Element Binding Protein in Adipocytes Causes Systemic Insulin Resistance and Impairs Glucose Transport. *Cell Rep*. 21(4):1021-1035. doi: 10.1016/j.celrep.2017.09.091.
- 229.**Wang QA, Tao C, Gupta RK, Scherer PE. (2013). Tracking adipogenesis during white adipose tissue development, expansion and regeneration. *Nat Med*. 19(10):1338-44. doi: 10.1038/nm.3324.
- 230.**Weden MM, Brownell P, Rendall MS. (2012). Prenatal, perinatal, early life, and sociodemographic factors underlying racial differences in the likelihood of high body mass index in early childhood. *Am J Public Health*. 102(11):2057-67. doi: 10.2105/AJPH.2012.300686.
- 231.**Wernstedt Asterholm I, Tao C, Morley TS, Wang QA, Delgado-Lopez F, Wang ZV, Scherer PE. 2014 Adipocyte inflammation is essential for healthy adipose tissue expansion and remodeling. *Cell Metab*. 20:103–118. doi: 10.1016/j.cmet.2014.05.005.
- 232.**World Health Organization (WHO). Guideline: Sugars intake for adults and children. 2015. Geneva: En <https://www.who.int/publications/i/item/9789241549028>
- 233.**World Health Organization (WHO). Healthy diet. 2020. Geneva: En <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/healthy-diet>
- 234.**World Health Organization (WHO). Malnutrition. 2021. En: https://www.who.int/health-topics/malnutrition#tab=tab_1

- 235.**Wueest S, Yang X, Liu J, Schoenle EJ, Konrad D. (2012). Inverse regulation of basal lipolysis in perigonadal and mesenteric fat depots in mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 302(1): E153-E160. doi: 10.1152/ajpendo.00338.2011.
- 236.**Wu-Peng S, Rosenbaum M, Nicolson M, Chua SC, Leibel RL. (1999). Effects of exogenous gonadal steroids on leptin homeostasis in rats. *Obes Res.* 7(6):586–92. doi:10.1002/j.1550-8528.1999.tb00718.x.
- 237.**Yang CF, Liu WW, Wang HQ, Zhang JL, Li K, Diao ZY, et al. (2022). Gonadal white adipose tissue is important for gametogenesis in mice through maintenance of local metabolic and immune niches. *J Biol Chem.* 298(5):101818. doi: 10.1016/j.jbc.2022.101818.
- 238.**Young BE, Johnson SL, Krebs NF. (2012). Biological determinants linking infant weight gain and child obesity: current knowledge and future directions. *Adv Nutr.* 3(5):675-86. doi: 10.3945/an.112.002238.
- 239.**Young P, Arch JR, Ashwell M. (1984). Brown adipose tissue in the parametrial fat pad of the mouse. *FEBS Lett.* 167(1):10-4. doi: 10.1016/0014-5793(84)80822-4.
- 240.**Yule TD, Tung K. (1993). Experimental autoimmune orchitis induced by testis and sperm antigenspecific T cell clones: an important pathogenic cytokine is tumor necrosis factor. *Endocrinology.* 133:1098-1107. doi: 10.1210/endo.133.3.8103448.
- 241.**Zambrano E, Guzmán C, Rodríguez-González GL, Durand-Carbajal M, Nathanielsz PW. (2014). Fetal programming of sexual development and reproductive function. *Mol Cell Endocrinol.* 382(1):538-549. doi: 10.1016/j.mce.2013.09.008.
- 242.**Zambrano E, Nathanielsz PW. (2017). Relative contributions of maternal Western-type high fat, high sugar diets and maternal obesity to altered metabolic function in pregnancy. *J Physiol.* 595(14):4573-4574. doi: 10.1113/JP274392.
- 243.**Zambrano E, Rodríguez-González GL, Guzmán C, García-Becerra R, Boeck L, Díaz L, et al. (2005). A maternal low protein diet during pregnancy and lactation in the rat impairs male reproductive development. *J Physiol.* 563(Pt 1): 275-84. doi: 10.1113/jphysiol.2004.078543.
- 244.**Zubiría MG., Alzamendi A., Moreno G., Rey MA., Spinedi E., Giovambattista. A. (2016). Long-Term Fructose Intake Increases Adipogenic Potential: Evidence of Direct Effects of Fructose on Adipocyte Precursor Cells. *Nutrients.* 8 (4): 198. doi: 10.3390/nu8040198.