



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOMEDICAS FACULTAD DE MEDICINA

*LA OBESIDAD MATERNA EN LA RATA PROGRAMA NEGATIVAMENTE LA
CALIDAD ESPERMÁTICA Y FUNCIÓN REPRODUCTIVA DE LA CRÍA
MACHO: BENEFICIOS DEL EJERCICIO COMO MECANISMO DE
INTERVENCIÓN*

T E S I S

QUE PARA OPTAR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS

PRESENTA:
Biól. MERY SANTOS GÓMEZ

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS:
DRA. ELENA ZAMBRANO GONZÁLEZ
FACULTAD DE MEDICINA

COMITÉ TUTOR:
DRA. CLAUDIA TREVIÑO SANTACRUZ
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA, UNAM, CAMPUS CUERNAVACA
DR. FERNANDO LARREA GALLO
FACULTAD DE MEDICINA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE

RESUMEN.....	4
ABSTRACT.....	6
1. INTRODUCCIÓN.....	8
1.1. Obesidad materna.....	8
1.2. Programación del desarrollo y obesidad materna.....	10
1.3. Calidad espermática y función reproductiva.....	15
1.4. Estrés oxidante.....	20
1.5. Ejercicio como mecanismo de intervención para mejorar la calidad espermática y la fertilidad	24
2. JUSTIFICACIÓN.....	26
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	27
4. HIPÓTESIS.....	28
5. OBJETIVOS.....	29
5.1. Objetivo general.....	29
5.2. Objetivos particulares.....	29
6. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	30
7. METODOLOGÍA.....	31
7.1. Animales de experimentación.....	31
7.2. Madres experimentales F ₀	31
7.3. Camada F ₁	32
7.4. Ejercicio voluntario moderado.....	33

7.5. Evaluación de la tasa de fertilidad.....	34
7.6. Eutanasia.....	34
7.7. Tejidos y preparación de la muestra.....	35
7.8. Análisis de la lipoperoxidación en esperma y testículo.....	35
7.9. Actividad de la Superóxido dismutasa (SOD) en esperma y testículo.....	36
7.10. Actividad de la Glutación peroxidasa (GPx) en esperma y testículo.....	36
7.11. Mediciones del esperma.....	37
7.12. Análisis estadísticos.....	37
8. RESULTADOS.....	38
8.1. Ejercicio voluntario.....	38
8.2. Peso corporal, índice de adiposidad y grasa gonadal.....	40
8.3. Biomarcadores de estrés oxidante testicular.....	43
8.4. Biomarcadores de estrés oxidante espermático en los testículos.....	45
8.5. Parámetros espermáticos.....	47
8.6. Tasa de fertilidad.....	49
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	51
10. CONCLUSIONES.....	57
11. LITERATURA CITADA.....	58
ABREVIACIONES.....	74
TABLAS y FIGURAS.....	76

RESUMEN

La obesidad materna programa negativamente la fisiología de la descendencia. Se ha demostrado con estudios epidemiológicos y animales de experimentación, que los hijos de madres obesas presentan alteraciones metabólicas en la vida posnatal tales como dislipidemia, índice de resistencia a la insulina incrementado y mayor acumulación de grasa, entre otras.

Cuando se ha intervenido a la hembra obesa con dieta antes del apareamiento, se revierten algunos de los efectos adversos de la programación en el metabolismo de los descendientes macho. De igual forma se han visto efectos positivos en parámetros metabólicos cuando son los descendientes de madres obesas los que son intervenidos con ejercicio.

A nivel de la capacidad reproductiva de la descendencia, los modelos experimentales indican que la obesidad materna puede provocar menor tasa de fertilidad y calidad espermática mermada. Nosotros planteamos la hipótesis de que el ejercicio moderado y voluntario practicado por machos hijos de madres obesas, mejorará la calidad espermática y la capacidad reproductiva, compensando de esta forma, la programación adversa resultante de la obesidad materna.

El modelo experimental empleado consistió de hembras *Wistar* (F₀) alimentadas desde el destete con dieta comercial para roedor (5% de grasa vegetal): grupo Control (C) o con dieta alta en grasa (25% de grasa animal -manteca): grupo de Obesidad Materna (OM). A los 120 días posteriores al nacimiento (DPN 120), las hembras F₀ fueron apareadas con machos no experimentales.

Las crías resultantes (F₁) se alimentaron de la dieta (C) desde el destete y durante todo el estudio. Cinco crías macho (F₁) elegidos al azar (de diferentes camadas) fueron asignados dentro de cuatro grupos experimentales de acuerdo a la dieta materna y a la intervención con ejercicio: (1) C: grupo de machos F₁ hijos de madres alimentadas con dieta normal para roedor; (2) OM: grupo de machos F₁ hijos de madres alimentadas con dieta alta en grasa; (3) C+E: grupo de machos C intervenidos con ejercicio voluntario; (4) OM+E: grupo de machos OM intervenidos con ejercicio voluntario.

Los machos F₁ intervenidos con ejercicio corrieron voluntariamente en la rueda para roedor por 15 minutos, cinco veces a la semana, desde el DPN 330 hasta el DPN 450 (cuatro meses). La distancia recorrida por sesión fue menor en las crías OM+E (15.1 m/15 min) con respecto a C+E (27.1 m/15 min), esta tendencia permaneció hasta el final del experimento (OM+E=263.75 ±13.2

m; C+E=414.5 ± 33.4 m). El DPN 440 los machos se aparearon con hembras vírgenes, dos hembras por cada macho, para medir la tasa de fertilidad.

La tasa de fertilidad se expresó como el porcentaje de machos fértiles y como el porcentaje de hembras preñadas. El porcentaje de machos fértiles fue del 100% para los grupos C y C+E, del 60% para el grupo OM y del 80% para el grupo OM+E. El porcentaje de hembras preñadas fue del 100% para los grupos C y C+E, del 30% para el grupo OM y del 60 % para el grupo OM+E. El DPN 450 los machos fueron sacrificados para determinar el peso corporal, el índice de adiposidad, la grasa gonadal y para el análisis de estrés oxidante testicular y espermático (lipoperoxidación midiendo la concentración de Malondialdehído (MDA)), presencia de antioxidantes en testículos y esperma (superóxido dismutasa (SOD) y glutatión peroxidasa (GPx)), así como concentración, viabilidad y motilidad espermática.

En peso corporal, índice de adiposidad y grasa gonadal, el grupo OM fue mayor que C y C+E. Aunque el ejercicio hizo disminuir estas tres variables con respecto a los grupos control, las diferencias no fueron estadísticamente significativas. A nivel testicular, aunque hubo mayor lipoperoxidación (MDA), también hubo mayor actividad antioxidante (SOD y GPx) en OM comparado con C. El ejercicio hizo que en ambos grupos disminuyera la lipoperoxidación en el testículo con respecto a los grupos control. A nivel espermático, hubo mayor lipoperoxidación y menor actividad antioxidante en OM comparado con C. El ejercicio en OM+E y C+E hizo que disminuyera la lipoperoxidación en el esperma con respecto a los grupos control y *mejoró la actividad antioxidante* en el grupo OM+E con respecto a OM. La concentración, viabilidad y motilidad espermática fue menor en OM comparado con C. El ejercicio en OM+E aumentó la concentración, viabilidad y motilidad espermática con respecto a OM.

En resumen, la intervención con ejercicio en la cría tuvo efectos benéficos parciales en el índice de adiposidad, peso corporal, grasa gonadal, y beneficios significativos en los marcadores de estrés oxidante, calidad espermática y fertilidad. Concluimos que la actividad física regular y moderada en crías macho de OM hizo que recuperaran funciones reproductivas claves a pesar de haberse iniciado en el ejercicio siendo ya adultos maduros.

Palabras clave: programación del desarrollo, obesidad materna, calidad espermática, intervención en la cría, ejercicio voluntario.

ABSTRACT

Maternal obesity program negatively the physiology of the offspring. Epidemiological studies and animal experiments have demonstrated that the progeny of obese mothers present metabolic alterations in postnatal life such as dyslipidemia, increased index of resistance to insulin and greater accumulation of fat, among others.

When the obese female has been intervened with diet before mating, it reverses the adverse effects of the programming in male descendants metabolism, equally positive effects on metabolic parameters have been accomplished when the descendants' of obese mothers are which are intervened with exercise.

At the level of the reproductive capability of the offspring, experimental models indicate that maternal obesity may cause lower fertility rate and reduced sperm quality. Our hypothesis is that the moderate and voluntary exercise practiced by male offspring of obese mothers, would improve sperm quality and reproductive capacity, compensating in this way, the adverse programming resulting from maternal obesity.

The experimental model used consisted of female Wistar (F_0) that were fed commercial rodent diet (5% of vegetable fat) diet since weaning, they formed our group Control (C) or with a diet high in fat (25% of animal fat (lard)), that formed the group of Maternal Obesity (OM). 120 days after birth (DPN 120), the F_0 females were mated with non-experimental males.

The resulting offspring (F_1) were fed diet C since weaning and throughout the study. Five male offspring (F_1) randomly selected (from different litters) were allocated into four experimental groups according to the maternal diet and exercise intervention: (1) C: group of male F_1 whose mothers were fed normal rodent diet; (2) OM: group of males F_1 whose mothers were fed with high-fat diet; (3) C+E: group of C males intervened with voluntary exercise and (4) OM+E: group of OM males intervened with voluntary exercise.

Males F_1 ran voluntarily in rodent exercise wheel for 15 minutes, five times a week from the DPN 330 to DPN 450 (four months). The distance traveled per session was shorter in the OM+E (15.1 m/15 min) compared to C+E (27.1 m / 15 min) offspring, this tendency remained until the end of the experiment (OM+E = 263.75 ± 13.2 m; C+E = 414.5 ± 33.4 m). The DPN 440 males mated with virgin females, two females for each male, in order to measure the fertility rate.

