



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

“El consumo elevado de sacarosa al destete afecta la concentración de testosterona, histología gonadal y conducta sexual en la rata macho”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTORADO (A) EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Presenta

Yeimy Mar De León Ramírez

Directora

Dra. Leticia Nicolás Toledo

Tlaxcala, Tlax.

Enero, 2021



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

“El consumo elevado de sacarosa al destete afecta la concentración de testosterona, histología gonadal y conducta sexual en la rata macho”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTORADO (A) EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Yeimy Mar De León Ramírez

Comité Tutorial

Dra. Margarita Martínez Gómez
Dra. Estela Cuevas Romero
Dra. Margarita Cervantes Rodríguez
Dra. Senobia Rosalía Cruz Lumbreras
Dr. Jorge Rodríguez Antolín

Tlaxcala, Tlax.

Enero, 2021

Financiamiento

La presente tesis fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través del apoyo recibido en la beca CONACyT (631998/456014) y el apoyo al proyecto de investigación (287762) de la Dra. Leticia Nicolás Toledo; realizada en las inmediaciones del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta de la Universidad Autónoma de Tlaxcala, Unidad Periférica del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Posgrado en Ciencias Biológicas
Coordinación de la División de Ciencias Biológicas
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado



COORDINACIÓN DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
PRESENTE

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del proyecto de tesis que **Yeimy Mar De León Ramírez** 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 **“El consumo elevado de sacarosa al destete afecta la concentración de testosterona, histología gonadal y conducta sexual en la rata macho”**.

Sin otro particular, aprovechamos para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
TLAXCALA, TLAX., ENERO 22 DE 2021



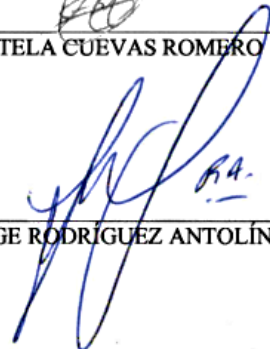
DRA. MARGARITA MARTÍNEZ GÓMEZ



DRA. ESTELA CUEVAS ROMERO



DRA. SENOBIA ROSALÍA CRUZ LUMBRERAS



DR. JORGE RODRÍGUEZ ANTOLÍN



DRA. MARGARITA CERVANTES RODRÍGUEZ



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado bajo la Norma:
ISO 9001:2015-NMX-CC-9001-IMNC-2015





Tesis final de Yeimy.docx
23 de febrero de 2021
16869 palabras / 91326 caracteres

Yeimy Mar De León Ramírez

Tesis final de Yeimy.docx

Resumen de fuentes

3%

SIMILITUD GENERAL

| | | |
|-----------|---|-----|
| 1 | María Jesús Sancho-Velasco, Marga Esbert. "Efectos del estilo de vida y determinados tóxicos sobre la fertilidad masculina", Medicin... CROSSREF | <1% |
| 2 | MJ Larrazábal, I. Escriche, MM Camacho. "Cambios de calidad asociados a las condiciones de marinado de salmón () y su evolución ... CROSSREF | <1% |
| 3 | Adriana Corona-Pérez, Mauricio Díaz-Muñoz, Estela Cuevas-Romero, Dalia Luna-Moreno et al. "Efectos interactivos del estrés crónico ... CROSSREF | <1% |
| 4 | Juan José Corrales Hernández. "Déficit androgénico y síndrome metabólico", Revista Internacional de Andrología, 2007 CROSSREF | <1% |
| 5 | A. Gambineri, R. Pasquali. "Resistencia a la insulina, obesidad y síndrome metabólico en el síndrome del ovario poliquístico", Endocrin... CROSSREF | <1% |
| 6 | María Ortiz Espejo, María Dolores Fernández González, Ricardo Batanero Maguregui, Jesús Manuel Morán López et al. "Concentracio... CROSSREF | <1% |
| 7 | Irma Aranda-González, Maira Segura-Campos, Yolanda Moguel-Ordoñez, David Betancur-Ancona. "Bertoni. Un potencial adyuvante en ... CROSSREF | <1% |
| 8 | Yadira Díaz-Aguila, Francisco Castelán, Estela Cuevas, Elena Zambrano et al. "El consumo de sacarosa desde la infancia aumenta la a... CROSSREF | <1% |
| 9 | F. Erdemir, D. Atilgan, F. Markoc, O. Boztepe, B. Suha-Parlaktas, S. Sahin. "Efecto de la obesidad inducida por dieta en el tejido testicula... CROSSREF | <1% |
| 10 | Sergi Vila. "En España se presenta el primer informe anual del Acuerdo de Transparencia en Experimentación Animal", Animales de la... CROSSREF | <1% |
| 11 | Carlos Sañudo Astiz. "Calidad de la canal y la carne de cordero y cabrito y desarrollo de la aceptabilidad del consumidor", Revista Bra... CROSSREF | <1% |
| 12 | Pablo S Reineri, María S. Coria, María G. Barrionuevo, Olegario Hernández, Santiago Callejas, Gustavo A. Palma. "Expresión génica del ... CROSSREF | <1% |
| 13 | Søren R. Deutch, Martin B. Jensen, Peer M. Christiansen, Ib HessovD.M.Sc .. "Rendimiento muscular y fatiga en el hiperparatiroidismo ... CROSSREF | <1% |
| 14 | Alejandra Rodríguez, Marco Ceroni, Soledad Celis. "Andropausia y trastornos del ánimo", Revista Internacional de Andrología, 2007 CROSSREF | <1% |
| 15 | Dorien Van Saen, Veerle Vloeberghs, Inge Gies, Jean De Schepper, Herman Tournaye, Ellen Goossens. "Caracterización de los compon... CROSSREF | <1% |
| dieciséis | EE Reza-Zaldívar, S. Sandoval-Avila, YK Gutiérrez-Mercado, E. Vázquez-Méndez et al. "La eritropoyetina humana recombinante re... CROSSREF | <1% |

Resumen

El exceso del consumo de alimentos altos en carbohidratos aumenta el tejido adiposo, el cual induce el riesgo de padecer obesidad y/o síndrome metabólico, asociándose con problemas de fertilidad. En el humano adulto, la acumulación del tejido adiposo tiene un efecto directo sobre el medio ambiente testicular, alterando la espermatogénesis, movilidad y concentración espermática. Recientemente en nuestro grupo de trabajo hemos mostrado que el consumo elevado de sacarosa (30%) durante la infancia, afecta la organización histológica del testículo afectando la espermatogénesis. Por ello, el objetivo del trabajo fue determinar el efecto del consumo de sacarosa, en diferentes etapas de vida, sobre la organización histológica del testículo, parámetros metabólicos, la calidad espermática, los niveles de testosterona, dihidrotestosterona, conducta copuladora y la fertilidad. En el experimento 1, se tuvo un grupo control (Control), al que se le proporcionó agua simple y dieta chow *ad libitum* y el grupo experimental, que consumió sacarosa al 30% en el agua (Sugar) durante 2 y 3 meses + dieta chow *ad libitum*. En el experimento 2, se tuvieron ratas adultas de 200 gr de peso corporal. El grupo control (Control) tomó agua simple y el grupo experimental consumió sacarosa al 30% en el agua (Sugar) durante 2 meses + dieta chow *ad libitum*. Las ratas fueron anestesiadas y sacrificadas por decapitación al finalizar el experimento. Los datos fueron analizados aplicando una *t*-Student. En el experimento 1, el consumo de azúcar durante dos y tres meses induce un aumento en el peso testicular, el contenido de triglicéridos, dienos conjugados, testosterona y área del lumen, pero disminuye el área del epitelio germinativo y la calidad espermática. En el experimento 2, el tratamiento con azúcar aumenta el peso testicular, el contenido de triglicéridos y testosterona con una disminución de DHT. Histológicamente se observó un aumento en el diámetro del lumen, pero una disminución en el área del epitelio germinativo. La calidad espermática disminuyó y la conducta sexual mostró alteraciones, con un aumento en el número de reabsorciones con una disminución en el número de crías nacidas. Los hallazgos de la presente tesis muestran que el consumo de sacarosa al 30%, altera la morfología testicular y la función de su población celular, independientemente del tiempo que consumen el azúcar y de la edad. Por lo tanto, estas alteraciones durante la vida temprana podrían conducir problemas de infertilidad en la vida adulta sin obesidad y síndrome metabólico. Por consiguiente, es interesante analizar si estos efectos inducidos en la vida temprana podrían revertirse.

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| FISIOLOGÍA TESTICULAR JUVENIL Y ADULTA EN LA RATA | 5 |
| Periodo Juvenil: 21 al 32 PN | 5 |
| Período pre- puberal: 32 al 55 PN | 6 |
| Período puberal tardío: 56 al 61 PN | 7 |
| CORRELACIÓN DE LA MORFOLOGÍA GONADAL EN LA RATA CON PARÁMETROS NEUROENDOCRINOS | 7 |
| Periodo juvenil: 21 al 32 PN | 7 |
| Periodo peri-puberal: Días 33 al 55 PN | 9 |
| BALANCE DE ENERGÍA, DISFUNCIÓN HORMONAL Y ERÉCTIL | 9 |
| CONDUCTA COPULATORIA MASCULINA EN LA RATA | 14 |
| Latencia de Monta (LM) | 15 |
| Latencia de Intromisión (LI) | 15 |
| Latencia de Eyaculación (LE) | 15 |
| Número de Montas (NM) | 15 |
| Número de Intromisiones (NI) | 15 |
| ANTECEDENTES | 17 |
| DIETAS RICAS EN CARBOHIDRATOS Y EL METABOLISMO | 17 |
| DIETAS RICAS EN CARBOHIDRATOS Y ESTRÉS OXIDATIVO | 17 |
| DIETAS RICAS EN GRASA E INFERTILIDAD | 18 |
| ROL DE LA LEPTINA EN LA REPRODUCCIÓN | 19 |
| JUSTIFICACIÓN | 20 |
| HIPÓTESIS | 22 |
| OBJETIVOS | 22 |

| | |
|--|----|
| OBJETIVO GENERAL..... | 22 |
| OBJETIVO ESPECÍFICOS..... | 22 |
| EXPERIMENTO 1 (2 y 3 meses) | 22 |
| EXPERIMENTO 2 (4 meses)..... | 22 |
| METODOLOGÍA..... | 23 |
| Experimento 1 | 23 |
| Animales..... | 23 |
| Grupos experimentales | 23 |
| Protocolo de la dieta | 24 |
| Obtención de muestra sanguínea y gónadas | 24 |
| Determinación de T..... | 25 |
| Análisis histológico de las gónadas | 25 |
| Determinación de triglicéridos gonadales | 26 |
| Determinación de estrés oxidativo | 26 |
| Experimento 2..... | 27 |
| Animales y grupos experimentales | 27 |
| Protocolo de la dieta | 28 |
| Evaluación de la conducta copuladora..... | 29 |
| Obtención de muestra sanguínea y gónadas | 29 |
| Determinación de testosterona y DHT..... | 29 |
| Análisis histológico de las gónadas, determinación de triglicéridos gonadales y estrés oxidativo | 30 |
| Análisis de la conducta sexual..... | 30 |
| Calidad espermática..... | 31 |
| Evaluación de la fertilidad | 31 |

| | |
|--|-----|
| Análisis estadístico | 31 |
| RESULTADOS EXPERIMENTO 1 (2 y 3 MESES) | 32 |
| PESO CORPORAL Y PESO TESTICULAR | 32 |
| TRIGLICÉRIDOS Y ESTRÉS OXIDATIVO..... | 33 |
| DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA (MORFOMETRÍA Y CUANTIFICACIÓN) Y T. | 34 |
| CALIDAD ESPERMÁTICA | 36 |
| EXPERIMENTO 2 | 37 |
| REGISTRO DE ALIMENTO Y AGUA Y PESO TESTICULAR E INDICE DE ADIPOSIDAD | 37 |
| CONDUCTA SEXUAL..... | 38 |
| Testosterona y DHT | 40 |
| DESCRIPCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA FERTILIDAD | 41 |
| DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA (MORFOMETRÍA Y CUANTIFICACIÓN) Y TRIGLICÉRIDOS GONADALES. | 42 |
| CALIDAD ESPERMÁTICA | 43 |
| DISCUSIÓN..... | 44 |
| CONCLUSIONES | 50 |
| PERSPECTIVAS | 50 |
| REFERENCIAS..... | 51 |
| GLOSARIO DE TÉRMINOS | 58 |
| ANEXOS | 111 |
| Deshidratación del tejido hepático | 111 |
| Tinción de Hematoxilina –Eosina | 112 |
| PUBLICACIONES..... | 114 |

INTRODUCCIÓN

La alimentación consta de tres pasos: a) la conducta alimentaria, b) la elección de alimentos que se consumen, c) el arte culinario que los envuelve y d) las porciones ingeridas de ellos, y es de vital importancia pues interviene concisamente en el estado nutricional de todos y cada uno de los individuos (Osorio y cols. 2002). El exceso del consumo de alimentos induce sobrepeso y obesidad, derivado de una falla en los sistemas endógenos de control que producen alteraciones metabólicas, patologías que recientemente han adquirido mucha atención debido a su rápido aumento (Mataix 2009). Las bebidas con una aportación significativa de energía amplían las posibilidades de padecer alguna enfermedad de índole metabólica, ya sea, obesidad, diabetes o síndrome metabólico. Así, el 81.5 % es el consumo regular de bebidas azucaradas en México, lo cual es congruente con el incremento en la incidencia del riesgo para padecimientos cardiovasculares y aumentar la prevalencia de la enfermedad de hígado graso no alcohólico (Nseir y cols. 2010). Ya que México es uno de los países con un alto consumo de bebidas azucaradas por persona en el mundo con un consumo promedio de 4 a 5 refrescos al día en niños y adultos, que equivalen a más de 163 litros por persona al año (Rivera y cols. 2008; Barquera y cols. 2008; Euromonitor 2009; Chaloupka y cols. 2011).

La Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2018 (ENSANUT) reportó que, existe una prevalencia del 35.6% de sobrepeso y obesidad en infantes de 5 a 11 años a nivel nacional, mientras que en adolescentes fue del 38.4%. Sin embargo, en adultos de 20 años en adelante la incidencia de sobrepeso y obesidad en conjunto es de 76.8% para mujeres y 73.0% para hombres, con lo que es evidente que la prevalencia de sobrepeso y obesidad se ha mantenido constantemente en altas prevalencias comparado con la ENSANUT 2016. Cambios en la alimentación, como un alto consumo de bebidas azucaradas, además de un estilo de vida sedentario, son asociados con el rápido aumento del sobrepeso, obesidad y síndrome metabólico (Malik y cols. 2010; Bray 2014). Por definición, la palabra "síndrome metabólico", incluye diversos componentes como triglicéridos, glucosa y colesterol elevado. No obstante, la obesidad pudiera ser un detonante con mayor importancia más que el resto de las alteraciones

metabólicas que engloba, tales como: intolerancia a la glucosa, resistencia a la acción de la insulina (IR, por sus siglas en inglés) e hipertensión (Saklayen MG 2018).

Existe evidencia clínica y epidemiológica que sugiere una progresiva asociación entre el alto consumo de bebidas azucaradas con el desarrollo de enfermedades metabólicas asociadas a cambios morfológicos de órganos involucrados en el metabolismo de carbohidratos y lípidos (El Hafidi y cols. 2001). En particular, en humanos la obesidad y el síndrome metabólico han sido asociados con la infertilidad masculina (Pasquali y cols. 2007; Ghanayem y cols. 2010). Así, se ha mostrado que la acumulación de grasa visceral se asocia negativamente con los niveles de testosterona (Pasquali y cols. 1991; Blouin y cols. 2008) y con bajos niveles de globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG, por sus siglas en inglés) (Couillard y cols. 2000; Garaulet y cols. 2000; Tsai y cols. 2004; Tchernof y cols. 2007), lo que conlleva a una alteración en el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas. En el mismo contexto, se ha relacionado el índice de masa corporal con la baja calidad del semen, disminución de la concentración de espermatozoides y motilidad de los espermatozoides, afectando la fertilidad (Pasquali y cols. 2007; Hofny y cols. 2010; Fernandez y cols. 2011). Mientras disminuyen los niveles de testosterona, las concentraciones de estrona y estradiol son mayores que las observadas en pacientes no obesos (Jensen y cols. 2004; Corona y cols. 2006; Pauli y cols. 2008; Erdemir y cols. 2012). Un aumento en la concentración de estradiol, es consecuencia de la conversión mediada por la aromatasa de testosterona gonadal y suprarrenal en estradiol y estrona. Este proceso también tiene lugar en el tejido adiposo (Schneider y cols. 1979; Kley y cols. 1980; Strain y cols. 1982; Zumoff y cols. 1990; Erdemir y cols. 2012), y podría tener un efecto directo sobre el medio ambiente testicular, alterando la espermatogénesis, movilidad y concentración espermática (Oliva y cols. 2001; Akingbemi 2005; Viguera-Villaseñor y cols. 2011). En adición se ha mostrado una correlación opuesta entre los niveles de testosterona sanguínea y el incremento acelerado de los niveles de insulina en humanos (Lichtenstein y cols. 1987; Seidell y cols. 1990; Zumoff y cols. 1990; Pasquali y cols. 1991; Simon y cols. 1992). Particularmente, la resistencia a la insulina disminuye la secreción de testosterona en las células de Leydig cuando el peso corporal aumenta, pero esta correlación puede ser independiente de los niveles de testosterona sanguíneos (Pitteloud y cols. 2005). Aunado a ello, también se han mostrado niveles bajos de SHBG (Tchernof cols. 1995; Tsai y cols. 2004). Dicha información sugiere,

que esta relación inversa se debe al grado de obesidad que presenten los individuos. En este mismo contexto, la señalización de la insulina en el cerebro juega un rol importante en regular la función reproductiva. De hecho, la insulina promueve la secreción de hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) hipotalámica, esto a su vez, estimula la secreción de gonadotropinas en la glándula pituitaria para estimular la secreción de testosterona en las células de Leydig (Bruning y cols. 2000).

En apoyo a lo anteriormente escrito, se ha reportado que en el ratón, la excesiva androgenización neonatal induce hipogonadismo y obesidad en edad adulta (Nohara y cols. 2013). Por otro lado, la obesidad también es caracterizada por un proceso inflamatorio con un aumento de estrés oxidativo (Marseglia y cols. 2015), el cual puede dañar estructuras celulares, como las células del testículo, el cual induce un aumento en la apoptosis de células germinales y posterior hipo-espermatogénesis (Turner y Lysiak 2008). Estos autores encontraron que el aumento en óxido nítrico se asocia con el estrés oxidativo, lo que puede inhibir los efectos del factor inducible por hipoxia 1 (HIF-1) e inhibir la producción de testosterona, lo que sugiere que el estrés oxidativo testicular puede estar asociado con la disminución en los niveles de testosterona (Kasturi y cols. 2008). Aunado a ello, el estrés oxidativo altera la función espermática a través de la peroxidación lipídica o lipoperoxidación, lo que conlleva a un daño oxidativo en el ADN y la formación de aductos con proteína (Kasturi y cols. 2008). Ahora bien, los trastornos metabólicos tienen la capacidad de inducir disfunción eréctil. Un claro ejemplo es la alteración de los transportadores de glucosa (GLUT 1 y GLUT 3) y la expresión de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) en el testículo de pacientes con el síndrome de Klinefelter, el cual ha sido asociado a la infertilidad (Alves y cols. 2016). La obesidad ha sido relacionada con el aumento de la grelina, lo que ha generado un gran interés en evaluar su influencia sobre la fertilidad, lo cual se ha administrado la grelina de manera intracerebroventricular y con ello se ha mostrado que ésta modula las características morfométricas de las células gonadotropas, lo que supone que la grelina puede jugar un rol indispensable en el deterioro de la reproducción masculina (Natasa y col. 2016). Por otro lado, el exceso de leptina sintetizada en el tejido adiposo afecta la producción de espermatozoides e induce apoptosis de células germinales (Isidori y cols. 1999). De hecho, cuando se aplican inyecciones intraperitoneales de leptina durante 30 días, resulta en una gran afección a las

células germinales disminuyendo la fertilidad (Mohammad-Reza et al. 2015). En humanos se ha asociado un mayor índice de masa corporal con el aumento de marcadores inflamatorios vasculares como interleucina 6, interleucina 8 y disfunción endotelial junto con un bajo índice de función eréctil (Esposito 2004). Específicamente, la elevación de L-arginina, el incremento de la actividad simpática periférica y alteraciones en la estructura vascular pueden impactar en la disminución de la capacidad de dilatación vascular acompañado con un incremento del proceso inflamatorio y a su vez, podría estar afectando el calibre de los vasos sanguíneos en el pene (Shamloul y Ghanem 2013). Recientemente, se ha mostrado en la rata prepuberal que el aumento del peso corporal reduce el número de las células de Leydig, incrementan los niveles de marcadores proinflamatorios testicular, lo que repercute negativamente en la esteroidogénesis (Wagner y cols. 2016). Aunado a ello, se ha reportado que una dieta de cafetería, caracterizada por ser hipercalórica, disminuye el número de eyaculaciones (Lazaros 2012). Será crucial probar cómo estas alteraciones metabólicas pueden afectar la morfología testicular y la conducta sexual, afectando la fertilidad.

FISIOLOGÍA TESTICULAR JUVENIL Y ADULTA EN LA RATA

Periodo Juvenil: 21 al 32 PN

El periodo juvenil está caracterizado por: (1) mantenimiento de la primera producción de espermatogénesis a espermátides redondas y (2) un incremento dramático en el diámetro tubular. La presencia de numerosos espermatoцитos paquitenos grandes y la formación de espermatoцитos secundarios en el día 26 pos-natal (PN) son característicos de ésta etapa. Hay un incremento marcado en el diámetro de los túbulos con el retiro de las células de Sertoli y espermatogonias en una sola capa a lo largo de la membrana (Lee y cols. 1975; Fig. 1). La apoptosis de los espermatoцитos paquitenos está presente dentro de los túbulos dispersados (Fig. 2).

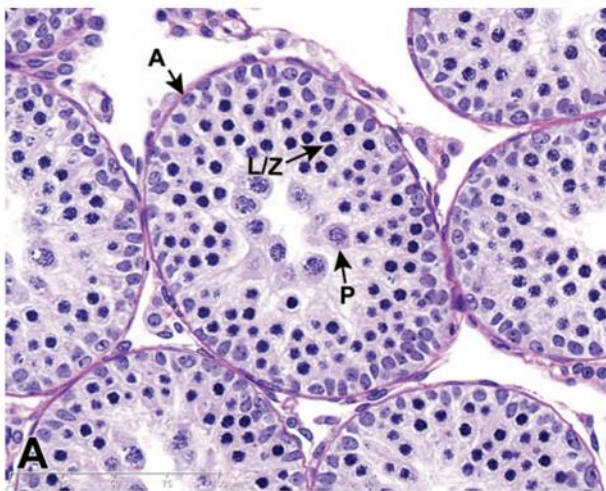


Figura 1. – Testículos de rata, 25 PN (juvenil). El desarrollo de espermatoцитos paquitenos continúa, las células de Sertoli y las espermatogonias se retiran a una sola capa basilar a medida que el diámetro del túbulo se expande. A= espermatogonia tipo A; L/Z= espermatoцитos leptotene/cigotenos; P= espermatoцитos paquitenos. Tinción con H-E. (Picut y cols. 2014).