The fertility rate was expressed as the percentage of fertile males and the percentage of pregnant females. The percentage of fertile males was 100% for C and C+E group, 60% in the OM group

and 80% for OM+E group. The percentage of pregnant females was 100% for C and C+E groups, 30% in the OM group and 60% for OM+E group.

The DPN 450 males were sacrificed in order to determine the body weight, adiposity index, gonadal fat and testicular and spermatocidal oxidative stress (lipid peroxidation by measuring the concentration of Malondialdehyde (MDA)), presence of antioxidants in testicles and sperm (superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx)), as well as concentration, viability and sperm motility.

Regarding the body weight, adiposity index and gonadal fat, OM group had higher results than C and C+E. Though exercise did reduce these three variables with respect to the control groups, the differences were not statistically significant. At testicular level, there was increased lipid peroxidation (MDA) and higher antioxidant activity (SOD and GPx) in OM compared to C. In both groups the exercise decreased lipid peroxidation in testicles compared to control groups. At sperm level, there was increased lipid peroxidation and lower antioxidant activity in OM compared with C. Exercise in OM+E and C+E made lipid peroxidation in sperm decrease compared to the control groups and improved antioxidant activity in the OM+E group with respect to OM. The concentration, viability and sperm motility was lower in OM compared to C. The exercise in OM+E increased concentration, viability and motility with respect to OM.

In brief, intervention with exercise in the brood had partial beneficial effects on adiposity index, body weight, gonadal fat, and significant effects in markers of oxidative stress, sperm quality and fertility. We conclude that regular and moderate physical activity of male offspring of OM made them recover their key reproductive functions despite having started with the exercise already being as mature adults.

Key words: developmental programming, maternal obesity, sperm quality, offspring intervention, voluntary exercise.

1. INTRODUCCION

1.1. Obesidad materna

Según la OMS (Organización Mundial de la Salud) el sobrepeso y la obesidad son el quinto factor principal de riesgo de defunción en el mundo. Cada año fallecen por lo menos 2.8 millones de personas adultas a causa del sobrepeso o la obesidad. 44% de la diabetes, 23% de cardiopatías isquémicas y entre 7% y 41% de algunos cánceres son atribuibles al sobrepeso y obesidad ⁽¹⁸³⁾.

En México hay 47.9 millones de adultos con sobrepeso y obesidad. La prevalencia de obesidad es más alta en el sexo femenino (37.5%) que en el masculino (26.9%). Entre 1998 y 2012, el sobrepeso más obesidad en mujeres entre los 20 y 49 años pasó de 34.5% a 70.6% (104.6 ó 4.4 % por año) ⁽⁶³⁾. La obesidad entre mujeres de edad reproductiva es reconocida como una de las principales complicaciones en una mujer embarazada ^(111,187). Está asociada a la sobrealimentación y a ingesta de dietas con alto contenido de grasas. La definición estándar de obesidad puede ser confusa en el embarazo. El IMC (Índice de Masa Corporal) cuando se calcula en la etapa pre gestacional, sirve para determinar la ganancia de peso que tiene que tener una mujer cuando se embaraza. Durante el embarazo se necesita un mayor consumo de energía para sostener el crecimiento del feto, placenta y el tejido materno.

Algunos autores ⁽²⁹⁾ han estimado que el costo energético del embarazo es de 85000 Kcal o 300 Kcal/día basándose en cálculos teóricos que asumen un neonato con peso de 3.4 kg, un depósito de 900 g de proteína y 3.8 kg de grasa materna y aumento en el metabolismo basal. Estas cifras no toman en consideración otros factores que pueden aumentar el gasto energético durante el embarazo como las actividades cotidianas, ejercicio, cambios extremos de temperatura ambiental o madres adolescentes. Hasta 12.5 kg es el peso promedio recomendado para aumentar durante el embarazo si la mujer tiene un IMC pre-gestacional normal (entre 18.5 y 24.5 kg/m²). Pero si la mujer tiene sobrepeso u obesidad, la ganancia de peso recomendada es de 6.345 kg. Cuando la ganancia de peso es superior, se elevan los riesgos de complicaciones maternas y perinatales ^(11,29,143).

La obesidad en una mujer embarazada puede producir enfermedades como hipertensión arterial, preeclampsia, diabetes mellitus tipo 2 y albuminuria. También se observa mayor número de neonatos macrosómicos (>4000 g) y menor frecuencia de neonatos de bajo peso (<2500 g). Los neonatos macrosómicos tienen mayor cantidad de grasa subcutánea y los neonatos de bajo

peso generalmente se deben a partos pre-término que deben ser admitidos en la unidad de cuidados intensivos neonatales ⁽²⁹⁾. La mayor frecuencia de fetos macrosómicos eleva las probabilidades de resolver el parto mediante cesárea con el consecuente riesgo de hemorragia y el uso de anestesia. En el postparto, la madre obesa presenta con mayor frecuencia endometritis, infecciones de la herida quirúrgica, tromboflebitis e infecciones del tracto urinario (Tabla 1).

Tabla 1. Complicaciones durante el embarazo, parto, postparto y neonatales en mujeres obesas embarazadas.

Complicaciones durante el embarazo	Hipertensión; edema; albuminuria; preeclampsia; eclampsia; glucosuria; diabetes; tromboflebitis; venas varicosas; infecciones del tracto urinario; hemorragia anteparto; embarazo prolongado; ganancia inadecuada de peso ⁽²⁹⁾
Complicaciones durante el parto	Parto pretérmino; aumento de operación cesárea ⁽²⁹⁾
Complicaciones durante el puerperio	Endometritis; infecciones urinarias; infección de la herida; tromboflebitis; subinvolución; aumento de mortalidad materna; retardo en el inicio de la lactancia ⁽²⁹⁾
Complicaciones neonatales	Productos macrosómicos; aumento de estancia en terapias intensivas; prematuridad; muerte al nacimiento; muerte prematura ⁽²⁹⁾ ; defectos estructurales del nacimiento; hipoglicemia; asma; autismo; déficit de atención; desórdenes de hiperactividad; desarrollo temprano de enfermedades metabólicas ^(95,109,184)

Si la madre obesa es añosa y múltipara se incrementan los factores de riesgo para favorecer las complicaciones médicas ⁽²⁹⁾. Por otro lado, estudios en embarazadas obesas han mostrado una

mayor incidencia de embarazos gemelares debido al uso de técnicas de reproducción asistida por dificultades para lograr el embarazo naturalmente ⁽²⁹⁾.

1.2. Programación del desarrollo y obesidad materna

A finales de los 80's y principios de los 90's, Barker *et al* ⁽¹⁴⁾ y Hales *et al* ⁽⁷⁰⁾ establecieron que la incidencia de algunas enfermedades en el adulto, se relacionaban con el ambiente intrauterino durante el desarrollo: aquellos hombres que habían nacido con bajo peso y tenían bajo peso al año de edad, tenían las tasas más altas de muerte por enfermedad cardíaca, una alta prevalencia de diabetes tipo 2 e intolerancia a la glucosa que aquellos hombres que habían nacido con peso normal.

Estos hallazgos los llevaron a proponer la hipótesis del “fenotipo ahorrador” ⁽⁶⁹⁾, que postula que bajas condiciones de una nutrición uterina por debajo del óptimo, el feto puede adaptarse a ese ambiente para asegurar su supervivencia, a través del “ahorro” de órganos vitales como el cerebro a expensas de órganos como el páncreas, el corazón, los riñones y el músculo esquelético. Sin embargo, estas adaptaciones pueden llevar al desarrollo postnatal de intolerancia a la glucosa, diabetes tipo 2, enfermedades cardiovasculares e hipertensión si el individuo es alimentado adecuadamente o sobrealimentado después del nacimiento.

Muchos estudios epidemiológicos en diferentes partes del mundo soportan esta hipótesis ⁽⁶⁹⁾. El papel crítico que juega el medio ambiente intrauterino en estas asociaciones se apoya en estudios como los de gemelos monocigóticos y dicigóticos, en los que el menor peso al nacer de uno de los gemelos estuvo asociado con el desarrollo de diabetes tipo 2 en la edad adulta ^(18,62,106,130). Otros estudios con individuos que estaban en el útero durante periodos de hambruna provocada por la guerra, también aportan evidencia sobre la importancia de la nutrición materna para mediar la relación entre bajo peso al nacer y el desarrollo posterior de diabetes tipo 2 ⁽¹³⁶⁾.

Pero no sólo el bajo peso al nacer provocado por una deficiente nutrición materna, predispone al individuo a tener mayor riesgo de padecer ciertas enfermedades en la vida adulta, sino también, el exceso de nutrientes disponibles durante el desarrollo dentro del útero (p. e. debido a diabetes gestacional u obesidad materna). En este caso, se incrementa el riesgo de padecer en la vida adulta, enfermedades como obesidad, menor tolerancia a la glucosa y el síndrome metabólico ^(19, 28). Esto está apoyado por evidencia epidemiológica como el de la población de indígenas Pima que habitan la frontera Sur de Estados Unidos con México, quienes

presentan una alta incidencia de diabetes tipo 2 y obesidad. En esta población tanto un mayor peso al nacer como menor bajo peso al nacer, están asociados con un mayor riesgo de diabetes tipo 2, lo que sugiere la existencia de una curva en “U” para esta enfermedad ⁽¹²⁸⁾.