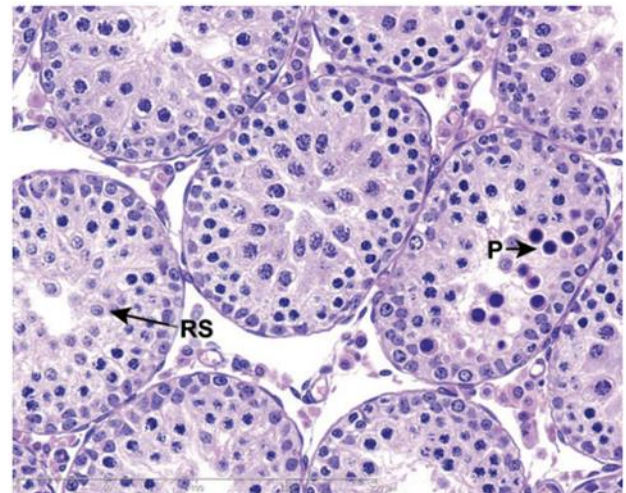


Figura 2. – Testículos de rata, 27 PN (juvenil). La apoptosis de los espermatoцитos paquitenos está presente (P) en algunos túbulos, y las espermátides redondas (RS) empiezan a formarse en otros túbulos. Tinción con H-E. (Picut y cols. 2014).

Período pre- puberal: 32 al 55 PN

El periodo pre-puberal es el tiempo que abarca el comienzo de la pubertad. El comienzo de la pubertad (o la mitad del periodo pre-puberal) es considerada así porque ocurre la separación del prepucio entre los días 40 y 50 PN, alrededor del día 43 (Stoker y cols. 2000). La pubertad también corresponde al tiempo en el que sale el espermatozoide maduro hacia la cabeza del epidídimo (Korenbrot, y cols. 1977). Después del período pre-puberal, el proceso puberal continua por aproximadamente dos semanas después de este período hasta que el tamaño del testículo adulto y cantidad de espermatozoides son alcanzados, generalmente alrededor del día 70 PN. Durante el período pre-puberal, hay espermatogénesis activa, mientras el diámetro tubular continúa expandiéndose y la transición de espermátides está por finalizar, así como la formación total del túbulo seminífero está por llegar a su etapa final (Fig. 3). Cuando las espermátides se encuentran en el último paso de su maduración alrededor del día 46 PN, todas las etapas de los túbulos deberían estar presentes. Sin embargo, en los animales que en unos días más serán púberes, la apariencia de las diferentes etapas de los túbulos podría variar en diversos aspectos, por ejemplo; bajas cantidades de células, baja densidad de espermátides alargándose o diámetros tubulares más pequeños en relación con los testículos de un adulto (Lee y cols. 1975; Ketelslegers y cols. 1978).

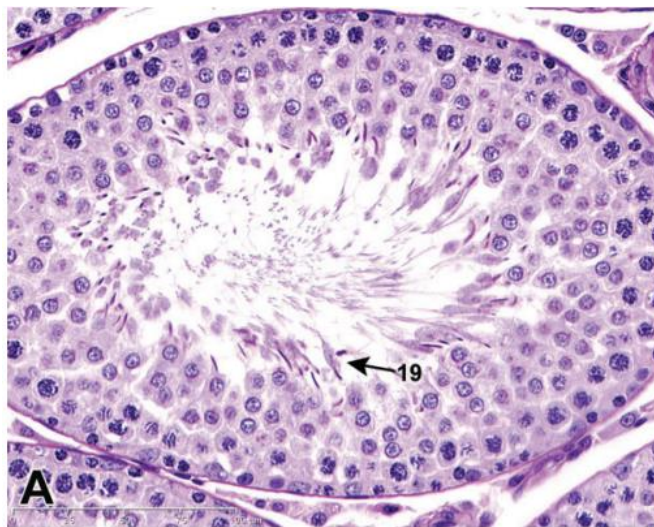


Figura 3. – Testículos de rata, 46 PN (peri - puberal). Espermátides en su último proceso, presente en la penúltima etapa del túbulo. Tinción con H-E. (Picut y cols. 2014).

Período puberal tardío: 56 al 61 PN

Durante el período puberal tardío, hay un crecimiento continuo de los testículos y de las características morfológicas consistentes con la apariencia normal de un testículo adulto. Los diámetros tubulares se incrementan, las fases tubulares pueden ser reconocidas por sus características celulares. Aunado a ello, hay un incremento en el número de células fácilmente perceptibles, así como de la densidad de espermátides alongándose (Picut y cols. 2014).

CORRELACIÓN DE LA MORFOLOGÍA GONADAL EN LA RATA CON PARÁMETROS NEUROENDOCRINOS

Periodo juvenil: 21 al 32 PN

El período juvenil es el momento en el que hay una expansión prominente del diámetro tubular, hay una producción significativa de testosterona por parte de las células de Leydig inmaduras, aumentan los niveles de hormona folículo estimulante (FSH) y hormona leutinizante (LH), y la formación de espermátides redondas. Simultáneamente con la expansión tubular, hay una pérdida de la apariencia de doble capa de la roseta inmadura, ya que las células de Sertoli y las espermatogonias retroceden a una sola capa de células en la membrana basal. El primer pico en los niveles séricos de FSH se observa en el día 18 PN, alcanzando su máximo nivel en el periodo juvenil en el día 26 PN (Lee y cols. 1975). El aumento constante en los niveles de FSH puede explicarse, en parte, debido a la disminución de los niveles de inhibina de la población estable de células de Sertoli después del día 20 PN.

Los niveles de LH siguen un patrón similar al de los niveles de FSH, se reporta un aumento constante en los niveles de LH que ocurre en días posteriores a los niveles de FSH. Los niveles de LH llegan a su punto más bajo en el día 25 PN, y aumentan a partir de entonces. El nivel más bajo de LH se debe a un aumento de la testosterona producida a partir de las células de Leydig inmaduras, que tiene una retroalimentación negativa sobre la producción de LH. Aun cuando sólo una pequeña cantidad de testosterona se produce a partir de las células de Leydig inmaduras, sólo se necesita una pequeña cantidad de testosterona para apagar la producción de LH durante el periodo juvenil temprano, porque el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas inmaduro tiene un mecanismo sensible de retroalimentación negativa entre testosterona y LH. Sin embargo, después del día 25 PN (al final del periodo

juvenil), el eje hipotálamo-hipófisis-gónada madura por lo que hay una reducción en la sensibilidad a la retroalimentación negativa; y los niveles de LH comienzan a aumentar paralelamente con el aumento de los niveles de testosterona. La relación paralela entre LH y la testosterona es una característica distintiva de la actividad madura del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas. Varios trabajos explican detalladamente la maduración del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas y su sensibilidad reducida a la retroalimentación negativa de la testosterona en la segunda mitad del periodo juvenil. La prolactina (PRL) es uno de los factores que reducen la sensibilidad del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas (Negro-Vilar y cols. 1973; Dohler y Wuttke 1975; Becu-Villalobos y cols.1992; Stoker y cols. 1999). Una mayor producción de PRL durante la etapa juvenil tiene la ventaja añadida de promover los receptores de LH en las células de Leydig, haciendo que las células de Leydig sean más receptivas a los niveles bajos de LH (Picut y cols. 2014), y que permite una mayor producción de testosterona por estas células. La reducción de la sensibilidad del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas junto con el aumento de la sensibilidad de las células de Leydig a un nivel bajo de LH, explica cómo los niveles de LH y los niveles de testosterona pueden comenzar tanto a aumentar como a disminuir paralelamente. La pérdida de los efectos inhibidores del ácido gamma aminobutírico (GABA) durante este tiempo también permite niveles más elevados de gonadotropinas. GABA es normalmente un neurotransmisor inhibidor que es responsable de mantener los niveles constantes de LH y FSH durante los períodos de infancia y adolescencia temprana. Dado que el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas madura, hay una interacción compleja de neurotransmisores excitatorios (noradrenalina, neuropéptido Y [NPY], y aminoácidos) e inhibitorios (GABA y los opioides endógenos) que dan lugar a la desinhibición general de los efectos de GABA a nivel del hipotálamo. Esta desinhibición de acción central conduce a mayores niveles de gonadotropinas cuando el animal llega a la pubertad (Picut y cols. 2014).

Independientemente de los niveles elevados de LH y FSH durante la segunda mitad del período juvenil, dichos niveles elevados son críticos para la maduración final de las células de Leydig. Al comienzo del período juvenil, las células de Leydig o son progenitoras (con capacidad de diferenciación y poca secreción de testosterona) o son inmaduras (producen testosterona en cantidades moderadas). Hacia el final del periodo juvenil, la maduración final de las células de Leydig se produce y prevalece la producción de

testosterona. En el proceso final de maduración, el aumento de los niveles de FSH en el día 26 PN y el aumento de los niveles de LH son imprescindibles. Éste aumento en los niveles de FSH aumentan la unión de FSH a las células de Sertoli, lo que desencadena la producción del factor de crecimiento tipo insulínico 1 (IGF-1). La FSH, IGF-1, y la LH trabajan en conjunto para facilitar la maduración final de las células de Leydig (Swerdloff y Walsh 1973; Chen y cols. 1976).

Periodo peri-puberal: Días 33 al 55 PN

El aumento de los niveles de producción de testosterona a partir del incremento del número de células de Leydig maduras, ahora es paralelo a un incremento de los niveles de LH ya que el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas sigue madurando (Lee y cols. 1975; Ketelslegers y cols. 1978). Los niveles de dihidrotestosterona (DHT) disminuyen después del día 40 PN. Los niveles de PRL siguen siendo relativamente altos hasta el día 50 PN (Stoker y cols. 1999) y aumentan la sensibilidad de las células de Leydig a LH (por el aumento de los receptores a LH). La PRL también promueve la producción de testosterona mediante la inhibición de la actividad de la 5 α - reductasa en las células de Leydig (Martini y cols. 1978; Witorsch y Kitay 1972). En el día 40 PN, se ha observado que hay una estrecha asociación entre niveles elevados de PRL y testosterona con la disminución drástica de los niveles de DHT.

BALANCE DE ENERGÍA, DISFUNCIÓN HORMONAL Y ERÉCTIL

El potencial reproductivo de los machos obedece tanto a estímulos independientes que controlan la calidad espermática como a estímulos que son altamente dependientes de diversas hormonas. Por otro lado, la espermatogénesis es un proceso regulado por requerimientos energéticos específicos. Constantemente se habla de los diversos factores intrínsecos y extrínsecos que tienen un efecto sobre dicho potencial reproductivo, ya sea de manera directa o indirecta. La obesidad ha sido asociada con un efecto negativo sobre la libido, la función eréctil y la fertilidad, disminuyendo la concentración de testosterona a medida que la obesidad se agrava con un aumento en las concentraciones de estrona y estradiol (Schneider y cols. 1979; Strain y cols. 1982; Zumoff y cols. 1990; Haffner y cols. 1993; Giagulli y cols. 1994; Andrea y cols. 1999; Jensen y cols. 2004; Pauli y cols. 2008; Erdemir y cols. 2012). Los testículos son tejidos con una demanda energética elevada, con

un alto flujo glucolítico. De hecho, el metabolismo de la glucosa es crucial para el desarrollo normal de la espermatogénesis, pero estos órganos no son capaces de acumular glucosa (Mallidis y cols. 2009) porque la glucosa se oxida rápidamente en el testículo (Setchell y Hinks, 1967). Las células de Sertoli, componente somático clave del epitelio seminífero (Rato et al., 2010), son esenciales en el control metabólico de la espermatogénesis en el metabolismo de carbohidratos, ya que presenta algunas características únicas (Alves y cols. 2012b; Rato y cols. 2012b). Después de entrar en estas células a través de los transportadores de glucosa GLUT1 y GLUT3, la glucosa se somete a la vía glucolítica para la producción de piruvato, la mayoría de este piruvato se convierte en lactato, que funciona como "combustible" para el desarrollo de las células germinales (Boussouar y Benahmed. 2004, Alves y cols. 2012c; Rato y cols. 2012a). Incluso en condiciones no fisiológicas, las células de Sertoli adaptan su metabolismo para mantener la producción de lactato. Para ello las células de Sertoli modulan la expresión de las enzimas clave del metabolismo y transportadores de metabolismo de la glucosa (Oliveira y cols. 2012). El aumento de los niveles circulantes de glucosa causa cambios metabólicos generales, que pueden ser reflejadas a nivel testicular. Las fluctuaciones en los niveles de glucosa, principalmente el aumento, compromete el tejido testicular. Así la glucemia puede conducir a la producción de radicales libres de oxígeno, que a su vez podría causar daño en los tejidos y la alteración de la función reproductiva (Amaral y cols. 2014). De hecho, el aumento de la disponibilidad de glucosa puede conducir a un aumento de la actividad glucolítica y, por lo tanto, una producción excesiva de especies reactivas de oxígeno (ROS). En los túbulos seminíferos, ROS se produce continuamente en las células de Sertoli y las células germinales, ello como resultado de su actividad metabólica continua (Fujii y cols. 2003). Diferentes células testiculares muestran diferente susceptibilidad a las ROS (Bauche y cols. 1994; Fujii y cols. 2003). Además, una mayor disponibilidad de la glucosa aumentaría la producción de ATP disponible para el espermatozoide. Hay evidencias con respecto a una relación directa entre la disponibilidad y el consumo de glucosa por los espermatozoides (Hoppe 1976).

En general, una dieta rica en sacarosa puede estimular la captación de glucosa debido a las altas concentraciones y disponibilidad del sustrato, así como a la actividad de la fosfofructoquinasa-1 (PFK1, por sus siglas en inglés). Por lo tanto, la concentración de lactato intratesticular aumenta, pero para ser utilizado por las células germinales, el lactato

debe ser exportado por los transportadores monocarboxilados (MCT), principalmente el MCT4 (Rato y cols. 2012a), por lo que las concentraciones de esta proteína también incrementan. Esto a su vez incentiva el transporte de lactato a través de las células testiculares y en consecuencia el metabolismo en general del testículo se agiliza dando como resultado un daño, que se presume irreversible, en la ultra estructura del órgano. Aunado a ello, se advierte que, en caso de que este proceso persistiera posiblemente afectaría tanto la espermatogénesis como la espermiogénesis. En los últimos años, algunos estudios han asociado el índice de masa corporal (IMC) con los parámetros reproductivos en los hombres, mostrando que el aumento en el IMC se relaciona con la baja calidad del semen, disminución de la concentración de espermatozoides, así como de la motilidad normal de los espermatozoides, el mecanismo para esto es muy posible que incluya, algún tipo de alteración del perfil hormonal reproductivo (Pasquali y cols. 2007; Hammoud y cols. 2008a). Sin embargo, el impacto que la obesidad pudiera tener sobre las concentraciones de testosterona libre, LH, FSH y la inhibina B no ha sido establecido (MacDonald y cols. 2010). Aunado a esto, el exceso de peso corporal se asocia con bajos niveles de testosterona, así como de LH y FSH y la capacidad de la globulina como hormona fijadora (Isidori y cols. 1999; Kaufman y Vermeulen. 2005; Aggerholm y cols. 2008). En apoyo a esto, existe controversia pues otros estudios no muestran ninguno de los aspectos anteriormente mencionados, aun cuando hay concentraciones alteradas de las hormonas sexuales en suero (Fernández y cols. 2011).

Una de las principales complicaciones del aumento del IMC es la diabetes mellitus y la incidencia de hombres obesos con diabetes mellitus tipo 1 o 2 va en aumento en el último decenio (Stefan y cols. 2008). Aun cuándo se está al tanto de que la diabetes mellitus genera múltiples modificaciones que reducen la tasa de fertilidad, el mecanismo por el cuál esto ocurre aún es desconocido y constantemente se encuentra en debate. El proceso de reproducción masculina está bajo el control de una red neuro-hormonal dirigida por el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas (Cheng y cols. 2012). Las señales derivadas de este sistema están estrechamente relacionadas a otras funciones, como el metabolismo en las células testiculares (Moyle y Ramachandran. 1973; Riera y cols. 2001) indispensable para su desarrollo. En este contexto, hay una importante cooperación metabólica establecida entre las células testiculares que son altamente sensitivas al control hormonal (Alves y cols. 2013). A propósito, los roles variados que desempeñan las distintas señales responsables de llevar a

cabo el metabolismo reproductivo, lo vuelven altamente dependiente y a la vez sensitivo a las oscilaciones en los niveles hormonales (Cheng y cols. 2012; Alves y cols. 2013). La espermatogénesis también es un proceso metabólicamente activo que depende de la estricta cooperación metabólica entre diferentes tipos de células testiculares. El control endocrino de la espermatogénesis es severamente alterado por la diabetes mellitus, esto está directamente relacionado con el metabolismo de la glucosa que es una característica única de las células del testículo. En el testículo, el metabolismo de la glucosa es un evento primordial (Fig. 4), debido a que la espermatogénesis depende en primera instancia del metabolismo de la glucosa y después del transporte de glucosa a través de la sangre de las células germinales y otros intermediarios metabólicos, altamente controlados debido a la barrera testicular sanguínea (Alves y cols. 2013).

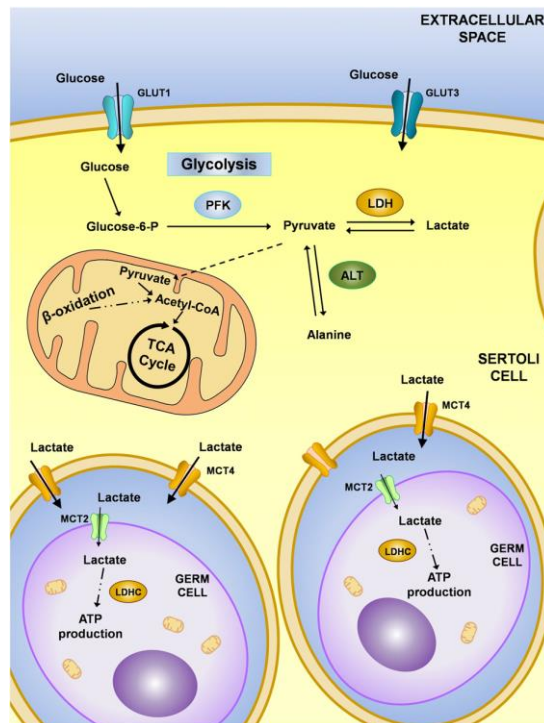


Figura 4.- Ilustración de la cooperación metabólica entre las células de Sertoli y las células germinales. La glucosa del fluido intersticial entra a las células de Sertoli a través de transportadores de glucosa, principalmente GLUT1 y GLUT3, y es convertida en glucosa-6-fosfato que es entonces convertida en piruvato por la fosfofructoquinasa (PFK). El piruvato puede: a) Ser transportadas al interior de la mitocondria para formar acetil-CoA; b) ser convertido a lactato por la lactato deshidrogenasa (LHD); o c) convertirse en alanina por la alanino-aminotransferrasa (ALT). El lactato producido por las células de Sertoli es transportado por los MCT, para producir ATP (Alves y cols. 2013).

En ratas machos se ha propuesto el rol que tiene la insulina en la infertilidad. La fluctuación en la cantidad de glucosa e insulina, causan alteraciones moleculares importantes, debido al deterioro de la obesidad ya que los individuos pierden gradualmente la sensibilidad a la glucosa e insulina. La insulina actúa sinérgicamente con otras hormonas que son importantes para la reproducción. El rol de la insulina se da en las células testiculares modulando la motilidad espermática y realizando la absorción total de las cisternas de nucleótidos, ATP, GTP y UTP, así como de la transferrina de las células de Sertoli (Fig. 5). Las células de Sertoli son responsables de la conversión de glucosa a lactato para el desarrollo de células germinales. La disminución de glucosa en el medio principal de las células de Sertoli incrementa la absorción de glucosa para mantener la producción de lactato, modulado por la expresión de GLUT1 y GLUT3, pero la disminución en los niveles de insulina o la IR, alteran el metabolismo de los carbohidratos y por lo tanto, aunque los GLUT's se adapten al cambio, el piruvato se afecta (Alves y cols. 2013).

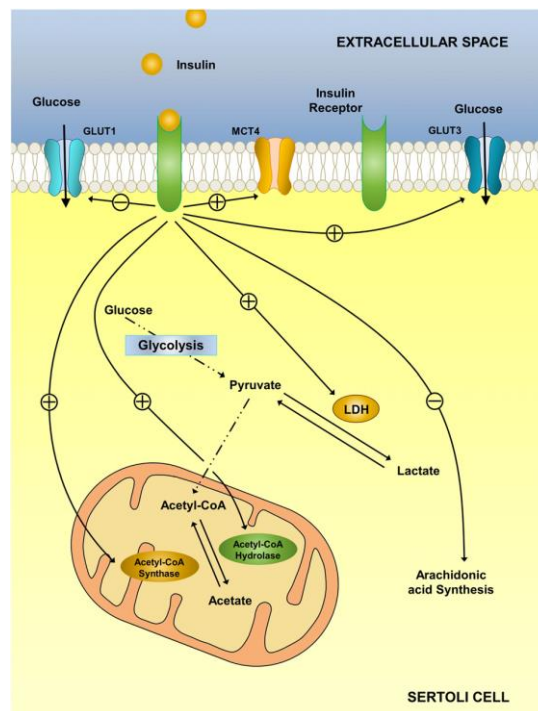


Figura 5.- Ilustración de la acción de la insulina en las vías metabólicas de las células de Sertoli. Los efectos de la insulina, son mediados por las interacciones con los receptores de insulina, que pueden inducir efectos severos en el metabolismo asociado a los transportadores. Algunos de estos efectos pueden ser estimulatorios, como en el transportador monocarboxilato 4 (MCT4), transportador de glucosa 3 (GLUT3), lactato deshidrogenasa (LDH), acetil-CoA sintetasa y acetil-CoA hidroxilasa, mientras otros efectos pueden ser inhibitorios como en el transportador de glucosa 1 (GLUT1) y la síntesis del ácido araquidónico (Alves y cols. 2013).

CONDUCTA COPULATORIA MASCULINA EN LA RATA

La conducta copulatoria de la rata macho se reconoce porque es similar a la de otros machos de mamíferos, incluye la ejecución de tres patrones conductuales identificados como monta, intromisión y eyaculación (Fig. 6). Durante la monta la rata sujeta y palpa los flancos de la hembra con los miembros anteriores y realiza movimientos pélvicos repetitivos hacia adelante y hacia atrás sobre la hembra, seguidos de la desmonta lenta. Los patrones de intromisión inician como los de monta, el último de ellos termina con un movimiento rápido y profundo que coincide con la introducción del pene en la vagina, seguido de la desmonta abrupta y el auto-acicalamiento genital. Después de varias montas y de 8-12 intromisiones, el macho realiza el patrón conductual eyaculatorio. Dicho patrón incluye los movimientos pélvicos, la inserción peneana y la expulsión del fluido seminal, durante la cual se observa una inclinación pélvica más profunda y sostenida que el de la intromisión. Una vez ocurrida la deposición de semen en la vagina, el macho eleva el tronco y realiza un movimiento lateral lento de los miembros anteriores. La desmonta lenta es seguida del autoacicalamiento genital (Larsson 1956). La ejecución de montas e intromisiones que culminan con la eyaculación constituyen una serie eyaculatoria.

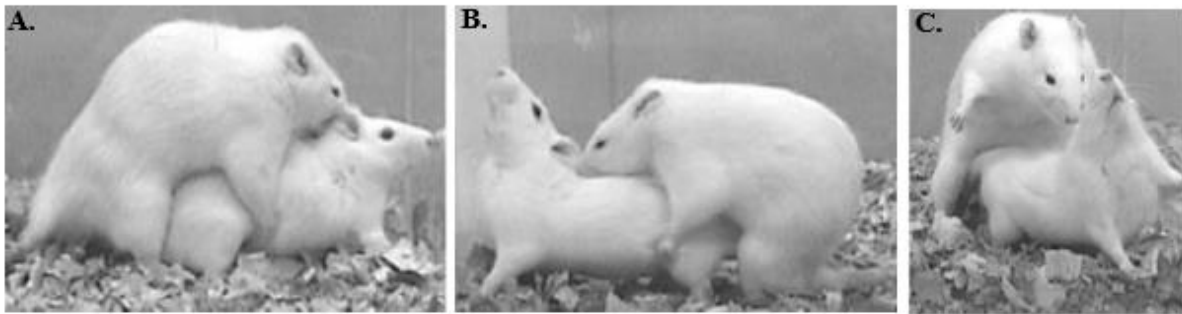


Fig. 6.- Patrones conductuales copulatorios. **A)** Patrón conductual de monta **B)** Patrón conductual de intromisión **C)** Patrón conductual de eyaculación (Lucio y Tlachi-López 2009).

Posterior a la eyaculación sigue el intervalo posteyaculatorio (IPE), durante el cual el macho permanece refractario (tiempo necesario para sentir excitación sexual y tener una erección tras eyacular) a la estimulación sexual. El número y curso temporal de estas respuestas permite reconocer y cuantificar algunos parámetros copulatorios que se ocupan para evaluar la conducta copulatoria masculina (Lucio y Tlachi-López 2009) tales como:

Latencia de Monta (LM). De todos los parámetros copulatorios, la latencia de monta, es considerada como indicador para evaluar la motivación sexual del macho ya que éste al realizar la monta no requiere de erección peneana o de que la hembra realice alguna postura que permita que la inserción peneana ocurra. Se considera que entre más reducida es la latencia de monta, más motivado se encuentra el macho. En general, la latencia de monta de los machos intactos y con experiencia es de escasos segundos.

Latencia de Intromisión (LI). La latencia de intromisión puede reflejar la rapidez que tiene el macho para presentar la primera erección que le permita insertar el pene en la vagina. Comúnmente, los machos intactos y expertos sexualmente tienen latencias de intromisión de pocos segundos e incluso pueden iniciar la cópula con el patrón de intromisión.

Latencia de Eyacuación (LE). La latencia de eyacuación de un macho intacto y con experiencia sexual puede ser de corto o largo tiempo sin que ello implique que sea más o menos efectivo. Simplemente, hay machos que eyaculan más rápido que otros. A medida que los machos van adquiriendo experiencia copulatoria puede ir reduciendo la latencia de eyacuación, otros en cambio, a pesar de la experiencia mantienen latencias mayores (Dewsbury 1969).

Número de Montas (NM). Cuando el número de montas es elevado es posible que la sensibilidad del pene esté disminuida debida a alguna manipulación.

Número de Intromisiones (NI). El número de intromisiones es considerado como una medida de la excitación para alcanzar el umbral de eyacuación. Sin embargo, no puede decirse que un macho que realiza tres intromisiones antes de eyacular es más o menos potente que otro macho que realiza trece o más intromisiones.

Durante el patrón conductual de intromisión y eyacuación ocurren funciones fisiológicas que favorecen la erección peneana y la eyacuación, que a la vez implican la participación coordinada de la musculatura lisa del tejido eréctil, de los vasos sanguíneos y de la musculatura estriada del periné (Lucio y cols. 2009). La erección se define como la tumescencia y rigidez del pene (Benson 1981) y su duración depende del tipo de pene entre las diferentes especies, la más prolongada es la del pene del tipo vascular. Mientras se lleva a cabo la intromisión del pene en la vagina, diversas sustancias secretadas por las glándulas

bulbouretrales son depositadas y llevan a cabo el proceso de limpieza (retiran residuos de orina) en la uretra del macho. A la par, dichas secreciones estimulan el transporte de los espermatozoides a través de todo el conducto. Las estructuras que participan en la erección peneana, están bajo el control tónico inhibitorio de estructuras supraespinales, tales como el núcleo paragigantocelular de la médula oblonga (McKenna 2000). Después de un número previo de intromisiones (típicamente de 8-12), el macho logra la eyaculación (Larsson 1956).

Para llevar a cabo la eyaculación de manera exitosa, es necesario completar dos fases. La primera, se refiere al proceso mediante el cual el cuello vesical se cierra y con ello llega la afluencia de todas las sustancias que son secretadas por diversas glándulas sexuales accesorias situadas en la uretra proximal, seguidas del traslado de los espermatozoides por todo el conducto deferente que inicia en la parte caudal del epidídimo y culmina en la uretra proximal. Las secreciones de las glándulas constituyen el plasma seminal; el plasma más los espermatozoides forman el líquido seminal o semen. El plasma seminal está compuesto por múltiples enzimas, azúcares, lípidos, oligoelementos y demás sustancias que les confiere a los espermatozoides los nutrientes necesarios y que a la par los protegen para así asegurar su supervivencia y deslizamiento por el tracto reproductor femenino hasta llegar al ovulo. Las secreciones glandulares son provistas en una secuencia específica en la uretra-prostática, a través de contracciones fásicas de las glándulas y conductos respectivos (Clément y Giuliano 2016). La segunda fase de la eyaculación es la de expulsión seminal y ésta hace referencia a la expulsión del líquido seminal hacia el meato uterino. La contracción de los músculos bulboesponjosos es necesaria para que este proceso se lleve a cabo. Seguido por contracciones en la musculatura estriada que a su vez estimulan la contracción de los divertículos uretrales. Estas contracciones expulsan el semen (espermatozoides y plasma seminal) por el meato urinario hacia el exterior (Lucio y cols. 2013). El semen de la rata macho contiene enzimas que coagulan el fluido seminal en la vagina, de modo que se forma un tapón seminal que facilita el transporte espermático transcervical. Así, el tapón seminal tiene un papel muy importante para inducir la preñez (McClintock y cols. 1978). El tapón también tiene la función de dificultar que otro macho insemine a la hembra recién eyaculada. Para ello, debe retirar el tapón seminal del macho que le antecedió, 3-4 intromisiones son suficientes para retirar el tapón de la vagina (Lucio y cols. 1994, Lucio y cols. 2014). Si el desprendimiento del tapón ocurre en los primeros 5 min después de la eyaculación, el

transporte espermático es interrumpido o incluso no ocurre (Lucio y cols. 2014). Por lo que, el intervalo posteyaculatorio que dura entre 5 y 10 min imposibilita al macho de tal manera que es incapaz de extraer su propio tapón antes de que ocurra el transporte espermático (Beach y Jordan 1956).

ANTECEDENTES

DIETAS RICAS EN CARBOHIDRATOS Y EL METABOLISMO

Las dietas ricas en sacarosa, son un modelo ampliamente estudiado y utilizado para inducir síndrome metabólico. Específicamente, en el modelo de rata con una dieta con 30% de sacarosa, se ha reportado un aumento en la ganancia de peso y en los triglicéridos en plasma, algunos de ellos mostraron un aumento en la masa de tejido adiposo y se observaron cambios en la prueba de tolerancia oral a la glucosa, presión arterial, colesterol y en los niveles de glucosa en plasma (El Hafidi y cols. 2001; Oron-Herman y cols. 2008). Además de la presencia de alteraciones en órganos metabólicos importantes como hígado (Corona-Pérez y cols. 2015), páncreas, riñón (Kahn y Flier 2000), tejido adiposo y la glándula adrenal (El Hafidi 2001; 2004; Alexander y cols. 2004; Díaz-Aguila y cols. 2016). Lo que nos lleva a pensar que dicho modelo también puede afectar la organización histológica del testículo.

DIETAS RICAS EN CARBOHIDRATOS Y ESTRÉS OXIDATIVO

Como consecuencia de la obesidad y el síndrome metabólico, se han implementado administrar dietas altas en calorías para poder evaluar el daño en los órganos. En nuestro laboratorio, hemos estudiado el hígado y el riñón en ratas desde temprana edad. Así, el consumo de 30% de sacarosa durante un mes, induce en el riñón una disminución en la cápsula de Bowman, el área glomerular y la creatinina sérica (Sánchez Solís y cols. 2018). En el hígado, el consumo de sacarosa al 30% durante dos meses induce esteatosis y estrés

oxidativo hepático (Corona-Pérez y cols. 2017), por lo que también se puede esperar que en estas ratas encontremos modificaciones a nivel histológico como funcional en las gónadas.

DIETAS RICAS EN GRASA E INFERTILIDAD

Múltiples estudios han mostrado que una dieta rica en grasa durante la edad adulta contribuye para desarrollar síndrome metabólico, aumenta las concentraciones de leptina, 17β -estradiol, así como de estradiol y a la par las concentraciones de LH, FSH y testosterona disminuyen. Además, se ha mostrado que tiene un efecto negativo en la movilidad de los espermatozoides y la histología de los túbulos seminíferos (Olivares y cols. 2010; Fernández y cols. 2011; Viguera-Villaseñor y cols. 2011). En ratas Sprague-Dawley de 21 días de edad con una dieta con 25% de grasa durante 90 días, muestran que no hay cambios en los niveles de insulina, glucosa, colesterol y triglicéridos, pero si presentan un aumento en los niveles de leptina y estradiol con una disminución en la concentración de testosterona, al analizar los túbulos seminíferos no encontraron diferencias histológicas (Viguera-Villaseñor y cols. 2011). Lo que sugiere que la leptina está asociada a la disminución de los niveles de testosterona. Por otro lado, en ratas de 6 semanas de edad, que consumen una dieta hipercalórica (con un índice calórico y grasas elevado, como salchichas, papas fritas, mantequilla, dulces, galletas, chocolate, cacahuets salados y queso), se observa un aumento en el peso corporal y triglicéridos, una disminución en los niveles de testosterona, sin modificaciones en colesterol, LH, FSH y estradiol (Erdemir y cols. 2012). Una dieta rica en grasa induce la acumulación de lípidos en tejido adiposo e hígado, provocando cambios deletéreos en el metabolismo y por lo subsecuente sobrepeso en la crías (Kjaergaard y cols. 2014), dicho aumento en las concentraciones de triglicéridos está asociado con la pobre calidad espermática, así como con diversos efectos negativos sobre las células de Leydig y Sertoli, que alteran la iniciación y mantenimiento de la espermatogénesis, la formación del citoesqueleto espermático y la maduración espermática (Edermir y cols. 2011; Monfared 2012). Cabe resaltar que la mayoría de los estudios, anteriormente mencionados, están enfocados en estudiar la dieta alta en grasa.

ROL DE LA LEPTINA EN LA REPRODUCCIÓN

Se sabe que la leptina se encarga de regular el apetito y se relaciona con el peso corporal, la cantidad de tejido visceral y el consumo de alimento, mostrando una relación inversamente proporcional, es decir, si las cantidades de leptina aumentan, el consumo de alimento disminuye, así como el peso corporal y el tejido adiposo también. Sin embargo, Caprio y cols. (2001), muestran que el aumento de los niveles de leptina aumenta el consumo de alimento y el peso corporal, pero el peso del testículo disminuye. Diversos estudios muestran que la leptina juega un papel importante en la reproducción humana debido a que los receptores de leptina están presentes en las células granulosas del ovario (Quintero y cols. 2008, Ruiz-Cortes y cols. 2000 y 2003, Schneider y cols. 2000). La leptina en dichas células, inhibe la estimulación y producción hormonal del estradiol en ratas. Los receptores de leptina también están presentes en el tejido testicular. Y se ha mostrado que la leptina inhibe directamente la hormona del crecimiento, el cual se encarga de estimular la secreción de testosterona en las células de Leydig en la rata a través de una vía funcional de las isoformas de los receptores de leptina (Quintero y cols. 2008, Tena-Sempere y cols. 1999). Los niveles de leptina son inversamente correlacionados con las concentraciones de testosterona y se ha demostrado que ésta regula el gen de la obesidad. Por lo anterior, se cree que la leptina regula directamente la esteroidogénesis testicular en humanos (Quintero y cols. 2008, Tena-Sempere y cols. 2001). Por lo que se sugiere que, la deficiencia en la producción de testosterona testiculares está relacionada directamente con la acumulación de grasa corporal y la disminución de leptina (Andrea y cols, 1999). Así, en ratas machos obesos, se observa una disminución de la calidad espermática debida a la disminución de los porcentajes de espermias con movilidad progresiva, sin afectar otros parámetros espermáticos, lo anterior está asociado con hipotestosteronemia afectando la fertilidad. Aunado a ello, el aumento de tejido adiposo induce un aumento de estradiol como consecuencia de la conversión mediada por la aromatasa de la testosterona gonadal y suprarrenal en estradiol y estrona, el cual se asocian recíprocamente al aumento de la frecuencia de la disfunción eréctil (Pasquali y cols. 2007; Hofny y cols. 2010; Fernández y cols. 2011).

JUSTIFICACIÓN

El consumo de dietas ricas en calorías genera una desestabilización de la función reproductiva ya sea a nivel central y/o a nivel gonadal derivado del sobrepeso y obesidad. El sobrepeso y obesidad son caracterizados por un exceso de tejido adiposo, evaluado mediante el IMC (Pasquali y cols. 2007; Alves y cols. 2013). En nuestro país, la ENSANUT (2018), reportó en cuanto al estado de nutrición una prevalencia del 35.6% de sobrepeso y obesidad en infantes de 5 a 11 años a nivel nacional, mientras que en adolescentes fue del 38.4%. Sin embargo, en adultos de 20 años en adelante la incidencia de sobrepeso y obesidad en conjunto es de 76.8% para mujeres y 73.0% para hombres, con lo que es evidente que la prevalencia de sobrepeso y obesidad se mantiene constantemente elevada comparado con la ENSANUT 2016. Así, la presencia de obesidad infantil es correlacionada con el consumo elevado de azúcares refinados (sacarosa y fructosa) y grasas en edad temprana. Estas alteraciones, primordialmente el aumento de los niveles de glucosa, se han relacionado con cambios en el metabolismo de la obesidad (Barat y cols. 2007). El aumento de los niveles circulantes de glucosa causa cambios metabólicos generales, induciendo la producción de radicales libres de oxígeno, que a su vez podría causar daños en los tejidos y la alteración de la función reproductiva (Amaral y cols. 2008). De hecho, el aumento de la disponibilidad de glucosa puede conducir a un aumento de la actividad glucolítica y por lo tanto una producción excesiva de ROS. En los túbulos seminíferos, las ROS se producen continuamente por Sertoli y las células germinales, ello como resultado de su actividad metabólica continua (Fujii y cols. 2003). Diferentes células testiculares muestran diferente susceptibilidad a las ROS (Bauche y cols. 1994; Fujii y cols. 2003). Además, una mayor disponibilidad de la glucosa aumentará la producción de ATP disponible para el espermatozoide. Hay evidencias con respecto a una relación directa entre la disponibilidad y el consumo de glucosa por los espermatozoides (Hoppe 1976).

Se sabe que una dieta con concentraciones altas de sacarosa generalmente acelera la captación de glucosa ya que hay una mayor disponibilidad de la misma y por lo tanto, la actividad de la enzima PFK1. Así, un aumento en las cantidades de lactato intratesticular es evidente. No obstante, para ser utilizado por las células germinales, el lactato debe ser exportado por los transportadores MCT4 (Rato y cols. 2012a), por lo que la proteína MCT4

también se incrementa. Todo lo anteriormente mencionado, sugiere una sobre-estimulación del transporte de lactato por las células testiculares. Como resultado el metabolismo en el testículo aumenta lo que genera daño en el órgano. De hecho, se ha llegado a pensar, que si las concentraciones se mantuvieran elevadas constantemente, es posible que afecte tanto la espermatogénesis como la espermiogénesis. La obesidad, en edad adulta se ha asociado con la presencia de infertilidad en hombres, mostrando una correlación del incremento del índice de masa corporal y las alteraciones en las concentraciones de testosterona (Haffner y cols. 1993). La presencia de estrés oxidativo derivado de la dieta también se ha relacionado con la infertilidad masculina (Sheiner y cols. 2003), ya que reduce el conteo (Pauli y cols. 2008) y la motilidad espermática (Fukuda y cols. 1996), así como la fecundidad en hombres (Aktan 2013; Showell y cols. 2014). Además de relacionarse con bajas concentraciones de testosterona, son asociadas con obesidad visceral y el síndrome metabólico, así como un incremento en el riesgo cardiovascular (Haffner y cols. 1993). Recientemente se ha mostrado que la rata con exceso de peso corporal en la etapa prepubertad reduce el número de las células de Leydig y se incrementan los niveles de marcadores proinflamatorios en el testículo lo que repercute negativamente en la esteroidogénesis (Wagner y cols. 2016). Aunado a ello, se ha reportado que una dieta de cafetería disminuye el número de eyaculaciones (Lazaros 2012). Cabe resaltar que no hay suficientes estudios en modelos animales con una dieta alta en carbohidratos sobre la organización histológica del testículo. Dicho interés es relevante porque el consumo de sacarosa a diferentes porcentajes, tiempo de exposición y edad han mostrado la presencia de obesidad y alteraciones metabólicas (El Hafidi y cols. 1997; 2000; 2001; 2004; 2006; Alexander y cols. 2004; Pérez-Torres y cols. 2009). Será crucial probar cómo estas alteraciones metabólicas pueden afectar la morfología testicular, la conducta sexual afectando la fertilidad.

HIPÓTESIS

El consumo de sacarosa afecta la organización histológica del testículo, los niveles de testosterona y la conducta copuladora induciendo infertilidad.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto del consumo de sacarosa sobre la organización histológica del testículo, los niveles de testosterona, la conducta copuladora y la fertilidad.

OBJETIVO ESPECÍFICOS

EXPERIMENTO 1 (2 y 3 meses)

Evaluar el arreglo histológico del testículo.

Cuantificar los niveles de triglicéridos gonadal

Determinar estrés oxidativo gonadal.

Evaluar la calidad espermática

Cuantificar las concentraciones de testosterona.

EXPERIMENTO 2 (4 meses)

Analizar la ganancia de peso corporal en función del consumo de agua con sacarosa.

Determinar la cantidad de tejido adiposo gonadal y visceral.

Evaluar el arreglo histológico del testículo.

Cuantificar las concentraciones de testosterona.

Cuantificar las concentraciones de triglicéridos gonadal.

Determinar estrés oxidativo gonadal.

Evaluar la conducta copuladora y la fertilidad.

Evaluar la calidad espermática.

METODOLOGÍA

Experimento 1

Animales

Se utilizaron ratas machos de la cepa Wistar de 21 días de edad. Las ratas se colocaron aleatoriamente en jaulas independientes (37 X 27 X 16 cm) mantenidas en condiciones de bioterio, con un fotoperiodo de 12/12 hrs, con ciclo luz-oscuridad invertido y temperatura de 20 ± 2 °C en el bioterio del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala. El Comité de Ética en Investigación de la Universidad Autónoma de Tlaxcala aprobó todos los procedimientos experimentales de acuerdo con las Directrices Mexicanas para el Cuidado Animal, con base en recomendaciones de la Asociación para la Evaluación y Acreditación del Cuidado de Animales de Laboratorio Internacional (Norma Oficial Mexicana NOM-062-200-1999, México).

Grupos experimentales

Al día del destete se tomaron dos ratas machos procedentes de madres diferentes (un macho de cada madre). Las ratas fueron alimentadas con dieta normal Chow 5001 de Purina. Las ratas se dividieron en dos grupos (8/grupo) experimentales: ratas que consumen agua simple (C) y agua azucarada 30% (A30), durante 2 y 3 meses consecutivos. Tal manipulación se realizó a partir de día 22 de edad (Fig. 7).

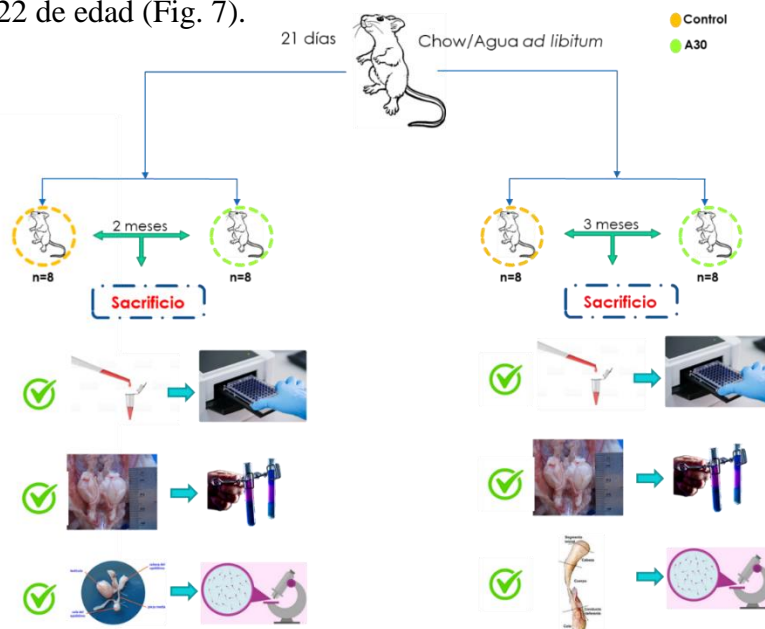


Figura 7. – Diseño experimental para 2 y 3 meses.

Protocolo de la dieta

Durante dos y tres meses respectivamente, posteriores al destete, todas las ratas fueron alimentadas con dieta normal Chow 5001 de Purina (Tabla 1). Los grupos experimentales recibieron 30% de sacarosa estándar comercial diluida en el agua que consumieron, las ratas del grupo control consumieron agua simple. Tanto el grupo control como experimental consumieron alimento sólido (Dieta Chow 5001), en una cantidad conocida, por igual.

| DIETA CONTROL (CHOW 5001 PURINA) | | |
|---|-----------------------|-------------|
| Nutrimiento | Porcentaje (%) | Kcal |
| Proteínas | 29 | 98.6 |
| Lípidos | 13 | 44.2 |
| Carbohidratos | 58 | 197.2 |
| Total | 100 | 340 |

Tabla 1. Aporte calórico por cada 100 gramos de alimento de dieta Chow 5001 de Purina.

Obtención de muestra sanguínea y gónadas

Al término del tratamiento, previo al sacrificio, las ratas se dejaron en ayuno para lo cual se les retiró el alimento a las ocho de la noche y a las ratas del grupo A30 se les quitó el agua azucarada, colocándoles agua simple para cumplir un ayuno de doce horas. Inmediatamente después los animales fueron anestesiados y sacrificados por decapitación para coleccionar dos tubos (13 x 100) de sangre. La sangre se dejó reposar en baño maría durante 15 minutos, después se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos. Se hicieron alícuotas de 100 μ L de suero las cuales se llevaron a refrigeración. Posteriormente se utilizó una alícuota para determinar la concentración sanguínea de testosterona por el método de ELISA. Posterior a la recolección de sangre, la rata se colocó en posición supina y se le realizó una incisión longitudinal sobre la línea media ventral en la cavidad abdominal del dorsal del pene, para extraer los testículos, el tejido adiposo visceral y gonadal para posteriormente pesarlos. Ambos testículos se congelaron para su posterior análisis, el testículo izquierdo se utilizó para el análisis histológico y el derecho para la determinación de triglicéridos y estrés oxidativo.