Los estudios en la comunidad Pima también han demostrado que las niñas hijas de madres con diabetes gestacional corrían mayor riesgo de desarrollar esta enfermedad al ellas estar embarazadas, lo que sugiere un “círculo vicioso” de la patología que contribuiría al incremento global de esta enfermedad ⁽³³⁾. Cabe mencionar que los indígenas Pima que habitan la frontera Norte de México no presentan los problemas de obesidad y diabetes tipo 2 antes mencionados. Se cree que la diferencia radica en la forma de vida tradicional de los Pima del Norte de México quienes dedican en promedio 23 horas a la semana a la actividad física frente a las 7 horas a la semana de los Pima de Arizona; también los Pima de México siguen una dieta tradicional muy similar a la de sus antepasados y los Pima de Arizona tiene una dieta más “occidental” con menos fibra y más grasa ⁽¹⁴⁸⁾.

Los detrimentos en la salud durante la vida adulta, provocados por la sobrealimentación durante el desarrollo fetal y las primeras etapas de la vida postnatal, también están apoyados por estudios con modelos animales. Un estudio en ratones muestra que al alimentarse de una dieta altamente obesogénica antes del apareamiento y a través del embarazo y lactancia, los hijos fueron hiperfágicos, tuvieron mayor adiposidad, presentaron hipertensión, fueron insulino resistentes y fueron más pesados en la vida postnatal ⁽¹⁴⁴⁾. Otro estudio en 2010, mostró que la obesidad materna programa el desarrollo de la enfermedad del páncreas graso no-alcohólico en los descendientes ⁽¹¹⁶⁾.

De modo que la forma en que la madre se alimenta durante el embarazo y durante la lactancia, la cantidad y calidad de los nutrientes que ingiera, surge como una explicación para la presencia de diversas enfermedades en la vida adulta de los descendientes ^(52,112,178). Actualmente esta hipótesis se conoce como *el origen durante el desarrollo de la salud y la enfermedad* (DOHaD por sus siglas en inglés) ⁽⁵⁷⁾. El DOHaD constituye un campo multidisciplinario que examina cómo los factores ambientales durante las fases de plasticidad del desarrollo embrionario interactúan con las variaciones genóticas para cambiar la capacidad del organismo para enfrentarse con su ambiente en la vida adulta ^(70,71,101,156). El DOHaD es el nombre con el que actualmente se conoce a los conceptos de programación del desarrollo ⁽⁵¹⁾ o programación *in utero* ⁽⁵³⁾.

El DOHaD ha sido bien aceptado gracias a la recopilación de estudios tanto epidemiológicos como con animales de experimentación donde se han manipulado factores específicos como cambios en la dieta materna con reducción moderada y severa de la ingesta de nutrientes, por ejemplo, dietas bajas en proteínas o dietas altas en grasa ⁽⁹⁸⁾. Los modelos animales permiten estudiar los efectos del exceso o falta de nutrientes durante la gestación, lactancia, periodo postnatal temprano en las crías y hasta su madurez, controlando los factores ambientales que constantemente cambian durante los estudios epidemiológicos ^(52,108).

Tanto en los estudios epidemiológicos como en modelos animales, el ambiente fetal alterado expone al feto a diversos factores hormonales que afectan los parámetros metabólicos, del sistema inmunitario, vasculares, renales, hemodinámicos, del crecimiento y mitocondriales en etapas posteriores de la vida (Tabla 2).

Tabla 2. Efectos del medio ambiente fetal en la descendencia.

<u>Factores que pueden afectar el medio ambiente fetal</u>		
Dieta materna isocalórica o baja en proteína; dieta materna alta en grasas o hipercalórica; hambruna; infecciones; anemia; hipertensión; diabetes gestacional; obesidad materna; hipoxia.		
Efectos en la descendencia <i>in utero</i> y/o en las primeras etapas de la vida y/o en la vida adulta		
	Estudios en Humanos (referencias)	Estudios en Animales de Experimentación (referencias)
Deficiencias en la homeostasis de la glucosa	62,70,129,136,154, 186	17,188
Síndrome metabólico	19	38,46
Resistencia a la insulina	106,154	17,110,114,144, 188
Elevada concentración de leptina	186	90,96,188
Diabetes mellitus tipo 2	18,33,128,130	46
Hipertensión	94	144
Enfermedad cardíaca / disfunción endotelial	14,48	164
Obesidad	33, 53, 92,104,177	53,80,90,114,144,46

Hígado graso		115
Páncreas graso		116
Triglicéridos elevados		188
Hiperfagia	186	90,114,144
Comportamiento ansioso		141
Afectación de órganos y/o función reproductiva	79,133,134	32,42,43, 65, 67, 96, 132,137,140,155, 187,190

En ratones, la obesidad paterna, comprometió la función pancreática de las hijas ⁽¹¹⁰⁾ y transmitió la obesidad y la resistencia a la insulina a través de dos generaciones de descendientes ⁽⁵⁰⁾. En ratas, si la madre es diabética, se encontró evidencia de que la transmisión de sus efectos sólo pasa a las siguientes generaciones a través de la vía materna, es decir que aunque sus hijos machos tienen intolerancia a la glucosa, no la transmiten a sus descendientes ^(117,165). Otros estudios con animales de experimentación, han explorado los efectos transgeneracionales por la vía paterna, encontrando evidencias de herencia epigenética ^(10,21,22). Estas investigaciones permiten concluir (al menos en animales), que se pueden transmitir cambios epigenéticos en las crías tanto por la línea paterna como la materna, sin embargo, la línea materna quizás tenga mayor impacto dado que la madre es quien provee el ambiente uterino para el desarrollo y crecimiento del feto ⁽¹⁸⁵⁾.

La obesidad en mujeres de edad reproductiva va en aumento en todo el mundo ⁽¹⁰⁹⁾ y si de acuerdo a la teoría de la programación del desarrollo, la obesidad materna predispone a los descendientes a padecer obesidad y diversas enfermedades y desórdenes metabólicos, se hace prioritario investigar de qué forma se puede prevenir o revertir este efecto. La forma ideal de romper con el ciclo de la obesidad sería que las mujeres obesas perdiesen peso y alcanzaran un IMC normal antes del embarazo ⁽²⁸⁾.

En estudios anteriores en nuestro laboratorio, indujimos la obesidad en ratas hembras mediante una dieta alta en grasa que se les dio desde el destete y a través del embarazo y lactancia para determinar los resultados en relación a las variables metabólicas de los hijos machos al destete y a los 120 días de edad y sobre el tejido adiposo al destete y a los 150 días de edad. En un grupo separado de hembras, nosotros analizamos el alcance de la intervención

alimentaria al regresar a estas ratas a una dieta normal con croqueta control, un mes antes del apareamiento, para observar si se podían revertir los resultados adversos en los hijos y encontramos que si son al menos parcialmente reversibles y que no es necesario regresar a la madre al nivel del peso control para ver beneficios en las crías ⁽¹⁸⁸⁾.

En contraste con los efectos de la programación a nivel metabólico, la programación de la capacidad reproductiva en los hijos está escasamente documentada. La obesidad materna en humanos conduce a una pubertad temprana en los hijos varones ⁽⁷⁹⁾. En un estudio piloto se reporta que los hijos varones de madres obesas durante el embarazo tenían una tendencia a ser más grandes y pesados al nacer, esta condición persistió y al ser adultos tenían mayor IMC y menor calidad espermática que los hijos de madres con peso normal. Posiblemente la concentración reducida de SHBG (*steroid hormone-binding globuline*) y en consecuencia la concentración alta de estrógeno libre en las madres obesas llegaron hasta el feto lo que interfirió con el control hormonal del desarrollo testicular y junto con el IMC elevado hizo que se afectara la calidad espermática en el adulto, pero este estudio no cuenta con la significancia estadística para apoyar contundentemente sus hallazgos ⁽¹³³⁾.

En modelos animales, las hijas de ratas alimentadas con dietas ricas en grasa durante el embarazo y lactancia, tuvieron una pubertad temprana ⁽¹⁵⁵⁾ y fase de *estro* (fase en que la hembra acepta al macho para copulación) prolongada o persistente ⁽³³⁾. En ovejas, la desnutrición durante etapas tempranas del crecimiento, ya sea antes o después del nacimiento, reduce la capacidad reproductiva en las hembras ⁽¹³⁷⁾. También en ovejas pero fetales, la desnutrición materna incrementa no sólo la expresión de la StAR (proteína reguladora aguda de esteroidogénesis) en los testículos, sino también a la concentración circundante de testosterona ⁽¹³²⁾. En ratas la restricción proteínica materna durante el desarrollo fetal o neonatal tiene como resultado retraso en la maduración sexual y envejecimiento prematuro de la función reproductiva de las hembras ⁽⁶⁵⁾.

También en ratas, la restricción alimenticia materna aplicada durante la última semana de gestación y/o lactancia, 1) retrasa drásticamente en las crías hembras y machos, el crecimiento gonadal, observándose en el testículo reducción del lumen intratubular de los conductos seminíferos y en el ovario, incremento de los folículos vesiculares en los ovarios y disminución en los folículos de *Graaf*, 2) bajas concentraciones de leptina circulante así como menor cantidad de depósitos de grasa y 3) retraso en la entrada a la pubertad ^(42,96).

Hemos observado en nuestro laboratorio, que las crías macho provenientes de madres restringidas proteínicamente durante el embarazo y/o lactancia, pero alimentados con dieta control después del destete, presentan retraso en los marcadores de desarrollo sexual, bajas concentraciones de LH (hormona luteinizante) y testosterona, disminución en la expresión de enzima citocromo P450_{scc} en el testículo (enzima que rompe la cadena lateral de 6 carbonos del colesterol produciendo ácido isocaproico y pregnenolona), así como reducción en la cuenta espermática y alteración de la tasa de fertilidad ⁽¹⁹⁰⁾. Estos resultados nos permiten sugerir que la capacidad reproductiva pudo quedar programada a diferentes niveles del eje hipotálamo-hipófisis-testículo desde etapas tempranas del desarrollo. Por ejemplo, durante la etapa neonatal y prepuberal se lleva a cabo la diferenciación, proliferación y maduración de las diferentes estirpes celulares testiculares y alguna alteración en estos procesos puede repercutir en la futura fertilidad ^(20,61,67,68,118,163).

1.3. Calidad espermática y función reproductiva

El eje hipotálamo – hipófisis – gónada tiene gran importancia en la regulación de las funciones reproductoras, en el sexo masculino tiene un papel importante en:

- El desarrollo del fenotipo en el embrión
- La maduración sexual en la pubertad
- La función endocrina del testículo (producción de testosterona)
- La función exocrina del testículo (producción de espermatozoides)

Dicha regulación comienza fundamentalmente por la secreción de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH, por sus siglas en inglés) por el hipotálamo. Esta hormona estimula a la hipófisis anterior, induciendo la secreción de otras dos hormonas: 1) la hormona luteinizante (LH) y 2) la hormona estimulante del folículo (FSH) ⁽⁶⁴⁾. La LH secretada incrementa la esteroidogénesis en las células de Leydig ⁽⁶⁶⁾, y la espermatogénesis requiere la presencia de FSH y altas concentraciones intracelulares de testosterona en las células de Sertoli ⁽¹⁶²⁾ (Figura 1).

La testosterona secretada por los testículos tiene la propiedad de inhibir a su vez la secreción de la LH, como consecuencia de un efecto directo de la testosterona en el hipotálamo disminuyendo la formación de GnRH, lo que conduce a la disminución de LH y FSH por la hipófisis anterior ⁽⁶⁴⁾, así pues, cuando la secreción de testosterona aumenta, este mecanismo de retroalimentación negativa reduce la secreción de GnRH ⁽¹⁸⁰⁾.

Las células de Sertoli aparte de dar soporte al desarrollo de los espermatozoides, también son responsables de la síntesis de una proteína fijadora de andrógenos (ABP) y de la inhibina⁽¹³⁵⁾, esta última ejerce un mecanismo de retroalimentación negativa sobre los centros hipotalámicos que controlan la producción de GnRH, por lo tanto disminuye la secreción FSH por la adenohipófisis^(135,162).

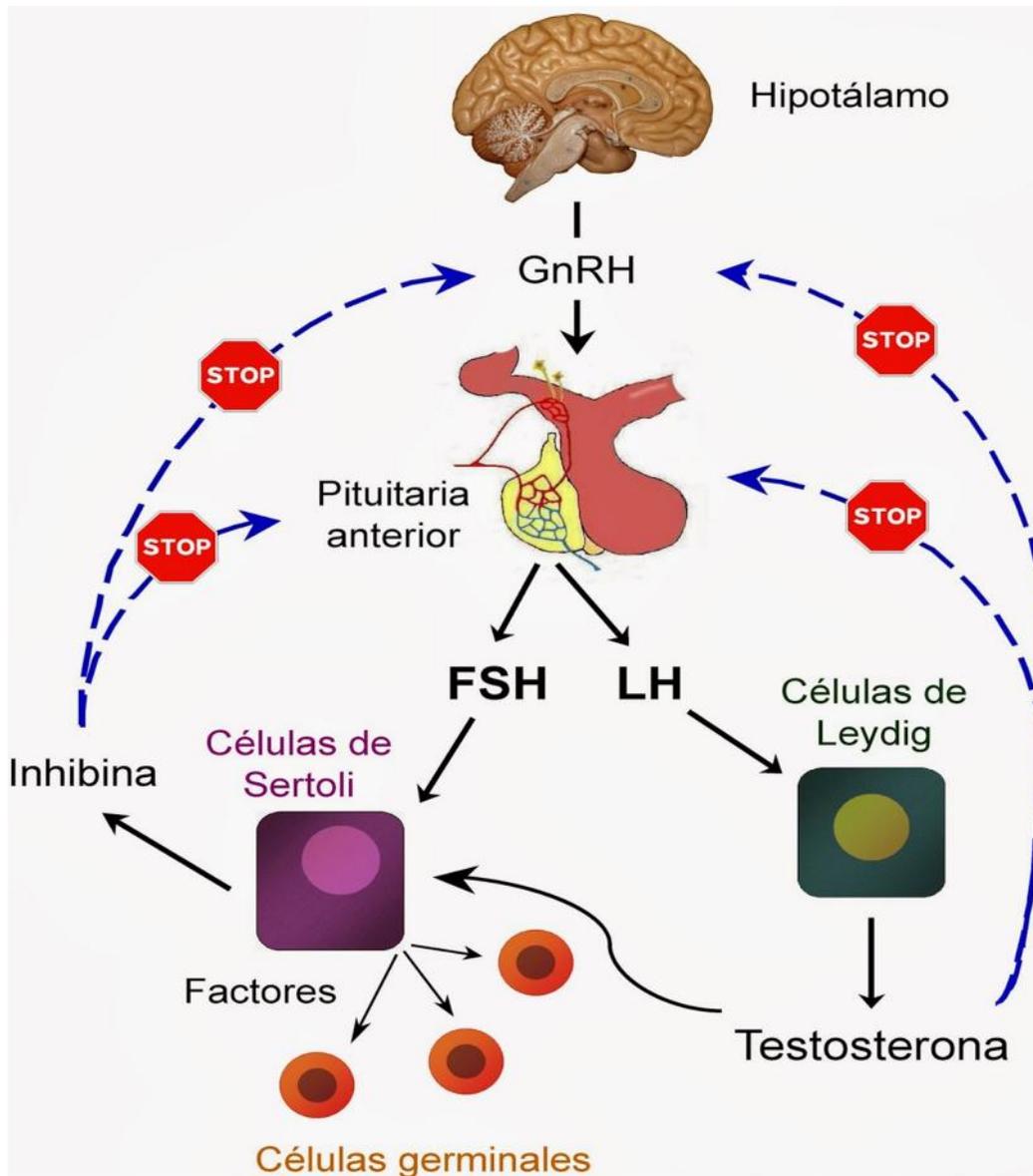


Figura 1. Eje hipotálamo – hipófisis – testículo.

Los testículos (Figura 2) son glándulas de forma ovalada que se encuentran dentro del escroto ⁽⁵⁹⁾ y tienen como función la secreción de andrógenos y la producción de espermatozoides ^(91,179). Los testículos se dividen en dos compartimentos (intersticial y tubular) los cuales contienen una variedad de diferentes tipos celulares. El compartimento intersticial o el espacio entre los túbulos seminíferos se encuentran los macrófagos, fibroblastos, vasos sanguíneos y las células Leydig donde se secretan los andrógenos ⁽⁵⁸⁾. El compartimento tubular, se encuentra dividido en compartimientos internos que se denominan lóbulos, que contienen a su vez conductos enrollados que se llaman túbulos seminíferos ⁽⁹¹⁾. Las células de Sertoli comprenden el componente estructural principal de los túbulos seminíferos; su función es la nutrición, sostén y control endocrino de las células germinales ⁽⁵⁸⁾, así como la secreción del fluido tubular seminífero y el mantenimiento de la barrera hemato testicular ⁽¹⁷²⁾, que se forma por uniones herméticas entre las células de Sertoli y segrega los túbulos seminíferos en el compartimento basal (que contiene espermatogonias, y espermatoцитos en preleptoteno y leptoteno) y el compartimento adluminal (que contiene las diferentes etapas de los espermatoцитos meióticos, espermátidas redondas, espermátidas alargadas y espermatozoides).

La barrera hemato testicular funciona como una barrera natural para regular el paso de diversas moléculas dentro y fuera del compartimento de abluminal de los túbulos seminíferos, y una barrera inmunológica para crear un entorno especializado para la diferenciación y el movimiento de las células germinales en desarrollo ⁽¹⁷⁴⁾. Las células mioideas, son células mesenquimales que rodean el borde exterior de los túbulos seminíferos que en conjunto con las células de Sertoli forman la membrana basal que es necesaria para mantener la morfología normal de los túbulos. Las células mioideas tienen la capacidad de contracción, lo que induce ondas e impulsos que ayudarán al transporte de los espermatozoides a través de la luz tubular hacia el epidídimo ⁽¹⁴²⁾.

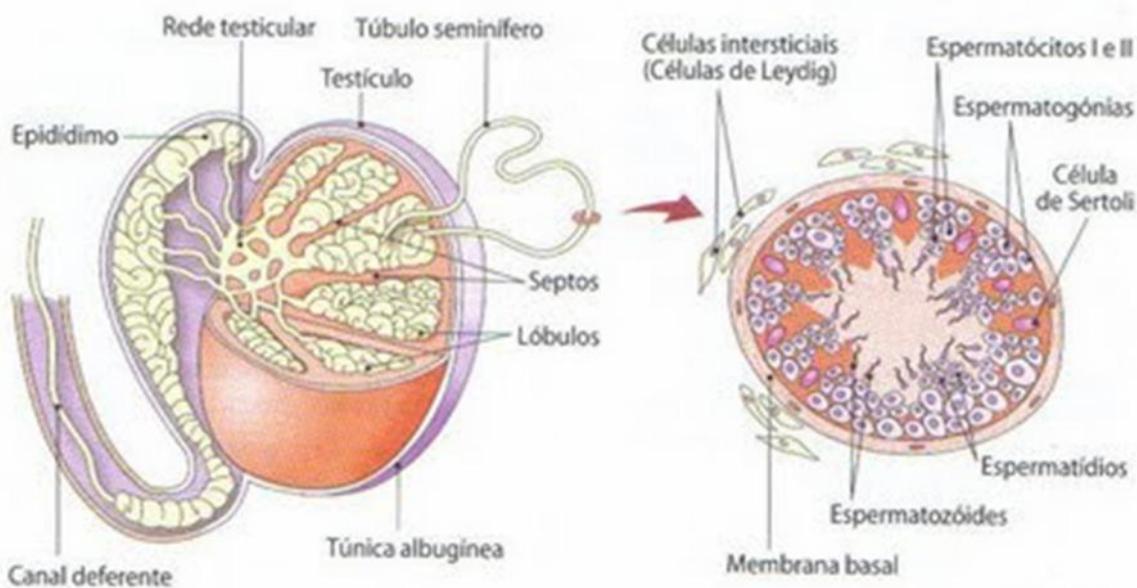


Figura 2. Estructura del testículo.