Determinación de T

El análisis de T sanguínea se realizó por el método de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) por medio de un estuche comercial, Kit Cayman Chem., Ann Arbor, USA, No. 582701. Los estándares y las muestras fueron medidos por duplicado. La sensibilidad del ensayo es de 4.5pg/ml intraensayo y 6.3pg/ml interensayo.

Análisis histológico de las gónadas

El testículo derecho fue fijado con Bouin durante 24hrs. Posteriormente, el tejido fue deshidratado con alcohol etílico en concentraciones ascendentes (60, 70, 80, 96 y 100%), aclarado con xilol y fue incluido en Paraplast Plus. Se obtuvieron cortes histológicos transversales de 7 μ m de espesor con un microtomo, los cuales se colocaron en portaobjetos, 8 cortes por laminilla. Las laminillas fueron teñidas con hematoxilina eosina y se tomaron fotomicrografías con una cámara OLYMPUS de 5.1 mega píxeles, montada en un microscopio óptico Zeiss Imager A.1 (a 10, 40 y 100 aumentos totales). Con el programa Adobe Photoshop CS se realizaron reconstrucciones de las imágenes tomadas a 10x (Fig. 13), para muestrear aleatoriamente con un analizador Imágenes AxioVision REL 4.6 (ZeissInc 2007) y determinar el número total de túbulos por cuadrante (Fig. 8).

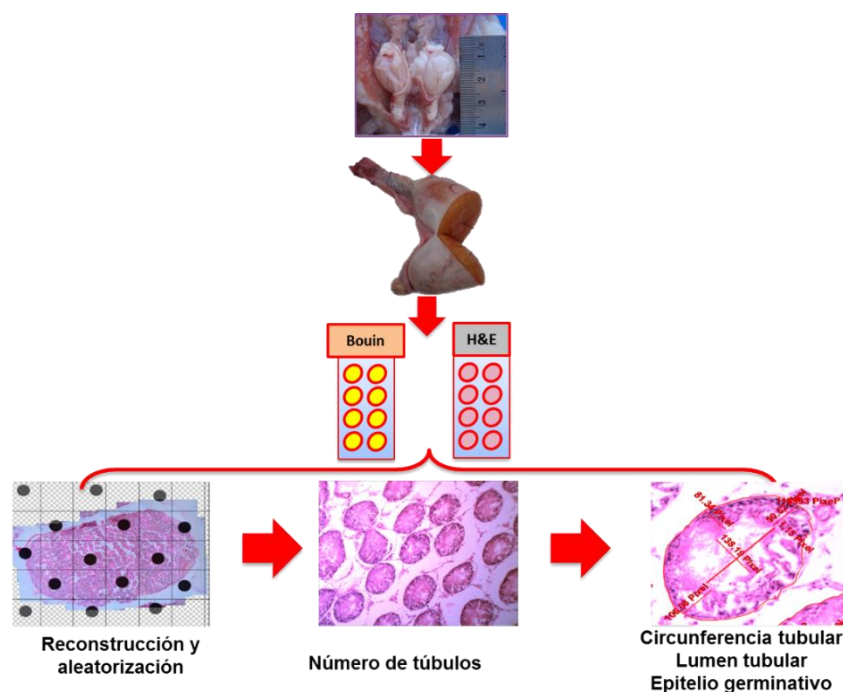


Figura 8. –Análisis histológico de las gónadas.

Determinación de triglicéridos gonadales

Con el testículo izquierdo fueron medidos los triglicéridos gonadales por el método de Folch con algunas modificaciones (Corona-Pérez y cols. 2015). Las muestras de tejido gonadal congelado (aproximadamente 0.5 g cada uno) se homogenizaron en 5.4 mL de cloroformo/metanol (2: 1; v / v; JT Baker, México) y se agitaron en vórtex. Las fases orgánica e inorgánica fueron separados por la adición de 1.8 ml de NaCl al 0,7% (JT Baker, México). Las muestras se centrifugaron a 1200 RPM durante 15 min a 4°C. La fase orgánica se transfirió a un nuevo tubo y se evaporó. Las muestras fueron resuspendidas en isopropanol + Tritón X-100 al 10%. La cantidad de triglicéridos gonadales se midieron usando un kit comercial (Elitech Clinical Systems, México). El contenido de triglicéridos gonadales se reporta como mg de triglicéridos / g de tejido testicular (Fig. 9).

Determinación de estrés oxidativo

Otra cantidad del mismo testículo izquierdo (aproximadamente 0.5 g) fue utilizado para determinar el estrés oxidativo por el método de lipoperoxidación, se determinó mediante dos técnicas independientes: la de determinación de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARs) para la cuantificación de dialdehído malónico (MDA) y la de dienos conjugados (DC). La cuantificación de MDA se realizó con la técnica del ácido tiobarbitúrico, por espectrofotometría (Luna-Moreno et al. 2007). Se utilizó 1 mg de proteína para el homogenado del testículo. Se incubó la muestra en 1 ml de buffer de tris 0.5 M, pH: 7.4 durante 30 min a 37° C en baño maría. Después se adicionó 1.5mL de ácido acético al 20% (ajustada a pH 2.5 con KOH), 1.5mL de ácido tiobarbitúrico al 0.8 % y 0.5 mL de agua desionizada. La muestra fue hervida durante 45 minutos y luego se añadió 1mL de KCl al 1.2 %. El complejo coloreado que se formó se extrajo con una solución de piridina-butanol (1:15, v/v) y se cuantificó a 532 nm. El MDA fue utilizado como estándar (coeficiente de extinción: $1.56 \times 10^5 \text{cm}^{-1} \text{M}^{-1}$). La peroxidación de los lípidos *in vitro* se determinó midiendo la absorción UV a 233nm de dienos conjugados (DC) en los extractos de lípidos (cloroformo-metanol 2:1, v/v) resuspendidos en ciclohexano en todas las muestras (Klaassen y LPaa 1969) (Fig. 9).

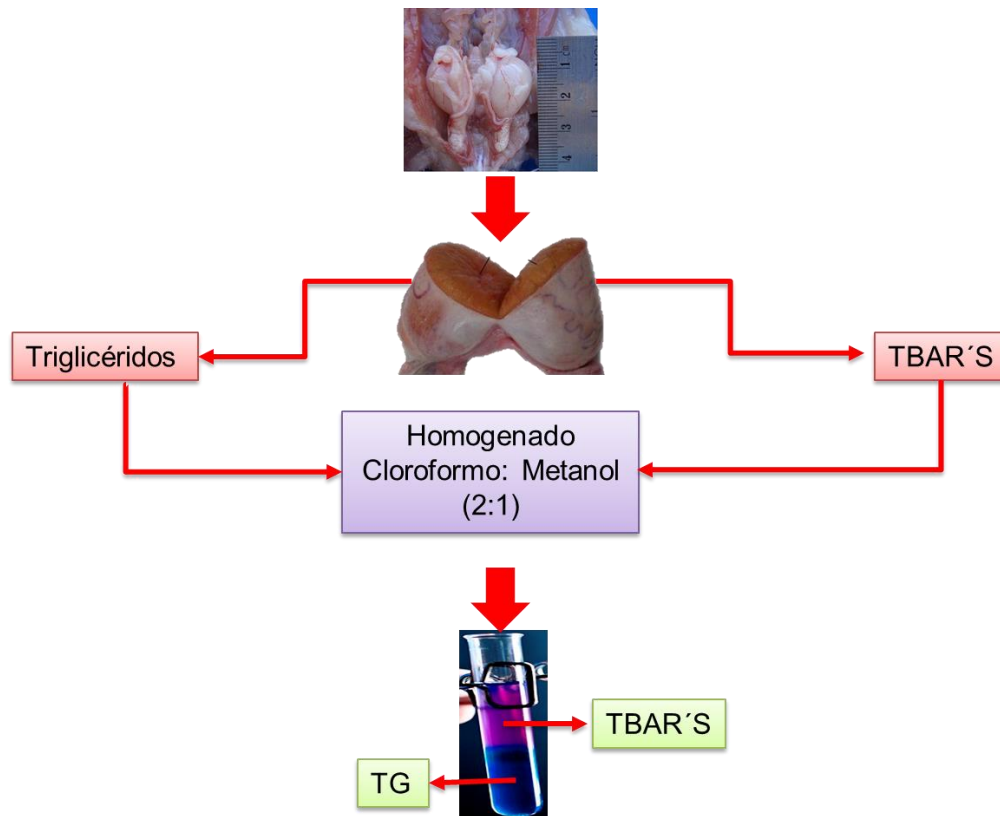


Figura 9.- Determinación de estrés oxidativo y triglicéridos.

Experimento 2

Animales y grupos experimentales

Los animales se mantuvieron en condiciones de bioterio, como anteriormente se ha descrito y de la misma manera fueron asignados los grupos experimentales, con la excepción de que la manipulación se realizó a partir de que las ratas alcanzaron un peso mínimo de 200g (Fig. 10).

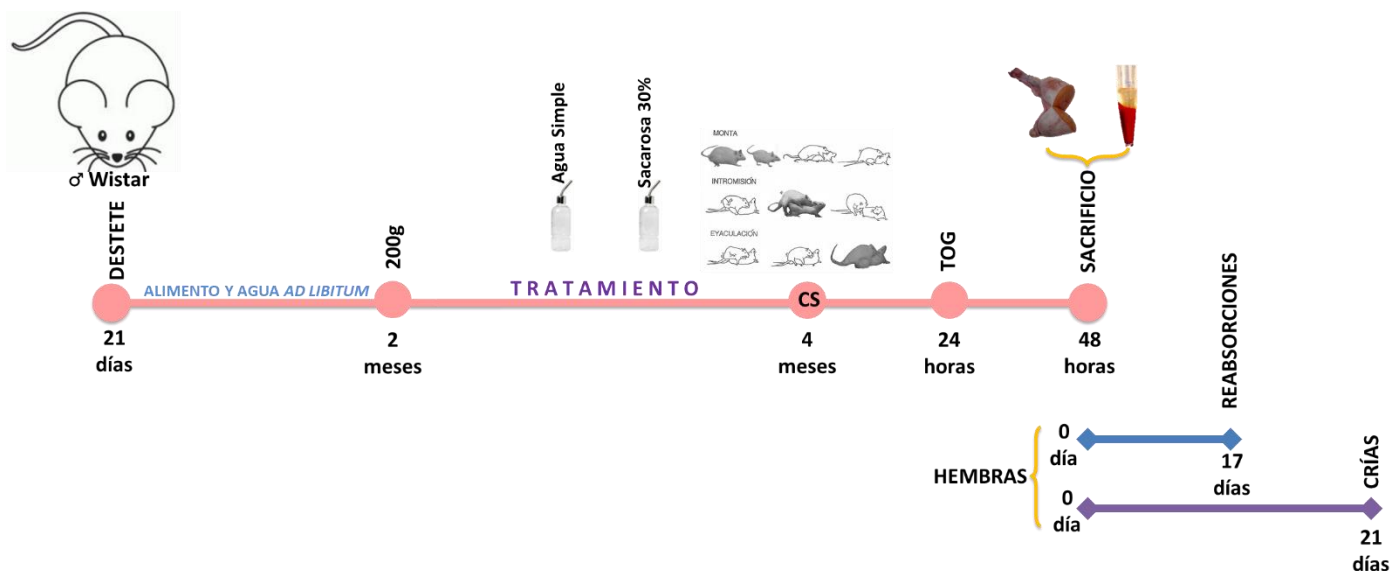


Figura 10. – Diseño experimental. Grupo control (n=8) y grupo azucarado (n=8).

Protocolo de la dieta

El mismo protocolo que se ha descrito para el experimento uno ha sido usado, la única diferencia es que todas las ratas fueron alimentadas con dieta normal Chow 5001 de Purina (Tabla 2) hasta que las ratas alcanzaron los 200g de peso corporal. Durante el periodo experimental, se hizo el registro diario del peso corporal, consumo de alimento y agua. El consumo de alimento y agua fue medido colocando una cantidad conocida 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 (calculado como g/100g de peso corporal X 3.3kcal/g de alimento) y el consumo de sacarosa (evaluado como ml de agua/100g peso corporal X g de azúcar/ml de agua X 4 cal/g de azúcar).

| DIETA CONTROL (CHOW 5001 PURINA) | | |
|----------------------------------|----------------|-------|
| Nutrimento | Porcentaje (%) | Kcal |
| Proteínas | 29 | 98.6 |
| Lípidos | 13 | 44.2 |
| Carbohidratos | 58 | 197.2 |
| Total | 100 | 340 |

Tabla 2. Aporte calórico por cada 100 gramos de alimento de dieta Chow 5001 de Purina.

Evaluación de la conducta copuladora

Al terminar el tratamiento, a los machos de cada uno de los grupos experimentales se les evaluó la conducta sexual. Para ello, se utilizó un redondel, las pruebas se realizaron durante la fase oscura del ciclo luz-oscuridad. Cabe mencionar que las ratas son nocturnas, por ello es conveniente mantenerlas en el bioterio con luz invertida con duración de 12 horas luz/12 horas oscuridad. Un foco de luz roja colocado a 1 metro de distancia del redondel de observación es suficiente para poder registrar la actividad copuladora. Se utiliza luz roja por que las ratas no la distinguen, de manera que no interfiere con la fase de oscuridad del ciclo. La rata se colocó individualmente en el redondel de observación durante 5 minutos para su habituación. Durante este tiempo el macho husmea y explora el área que representa un ambiente novedoso. Una vez habituado se introdujo la rata hembra adulta en estro natural (sexualmente receptiva) determinado por frotis vaginal. La prueba de conducta sexual se realizó durante 4 horas dando oportunidad de un máximo de 4 eyaculaciones (Fernández y cols. 2011) con algunas modificaciones. La conducta copuladora se grabó con una cámara y posteriormente se obtuvo el registro mediante los parámetros copulatorios conocidos como latencia a la monta, intromisión y eyaculación, así como el número de montas, intromisiones y eyaculaciones (Lucio y Tlachi-López 2008).

Obtención de muestra sanguínea y gónadas

Los animales fueron anestesiados y sacrificados por decapitación para colectar dos tubos (13 x 100) de sangre. Se realizó el método idéntico al experimento 1 para la obtención de las alícuotas de sangre y obtención de gónadas. Aunado a ello, se realizó la determinación del índice de adiposidad se calculó como el total de tejido adiposo (g) dividido por el peso corporal (g).

Determinación de testosterona y DHT

Para determinar la testosterona, el mismo protocolo del experimento uno fue utilizado. Ahora bien, para el análisis de DHT sanguínea se realizó por el método de ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) por medio de un estuche comercial, Rat Dihydrotestosterone (DHT) ELISA Kit, Cat No. MBS265478. Los estándares y las muestras fueron medidos por duplicado. La sensibilidad del ensayo es de $\leq 8\%$ intraensayo y $\leq 12\%$ interensayo.

Análisis histológico de las gónadas, determinación de triglicéridos gonadales y estrés oxidativo

Para realizar el análisis histológico de las gónadas y posteriormente continuar con la determinación de triglicéridos gonadales y estrés oxidativo, utilizamos el mismo procedimiento que se describió para el experimento 1.

Análisis de la conducta sexual

Las latencias se registraron en minutos y segundos durante las pruebas copulatorias y se anotaron en una hoja de registro.

Latencia de monta (LM): intervalo de tiempo que transcurre desde que se introduce a la hembra en el redondel donde se encuentra la rata macho, hasta que éste realice el primer patrón conductual de monta.

Latencia de intromisión (LI): intervalo de tiempo que transcurre desde que se introduce la rata hembra en el redondel donde se encuentra la rata macho, hasta que éste realiza el primer patrón conductual de intromisión.

Latencia de eyaculación (LE): intervalo de tiempo que transcurre entre el primer patrón conductual de intromisión y el patrón conductual de eyaculación.

Número de montas (NM): número de veces que el macho despliega este patrón conductual por serie eyaculatoria.

Número de intromisiones (NI): número de veces que el macho despliega este patrón conductual por serie eyaculatoria.

Periodo Refractario: Tiempo entre cada serie copuladora en el que el macho no tiene ningún patrón conductual respecto a la hembra.

Hit Rate: Éxito reproductivo de los machos. Es el resultado de la suma del número de montas y de intromisiones, dividido entre la suma del número de montas, intromisiones y eyaculaciones.

Calidad espermática

Se tomó una muestra de tejido de la cauda del epidídimo (300 mg, n=8/grupo) y se colocó en un tubo Eppendorf que contenía 2 mL de solución salina tamponada con fosfato (PBS) previamente calentada y mantenida en baño maría a 37 ° C. Una vez en el tubo, se maceró la muestra de tejido usando una hoja de bisturí (# 20) para facilitar la difusión de los espermatozoides dentro de la solución y 10 minutos después, se realizaron alícuotas de 10 µL para evaluar la motilidad, viabilidad y concentración. La evaluación de la motilidad se realizó usando un frotis de espermatozoides y bajo microscopía óptica se contaron los espermatozoides en movimiento (solo se consideraron células completas), contando un total de 200 espermatozoides. La prueba de viabilidad se realizó mediante el procedimiento de tinción con eosina-nigrosina (Agarwal y cols. 2016), este procedimiento identificó espermatozoides vivos o muertos en un frotis de espermatozoides que también fueron cuantificados. Los valores de motilidad y viabilidad se expresan en números. Finalmente, para calcular la concentración de espermatozoides por mL y el número total de espermatozoides por muestra, usamos el método hemocitómetro con la cámara de Neubauer como se describe en el manual de laboratorio de la Organización Mundial de la Salud para el examen y procesamiento de semen humano 5ta Ed.

Evaluación de la fertilidad

Después de la prueba de conducta sexual, las hembras fueron alojadas en jaulas individuales de acrílico (37 X 27 X 16 cm), con alimento purina y agua *ad libitum*. El día de la conducta sexual, fue determinado como el día cero de gestación; las hembras fueron anestesiadas con sobre dosis a los 17 días después para evaluar la fertilidad.

Análisis estadístico

Para ambos experimentos, los valores obtenidos se analizaron con una prueba de t de Student en el programa GraphPad Prisma 5.01. Para la evaluación de la conducta copuladora se utilizó el paquete estadístico JMP 7 y Sigma Plot 12.0.

RESULTADOS EXPERIMENTO 1 (2 y 3 MESES)

PESO CORPORAL Y PESO TESTICULAR

En ratas de 2 y 3 meses no hubo diferencias en el peso corporal entre grupos ($p > 0.05$, Fig. 11A, B). No obstante, el peso testicular aumentó en los grupos de 2 y 3 meses experimentales comparado a sus respectivos grupos controles ($p < 0.01$, Fig. 11C, D).

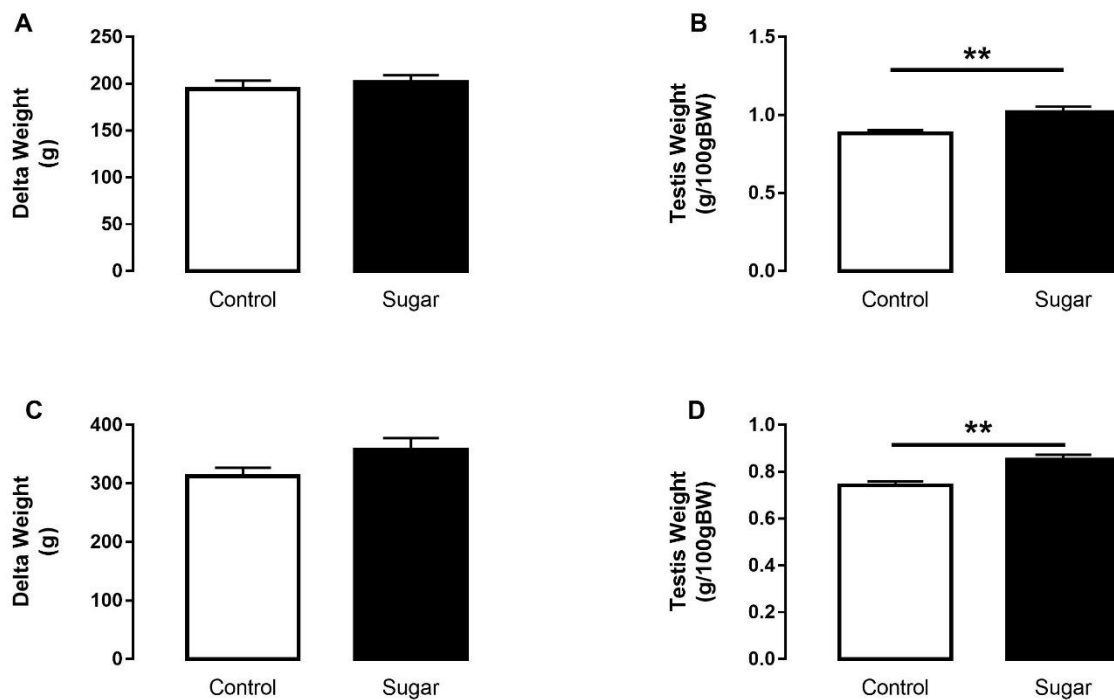


Figura 11. Peso corporal y testicular (A, B) de dos meses. Peso corporal y testicular (C, D) de tres meses Se muestra la media \pm e.e. Prueba *t*-student. Diferencias significativas, ** = $p < 0.01$. Grupo control (Control) y experimental (Sugar, sacarosa 30%), (n=8/grupo).

TRIGLICÉRIDOS Y ESTRÉS OXIDATIVO

El consumo de azúcar por 2 y 3 meses, aumentó el contenido de triglicéridos gonadales comparado con el grupo control ($p < 0.05$, Fig. 12-A, B). De la misma manera, los dienos conjugados aumentaron en los grupos experimentales vs los controles ($p < 0.01$, Fig. 12C, D). Sin embargo, no hubo diferencias en el contenido de ácido tiobarbitúrico entre grupos ($p > 0.05$, Fig. 12E, F).