En el testículo adulto el número de células de Sertoli determina el tamaño y la producción diaria de espermatozoides, esta relación ocurre porque cada célula de Sertoli tiene determinada capacidad fija para sostener a cierta cantidad de células germinales ⁽¹²²⁾, por lo cual es de suma importancia la proliferación del número adecuado de células de Sertoli ⁽⁶¹⁾. En roedores las células de Sertoli proliferan durante dos periodos en la vida fetal y neonatal y en el humano sólo en el periodo peripuberal. En ratas se ha observado que el límite de proliferación de las células de Sertoli disminuye constantemente entre los días 5 a 15 después del nacimiento y durante los días 14 a 21, las células de Sertoli experimentan diferentes procesos que incluyen cambios morfológicos, la producción de proteínas que son esenciales para las células germinales y la formación de la barrera hematotesticular ⁽¹⁷³⁾.

Los factores que influyen en la proliferación celular en parte son genéticos, sin embargo las hormonas son muy importantes, en particular la FSH y las hormonas tiroideas ⁽¹⁵¹⁾. La FSH incrementa el índice de proliferación de las células de Sertoli, aunque también los factores no hormonales (por ejemplo los factores de crecimiento) tienen un papel fisiológico en la proliferación y función de las células de Sertoli ⁽⁶¹⁾.

Cerca de la entrada al periodo de maduración, las células de Sertoli experimentan cambios radicales en sus funciones y morfología anunciando el cambio del estado inmaduro proliferativo

hacia el estado maduro no proliferativo. El núcleo se ensancha y se convierte en tripartito y el nucléolo se hace más prominente. Las células de Sertoli adyacentes forman entre ellas uniones estrechas para crear un compartimiento único adluminal en el que las fases meióticas y post meióticas de la espermatogénesis pueden proceder ^(61,151).

Las células de Sertoli están consideradas como células de sostén con una función nutritiva, suministrando el soporte físico y nutricional para la maduración de las células germinales. Las células de Sertoli mantienen la barrera hematotesticular, la cual no sólo crea un lugar inmunológicamente privilegiado, sino que además suministra un medio ambiente adecuado para el desarrollo de la espermatogénesis ⁽¹⁶²⁾.

Las células de Sertoli sintetizan y secretan una gran cantidad de sustancias que pasan a la luz del túbulo formando parte del fluido tubular y/o espacio intersticial y de aquí hacia la circulación en general. Las sustancias más importantes son: 1) ABP, que mantiene localmente altas concentraciones de andrógenos necesarias para la maduración de las células germinales. 2) Los andrógenos sintetizados por las células de Leydig son necesarios para la estimulación de la espermatogénesis. 3) Inhibina y activina (hormonas proteínicas sintetizadas por las células de Sertoli), que intervienen en la regulación de la secreción de la FSH por la hipófisis anterior. 4) Transferrina, proteína que transporta hierro. 5) Factor de crecimiento seminífero (SGF, por sus siglas en inglés) que regula la proliferación de las células germinales ⁽⁶¹⁾.

La espermatogénesis (exocrina) y la biosíntesis de andrógenos (endocrina) son las principales funciones de los testículos; ambas funciones son complicadas y altamente reguladas. Los andrógenos, a través de la señalización del receptor de andrógenos (AR, por sus siglas en inglés) median una amplia gama de respuestas fisiológicas y procesos de desarrollo. La apropiada regulación de la actividad de los andrógenos a través del eje hipotálamo – hipófisis – testículo es necesaria para el desarrollo del fenotipo masculino, así como para la iniciación y mantenimiento de la espermatogénesis ⁽¹⁷⁴⁾.

La espermatogénesis es la secuencia de acontecimientos citológicos continuos mediante los cuales las células germinales inmaduras o espermatogonias se transforman en células germinales maduras o espermatozoides ⁽¹⁶²⁾. La duración del proceso completo de la espermatogénesis varía entre especies por ejemplo: 35 días en el ratón y hámster, aproximadamente 50 días en la rata ⁽³⁴⁾ y 74 días en el humano, realizándose en el testículo (64 días) y el epidídimo (10 días) ⁽¹⁶²⁾.

Este proceso se lleva a cabo a través de tres etapas: la primera se conoce como espermatocitogénesis o mitosis, en la cual se producen las células madre y los espermatoцитos primarios a través de un proceso de división mitótica. La segunda etapa es la meiosis, paso en el que ocurre la duplicación celular con cambios en el material genético, por medio de dos divisiones celulares que reducen el número de cromosomas de un estado diploide a haploide y da origen a las espermátidas. Como la última de las etapas se encuentra la espermatogénesis en la que se produce la diferenciación de la espermátida esférica a madura, que es finalmente liberada a la luz del túbulo seminífero como espermatozoides; en esta etapa es donde culmina la formación de una superestructura capaz de proteger la información genética de daños externos y que a la vez garantiza la energía necesaria para su transporte hasta el sitio de la fecundación. Durante la espermatogénesis se desencadenan procesos biológicos importantes como son: los cambios lipídicos de la membrana plasmática del espermatozoide, la lipoperoxidación (LPO) y la apoptosis de las células germinales no competentes ⁽⁷⁵⁾.

1.4. Estrés oxidante

La oxidación es un proceso bioquímico de pérdida de electrones siempre asociado a otro de captación llamado reducción. Estas reacciones de óxido y reducción son muy importantes en los procesos biológicos, puesto que los seres vivos obtienen la mayor parte de su energía libre a partir de ellas: en la fotosíntesis la energía solar impulsa la reducción del CO₂ y la oxidación del H₂O formando carbohidratos y oxígeno. Pero este oxígeno que es imprescindible para la vida, puede ser también fuente de daño celular a través de la producción incontrolada de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) que dañan las macromoléculas (lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ácidos nucleicos) y alteran los procesos celulares ⁽⁴¹⁾.

De las ROS inorgánicas las más importantes son el oxígeno molecular O₂, el radical-anión superóxido (O₂⁻), el radical hidroxilo (HO⁻) y su precursor inmediato el peróxido de hidrógeno (H₂O₂). De los secundarios u orgánicos, el radical peroxilo (ROO⁻), el hidroperóxido orgánico (ROOH) y los lípidos peroxidados ⁽⁴¹⁾. Los antioxidantes son sustancias con capacidad para oponerse a la acción del oxígeno, que en concentraciones muy pequeñas, comparadas con las de un sustrato oxidable, disminuye o evita la oxidación del mismo ⁽⁷³⁾.

Entre los antioxidantes se incluyen los sistemas enzimáticos como las enzimas derivadas del sistema citocromo-oxidasa, las superóxidodismutasas (Cu-ZnSOD y MnSOD), las catalasas y

peroxidasas como la glutatión peroxidasa y la glutatión reductasa. Así como sistemas no enzimático como las vitaminas, los minerales y polifenoles, a los que se denominan acarreadores o neutralizadores (*scavengers*) de radicales libres y pueden definirse como aquellas sustancias que donan electrones a otras, reduciéndolas y haciéndolas menos reactivas ⁽⁷²⁾.

Un exceso de radicales libres (moléculas o porciones de ellas, que presentan al menos un electrón desapareado en su orbital más externo y son extraordinariamente reactivos) rompen el equilibrio produciendo el llamado estrés oxidante u oxidativo que es la situación en la que se encuentra una célula que presenta un desequilibrio entre sustancias oxidantes y antioxidantes; bien sea por un exceso en la producción de ROS, o bien por una deficiencia en los sistemas de detoxificación de éstas. Un estado de estrés oxidante, induce en la célula efectos tóxicos por oxidación de lípidos, proteínas, carbohidratos y nucleótidos, lo cual produce acumulación de agregados intracelulares, disfunción mitocondrial, excitotoxicidad y apoptosis (muerte celular programada por la misma célula) ⁽⁷⁶⁾.

En los lípidos es donde se produce el mayor daño, en un proceso que se conoce como lipoperoxidación (LPO), la cual afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados ⁽¹⁵⁷⁾, como por ejemplo las células germinales ^(5,37). La LPO es un indicador de estrés oxidante en células y tejidos. Los peróxidos lipídicos, derivados de ácidos grasos polinsaturados, son inestables y se descomponen para formar una serie de compuestos complejos. Entre estos se incluyen compuestos carbonilo, de los cuales el más abundante es el malonildialdehído (MDA). Por esta razón, la cuantificación del MDA es ampliamente usada como indicador de lipoperoxidación ⁽²⁰⁾. Las consecuencias del daño en la estructura molecular de los ácidos grasos poliinsaturados son más evidentes cuando estos lípidos forman parte de las membranas celulares o subcelulares, ya que se altera su cohesión, fluidez, permeabilidad y función metabólica produciéndose edema y por lo tanto muerte celular ⁽⁸⁾.

La obesidad y la infertilidad masculina se han incrementado en paralelo ⁽¹⁰²⁾, esto explicaría potencialmente la correlación positiva entre obesidad masculina y baja calidad espermática y fertilidad ^(123,127). Lo que se ha observado en humanos y en modelos animales, es que los obesos presentan una movilidad espermática disminuida, así como defectos morfológicos en los espermatozoides ^(3,30,125) mayor daño en el ADN (ácido desoxirribonucleico) ⁽³⁰⁾ y mayor estrés oxidante ^(26,43,75,131) afectándose también la salud del feto en desarrollo y del subsecuente producto ^(13,49,105). Además, la obesidad se ha relacionado con el aumento de la temperatura

testicular, lo que a su vez altera la espermatogénesis provocando la infertilidad del individuo (22,71).

Mientras que la etiología de la infertilidad masculina es claramente multifactorial, se considera actualmente que el estrés oxidante juega un papel importante (2,153) y se ha sugerido que la adversidad nutricional ocurrida durante las primeras etapas del desarrollo, está asociado con un incremento en el estrés oxidante (48,99). Las reacciones de reducción-oxidación (reacciones redox) regulan la transcripción de factores clave que influyen en las vías de señalización celular implicadas en la proliferación, diferenciación y apoptosis. Se ha sugerido que las alteraciones en estos mecanismos, provocadas por estrés oxidante pueden sustentar muchas de las asociaciones conocidas entre la adversidad nutricional pre y postnatal y las alteraciones en la fisiología de la vida adulta (36).

En humanos, la obesidad masculina está asociada con un incremento en el estrés oxidante del esperma (152). Durante la espermatogénesis se desencadenan procesos biológicos importantes como son: los cambios lipídicos de la membrana plasmática del espermatozoide, la lipoperoxidación y la apoptosis de las células germinales no competentes (78). El daño al ADN del espermatozoide se mide mediante el análisis del estrés oxidante y ayuda a predecir la infertilidad (78). Los espermatozoides son particularmente susceptibles al daño por ROS porque: 1) contienen una alta concentración de ácidos grasos poliinsaturados y 2) las enzimas citoplásmicas antioxidantes son muy limitadas. Niveles elevados de ROS son detectados en el 25-40% del semen de hombres infértiles (35,83). Los lipoperóxidos y sus productos de degradación (MDA) son altamente tóxicos para las células sexuales masculinas (4,6), ocasionándoles daños en su membrana plasmática, en las proteínas, en el ADN y apoptosis (2,153).

Para que ocurra la fertilización primero debe darse el proceso de capacitación del esperma, ese proceso incrementa la hiperactividad y la receptividad para con el oocito. Una vez encontrado el oocito, ocurre la reacción acrosomal, este fenómeno permite la penetración del esperma a través de la zona pelúcida del oocito para que ocurra la fertilización (86). Los hombres obesos presentan disminuida la capacidad del esperma para llevar a cabo los procesos de capacitación y reacción acrosomal (13,100,176), también se observa en animales de experimentación (12,105). De forma similar, se ha reportado que ratas macho obesas tienen menor calidad espermática y mayor lipoperoxidación en el epidídimo (167). En una publicación muy reciente, nuestro laboratorio presenta evidencia de que la sobrealimentación de las madres incremento el

estrés oxidante testicular y espermático provocando el envejecimiento prematuro de la capacidad reproductiva de los hijos ⁽¹⁴⁰⁾.

Muchos factores pueden afectar la fertilidad masculina, siendo uno de ellos la obesidad, sin embargo, la obesidad no está rigurosamente relacionada con la infertilidad ⁽¹⁰³⁾. Un hombre obeso puede tener problemas de fertilidad por razones genéticas (la existencia de una predisposición genética a la obesidad ligada a la infertilidad está actualmente bajo investigación)⁽¹⁰³⁾, por desbalances hormonales (hormonas sexuales y/o endocrinas) ⁽¹²¹⁾, por tener lipomatosis escrotal ⁽¹⁵²⁾ que aumenta la temperatura y afecta la espermatogénesis ⁽²⁴⁾, porque padece apnea del sueño ^(23,124), por disfunción sexual (disfunción eréctil, entre otras) ⁽¹²⁴⁾, por estrés oxidante que está ligado estrechamente con el síndrome metabólico ⁽¹²⁴⁾, y/o porque tiene una mayor concentración de espermatozoides con ADN fragmentado ^(45,125).

Hasta hace poco, la posible relación entre la obesidad y la calidad reproductiva masculina había sido poco explorada ⁽¹⁶¹⁾. Se han propuesto varios mecanismos para explicar esta conexión, uno de ellos es la aromatización de la testosterona, paso clave en la síntesis de estrógeno, catalizada por el sistema enzimático aromatasa (altamente expresado en el tejido adiposo periférico), que convierte la testosterona en estradiol. Esta conversión periférica puede resultar en la disminución de la concentración de testosterona y el aumento de la concentración de estradiol, la deficiencia de andrógenos encontrados en los hombres que son obesos o que tienen el síndrome metabólico puede ser una explicación para la disfunción eréctil y la espermatogénesis disminuida, sin embargo, muchas otras hormonas asociadas con la obesidad podrían alterar el potencial reproductivo masculino ^(24,168).

Una revisión acerca de los efectos de la obesidad sobre la función reproductora masculina, reporta que en los hombres obesos aparecen deterioradas funcionalmente las tres poblaciones de células testiculares (células de Leydig, células de Sertoli y células germinales), lo que resulta en la disminución del conteo de espermatozoides y sus calidad ⁽⁵⁵⁾. Otra de las revisiones acerca del impacto de la obesidad sobre la fertilidad masculina, la función y composición molecular del semen, documenta que la obesidad masculina reduce la calidad del semen mediante modificaciones que se dan en la estructura física y molecular de las células germinales en los testículos y el espermatozoide maduro ⁽¹²⁴⁾.

En estudios llevados a cabo con animales de experimentación, se evaluó el efecto de la obesidad en el epitelio germinal en ratas con dieta normal para roedor y en otras en las que se

indujo la obesidad por medio de una dieta alta en grasa. Se observó que el grupo de ratas macho obesas presentó un aumento en la concentración de estradiol y una disminución en la concentración de testosterona, además de revelar que no hubo alteraciones estructurales en los tubos seminíferos, refiriendo que la espermatogénesis no se vio afectada, y a pesar de que no se encontró daño estructural en los testículos, si hubo reducción en la concentración, motilidad y viabilidad espermática ⁽¹⁶⁷⁾. Por otra parte, se investigaron los efectos de la obesidad inducida por la dieta en el proceso de desarrollo de los testículos en ratas púberes (21 días de edad) y el grupo alimentado con dieta alta en grasa aumentó 26.6% su peso a los 42 días de edad, y tenían reducidas concentraciones de testosterona y estradiol, aunque estos últimos aumentaron dramáticamente a los 63 días de edad. También las células epiteliales de espermatogénesis estaban dispuestas en desorden y era menor el número de espermatozoides maduros con respecto al grupo control ⁽¹⁷⁵⁾.

Una extensa revisión que buscaba evidencia de que la obesidad puede ser un estado de estrés oxidante crónico, encontró que la obesidad eleva el estrés oxidante por un aumento en la lipoperoxidación (malondialdehído, hidroperóxidos, 4-hidroxinonenal, isoprostanos, dienos conjugados) o en productos de oxidación del ADN (8-hidroxi-desoxiguanosina). Además encontraron que la lipoperoxidación se asocia con el índice de adiposidad y una baja en los sistemas de defensa antioxidantes. El estrés oxidante puede exacerbarse con el ejercicio agudo ^(39,181), la edad avanzada o condiciones clínicas coexistentes, pero puede ser corregido mediante la mejora de las defensas antioxidantes a través de modificaciones en la dieta, ejercicio moderado, cirugía y agentes farmacológicos, concluyendo que el estrés oxidante está relacionado con la obesidad pero es reversible con una o más de las intervenciones mencionadas ⁽¹⁷⁰⁾.

1.5. Ejercicio como mecanismo de intervención para mejorar la calidad espermática y la fertilidad

El ejercicio en adultos provee de numerosos beneficios para la salud ^(25,160) y es un mecanismo de intervención de bajo costo y de bajo riesgo comparado con las cirugías y el tratamiento farmacológico ⁽⁹³⁾. Sin embargo, son muy escasos los estudios epidemiológicos o con modelos animales que utilicen el ejercicio y/o dieta para mejorar la calidad espermática y/o fertilidad en obesos ⁽⁶⁸⁾. Un estudio realizado con pacientes de una clínica de reproducción asistida demuestra que los hábitos de actividad física y el IMC se relacionan directamente con la

calidad espermática masculina: los hombres obesos y con sobrepeso presentaron menor recuento de espermatozoides móviles y un porcentaje mayor de anomalías espermáticas que aquellos varones que tenían un IMC normal y que reportaron tener hábitos de actividad deportiva regular. En esta investigación se sugiere que los hábitos deportivos y el IMC sean criterio de selección previo a la donación de espermatozoides, además de sugerir dieta y ejercicio a aquellos hombres que desean someterse a tratamientos de reproducción asistida ⁽²⁵⁾.

Cambios en el estilo de vida que induzcan la pérdida de peso como intervenciones en la dieta y la actividad física pueden mejorar los parámetros seminales y por ende la fertilidad en hombres obesos ⁽²⁴⁾. En un programa de pérdida de peso basado en dieta saludable y ejercicio diario y que duró 14 semanas, se pudo demostrar mejoría significativa en la calidad espermática de los hombres que perdieron más peso. Este estudio contó con 43 hombres obesos con una media de edad de 32 años y es el primer estudio de cohorte conocido que investiga la asociación entre pérdida de peso (con dieta y ejercicio) y calidad espermática, sin embargo, no se pudo excluir que los cambios en el estilo de vida causaron las mejorías observadas en la calidad espermática, antes que la reducción en el peso *per se* por eso los autores sugieren hacer un estudio de cohorte con un número mucho mayor de participantes, que dure más tiempo y que incluya rangos más amplios de IMC ⁽⁶⁸⁾.