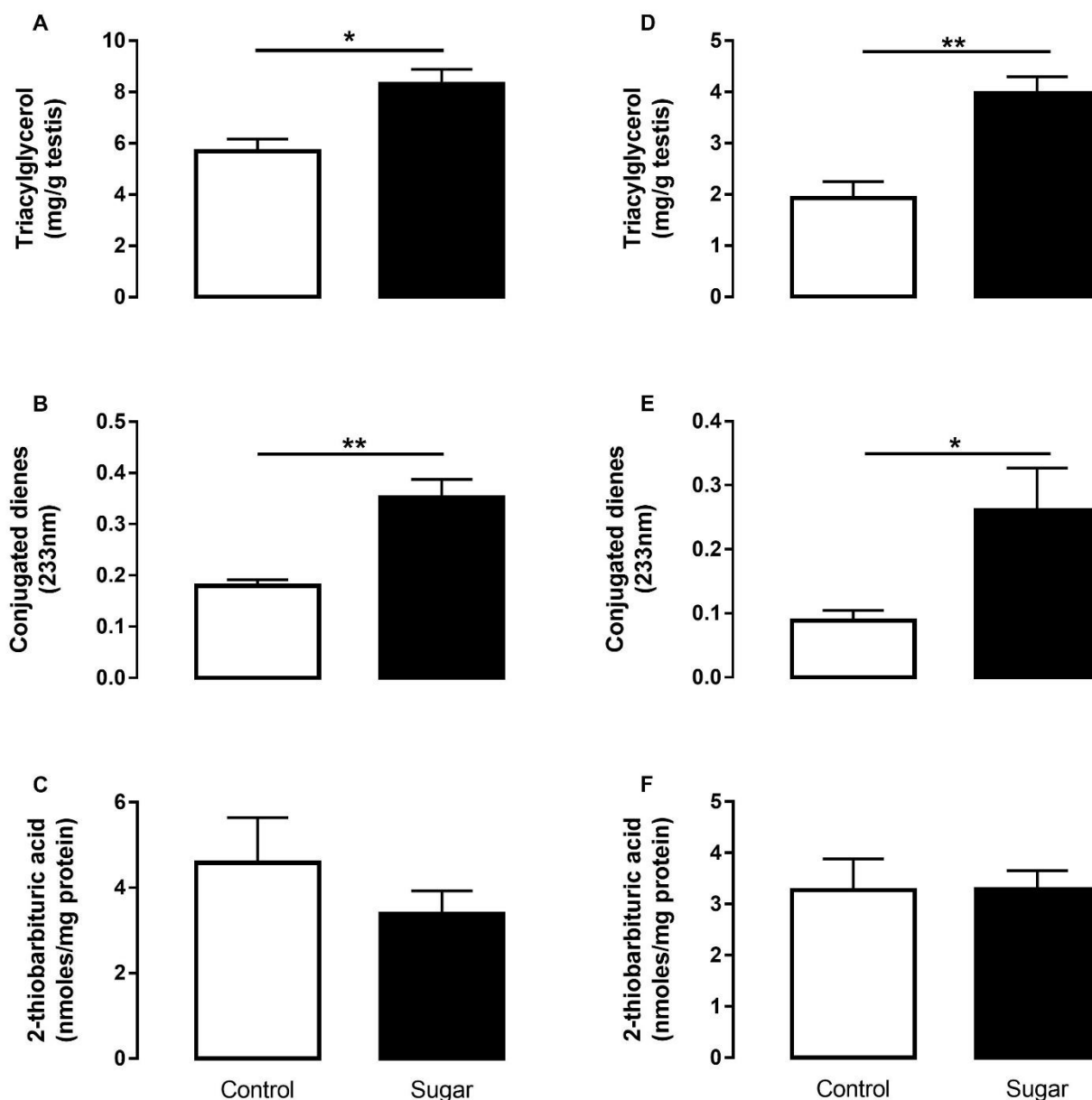


Figura 12. Triglicéridos (A, B), Estrés oxidativo (C, D) y Dienos conjugados (E, F) testicular de dos y tres meses. Se muestra la media \pm e.e. Prueba *t*-student. Diferencias significativas, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$. Grupo control (Control) y experimental (Sugar, sacarosa 30%), (n=8/grupo).

DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA (MORFOMETRÍA Y CUANTIFICACIÓN) Y T.

En las ratas de los grupos controles de 2 y 3 meses, se observó un lumen (*) proporcionalmente adecuado al epitelio germinativo (>), el cual fue abundante y con una población celular bien definida (Fig. 13A, B). En los grupos experimentales se observó un diámetro de lumen (*) mayor y disperso, con escaso epitelio germinativo (>) y con una población celular irregular (Fig. 13-C, D).

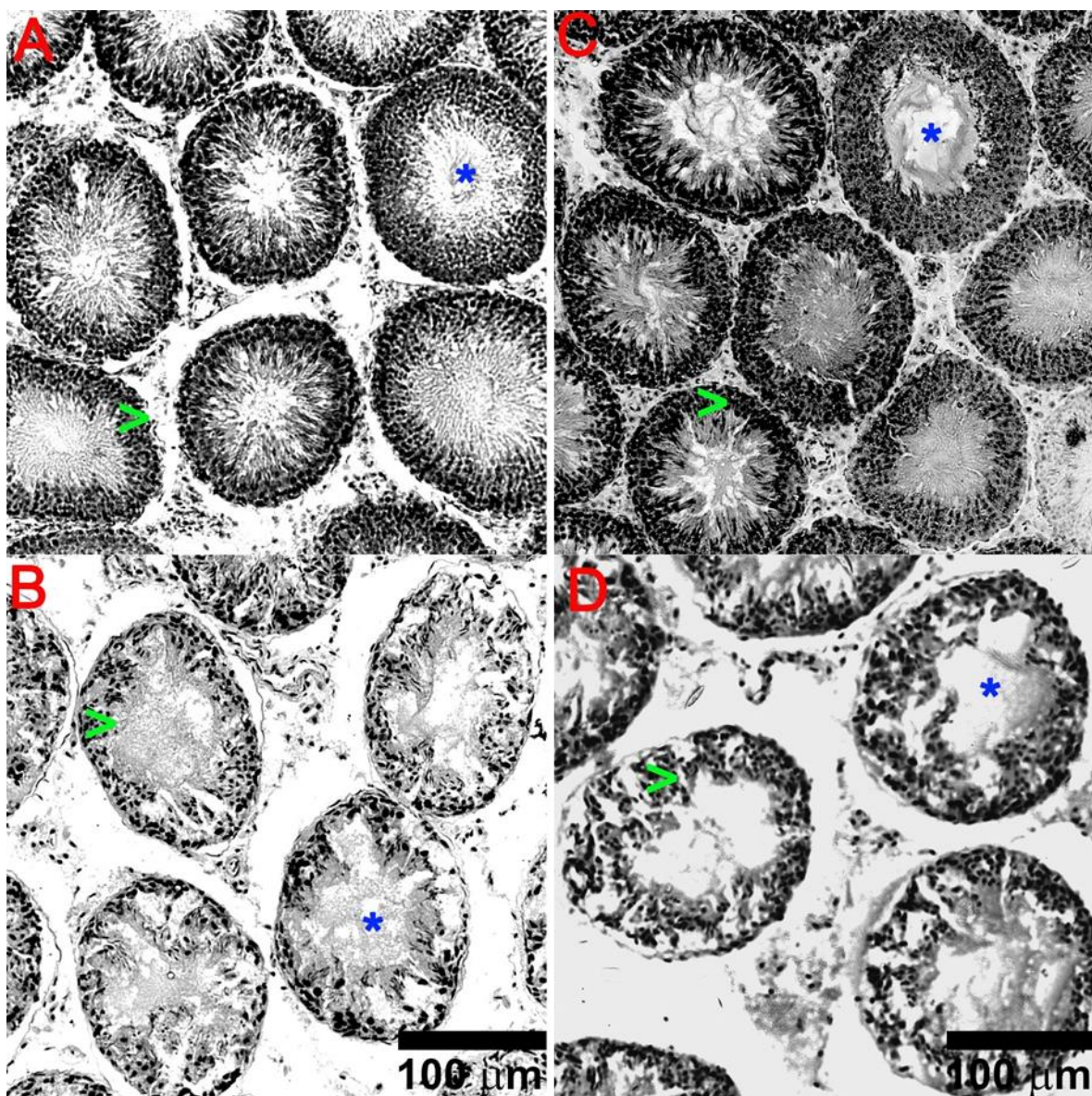


Figura 13. Histología testicular de los grupos controles (A, B) y de los grupos experimentales (C, D). Grupo control (Control) y experimental (Sugar, sacarosa 30%), (n=8/grupo).

En los grupos experimentales de dos y tres meses, el área del epitelio germinativo fue menor, mientras el área del lumen fue mayor, por ende, el área tubular final fue menor comparado con los grupos controles ($p < 0.05$, Fig. 14A, B). Los niveles de testosterona aumentaron en los grupos experimentales en comparación con los grupos controles ($p < 0.05$, Fig. 14C, D).

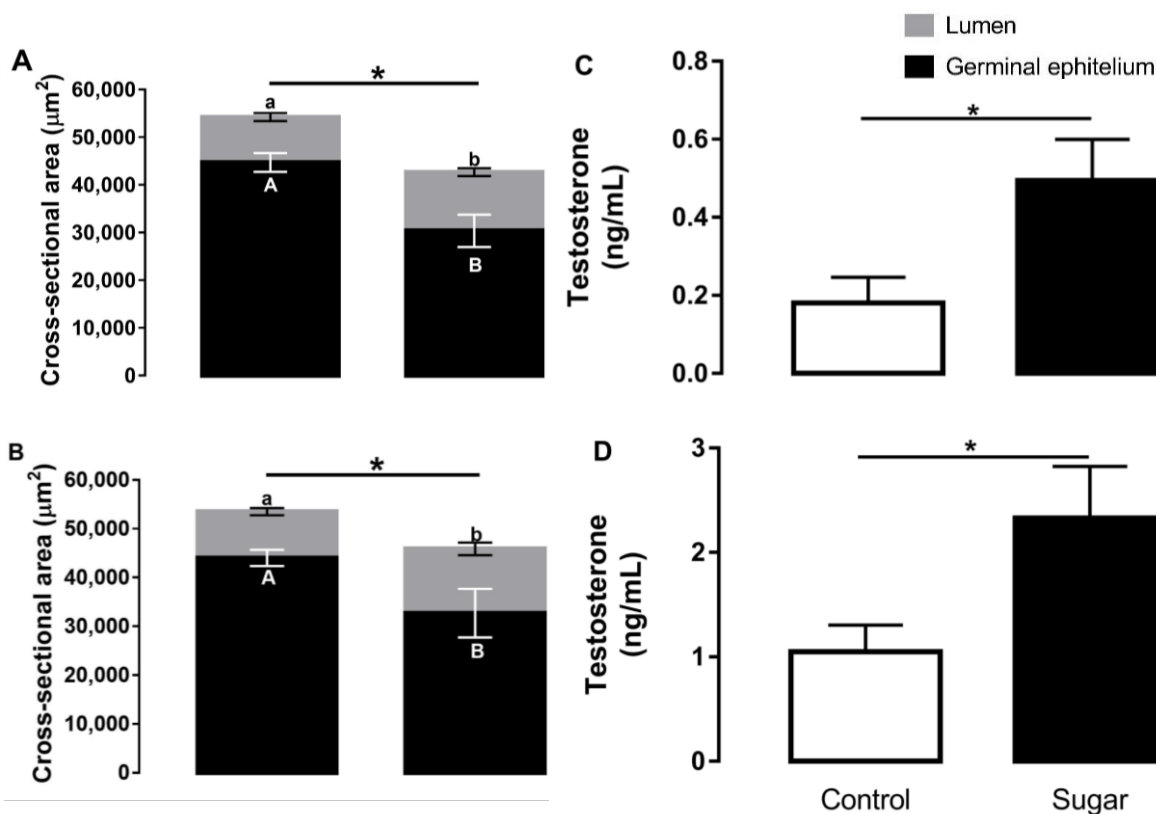


Figura 14. Área del epitelio germinativo, Área del lumen y Área tubular. Control vs experimental dos meses (A), control vs experimental 3 meses (B). Testosterona. Control vs experimental dos meses (C), control vs experimental 3 meses (D). Se muestra la media \pm e.e. Prueba *t*-student. Letras Diferente indican diferencias significativas ($p < 0.05$) y de la misma manera * = $p < 0.05$. Grupo control (Control) y experimental (Sugar, sacarosa 30%), (n=8/grupo).

CALIDAD ESPERMÁTICA

Con respecto a la calidad espermática, la viabilidad, la motilidad y la concentración espermática disminuyeron en el grupo experimental comparado al grupo control, tanto a los 2M como a los 3M [$p < 0.05$, Fig. 14-A, B y C (2M) y 14-D, E y F (3M)].

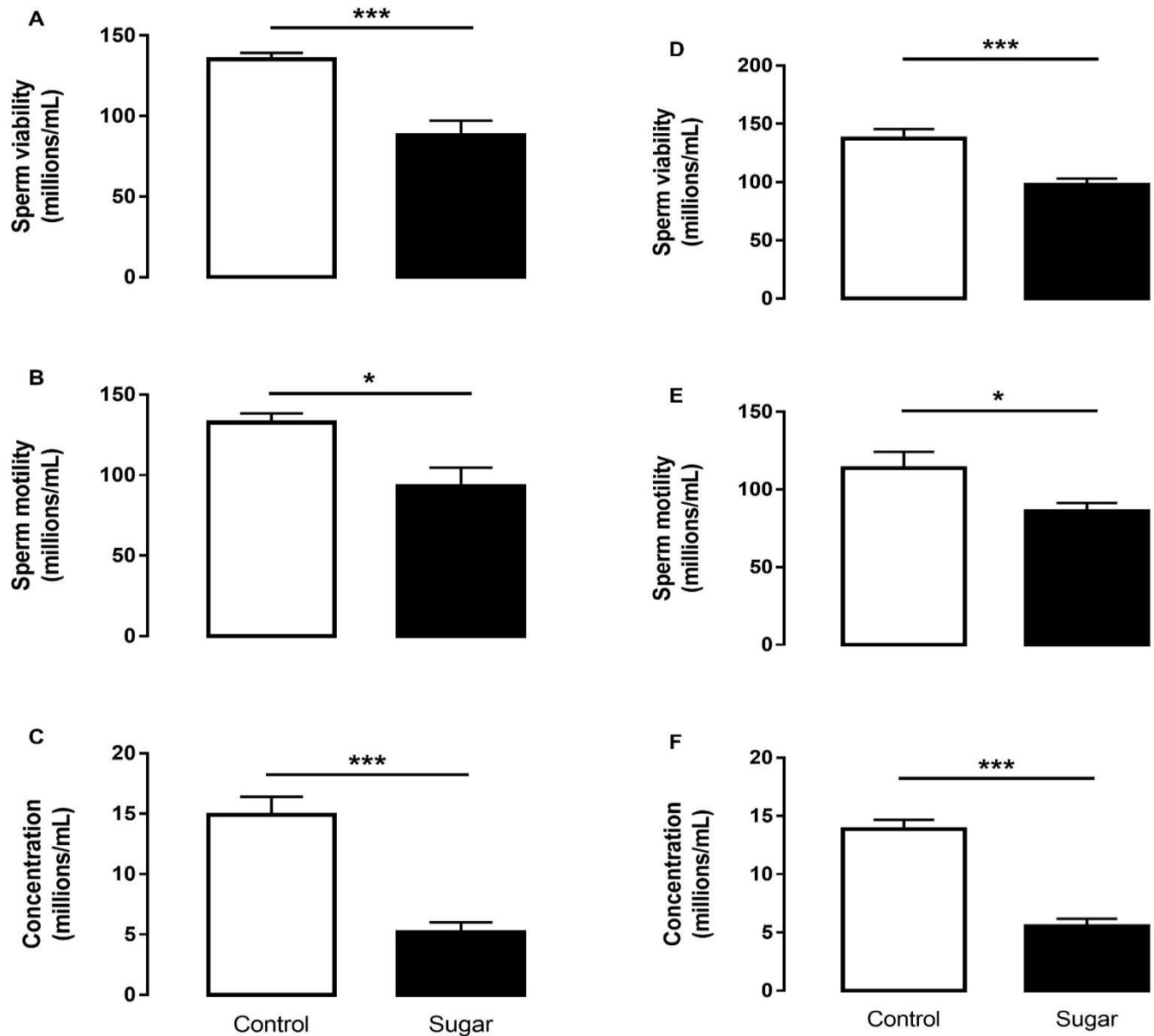


Figura 15. Viabilidad (A), motilidad (B) y concentración (C) espermática. Se muestra la media \pm e.e. Prueba *t*-student. Diferencias significativas, * = $p < 0.05$, *** = $p < 0.001$. Grupo control (Control) y experimental (Sugar, sacarosa 30%), (n=8/grupo).

EXPERIMENTO 2

REGISTRO DE ALIMENTO Y AGUA Y PESO TESTICULAR E INDICE DE ADIPOSIDAD

La ganancia de peso fue similar entre grupos ($p>0.05$, Tabla 3). No obstante, el consumo de alimento en el grupo experimental fue menor al compararla con el grupo control ($p<0.05$, Tabla 3). Mientras, la ingesta de agua fue mayor en el grupo experimental vs el grupo control ($p<0.05$, Tabla 3). El peso testicular fue similar en ambos grupos ($p>0.05$, Tabla 3), Sin embargo, el índice de adiposidad aumentó en el grupo experimental ($p<0.05$, Tabla 3).

| | <i>CONTROL</i> | | <i>SUGAR</i> | |
|---|----------------|---------|--------------------|---------|
| DELTA WEIGHT (G) | 180.6 | ± 20.19 | 247.8 | ± 31.75 |
| FOOD CONSUMPTION (G/DAY) | 27.73 | ± 1.16 | 14.56 ^b | ± 1.235 |
| FOOD CONSUMPTION (G/DAY/100G BODY WEIGHT) | 8.875 | ± .2583 | 4.582 ^b | ± .1473 |
| EQUIVALENT IN KCAL IN FOOD | 30.18 | ± .8783 | 15.58 ^b | ± .5008 |
| TAP WATER OR 30% SUCROSE CONSUMPTION (ML/DAY) | 58.08 | ± 1.633 | 68.14 ^b | ± 2.414 |
| TAP WATER OR 30% SUCROSE CONSUMPTION (ML/DAY/100G BODY WEIGHT) | 19.15 | ± .964 | 21.11 | ± .9269 |
| EQUIVALENT IN KCAL IN DRINKING WATER | 0.0 | ± 0.0 | 25.33 ^b | ± 1.112 |
| TOTAL KCAL/DAY/100G BODY WEIGHT | 30.18 | ± .8783 | 40.91 ^b | ± 1.055 |
| TESTIS (G/100G BODY WEIGHT) | 7.233 | ± .522 | 8.65 | ± .7173 |
| ADIPOSITY INDEX (G/100G BODY WEIGHT) | 2.741 | ± .296 | 5.455 ^b | ± .5585 |

Tabla 3. Parámetros metabólicos y de crecimiento. Se muestra la media ± e.e. Prueba *t*-student. Letras diferentes, indican las diferencias significativas ($p<0.05$). Grupo control (Control) y experimental (Sugar, sacarosa 30%), (n=8/grupo).

CONDUCTA SEXUAL

En el grupo experimental, aumentó la latencia a la monta, intromisión y eyaculación en la primera serie copulatoria comparado al grupo control ($p < 0.05$, Tabla 4). También hubo diferencias significativas dentro del grupo experimental para el caso de la latencia a la monta, en la primera serie copulatoria se observó un aumento *vs* el resto de las series ($p < 0.05$, Tabla 4). En el grupo control, la latencia a la intromisión fue significativamente menor en la primera serie respecto el resto de las series. En el grupo experimental, la latencia a la intromisión fue significativamente menor en la segunda serie respecto el resto de las series copulatorias ($p < 0.05$, Tabla 4). La latencia a la eyaculación aumentó sólo en la primera serie copulatoria en ambos grupos ($p < 0.05$, Tabla 4), pero fue mayor en la primera y en la cuarta serie copulatoria del grupo experimental *vs* grupo control. En el grupo control no hubo diferencias en el número de montas entre las series copulatorias. En el grupo experimental, el número de montas aumentó en la primera, tercera y cuarta serie copulatoria *vs* grupo control ($p < 0.05$, Tabla 4). En el grupo control, el número de intromisiones fue mayor en la primera serie en comparación al resto de las series, mientras en el grupo experimental aumentó el número de intromisiones en la primera y cuarta serie comparado con el grupo control y con la segunda y tercera serie del mismo grupo experimental ($p < 0.05$, Tabla 4). El hit rate en el grupo control fue similar, mientras en el grupo experimental, aumentó en la segunda, tercera y cuarta serie comparado al grupo control y a la primera serie del grupo experimental ($p < 0.05$, Tabla 4). En el grupo control, el periodo refractario fue significativamente diferente en la tercera serie copulatoria *vs* el grupo experimental y con respecto a la primera serie copulatoria del mismo grupo control ($p < 0.05$, Tabla 4).

| Parameters | | Series | 1 | 2 | 3 | 4 | P value |
|-------------------------------|---------|--------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------|
| Mount latency (min) | Control | | 2.70 ± 1.36 ^a | 2.50 ± 1.15 ^a | 2.80 ± 1.06 ^a | 3.00 ± 1.20 ^a | ≤0.01** |
| | Sugar | | 27.00 ± 2.50 ^{**b} | 5.00 ± 1.25 ^a | 6.00 ± 1.30 ^a | 7.00 ± 1.71 ^a | |
| Intromission latency (min) | Control | | 0.30 ± 1.05 ^{nb} | 7.6 ± 1.38 ^a | 9.0 ± 1.02 ^a | 9.3 ± 1.02 ^a | ≤0.05* |
| | Sugar | | 13.0 ± 1.38 ^b | 9.0 ± 0.80 ^a | 12.0 ± 1.36 ^b | 12.20 ± 1.28 ^b | |
| Ejaculation latency (min) | Control | | 32.00 ± 4.00 ^a | 12.20 ± 2.00 ^b | 9.50 ± 2.00 ^b | 8.30 ± 2.00 ^b | ≤0.01** |
| | Sugar | | 66.80 ± 3.00 ^{***a} | 17.90 ± 2.00 ^b | 17.76 ± 2.00 ^b | 21.66 ± 2.00 ^{**b} | |
| Number of mounts (min) | Control | | 5.00 ± 1.60 ^a | 3.00 ± 1.20 ^a | 3.00 ± 1.50 ^a | 3.00 ± 1.40 ^a | ≤0.05* |
| | Sugar | | 22.00 ± 1.40 ^{*c} | 7.00 ± 1.40 ^{*a} | 12.00 ± 1.30 ^{*b} | 11.00 ± 1.20 ^{*b} | |
| Number of intromissions (min) | Control | | 27.85 ± 1.30 ^b | 12.85 ± 1.30 ^a | 12.57 ± 1.30 ^a | 15.71 ± 1.08 ^a | ≤0.05* |
| | Sugar | | 29.28 ± 1.57 ^c | 16.00 ± 1.30 ^a | 17.14 ± 1.30 ^a | 22.85 ± 1.30 ^{*b} | |
| Hit Rate (min) | Control | | 0.84 ± 0.04 ^a | 0.82 ± 0.03 ^a | 0.84 ± 0.03 ^a | 0.84 ± 0.02 ^a | ≤0.05* |
| | Sugar | | 0.57 ± 0.05 ^{*a} | 0.69 ± 0.03 ^{*b} | 0.70 ± 0.03 ^{*b} | 0.68 ± 0.02 ^{*b} | |
| Refractory Period (min) | Control | | 4.90 ± 0.26 ^a | 5.60 ± 0.16 ^{a,b} | 6.07 ± 0.26 ^b | | ≤0.01** |
| | Sugar | | 4.11 ± 0.25 ^a | 4.60 ± 0.22 ^a | 4.80 ± 0.17 ^{*a} | | |

Tabla 4. Evaluación de la conducta sexual. Se muestra la media ± e.e. Prueba Anova de 1 vía, seguida por una prueba post-hoc de Tukey-Kramer. Diferencias significativas entre grupo control y experimental, * = p<0.05, ** = p<0.01 y ***=p<0.001. Letras diferentes, indican las diferencias significativas (p<0.05) dentro de cada grupo. Grupo control (Control) y experimental (Sugar, sacarosa 30%), (n=8/grupo).

Testosterona y DHT

En el grupo experimental aumentó los niveles de testosterona ($p < 0.05$, Fig. 16-A), y disminuyeron los niveles de DHT ($p < 0.05$, Fig. 16B) comparado al grupo control.