Por otra parte, la disminución del peso a través del ejercicio y la dieta, en ratones, lograron revertir anomalías fisiológicas del esperma asociadas con la obesidad ⁽¹²⁵⁾. En esta misma investigación se demostró que la calidad espermática está correlacionada con la salud metabólica del individuo, entendiéndose por salud metabólica como un retorno a la normalidad de las concentraciones de glucosa, insulina y colesterol, lo que a su vez mejoró la movilidad y la morfología del esperma, redujo el estrés oxidante y redujo el daño en el ADN, también mejoraron la capacitación y la reacción acrosomal ⁽¹²⁵⁾.

Nosotros hemos encontrado que el ejercicio voluntario efectuado por ratas jóvenes crías de madres obesas fue capaz de compensar parcial o totalmente algunas de las alteraciones metabólicas asociadas con la obesidad materna de acuerdo al sexo de las crías ⁽⁸¹⁾, pero hasta el momento no hay estudios reportados en donde el ejercicio se haya usado como mecanismo de intervención para mejorar la disminuida calidad espermática y función reproductiva de los hijos de madres obesas.

2. JUSTIFICACION

Los estímulos medio ambientales que por exceso o por defecto ocurran en periodos sensibles del desarrollo del feto, pueden programar un órgano o tejido para que en la vida adulta presente disfunciones que pueden afectar su salud. Los efectos de la programación del desarrollo en la capacidad reproductiva de los hijos están escasamente documentados, en nuestro grupo de trabajo hemos publicado que la restricción proteínica reduce en la vida adulta, la capacidad reproductiva de las crías macho. Un efecto similar observamos también en el porcentaje de espermias normales (apreciable desde los 110 días de edad) de los hijos obesos cuando se indujo la obesidad en la madre por medio de la dieta. La posibilidad de revertir los efectos de la programación en la capacidad reproductiva de los hijos mediante la aplicación de mecanismo de intervención de bajo costo y riesgo resulta de sumo interés sobre todo cuando las estadísticas demuestran que a nivel mundial la infertilidad masculina se ha incrementado en paralelo con la obesidad. Así que para el presente estudio quisimos saber si el ejercicio físico voluntario podría ser un mecanismo de intervención efectivo para revertir los efectos de la obesidad materna en la calidad espermática y capacidad reproductiva de las crías macho, aún si se iniciaban en esta actividad a los 330 DPN, edad en la cual previamente habíamos visto que se veía afectada la tasa de fertilidad.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Mediante el uso de modelos experimentales se ha observado que los descendientes de madres obesas son obesos y con diferentes alteraciones de tipo metabólico, reproductivo y conductual. A nivel reproductivo nosotros hemos observado que los hijos macho de madres obesas son obesos y con menor calidad y función reproductiva que los hijos de madres de peso normal. Resulta importante conocer si intervenir a los hijos obesos con ejercicio puede mejorar su función reproductiva aun cuando comiencen con la intervención a una edad en que previamente hemos visto que se ve afectada la tasa de fertilidad.

4. HIPÓTESIS

El ejercicio regular puede revertir los efectos adversos de la programación por obesidad materna en la calidad espermática y fertilidad de los hijos macho, aún, si este es practicado por primera vez en etapa adulta.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Determinar los efectos del ejercicio voluntario en la calidad espermática y función reproductiva en ratas macho, hijos de madres obesas.

5.2. Objetivos particulares

- Estandarizar el modelo de ejercicio.
- Determinar el índice de adiposidad: total de tejido adiposo (g) / peso corporal (g).
- Determinar en testículos y/o esperma la concentración, la viabilidad, la movilidad espermática, la lipoperoxidación y la actividad antioxidante.
- Evaluar la tasa de fertilidad.

6. DISEÑO EXPERIMENTAL

En la figura 3 se observan los grupos experimentales comenzando con las madres F_0 que fueron intervenidas por medio de la dieta para crear un grupo de madres obesas y un grupo de madres control. Tras el destete y a través de todo el experimento, los hijos macho F_1 fueron alimentados con dieta control. Se formaron los 4 grupos experimentales F_1 para iniciar la adaptación al ejercicio 5 días antes de comenzar la intervención. Los machos experimentales usaron la rueda durante 120 días, en sesiones de 15 minutos diarias por cinco días a la semana. Diez días antes de culminar el experimento se midió la tasa de fertilidad. A los 450 días de edad (15 meses), las ratas fueron sacrificadas para la obtención de los tejidos a analizar.

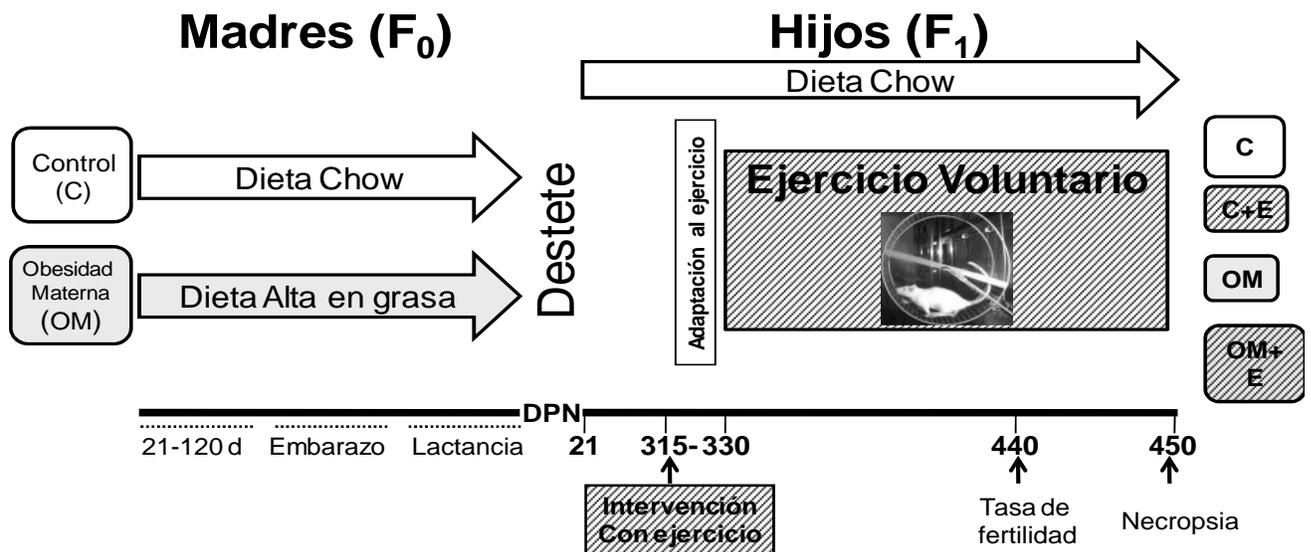


Figura 3. Diseño de estudio. d = edad materna en días y DPN = días postnatales. Grupos experimentales: control (C), control con ejercicio (C+E), obesidad materna (OM) y obesidad materna con ejercicio (OM+E).

7. METODOLOGIA

7.1. Animales de experimentación

Se emplearon ratas hembras albinas de la especie *Rattus norvegicus* cepa *Wistar* que nacieron y fueron criadas en las instalaciones del Bioterio del Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ), que es acreditado por la Asociación internacional para la evaluación y acreditación del cuidado de animales de laboratorio (AAALAC por sus siglas en inglés). Todos los procedimientos fueron aprobados por el comité de ética para la experimentación animal del INNSZ, México D.F, México.

7.2. Madres experimentales F₀

Hembras de 21 días de edad (destetadas) provenientes de la misma camada, que fueron proporcionadas por el Bioterio del INNSZ, fueron asignadas al azar dentro de los grupos de experimentación:

- Grupo C (n=5) que recibieron la croqueta de alimento comercial para rata de laboratorio.
- Grupo OM (n=5) que recibieron la croqueta especial fabricada en nuestro laboratorio para inducir obesidad (Tabla 3).

Tabla 3. Composición nutricional de las dietas.

NUTRIENTE	DIETA CONTROL g /100 g de croquetas	DIETA OBESOGÉNICA g /100 g de croquetas
Proteína	22.0	23.4
Grasa vegetal	5.0	5.0
Grasa animal (manteca)	0	20.0
Polisacáridos	31.0	20.59
Azúcares simples	31.0	20.59
Fibra dietética	4.0	4.42
Minerales	6.0	5.0
Vitaminas	1.0	1.0
Contenido energético	381 Kcal / 100 g	483.32 Kcal / 100 g

Así cada grupo quedó conformado por hembras hermanas que fueron alimentadas unas con la dieta C y otras con la dieta OM, de esa manera se otorgó la máxima homogeneidad posible en cuanto a genética y programación del desarrollo a estas crías hembra que al crecer serían las madres F_0 .

7.3. Camada F_1

Cuando las hembras F_0 cumplieron 120 días, les fueron asignados al azar machos para su fecundación. Con el fin de minimizar el consumo de la dieta obesogénica por parte de los machos durante el periodo de apareamiento, estos fueron colocados junto a las hembras en la noche y retirados en la mañana. El apareamiento fue comprobado mediante frotis vaginal cada 24 horas (08.00 h) durante 5 días. Los frotis fueron teñidos con solución de lugol (INNSZ) y observados bajo microscopio fotónico (Axiostar Plus de Carl Zeiss®) a un objetivo de 100x. En el momento en que observamos espermatozoides en el frotis éste se consideró positivo y se registró como día cero de gestación.