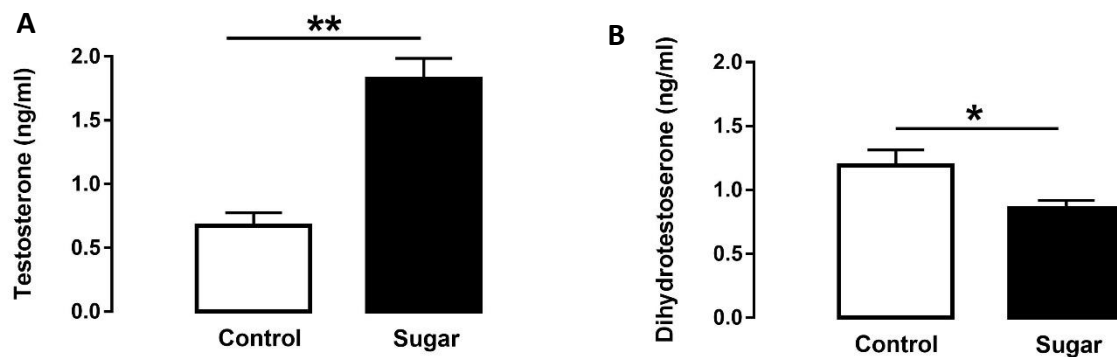


Figura 16. Testosterona (A) y Dihidrotestosterona (B). Se muestra la media \pm e.e. Prueba *t*-student. Diferencias significativas, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$. Grupo control (Control) y experimental (Sugar, sacarosa 30%), (n=8/grupo).

DESCRIPCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE LA FERTILIDAD

En la parte superior, podemos observar fotografías que ilustran la fertilidad (implantes y reabsorciones e incluso el cuerno vacío) en los cuernos uterinos de las ratas hembras, tanto en el grupo control (Fig. 17-A) como en el grupo experimental (Fig. 17-B). En el grupo experimental disminuyó significativamente el número de fetos ($p < 0.05$, Fig. 17-C) y aumentó el número de reabsorciones comparado al grupo control ($p < 0.05$, Fig. 17-D).

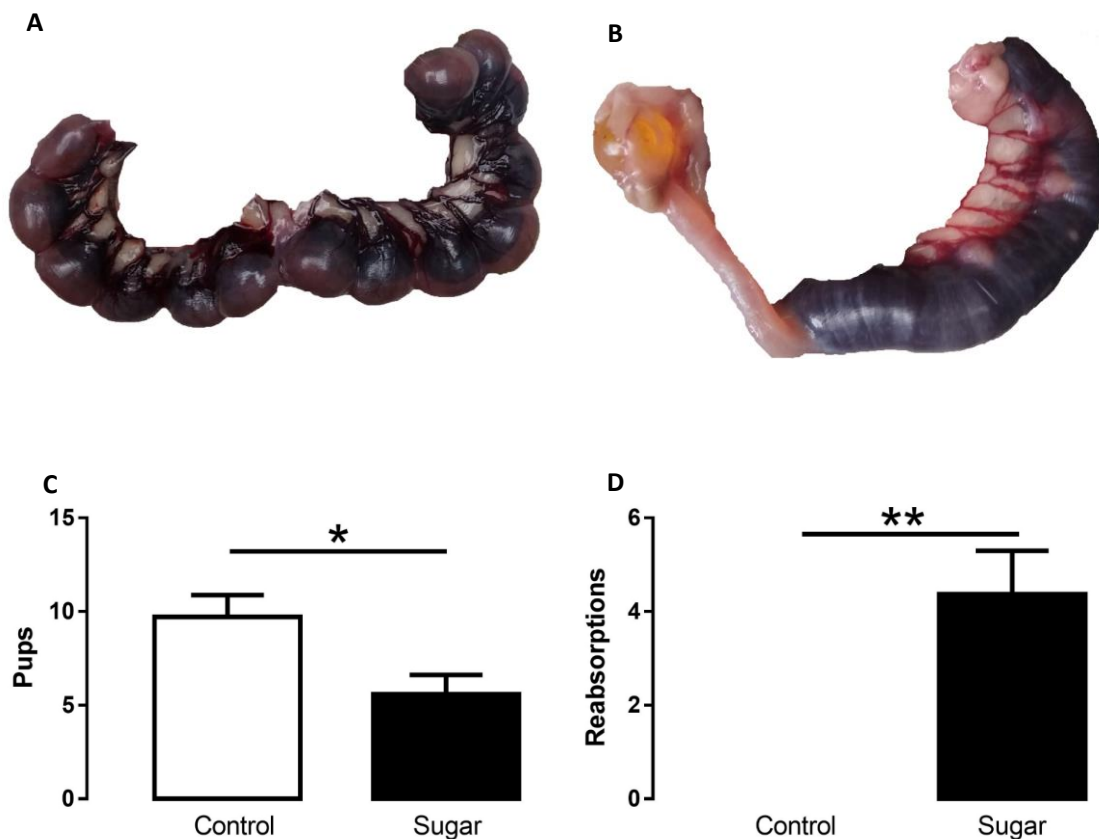


Figura 17. Descripción (A y B) y cuantificación (C y D) de la fertilidad. Se muestra la media \pm e.e. Prueba *t*-student. Diferencias significativas, * = $p < 0.05$, ** = $p < 0.01$. Grupo control (Control) y experimental (Sugar, sacarosa 30%), (n=8/grupo).

DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA (MORFOMETRÍA Y CUANTIFICACIÓN) Y TRIGLICÉRIDOS GONADALES.

En el grupo control se observó un lumen (*) proporcionalmente adecuado al epitelio germinativo (>), el cual es abundante y con una población celular bien definida (Fig. 18A). En el grupo experimental se observó un diámetro de lumen (*) mayor y disperso, con escaso epitelio germinativo (>) y con una población celular irregular (Fig. 18B). El contenido de triglicéridos gonadales aumentó en el grupo experimental comparado al grupo control ($p < 0.05$, Fig. 18C). En el grupo experimental, el área del epitelio germinativo fue menor, mientras el área del lumen fue mayor, por ende, el área tubular final fue menor en comparación al grupo control ($p < 0.05$, Fig. 18D).

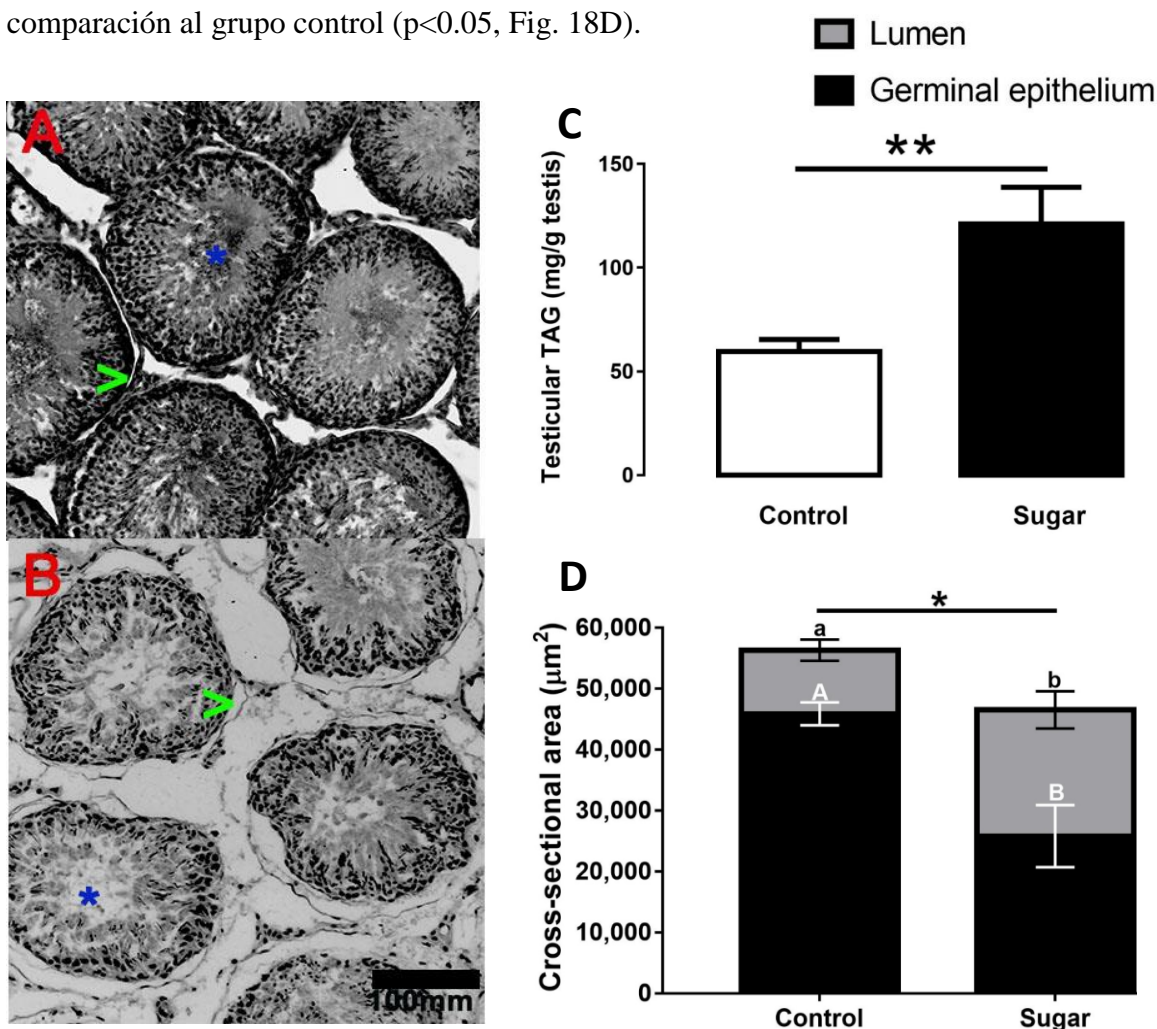


Figura 18. Histología testicular (A, B y D) y triglicéridos gonadales (C). Se muestra la media \pm e.e. Prueba *t*-student. Letras Diferente indican diferencias significativas ($p < 0.05$) y de la misma manera ** = $p < 0.01$. Grupo control (Control) y experimental (Sugar, sacarosa 30%), ($n=8$ /grupo).

CALIDAD ESPERMÁTICA

En el grupo experimental disminuye la calidad espermática, la viabilidad, la motilidad y la concentración espermática comparado al grupo control ($p < 0.05$, Fig. 19-A, B y C, respectivamente).

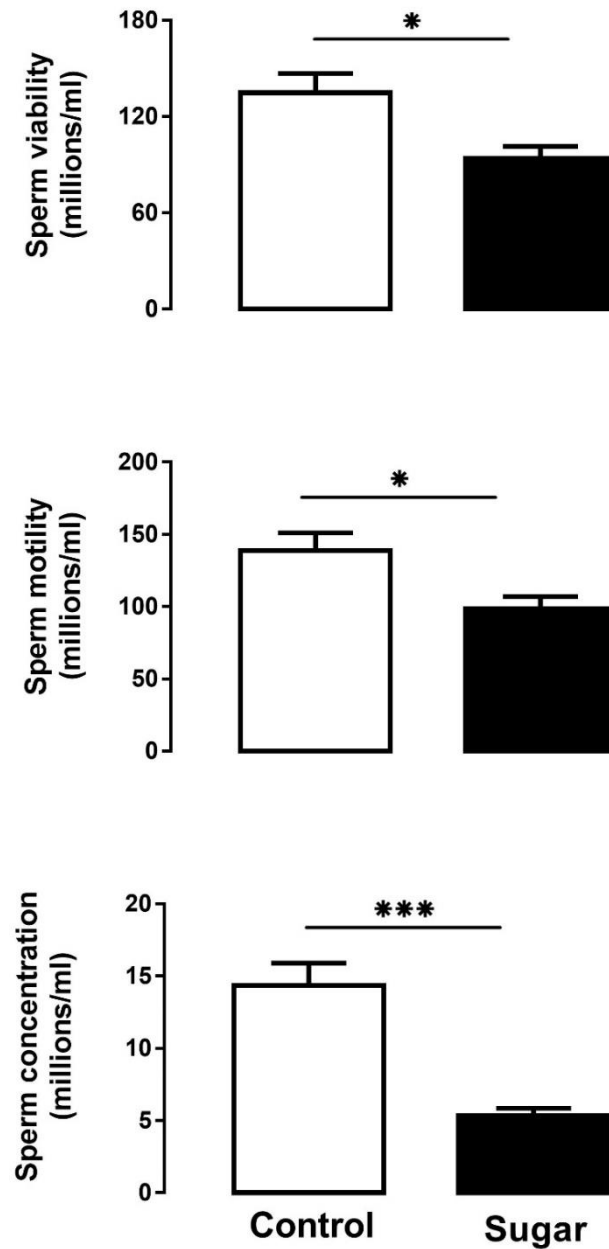


Figura 19. Viabilidad (A), motilidad (B) y concentración (C) espermática. Se muestra la media \pm e.e. Prueba *t*-student. Diferencias significativas, * = $p < 0.05$, ***= $p < 0.001$. Grupo control (Control) y experimental (Sugar, sacarosa 30%), (n=8/grupo).

DISCUSIÓN

El consumo elevado de bebidas azucaradas ha sido asociado con la presencia de obesidad en la vida adulta. Simultáneamente, el número de personas con sobrepeso u obesidad es mayor y se asocian con la adquisición de dichos hábitos dietéticos y la vida sedentaria que en conjunto se tornan en un problema que compromete la calidad de salud (Alves y cols. 2017). Así mismo, la prevalencia de niños, adolescentes y adultos jóvenes con trastornos metabólicos aumentan exponencialmente y lo más inquietante es que estos individuos tendrán que afrontar las complicaciones de la enfermedad durante un largo periodo de su vida. La infertilidad ha sido reconocida como una de las consecuencias negativas derivado de la obesidad promovida por un mal estilo de vida dietético. Se estima que la tasa de fertilidad continuará disminuyendo en los países donde la obesidad es altamente prevalente (Esposito y cols. 2004). Aunado a ello, la pérdida de la homeostasis energética puede impactar a diferentes niveles en el eje reproductivo ya sea directa o indirectamente y con ello alterar la espermatogénesis irreversiblemente (Rato y cols. 2012).

Nuestros resultados del experimento 1(2M y 3M) muestran que el peso corporal de ambos grupos es similar. Es interesante reportar que el peso testicular incrementó significativamente en el grupo experimental porque en la mayoría de los resultados reportan lo contrario (Atanassova y cols. 2000). Dado que el área transversal total del testículo no mostró diferencias, pero el área intertubular fue de mayor diámetro, nos dimos a la tarea de medir esta área. Con ello, se sugiere que la diferencia en el peso testicular podría ser por la acumulación de líquido intersticial entre los túbulos y dentro de su luz. Se sabe que en el líquido intersticial es donde se concentra mayormente la testosterona y DHT (Zirkin y cols. 1989). Además de ser un reflejo de la funcionalidad de la célula de Leydig y de la posible producción de LH. El consumo de azúcar aumenta el contenido de triglicéridos gonadal (Kanasazawa y cols. 2003). Este aumento puede estar relacionado con los GLUT 1, GLUT 3, MCT 1 y MCT 4 en las gónadas (Padron y cols. 1989; Ruíz-Ramírez y cols. 2011) que inducen un aumento en la permeabilidad de la barrera hemato-testicular por parte de las células de Sertoli. Así, la proteína MCT4 también se incrementa lo que sugiere que se estimula la exportación de lactato por las células testiculares y con ello tendríamos un

metabolismo testicular exacerbado y que comitentemente nos llevaría a un daño en la estructura testicular, de continuar esta condición perturbaría la espermatocitogénesis, la espermiogénesis, el proceso de maduración de las espermátides y la consumación del desarrollo del túbulo seminífero (Ojeda y cols. 1980; Picut y cols. 2014). Esto a su vez proporciona mayor polaridad para el paso de triglicéridos hacia las células germinales (Forte y cols. 1981; Maboundou y cols. 1995) y que igualmente acarrearía un incremento en el peso testicular, daño en la espermatogénesis, baja calidad espermática y alteraciones en los niveles de testosterona (Ergün y cols. 2007; Monfared. 2011). A pesar de que aumentó la cantidad de triglicéridos gonadales, no se encontró estrés oxidativo, probablemente fue debido al aumento en la actividad enzimática ya que se sabe que el testículo tiene un mecanismo de defensa bastante competente y altamente resistente (Souza y cols. 2015) que regulen la formación de ROS (Vemet y cols. 2004). El superóxido dismutada (SOD) se considera la primera línea de defensa contra los efectos deletéreos de oxirradicales en la célula catalizando la dismutación del radical anión superóxido a peróxido de hidrógeno (H_2O_2), que es fácilmente degradado por la catalasa (CAT), favoreciendo un estado pro-oxidante en estos animales (Inal y cols. 2001; El-Demerdash y cols. 2009). Estos datos concuerdan con resultados donde sugieren que aun cuándo una dieta rica en sacarosa aumenta los niveles de triglicéridos en plasma, no causa obesidad (Suárez y cols. 1996; Juárez y cols. 2015). Histológicamente, se afecta la circunferencia del túbulo, el diámetro del lumen y del epitelio germinativo. El diámetro tubular se considera un indicador de la actividad espermática (Franca y Russell 1998), y el diámetro del epitelio germinativo podría ser utilizado como indicador de la producción espermática (Wing y Christensen 1982) así como de la actividad e integridad de las células germinales y de Sertoli (Sarkar y cols. 2008). Estos datos concuerdan con los reportados por otros autores, donde una dieta de cafetería induce cambios histomorfométricos en los testículos (Park Minji y cols. 2015). Blanco y colaboradores (2007), hacen hincapié en que el compartimento intertubular es sumamente sensible a cambios estructurales (Blanco y cols. 2007).

Algunos estudios reportan que los niveles de testosterona disminuyen a medida que la obesidad se agrava, debido al aumento de tejido adiposo y al aumento en los niveles de estradiol, que a su vez causan infertilidad (Bruning y cols. 2000; Pitteloud y cols. 2005; Hagiuda y cols. 2014). Otros autores señalan que modificaciones en la calidad espermática o

en la histomorfometría del testículo, pero principalmente en los túbulos seminíferos, son totalmente independientes de las concentraciones de testosterona (Retana-Marquez y cols. 2003). Por lo tanto, es controversial. En nuestro trabajo aumenta la testosterona sin obesidad ni síndrome metabólico. Por el momento desconocemos las causas. Sin embargo, el aumento de las concentraciones de testosterona supone un cambio en el metabolismo de los hidratos de carbono y triglicéridos testicular (Cohen, 1997; Campo y cols. 2007). Dicho cambio en el metabolismo se debe, como ya lo habíamos mencionado, a que la expresión tanto GLUT 1 y GLUT 3 como de los MCT 1 y MCT 4 se altera (Rato y cols. 2012; Martins y cols. 2013). Nuestros resultados del experimento 1 muestran un aumento en los niveles de testosterona para el grupo con un elevado consumo de agua azucarada, dichos resultados son congruentes con los reportados por Monfared (2011). Este aumento probablemente se deba a una alteración en el número de células de Leydig (Amann y cols. 1983; Zirkin y cols. 1980) o en el volumen nuclear de las mismas (Wing y Christen 1982) y que puede resultar en alteraciones de la espermatogénesis (Ishikawa y cols. 2007).

El sobrepeso y la obesidad se han relacionado con una disminución en el conteo espermático (Sermondade y cols. 2013) y con la presencia de infertilidad (Sallmen y cols. 2006; Nguyen y cols. 2007). Así, el exceso de tejido adiposo y su efecto negativo sobre la producción espermática podría deberse a alteraciones en el eje hipotálamo-hipófisis-gónadas, además el aumento de la temperatura escrotal es resultado de la acumulación del tejido adiposo tanto abdominal como escrotal (Sermondade y cols. 2013). Aunado a ello, es posible que algunas otras consecuencias metabólicas derivadas de la obesidad, como una alteración en la secreción de adiponectinas, resistencia a la insulina y el incremento de la inflamación sistémica (Hammoud y cols. 2008; Palmer y cols. 2012), también podrían ser la causa de esta relación. Al respecto se sabe que, algunos factores dietéticos se han relacionado con las consecuencias metabólicas de la obesidad, sugiriendo que aspectos específicos de la dieta pueden afectar la producción espermática a través de mecanismos similares y que finalmente derive en infertilidad. Nuestros resultados concuerdan con lo mencionado anteriormente pues en el experimento 1 encontramos que, hay un impacto negativo en el grupo que consume agua azucarada ya sea durante 2 o 3 meses.

En el experimento 2, se observaron los mismos efectos en el grupo azucarado que anteriormente mencionamos en lo que al peso corporal y testicular respecta. No obstante, el grupo azucarado ingirió menos alimento sólido. Estos resultados concuerdan con previos reportes (Fuente-Marín y cols. 2012; Corona-Pérez y cols. 2015 y 2017) lo que sugiere que las ratas primero sacian su demanda energética con el agua azucarada y la complementan con poco alimento. A pesar de que no hubo diferencias en el consumo de agua, el grupo experimental incrementa su ingesta calórica derivado del consumo de elevado de sacarosa al 30%. Dichos resultados son congruentes con los reportados por diversos autores (Velkoska y cols. 2008; Rodríguez y cols. 2009; Fuente-Martín y cols. 2012). Varios estudios (Malik y cols. 2010; Mozaffarian y cols. 2011; Pan y cols. 2013) han mostrado que el consumo de bebidas azucaradas provoca un aumento en la acumulación de tejido adiposo induciendo a obesidad y múltiples consecuencias metabólicas (Stanhope y cols. 2009). Por ejemplo, aumento en la lipogénesis *de novo*, la alteración de los lípidos, así como el incremento de la resistencia a la insulina (Stanhope y cols. 2009). En el experimento 2, el índice de adiposidad aumenta en el grupo experimental. Resultados similares han sido reportados en roedores con dieta alta de sacarosa desde temprana edad hasta la edad adulta (El Hafidi y cols. 2001, 2004, Alexander y cols. 2004, Cervantes-Rodríguez y cols. 2014, Díaz-Aguila y cols. 2016). Dicho aumento puede ser el resultado del contenido de triglicéridos (Naveed y cols. 2014; Ghorbankhani y cols. 2015). Dichos parámetros se han asociado negativamente con la calidad espermática (Park y cols. 2009) y la fertilidad. En modelos de roedores se ha demostrado que el consumo alto de azúcar, aumenta la adiposidad, los niveles de colesterol y triglicéridos, intolerancia a la glucosa, resistencia a la insulina y alteración de la secreción de adipocinas que promueven la inflamación crónica (Thresher y cols. 2000; Kelley y cols. 2004; Jurgens y cols. 2005). Como podemos observar el daño a nivel testicular es independiente de la edad, el tiempo en que se administra el azúcar y de la obesidad y síndrome metabólico. Ahora bien, pocos estudios han examinado la relación del consumo de bebidas azucaradas con la fertilidad masculina. Con respecto a la conducta sexual de la rata macho del experimento 2, nuestros resultados muestran claramente que una dieta rica en sacarosa tiene un efecto negativo sobre la motivación sexual. No obstante, hay diferencias importantes a través del tiempo no sólo entre los grupos si no también dentro de los grupos. El consumo de agua azucarada aumenta la latencia en la monta, intromisión y eyaculación solo en la

primera serie eyaculadora. Sin embargo, en las siguientes series eyaculadoras parece recuperar su función y si bien los machos experimentales no logran igualar las latencias del grupo control, al parecer sí pueden desplegar la conducta sexual completa y terminar las 4 series eyaculadoras en un máximo de cuatro horas. Resultados similares se han observado en un estudio reciente en roedores machos donde se encontró que las bebidas azucaradas afectan negativamente la fertilidad masculina (Ruff y cols. 2013), donde la alteración a la sensibilidad fisiológica se debe a la intolerancia a la glucosa y dislipidemia, lo que conlleva a una disminución de la reproducción en machos. Similares resultados se muestran en animales no copuladores (Portillo y Paredes 2004).

El principal objetivo de la testosterona dentro de los testículos son las células de Sertoli y las células mioideas peritubulares. Sin embargo, la testosterona directamente o su metabolito (DHT), regula la diferenciación de una gran cantidad de células pluripotentes, contribuyendo así a la remodelación, mantenimiento y función fisiológica del testículo (Carruthers y cols. 2008). Dado que en el experimento 2 los niveles de testosterona continúan aumentados en el grupo sugar, anexamos la medición de DHT y la reportamos disminuida, lo que podría sugerir una falta de conversión debido a la poca actividad de la 5 α -reductasa y ésta dinámica anormal en los andrógenos se ha asociado a problemas de erección penenana e infertilidad (Vanderschueren y cols. 2000, Kashiwagi y cols. 2005). En adicción, estos resultados apoyan la idea de que la función de las células de Leydig no se ve afectada. Sin embargo, las células de Sertoli aparentemente carecen de algunas funciones, como la fagocitosis de células germinales en degeneración y cuerpos residuales, la liberación de espermátides en la espermiación y la producción de una serie de proteínas que regulan y responden a la liberación de hormonas hipofisarias que influyen activamente la mitosis de las espermatogonias (Dym y Raj, 1977; Jutte et al, 1982; Johnson et al, 2008). Entre estas proteínas producidas por las células de Sertoli, la función de la proteína de unión a andrógenos como acarreadora de T hacia el interior del lumen o dentro del espacio intersticial (líquido) entre los túbulos seminíferos es primordial y dados nuestros resultados podríamos sugerir que está proteína puede estar disminuida. De hecho, el área del epitelio germinativo es más pequeña, mientras el área de la luz más grande en los animales sugar lo que sugiere que la fisiología de las células de Sertoli está alterada debido a una hipertrofia secretora del líquido del túbulo seminífero, promovida por la FSH (Murphy 1965) y que eleva los niveles

séricos que se asocian con mayor frecuencia al daño testicular (Kretser et al, 1974). Los niveles aumentados de testosterona aquí observados sugieren una elevación en los niveles de LH ya que las células de Leydig dependen de esta gonadotropina para la producción de testosterona, y los niveles altos de LH están relacionados con azoospermia y oligozoospermia en varones infértiles (Babu et al, 2004). Aunado a ello, se ha informado que los niveles altos de LH y FSH están relacionados con niveles séricos altos de leptina (Ozturk et al 2005) similares a los descritos en otros artículos (Fuente-Marín y cols. 2012; Corona-Pérez y cols. 2015 y 2017; Díaz-Aguila y cols. 2016).

CONCLUSIONES

- El consumo elevado de sacarosa altera la morfología testicular y la función de su población celular. Estas alteraciones se asocian con problemas de infertilidad en la vida adulta. Por lo tanto, sería interesante analizar si estos cambios que observamos desde la infancia y se continúan en la adolescencia de la rata pudieran ser reversibles. Este estudio adiciona información para entender las alteraciones desde la pubertad que pudiera ser una condición que afecte la fertilidad en la vida adulta. Resulta interesante destacar que dichas alteraciones pueden ser independientes de la edad, obesidad y el síndrome metabólico, pero que la motivación para el despliegue de la conducta copuladora es afectada.

PERSPECTIVAS

- Lo que estamos realizando es el análisis de los efectos cuando se deja de administrar agua azucarada.
- Se plantea que si no se revierte el efecto se analizaría el efecto de la administración de un probiótico.
- Analizar si la infertilidad se revierte
- Dado que se almacena triglicéridos en el testículo, nos falta explorar la posible participación del PPAR γ como un regulador de lípidos.
- Nos falta analizar la posible participación de antioxidantes reguladores del estrés oxidativo.
- Se podría analizar la actividad de la 5-alfa-reductasa.
- Cuantificar y evaluar la expresión del receptor de andrógenos

REFERENCIAS

Aggerholm AS, Thulstrup AM, Toft G, Ramlau-Hausen CH and Bonde JP. (2008). Is overweight a risk factor for reduced semen quality and altered serum sex hormone profile? *Fertility and Sterility* 90:619–626.

Akingbemi BT. (2005). Estrogen regulation of testicular function. *Reproductive Biology and Endocrinology* 3:51; DOI: 10.1186/1477-7827-3-51.

Alexander AA, Hernandez DG, Lara BM, Angulo G and Oliart RR. (2004). Effects of fish oil on hypertension, plasma lipids, and tumor necrosis factor- α in rats with sucrose-induced metabolic syndrome. *Journal of Nutrition Biochemistry* 15:350–357.

Alves MG, Martins AD, Rato L, Moreira PI, Socorro S and Oliveira PF. (2013). Molecular mechanisms beyond glucose transport in diabetes-related male infertility. *Biochimica et Biophysica Acta*. 1832:626-635.

Alves MG, Rato L, Carvalho RA, Moreira PI, Socorro S and Oliveira PF. (2012b). Hormonal control of Sertoli cell metabolism regulates spermatogenesis. *Cellular and Molecular Life Science* 70: 777–793.

Alves MG, Socorro S, Silva J, Barros A, Sousa M, Cavaco JE et al. (2012c). In vitro cultured human Sertoli cells secrete high amounts of acetate that is stimulated by 17 β -estradiol and suppressed by insulin deprivation. *Biochimica et Biophysica Acta* 1823: 1389–1394.

Andrea MI, Massimiliano C, Felice S, Costanzo M, Gaetano F, Aldo I and Andrea F (1999). Leptin and androgens in male obesity: Evidence for Leptin Contribution to Reduce Androgen Levels. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 84:3673-3680.

Barat P, Gayard-Cros M, Andrew R, Corcuff JB, Jouret B, Barthe N, Perez P, Germain C, Tauber M, Walker BR, Mormede P and Duclos M. 2007. Truncal distribution of fat mass, metabolic profile and hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in prepubertal obese children. *The Journal of Pediatrics* 150:535-539.

Barquera S, Hernandez-Barrera L, Tolentino-Mayo ML, Espinosa J, Ng SW, Rivera JA and Popkin B. (2008). Dynamics of adolescent and adult beverage intake patterns in Mexico. *The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 22:461-464.

Bauche F, Fouchard MH and Jegou B. (1994). Antioxidant system in rat testicular cells. *FEBS Letters* 349: 392–396.

Beach FA and Jordan L. (1956) Effects of Sexual Reinforcement upon the Performance of Male Rats in a Straight Runway. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 49: 105–110.

Becu-Villalobos D, Lacau-Mengido IM, Diaz-Torga GS and Libertun C. (1992). Ontogenic studies of the neural control of adenohipophyseal hormones in the rat. II. Prolactin. *Cellular and Molecular Neurobiology* 12: 1–19.

Benson G. (1981). Mechanism of penile erection. *Investigative Urology*, 19: 65–69.

Blouin K, Boiuin A, Techernof A. (2008). **Bruning JC**, Gautam D, Burks DJ, Gillette J, Schubert M, Orban PC, Klein R, Krone W, Muller-Wieland D and Kahn CR. (2000). Role of brain insulin receptor in control of body weight and reproduction. *Science* 289: 2122-2125.

Caprio M, Fabbri E, Isidori MA, Aversa A and Fabbri A. (2008). Leptin in Reproduction. *TRENDS in Endocrinology and Metabolism* 12: 65 – 72.

Chen YI, Payne AH and Kelch RP. (1976). FSH stimulation of Leydig cell function in the hypophysectomized immature rat. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine* 153: 473–75.

Cheng CY and Mruk DD. (2012). The blood-testis barrier and its implications for male contraception. *Pharmacological Reviews* 64: 16–64.

Clément P and Giuliano F. (2016). Physiology and Pharmacology of Ejaculation. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 3: 18–25.

Corona-Pérez A, Díaz-Muñoz M, Soto-Rodríguez I, Cuevas E, Martínez-Gómez M, Castelán F, Rodríguez-Antolín J and Nicolás-Toledo L. (2015). High Sucrose Intake Ameliorates the Accumulation of Hepatic Triacylglycerol Promoted by Restraint Stress in

Diaz-Aguila Y, Castelán F, Cuevas E, Zambrano E, Martínez-Gómez M, Muñoz A, Rodríguez-Antolín J and Nicolás-Toledo L. (2016). Consumption of sucrose from infancy increases the visceral fat accumulation, concentration of triglycerides, insulin and leptin, and generates abnormalities in the adrenal gland. *Anatomical Science International* 91: 151-62.

Dohler KD and Wuttke W. (1975). Changes with age in levels of serum gonadotropins, prolactin, and gonadal steroids in prepubertal male and female rats. *Endocrinology* 97: 898–907.

El Hafidi M, Cuellar A, Ramírez J and Baños G. (2001). Effect of sucrosa addition to the drink water, that induces hypertension in the rats, on liver microsomal $\Omega 9$ and $\Omega 5$ –desaturase activity. *Journal of Nutrition Biochemistry* 12:65-71.

ENSANUT (Encuesta Nacional de Salud y Nutrición). (2012).

Erdemir F, Atilgan D, Markoc F, Boztepe O, Suha-Parlaktas B and Sahin S. (2012). The effect of diet induced obesity on testicular tissue and serum oxidative stress parameters. *Actas Urológicas Españolas* 36: 153-159.

Euromonitor International. (2009). Who drinks what: identifying international drinks consumption trends. Euromonitor International. 1-101.

Fernandez CD, Bellentani FF, Fernández GS, Perobelli JE, Favareto AP, Nascimento AF, Cicogna AC and Kempinas WD. (2011). Diet-induced obesity in rats leads to a decrease in sperm motility. *Reproductive Biology and Endocrinology* 9: 32.

Fujii J, Iuchi Y, Matsuki S and Ishii T. (2003). Cooperative function of antioxidant and redox systems against oxidative stress in male reproductive tissues. *Asian Journal of Andrology* 5: 231–242.

Fukuda M, Fukuda K, Shimizu T, Yomura W and Shimizu S. (1996). Kobe earthquake and reduced sperm motility. *Human Reproduction: Oxford Journals* 11: 1244–1246.

Ghanayem BI, Bai R, Kissling GE, Travlos G and Hoffner U. (2010). Diet-Induced Obesity in Male Mice is Associated with Reduced Fertility and Potentiation of Acrylamide-Induced Reproductive Toxicity. *Biology of Reproduction* 82: 96 – 104.

Haffner SM, Valdez RA, Stern MP and Katz MS. (1993). Obesity, body fat distribution and sex hormones in men. *International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders* 17:643-649.

Hagiuda J, Ishikawa H, Furuuchi T, Hanawa Y and Marumo K. (2014). Relationship between dyslipidemia and semen quality and serum sex hormone levels: an infertility study of 176 Japanese patients. *First International Journal of Andrología* 46: 131-135.

Hammoud AO, Gibson M, Peterson CM, Meikle AW and Carrell DT. (2008a). Impact of male obesity on infertility: a critical review of the current literature. *Fertility and Sterility* 90:897–904.

Hofny ER, Ali ME, Abdel-Hafez HZ, Kamal Eel-D, Mohamed EE, Abd El-Azeem HG and Mostafa T. (2010). Semen parameters and hormonal profile in obese fertile and infertile males. *Fertility and Sterility* 94:581-584.

Isidori AM, Caprio M, Strollo F, Moretti C, Frajese G, Isidori A and Fabbri A. (1999). Leptin and androgens in male obesity evidence for leptin contribution to reduced androgen levels. *The Journal and Clinical Endocrinology and Metabolism* 84: 3673–3680.

Jensen Tk, Andersson AM, Jorgensen N, Andersen AG, Carlsen E, Petersen JH and Skakkebaek NE. (2004). Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1, 558 Danish men. *Fertility and Sterility* 82:863-870.

Kahn BB and Filer SJ. (2000). Obesity and insulin resistance. *The journal of clinical investigation* 106: 473-481.

Kaufman JM and Vermeulen A. (2005). The decline of androgen levels in elderly men and its clinical and therapeutic implications. *Endocrine Reviews* 26:833–836.

Ketelslegers JM, Hetzel WD, Sherins RJ and Catt KJ. (1978). Developmental changes in testicular gonadotropin receptors: Plasma gonadotropins and plasma testosterone in the rat. *Endocrinology* 103: 212–22.

Kjaergaard M, C. Nilsson, A. Rosendal, M.O. Nielsen and K. Raun. (2014). Maternal Chocolate And Sucrose Soft Drink Intake Induces Hepatic Steatosis In Rat Offspring Associated With Altered Lipid Gene Expression Profile. *Acta Physiological Scandinavica* 210: 142-153.

Kley HK, Deseleares T, Peerenboom H and Kruskemper HL. (1980). Enhanced conversion of androstenedione to estrogens in obese males. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 51:1128-1132.

Korenbrot CC, Huhtaniemi IT and Weiner RI. (1977). Preputial separation as an external sign of pubertal development in the male rat. *Biology of Reproduction* 17: 298–303.

Larsson K. (1956). Conditioning and sexual behavior in the male albino rat. 1st ed. Stockholm: Almqvist and Wiksells Stockholm.

Lee VW, de Kretser DM, Hudson B and Wang C. (1975). Variations in serum FSH, LH and testosterone levels in male rats from birth to sexual maturity. *Journal of Reproduction and Fertility* 42: 121–6.

Lichtenstein MJ, Yarnell JWG, Elwood PC, Beswick AD, Sweetnam PM, Marks V, Teale D and Riad-Fahmy D. (1987). Sex hormones, insulin, lipids, and prevalent ischemic heart disease. *American Journal of Epidemiology* 126: 647–657.

Lucio RA, Manzo J, Martínez-Gómez M, Sachs BD and Pacheco P. (1994). Participation of pelvic nerve branches in male rat copulatory behavior. *Physiology Behavior*, 55: 241–6.

Lucio RA, Rodríguez-Piedracruz V, Tlachi-López JL, García-Lorenzana M and Fernández-Guasti A. (2014). Copulation without seminal expulsion: the consequence of sexual satiation and the Coolidge effect. *Andrology*, 2: 450–7.

Lucio RA, Tlachi-López JL, Eguibar JR and Ágmo A. (2013). Sperm count and sperm motility decrease in old rats. *Physiology & Behavior*, 110–111: 73–79.

Lucio RA, Tlachi-López JL, López AA, Zempoalteca R and Velázquez-Moctezuma J. (2009). Analysis of the parameters of the ejaculate in the laboratory Wistar rat: technical description. *Veterinaria México*, 40: 405–15.

McClintock MK and Adler NT. (1978). The role of the female during copulation in the wild and domestic Norway rat (*Rattus norvegicus*). *Behavior*, 67:6–96.

McKenna KE. (2000). Some proposals regarding the organization of the central nervous system control of penile erection. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24: 535–40.

Monfared AL. (2013). Correlation of Serum Lipid Profile with Histological and Seminal Parameters of Testis in the Goat. *International Journal of Fertility and Sterility* 7:122 – 129.

Negro-Vilar A, Krulich L and McCann SM. (1973). Changes in serum prolactin and gonadotropins during sexual development of the male rat. *Endocrinology* 93: 660–64.

Nohara K, Liu S, Meyers MS, Waget A, Ferron M and Karsenty G. (2013). Developmental androgen excess disrupts reproduction and energy homeostasis in adult male mice. *Journal of Endocrinology* 219:259-68.

Nseir W, Nassar F and Assy N. (2010). Soft drinks consumption and non-alcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology* 21: 2579-2588

Oliva A, Spira A and Multigner L. (2001). Contribution of environmental factors the risk of male infertility. *Human Reproduction* 16:1768-1776.

Olivares A, Méndez JP, Zambrano E, Cardenas M, Tovar A, Perera –Marín G and Ulloa-Aguirre A. (2010). Reproductive axis function and gonadotropin microheterogeneity in a male rat model of diet-induced obesity. *General and Comparative Endocrinology* 166:356-364.

Oliveira PF, Alves MG, Rato L, Laurentino S, Silva J, Sa R et al. (2012). Effect of insulin deprivation on metabolism and metabolism associated gene transcript levels of in vitro cultured human Sertoli cells. *Biochimica et Biophysica Acta* 1820: 84–89.

Pasquali R, Casimirri F, Cantobelli S, Melchionda N, Labate AMM, Fabbri E, Capelli M and Bortoluzzi L. (1991). Effect of obesity and body fat distribution on sex hormones and insulin in men. *Metabolism* 40:101–104.

Pasquali R, Patton L and Gambineri A. (2007). *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity*. *Obesity and infertility* 14:482-487.

Pitteloud N, Mootha VK, Dwyer AA, Hardin M, Lee H, Eriksson KF, Tripathy D, Groop L, Yialamas M, Elahi D and Hayes FJ. Relationship between testosterone levels, insulin sensitivity, and mitochondrial function in men. *Diabetes Care* 28:1636-42.

Rato L, Alves M, Socorro S, Carvalho RA, Cavaco JE and Oliveira PF. (2012a). Metabolic modulation induced by Estradiol and DHT in immature rat Sertoli cells cultured in vitro. *Bioscience Reports* 32: 61–69.

Rato L, Alves MG, Socorro S, Duarte AI, Cavaco JE and Oliveira PF. (2012b). Metabolic regulation is important for spermatogenesis. *Nature Reviews of Urology* 9: 330–338.

Rivera JA, Muñoz-Hernández O, Rosas-Peralta M, Aguilar-Salinas CA, Popkin BM and Willet WC. (2000). Consumo de bebidas para una vida saludable: recomendaciones para la población mexicana. *Salud Publica México* 50:172-194.

Schneider G, Kirschner MA, Berkowitz R and Ertel NH. (1979). Increased estrogen production in obese men. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 48: 633-638.

Seidell JC, Bjorntop P, Sjostrom L, Kvist H and Sannerstedt R. (1990). Visceral fat accumulation in men is positively associated with insulin, glucose, and C peptide levels, but negatively with testosterone levels. *Metabolism* 39:897–901.

Setchell BP and Hinks NT. (1967). The importance of glucose in the oxidative metabolism of the testis of the conscious ram and the role of the pentose cycle. *Biochemistry Journal* 102: 623–630.

Showell Mg, Mackenzie-Proctor R, Brown J, Yazdani A, Stankiewicz MT and Hart RJ. (2014). Antioxidants for Male Subfertility. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 12:pub3.

Simon D, Preziosi P, Barrett-Connor E, Roger M, Saint-Paul M, Nahoul K and Papoz L. (1992). Interrelationship between plasma testosterone and plasma insulin in healthy adult men: the Telecom Study. *Diabetologia* 35: 173–177.

Stoker TE, Parks LG, Gray LE and Cooper RL. (2000). Endocrine disrupting chemicals: Prepubertal exposures and effects on sexual maturation and thyroid function in the male rat. A focus on the EDSTAC recommendations. *Endocrine Disrupter Screening and Testing Advisory Committee. Critical Reviews in Toxicology* 30: 197–252.

Stoker TE, Robinette CL, Britt BH, Laws SC and Cooper RL. (1999). Prepubertal exposure to compounds that increase prolactin secretion in the male rat: Effects on the adult prostate. *Biology of Reproduction* 61: 1636–43.

Strain GW, Zumooff B, Kream J, Strain JJ, Deucher R, Rosenfeld RS, Levin J and Fukushima DK. (1982). Mild Hypogonadotropic hypogonadism in obese men. *Metabolism* 31: 871-875.

Swerdloff RS and Walsh PC. (1973). Testosterone and oestradiol suppression of LH and FSH in adult male rats: Duration of castration, duration of treatment and combined treatment. *Acta Endocrinologica (Copenhagen)* 73: 11–21.

Tchernof A, Desre's JP, Be' langer A, Dupont A, Prud'homme D, Moorjani S, Lupien PJ and Labrie F. (1995). Reduced testosterone and adrenal C19 steroid levels in obese men. *Metabolism* 44:513–519.

Tsai EC, Matsumoto AM, Fujimoto WY and Boyko EJ. (2004). Association of bioavailable, free, and total testosterone with insulin resistance: influence of sex hormone-binding globulin and body fat. *Diabetes Care* 27: 861–868.

Tuner TT and Lysiak JJ. (2008). Oxidative stress: a common factor in testicular dysfunction. *Journal of Andrology* 29: 488–498.

Vigueras-Villaseñor RM , Rojas–Castañeda JC, Chávez–Saldaña M, Gutiérrez–Pérez O, García–Cruz ME, Cuevas–AlpucheO, Reyes–Romero MM and Zambrano E. (2011). Alterations in the spermatic function generated by obesity in rats. *Acta Histochemica* 113: 214-220.

Witorsch RJ and Kitay JI. (1972). Pituitary hormones affecting adrenal 5 alpha-reductase activity: ACTH, growth hormone, and prolactin. *Endocrinology* 91: 764–69.

World Health Organization. Obesity and overweight. Fact Sheet 2006; N8311.

Zumoff B, Strain GW, Miller LK, Rosner W, Senie R, Seres DS and Rosenfeld RS. (1990). Plasma Free and non-sex-hormone-binding-globulin-bound testosterone are decreased in obese men in proportion to their degree of obesity. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 71: 929-931.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

T: Testosterona

RI: Resistencia a la Insulina

SHBG: Globulina fijadora de hormonas sexuales

GnRH: Hormona liberadora de gonadotropinas

ADN: Ácido desoxirribonucleico

Glut: Transportadores de glucosa

LDH: Lactato deshidrogenasa

PN: Post-Natal

FSH: Hormona Folículoestimulante

LH: Hormona Luteinizante

PRL: Prolactina

GABA: Ácido γ -aminobutírico

NPY: Neuropeptido Y

IGF: Factor de crecimiento insulínico

DHT: Dihidrotestosterona

ATP: Adenosín Trifosfato

IMC: Índice de Masa Corporal

ALT: Alanina Aminotransferasa

PFK: Fosfofructoquinasa

MCT: Transportadores Monocarboxilados

TBARS: Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico

DC: Dienes Conjugados

MDA: Ácido Malondialdehído

ROS: Especies Reactivas de Oxígeno

SOD: Superóxido Dismutasa

CAT: Catalasa

H₂O₂: Peróxido de Hidrógeno

ANEXOS

Deshidratación del tejido hepático

1. Después de la disección, mantener el tejido en Bouin por 24 horas.
2. Sacar el tejido del Bouin y cortarlo de acuerdo a la porción que se va a deshidratar.
3. Realizar la deshidratación de acuerdo a la lista siguiente, cuidando que la solución cubra ligeramente el tejido y mantener en agitación.

| No. de solución | Solución y Concentración | Tiempo en Minutos |
|-----------------|--------------------------|---|
| 1 | OH 60% | 15 min (3 lavados de 5 min) |
| 2 | OH 70% | 20 min |
| 3 | OH 80% | 20 min |
| 4 | OH 80% | 30 min |
| 5 | OH 96% | 30 min |
| 6 | OH 96% | 30 min |
| 7 | OH 100% | 30 min |
| 8 | OH 100% | 30 min |
| 9 | OH 100%-Xileno | 30 min |
| 10 | Xileno I | 30 min |
| 11 | Xileno II | 30 min |
| 12 | Paraplast Plus I | 30 min |
| 13 | Paraplast Plus II | 60 min |
| 14 | Paraplast Plus III | 180 min (Con un cambio de paraplast a los 90 min) |

4. Incluir los tejidos con Paraplast limpio y dejar que solidifiquen.

Nota: Previamente poner a licuar el Paraplast en el horno a una temperatura máxima de 56°C.

Tinción de Hematoxilina – Eosina

Después de obtener los cortes en el micrótopo se dejan secar mínimo por 24 h, posteriormente se tiñen con los siguientes tiempos en las diferentes soluciones.

| Paso | No. | Solución | Tiempo |
|----------------|-----|------------------------|-------------|
| Desparafinar | 1 | Xileno I | 5 minutos |
| | 2 | Xileno II | 5 minutos |
| | 3 | Xileno:etanol | 5 minutos |
| Hidratación | 4 | Etanol 100% | 5 minutos |
| | 5 | Etanol 100% | 5 minutos |
| | 6 | Etanol 96 % | 3 minutos |
| | 7 | Etanol 80% | 3 minutos |
| | 8 | Etanol 60% | 3 minutos |
| | 9 | Agua destilada | 3 minutos |
| | 10 | Hematoxilina de Harris | 30 minutos |
| | 11 | Agua corriente | 40 segundos |
| Contraste | 12 | Etanol ácido | 40 segundos |
| | 13 | Agua destilada | 40 segundos |
| Azuleamiento | 14 | Etanol amoniacal | 3 minutos |
| | 15 | Agua destilada | 40 segundos |
| | 16 | Eosina | 3 minutos |
| | 17 | Agua destilada | 40 segundos |
| Deshidratación | 18 | Etanol 96 % | 40 segundos |
| | 19 | Etanol 96 % | 40 segundos |
| | 20 | Etanol 100% | 30 segundos |
| | 21 | Etanol 100% | 30 segundos |
| | 22 | Etanol:Xileno | 30 segundos |

| | | | |
|----------------|----|----------------|-------------|
| | 23 | Xileno | 30 segundos |
| | 24 | Xileno | 30 segundos |
| Montaje | | Cytoseal TM 60 | |

- En cada canastilla caben 32 portaobjetos.
- En caso de meter más de dos trenes el tren 3 y 4 darles más tiempo en el paso 12 y 14.
- Revisar al salir el tren en la hematoxilina, eosina, alcohol ácido y alcohol amoniacal un porta en el microscopio para ver cómo se tiñe.
- En caso de que a la hora de montar con el cytoseal queden burbujas regresar el porta al Xileno para volver a montar.

PUBLICACIONES



LVIII CONGRESO NACIONAL
SOCIEDAD MEXICANA DE CIENCIAS FISIOLÓGICAS
6-10 de septiembre, San Miguel de Allende, Gto.

www.smcf.org.mx

1Maestría en Ciencias Biológicas, UAT

2Departamento de Biología de la Reproducción, INCMNSZ

3Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UAT

4Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

La sacarosa pero no el estrés inducen cambios histológicos del testículo en ratas infantiles

De León Ramírez Yelmy Mar (Estudiante de Posgrado)¹, Sumiko Morimoto Lidya², Martínez Gómez Margarita^{3,4}, Rodríguez Antolín Jorge³, Nicolás Toledo Leticia³

El aumento de corticosterona durante el estrés afecta la función gonadal, por otro lado, la corticosterona ha sido asociada con el desarrollo de obesidad y síndrome metabólico. En pacientes con sobrepeso u obesidad se ha encontrado una disminución de la libido y disfunción eréctil, así como infertilidad y bajos niveles de testosterona. En modelos animales se ha mostrado que una dieta alta en grasa en edad adulta, incrementa las concentraciones de leptina y disminuye la testosterona, promoviendo diferencias histológicas en los túbulos seminíferos, afectando la fertilidad. Sin embargo, no ha sido evaluado el efecto del estrés y una dieta alta en sacarosa sobre los niveles de testosterona y el arreglo histológico del testículo en ratas infantiles. Ratas machos wistar de 21 días de edad (n=32) divididas en cuatro grupos experimentales: ratas que consumen agua simple (C), agua simple + estrés (E), agua azucarada 30% (A30) y agua azucarada + estrés (A30/E). Los animales fueron sometidos a estrés crónico mediante restricción durante 1 hora diaria, 5 veces a la semana por cuatro semanas. Al sacrificio fueron extraídos y pesados el tejido adiposo y testículos para su análisis histológico. La concentración de corticosterona, leptina y testosterona se midieron por el método de ELISA. Los datos fueron analizados mediante una ANOVA de dos vías y Newman-Keuls como prueba post hoc. Los animales S30 mostraron aumento en los niveles de leptina y peso testicular y lumen por lo que disminuye el epitelio germinativo sin afectar el tejido adiposo gonadal y los niveles de testosterona. El presente estudio muestra que una dieta rica en sacarosa afecta los componentes histológicos del testículo sin que la corticosterona afecte el arreglo testicular. CONACYT a YMDLR (331678)



**XLII Reunión Anual
Academia de Investigación en Biología de la Reproducción, A. C.
Guadalajara, Jalisco
Mayo 21 al 24, 2017**

15. EL CONSUMO DE AGUA AZUCARADA AFECTA LA MOTIVACIÓN Y CONDUCTA COPULADORA DE LA RATA MACHO.

DE LEÓN RAMÍREZ YEIMY MAR ¹, CUEVAS-ROMERO E ², MARTÍNEZ-GÓMEZ M ^{3,4}, RODRÍGUEZ-ANTOLÍN J ³, NICOLÁS-TOLEDO L ³

¹Maestría en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala

²Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala

³Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México

En México, la ingesta de bebidas azucaradas, ha aumentado. Dicho consumo se asocia con una alta prevalencia de sobrepeso y obesidad caracterizada por almacenamiento excesivo de tejido adiposo, afectando la reproducción. Se ha reportado que la obesidad disminuye la cantidad de espermatozoides y su motilidad, con un aumento en la frecuencia de disfunción eréctil lo que afecta la fertilidad. Además, los hombres obesos muestran un perfil hormonal bajo de testosterona y un perfil alto para estradiol. Así como, bajos niveles de globulina fijadora a hormonas sexuales. En modelos animales, una dieta alta en grasa en edad adulta, provoca aumento en el peso corporal, síndrome metabólico, disminución en la concentración de testosterona y alteraciones en la calidad espermática, afectando la conducta sexual y la fertilidad. Sin embargo, no hay trabajos donde se evalúe el impacto de una dieta alta en carbohidratos sobre la conducta copulatoria y la concentración de testosterona. Metodología: Ratas machos Wistar de 200gr divididas en dos grupos experimentales (8/grupo): ratas que consumen agua simple (C) y ratas que consumen agua azucarada al 30% (S30) por un periodo de dos meses. Posteriormente, a los machos, se les evalúa la conducta sexual. Las pruebas se realizan durante la fase oscura del ciclo luz-oscuridad, la prueba de conducta sexual se realiza durante 4 horas dando oportunidad de 4 eyaculaciones. Al término, las ratas se dejan en ayuno de 12 hrs, colocándoles agua simple. Al día siguiente, a las ocho de la mañana, a cada rata se le mide la tolerancia a la glucosa sérica con un analizador Accutrend GCT, Roche Diagnostics. Las ratas son sacrificadas por decapitación, se obtiene la sangre para determinar las concentraciones sanguíneas de testosterona por el método de ELISA. Los datos fueron analizados mediante una Student-t. Resultados: Los animales S30 mostraron un aumento en los niveles de glucosa y testosterona sanguínea. Además, las latencias a la primera monta, intromisión y eyaculación incrementaron. Conclusiones: El presente estudio muestra que una dieta rica en sacarosa afecta la conducta copulatoria, independientemente de los niveles de testosterona, posiblemente se encuentre afectada la organización histológica y los indicadores espermáticos que serán analizados.

Categoría del primer autor: Doctorado



CLu-75

La corticosterona induce esteatosis hepática en ratas macho juveniles?

De León Ramírez Yeimy Mar (Estudiante de Posgrado) ¹, Martínez Gómez Margarita ^{2,3}, Rodríguez Antolín Jorge ², Nicolás Toledo Leticia ²

Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Laboratorio de Inmunohistoquímica

Recientemente, hemos mostrado en ratas infantiles sometidas a estrés crónico por restricción un aumento en la concentración de corticosterona asociado a esteatosis hepática. Lo que sugiere que la corticosterona participa directamente en el desarrollo de la esteatosis hepática. Sin embargo, en ratas juveniles con el mismo estímulo estresante, no se afecta la concentración de corticosterona ni se induce la esteatosis hepática, sugiriendo la adaptabilidad de los animales al estrés. El uso de estrés crónico variable (ECV), pudiera ser una herramienta para inducir elevada concentración de corticosterona y evaluar su efecto sobre el desarrollo de la esteatosis hepática. Para ello utilizamos 12 ratas machos Wistar de 21 días de edad, que consumieron agua de grifo y dieta chow durante 4 semanas y posteriormente se dividieron en 2 grupos (n=6/grupo): ratas control (C) y ratas con estrés crónico variable (ECV). Los animales fueron sometidos a diversos tipos de estrés crónico: a) Reducción de espacio, b) Reducción de espacio en caja sucia, c) Nado forzado en agua fría, d) Nado forzado en agua caliente y e) Restricción de movimiento. El estrés fue aplicado a los 51 días de edad durante 1 mes, en días y horarios aleatorios. Al sacrificio fue extraído el hígado para su análisis histológico, determinación de triglicéridos y glucógeno. Falta analizar la concentración de corticosterona por el método de ELISA. Los datos fueron analizados mediante una *t-student* y una prueba de Chi-cuadrada. La cantidad de triglicéridos hepáticos no se vio afectada por el ECV. Sin embargo, incrementa la cantidad de glucógeno y fibrosis hepática. Es posible que el ECV aumente la concentración de corticosterona y que puede ser más drástico el efecto por inducir directamente fibrosis independiente de la acumulación de triglicéridos. CONACYT a YMDLR (331678)



[Print this Page for Your Records](#)

[Close Window](#)

Control/Tracking Number: 2018-S-14807-SfN

Activity: Scientific Abstract

Current Date/Time: 5/3/2018 4:13:41 PM

High-sucrose intake in post-weaned rats is associated with morphological and functional changes in rat testis

AUTHOR BLOCK: *Y. M. DE LEON RAMIREZ¹, P. PACHECO², E. CUEVAS³, M. A. LARA GARCIA⁴, M. MARTINEZ-GOMEZ⁵, D. L. CORONA QUINTANILLA⁶, J. RODRIGUEZ ANTOLIN⁷, L. NICOLAS TOLEDO⁷;

¹Univ. Autonoma De Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico; ²Inst. de Investigaciones Biomédicas, Univ. Nacional Autonoma de México, Xalapa, Mexico; ³Ctr. Tlaxcala De Biología De La Conducta/Universidad Autónoma De Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico; ⁴Univ. Veracruzana, Xalapa, Mexico; ⁵Inst. de Investigaciones Biomédicas UNAM, Tlaxcala, Mexico; ⁶Univ. Autónoma de, Tlaxcala, Mexico; ⁷Ctr. Tlaxcala de Biología de la Conducta, Univ. Autonoma de Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico

Abstract:

Overweight is characterized by excessive storage of adipose tissue and high levels of triglycerides that contribute to vascular damage and trigger inflammatory response resulting in the adhesion of monocytes to endothelial cells leading to progressive arteriosclerosis. Diet rich in carbohydrates, induces endocrine disorders and metabolic syndrome. For example, leptin levels increase with sucrose consumption in rats and are inversely correlated with testosterone levels. In contrast, the increase lactate levels favors the increase of testosterone which has been little studied in reproduction. Obese animals present a deterioration of sexual behavior associated with infertility. The pubococcygeus muscle, which participates in sexual function, has not been studied in the sugar water consumption model. In this respect, said muscle can change its metabolism, since it stores a large amount of testosterone-dependent glycogen. Thus, it is interesting to explore sugar water consumption effect at an early age on male sexual response through the urethro-genital (UG) reflex of Bsm and Pcm of male rats. We used male Wistar rats, 21 days-old divided into 2 experimental groups (8 / group): Control (C) and experimental (S30). All animals were maintained in individual cages with access to food Chow Purina 5001. According to the experimental group the rats belonged to tap water or 30 % sucrose solution for 30 days. Male rats were anesthetized and using a continuous saline solution injection through the urethra, penile urethral pressure as well as Bsm and Pcm electromyograms (EMGs) were recorded before, during and after urethro-genital reflex. Aliquots of blood were obtained to measure the concentration of leptin and testosterone by the Elisa method. Testis were removed and weighed for histological analysis, determine the expression of LDH and the number of sperm. Data were analyzed by a Student-t. The S30 animals showed an increase in



CMA-145

El consumo de sacarosa afecta el arreglo histológico y la calidad espermática en la rata

De León Ramírez Yeimy Mar (Estudiante de posgrado)¹, Lara-García Omar², Cruz Lumbreras Senobia Rosalia³, Cuevas-Romero Estela², Rodríguez-Antolín Jorge², Nicolás-Toledo Leticia²

¹Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala,

²Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala,

³Facultad de Química Clínica, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, México

Dietas ricas en carbohidratos, induce almacenamiento excesivo de tejido adiposo, que se correlaciona con un aumento en los niveles de leptina. Dicha hormona modula la actividad de la enzima lactato deshidrogenasa (LDH) y disminuye la producción de acetato en las células de Sertoli, lo que sugiere afecta la producción de glucólisis y ATP para la función espermática. En ratas púberes se ha mostrado que una dieta alta en sacarosa administrada por un mes, incrementa los niveles de leptina, afectando la organización histológica del testículo y la calidad espermática, disminuyendo el número de espermatozoides, sin presentar obesidad. En ratas juveniles el consumo de sacarosa administrado dos meses tampoco induce obesidad, por ello este trabajo evaluó el efecto del consumo de una dieta rica en sacarosa sobre la expresión de la enzima LDH, el arreglo histológico testicular y la calidad espermática. Al destete, ratas machos Wistar fueron divididas en dos grupos experimentales (8/grupo): ratas que consumen agua simple (C) y ratas que consumen agua azucarada al 30% (S30) durante dos meses. Al término del tratamiento, las ratas, fueron sacrificadas por decapitación, para coleccionar alícuotas de sangre para la determinación de hormonas. El testículo se extrajo, se pesó y se congelo para su posterior análisis histológico, el epidídimo se utilizó para extraer los espermatozoides y realizar el análisis de la calidad espermática. Los animales S30 mostraron un aumento del peso testicular. El diámetro del lumen aumenta y disminuye el epitelio germinativo. Interesantemente, hay mayor expresión de la enzima LDH en el lumen tubular, lo que se correlaciona con la disminución en la movilidad y vitalidad y bajo número de espermatozoides. El presente estudio muestra que una dieta rica en sacarosa afecta la expresión de LDH testicular lo que podría estar afectando la calidad espermática desde temprana edad sin obesidad y síndrome metabólico.



[Print this Page for Your Records](#)

[Close Window](#)

Control/Tracking Number: 2019-S-9093-SfN

Activity: Scientific Abstract

Current Date/Time: 5/1/2019 3:41:21 PM

High-sucrose intake in post-weaned rats is associated with morphological and functional changes in the pubococcygeus muscle

AUTHOR BLOCK: *Y. M. DE LEON RAMIREZ¹, P. PACHECO², O. LARA GARCÍA³, M. A. LARA GARCIA⁴, J. ANTOLIN³, M. MARTINEZ-GOMEZ^{5,3}, L. NICOLÁS TOLEDO³;

¹Ctr. Tlaxcala Biología De La Conducta, Univ. Autonoma De Tlaxcala, Tlaxcala, Mexico; ²Inst. de Investigaciones Biomédicas, UNAM, Xalapa, Mexico; ³Ctr. Tlaxcala Biología De La Conducta, Tlaxcala de Xicohtencatl, Mexico; ⁴Univ. Veracruzana, Xalapa, Mexico; ⁵Inst. de Investigaciones Biomédicas UNAM, Tlaxcala, Mexico

Abstract:

In humans, obesity is one of the most important health problems due to its considerable increase and tends to remain from childhood to adulthood, producing alterations in metabolism, mainly carbohydrates. Diet rich in carbohydrates, induces endocrine disorders and metabolic



High-sucrose diet potentiates hyperaldosteronism and renal injury induced by stress in young adult rats

Cristhian Neftaly Sánchez-Solís PhD¹ | Estela Cuevas Romero PhD² |
Ida Soto-Rodríguez PhD³ | María de Lourdes Arteaga-Castañeda PhD² |
Yeimy Mar De León-Ramírez MS¹ | Jorge Rodríguez-Antolín PhD² |
Leticia Nicolás-Toledo PhD²

¹Doctorado en Ciencias Biológicas,
Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala,
México

²Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta,
Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala,
México

³Facultad de Bioanálisis, Universidad
Veracruzana, Veracruz, México

Correspondence

Leticia Nicolás Toledo, Centro Tlaxcala
de Biología de la Conducta, Universidad
Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, México.
90000-Tlaxcala, México.
Email: leticia.nicolast@uatx.mx

Funding information

Authors thank the Consejo Nacional
de Ciencia y Tecnología (CONACYT)
for supporting this research project
(Grant no. 287762 to L. Nicolás-Toledo,
Proyecto apoyado por el Fondo Sectorial
de Investigación para la Educación) and
for providing research fellowships to CN.
Sánchez-Solís(Reg. 487305) and YM. De
León-Ramírez(Reg. 631998).

Abstract

Analyze the effect of stress and high-sucrose diet on serum aldosterone levels and the morphometric characteristics of the kidney in young adult rats. Wistar male rats aged 21 days old weaned were randomly assigned into four groups: control (C), stressed (St), high-sucrose diet (S30), and chronic restraint stress plus a 30% sucrose diet (St + S30). Rats were fed with a standard chow and tap water ad libitum (C group) or 30% sucrose diluted in water (S30 group) during eight weeks. The St and St + S30 groups were subject to restraint stress (1-hour daily in a plastic cylinder, 5 days per week), four weeks before euthanasia. At 81 days old, all animals were killed and blood samples and kidneys were collected. Stressed rats had an increase in the serum aldosterone and renal triacylglycerol, a decrease in the area of the renal corpuscle, glomeruli, proximal tubules, and aquaporin 2 expressions with loss of glomeruli. For its part, the high-sucrose diet decreased the area of the renal corpuscle, glomeruli, and aquaporin 2 expressions in the cortex. The combination of stress and high-sucrose diet maintained similar effects on the kidney as the stress alone, although it induced an increase in the creatinine levels and renal glycogen. Our results showed that chronic stress induces hyperaldosteronism and kidney injury. The intake of a high-sucrose diet may potentiate the renal injury promoted by stress.

KEYWORDS

aldosterone, aquaporin 2, creatinine, glomeruli, glycogen, triacylglycerol

1 | INTRODUCTION

Chronic restraint stress increases the adrenocorticotropin (ACTH),¹ which promotes an increase in the aldosterone levels.² Thus, stress could be an important cause of the increase in the aldosterone levels.^{3,4} Aldosterone has been associated with hypertension, metabolic syndrome,^{5,6} and renal injury.^{7,8} It also causes inflammation, oxidative stress, fibrosis, mesangial proliferation, and podocyte injury,^{9,10} as well as glomerular hypertrophy, mesangial expansion inducing changes in the filtration process.⁷

Renal pathologies promoted by high-calorie diet increase inflammation, tubule injury, fibrosis, and apoptosis,¹¹ and decrease the antioxidant capacity in renal tissues.¹² Previously, we reported that 30% sucrose for four weeks avoids the liver damage induced by stress.¹³ The effect of a high-sucrose diet on aldosterone levels and the morphometric characteristics of the kidney in stressed young rats has not been studied. Therefore, the goal of this study was to determine whether chronic stress and a high-sucrose diet may increase the level of aldosterone and affect the kidney in young rats.



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Annals of Anatomy

journal homepage: www.elsevier.com/locate/aanat

Research Article

Histomorphological testicular changes and decrease in the sperm count in pubertal rats induced by a high-sugar diet

Yeimy Mar De León-Ramírez^a, Miguel Lara-García^b, Pablo Pacheco^{b,c}, Omar Lara-García^d, Margarita Martínez-Gómez^{b,c}, Estela Cuevas-Romero^d, Jorge Rodríguez-Antolín^d, Leticia Nicolás-Toledo^{d,*}^a Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala, México^b Instituto de Neuroendocrinología, Universidad Veracruzana, Veracruz, México^c Departamento de Biología Celular y Fisiología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, México^d Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, Tlaxcala, México

ARTICLE INFO

Article history:

Received 2 October 2020

Received in revised form 1 December 2020

Accepted 29 December 2020

Keywords:

Lactate dehydrogenase expression

Leptin

Pubertal

Rats

Sperm quality

Testosterone

Triacylglycerol

ABSTRACT

Background: During childhood and adolescence, excessive food consumption stimulates adipose tissue expansion promoting overweight in humans, and mice. A high-sucrose diet is related to obesity and metabolic syndrome. Infertility is commonly related to these pathologies. We aim to evaluate possible histomorphological testicular changes induced by a high-sucrose diet on sperm count during the post-weaning period.

Methods: Wistar male rats aged 21 days, weaned, were randomly assigned into two groups: control (fed and hydrated normally) and sugar group (fed normally but hydrated with a solution containing 30% of diluted sucrose during 30 days). At the pubertal age of 51 days, animals were killed and blood samples were taken to measure testosterone and leptin. Testicles were collected and gonadal adipose tissue and semen samples from the epididymis were excised. Testicle samples were used for morphological description using H&E staining, as well as to quantify the triacylglycerol content and the lactate dehydrogenase (LDH) expression. Semen samples were used to assess motility, viability, and sperm count.

Results: The sugar group presented an increase in the testicular weight, but a reduction in the cross-sectional area of seminiferous tubules. Moreover, disorganization of Sertoli cells and spermatogonia, an increase in the LDH expression within the entire seminiferous tubule, and a reduced sperm count and spermatozoid motility were found. These alterations were accompanied by high serum levels of testosterone and leptin.

Conclusions: Our results indicate strong damage of testis by sugar consumption during early life that may lead to the onset of infertility in adulthood.

© 2021 Elsevier GmbH. All rights reserved.

1. Introduction

In adult men, overweight is related to a decrease in the serum testosterone levels (Pasquali, 2006; Jastrzebska et al., 2014) and semen quality (Aggerholm et al., 2007), but an increase in the leptin concentration (Shalitin and Phillip, 2003; Lana et al., 2014). Sucrose-fed adult rats also present abundant adipose tissue (Castellanos Jankiewicz et al., 2015), show increased leptin serum levels (Díaz-Aguila et al., 2016), and an affecting in the steroidogenesis (Wagner et al., 2016) decreasing serum testosterone (El Hafidi

et al., 2006). Thus, excessive food consumption during childhood and adolescence stimulates adipose tissue expansion promoting overweight in humans (Jo et al., 2009) and mice (Longo et al., 2019). However, a high-sucrose diet for four (Corona-Pérez et al., 2015) and eight weeks (Corona-Pérez et al., 2017) in puberty rats promotes a scant adipose tissue accumulation although it induces steatosis and oxidative stress, and increases leptin, suggesting that leptin resistance may be independent on obesity (Harris, 2017) as it might be involved in infertility. There are few studies focused on early life feeding behavior and its future consequences in reproduction processes (Chen et al., 2011; Pinto-Fochi et al., 2016; Demirci and Sahin, 2019).

The testicles have a glycolytic metabolism to produce lactate as the main substrate of germ cells (Boussouar and Benahmed, 2004). Lactate production is regulated by receptors involved in actions

* Corresponding author at: Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, Universidad Autónoma de Tlaxcala, 90000, Tlaxcala, México.

E-mail address: leticia.nicolasn@uata.mx (L. Nicolás-Toledo).