El tamaño de la camada y el peso de cada cría fueron registrados al nacimiento. La distancia ano-genital se midió para identificar machos y hembras ⁽¹⁸⁶⁾. Las camadas con menos de 10 ó más de 14 crías fueron excluidas. Para asegurar la homogeneidad de la camada F_1 , el día posterior al nacimiento (DPN) 2, todas las camadas estudiadas se ajustaron lo mejor posible a 10 crías con igual número de machos y hembras. Sólo los machos en las camadas fueron usados para el estudio. Las hembras fueron utilizadas para otros fines. Las crías macho fueron destetadas el DPN 21, ubicadas en jaulas (5 por jaula) y alimentadas con croqueta comercial (dieta control) a lo largo del estudio.

El DPN 330 un macho de cada camada y grupo fue seleccionado azarosamente para comenzar el ejercicio en la rueda para correr. Escogimos esta edad porque en un estudio realizado en nuestro laboratorio, observamos que la tasa de fertilidad en machos adultos jóvenes (alrededor de 110 días de edad), hijos de madres obesas, no era diferente con respecto a los hijos control, sin embargo si había diferencias en algunas hormonas (como la testosterona) y en los parámetros espermáticos (concentración, viabilidad y motilidad) que indicaban que si estaban afectados a esta edad. Sin embargo, cuando los machos envejecieron (después de 300 días), la tasa de fertilidad si disminuyó en los hijos de madres obesas en comparación con los hijos de

madres control ⁽¹⁴⁰⁾. De modo que decidimos aplicar el ejercicio en las ratas después de que la función se ve afectada para comparar si por medio del ejercicio podía mejorar o no.

7.4. Ejercicio voluntario moderado

Las ratas F₁ C+E y OM+E fueron entrenadas para usar la rueda desde el DPN 315 hasta el DPN 330. Dichas sesiones previas no duraron más de 10 minutos en las que los animales fueron colocados en la rueda para ejercicio y mediante el uso de los dedos o de algún objeto se les motivó a mover la rueda por sí mismos, a veces fue necesario un ligero impulso manual no mayor a un cuarto de vuelta. Este entrenamiento previo permitió iniciar el experimento con todos los animales aptos para mover la rueda voluntariamente. El tiempo de 15 minutos que duró la sesión de ejercicio se determinó observando que las ratas más jóvenes podían correr segmentos dobles de 15 minutos dejando otros 15 minutos de descanso entre ellos, pero en ratas más viejas no era posible que volvieran a correr aún tras el descanso, por eso se determinó que para la edad en que estas ratas iniciarían el experimento (DPN 330), 15 minutos de uso de la rueda era el tiempo adecuado. El esquema de ejercicio voluntario empleado en el presente estudio no implicó estímulos aplicados por el dispositivo experimental ni por el experimentador para mantener la rata en actividad (por ejemplo, descargas eléctricas).

Para asegurar un tiempo de recuperación como en los programas de entrenamiento de atletas humanos, el estudio permitió a las ratas 2 días de descanso a la semana que no fueran consecutivos. Las ratas corrieron una sesión de 15 minutos al día, 5 días por semana, durante cuatro meses (DPN 330 – DPN 450). La distancia recorrida se cuantificó usando un odómetro de bicicleta (Figura 4). La última sesión de ejercicio tuvo lugar 24 horas antes de la toma de muestras de tejidos.

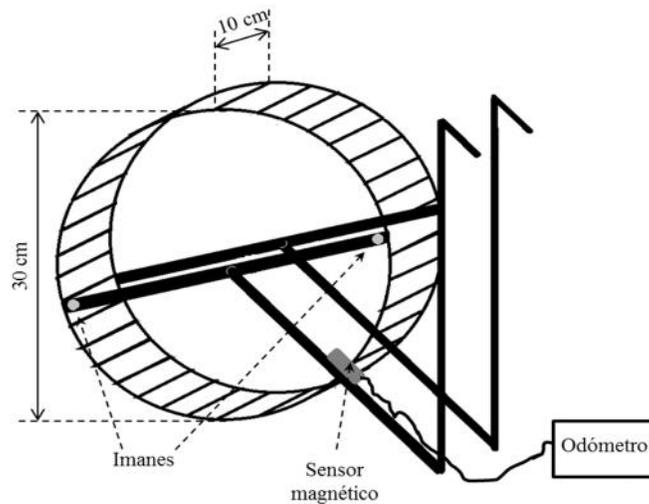


Figura 4. La rueda para roedor consistió en 2 circunferencias paralelas de metal de 30 cm de diámetro, unidas por peldaños de 10 cm de largo, soportadas por una barra diametral colocada a cada lado y ensamblada a un eje metálico que permitía el libre giro. En cada extremo de la barra diametral fue colocado un imán para que se pudiera registrar el movimiento por medio del sensor magnético del odómetro. Cada revolución fue contabilizada como 1.885 m recorridos de acuerdo a la circunferencia de la rueda ($\pi \times (0.3 \text{ m})$). El dispositivo experimental se situó a una altura mayor a 30 cm con respecto al piso.

7.5. Evaluación de la tasa de fertilidad

El DPN 440 los machos experimentales fueron colocados junto con hembras vírgenes no experimentales de 4 meses de edad, por una semana, un macho con dos hembras. Después de retirar a los machos para seguir con los experimentos, las hembras estuvieron en observación durante 15 días en jaulas individuales. Los machos fueron considerados fértiles cuando al menos una de las dos hembras resultó preñada ⁽¹⁹⁰⁾. Los resultados fueron expresados como el porcentaje de machos fértiles así como de hembras preñadas.

7.6. Eutanasia

Tras 6 horas de ayuno, las ratas macho fueron decapitadas por personal entrenado y con experiencia en el uso de guillotina para roedores (Thomas Scientific, USA). La decapitación fue llevada a cabo entre las 12.00 y las 14.00 horas. Los testículos fueron disectados, se les retiró la grasa, se pesaron, se congelaron y se almacenaron a -70°C hasta el análisis. Los cojinetes de

grasa pancreática, retroperitoneal, gonadal y del esternón, fueron disectados y pesados individualmente. El índice de adiposidad fue calculado como total de tejido adiposo (g) / peso corporal (g). La cola del epidídimo y los conductos deferentes fueron removidos rápidamente y colocados en solución salina a 37°C para extraer los espermatozoides limpiando los conductos deferentes con pinzas y por medio de la trituración de la cola del epidídimo con tijeras.

7.7. Tejidos y preparación de la muestra

Los testículos congelados fueron homogenizados en una solución salina y las alícuotas fueron congeladas a -70°C por no más de 24 horas para la posterior cuantificación de proteína usando el método Bradford y para la determinación de la actividad de las enzimas antioxidantes y la lipoperoxidación se hizo al tiempo de la homogenización de los testículos.

Todas las determinaciones fueron tomadas por duplicado y promediadas para el análisis estadístico. Las alícuotas con esperma contenían 5×10^6 y 10×10^7 espermatozoides y fueron sometidas a 6 ciclos de choques térmicos de -70°C hasta 45°C, sonicación por 2 minutos con intervalos de 20 segundos cada una y después fueron colocadas en hielo y congeladas a -70°C por no más de 24 horas para la posterior cuantificación de las enzimas antioxidantes.

7.8. Análisis de la lipoperoxidación en esperma y testículo

La lipoperoxidación fue determinada mediante la medición de la concentración del malondialdehído (MDA) tanto en alícuotas de 5 millones de espermatozoides aforadas a 100 μ l con solución salina, como en alícuotas de 100 μ l de testículo homogeneizado, usando la prueba de TBARS (especies reactivas al ácido tiobarbitúrico, por sus siglas en inglés). Esta prueba consiste en la adición de 5 μ l de BHT (butil hidroxitolueno) disuelto en etanol (9.38 mg/1.5 μ l) y 300 μ l de una solución de ácido tiobarbitúrico (50 mg/10 ml), HCL (ácido clorhídrico, 200 μ l/10ml) y TCA (ácido tricloroacético, 1.6 g/10 ml). Las muestras se incubaron a 45°C durante una hora, transcurrida la incubación se centrifugaron las muestras a 8000 rpm en una centrifugadora marca Sorval RT7 por 15 minutos a 6°C. Finalmente se midió la absorbancia a una longitud de onda de 532 nm en un espectómetro de luminiscencia Perkin-Elmer LS50-B. Los resultados fueron expresados como nmol de MDA por mg de proteína ó nmol de MDA por 5×10^6 de espermatozoides.

7.9. Actividad de la Superóxido dismutasa (SOD) en esperma y testículo

La actividad de la SOD fue determinada en alícuotas de 10 µl de testículos homogeneizados o en alícuotas de esperma de 5×10^6 con un estuche comercial RANSOD (RANDOX laboratorios limited, UK). El método emplea Xantina y Xantin oxidasa para formar radicales superóxido y mide la actividad de SOD por el grado de inhibición de la reacción. Las muestras fueron procesadas de la siguiente forma: se colocaron 10 µl de cada muestra en una placa y se le añadieron 212.5 µl del sustrato mixto que contiene la Xantina y el I.N.T (cloruro de 2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-fenil tetrazolio) y posteriormente 31.3 µl de Xantina oxidasa. La placa fue agitada vigorosamente. Todas las muestras fueron leídas en una lámina a 505 nm en el espectómetro de luminiscencia Perkin-Elmer LS50-B, a diferentes tiempos (0, 30 seg y 3 min) y a 37°C para obtener los deltas de absorbancia. Los resultados fueron expresados como unidades de actividad por mg de proteína o por % de actividad por 5×10^6 de espermatozoides. Se obtuvo una curva estándar de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

7.10. Actividad de la Glutación peroxidasa (GPx) en testículo y esperma

La actividad de la GPx se determinó en alícuotas de 10 µl de testículos homogeneizados o alícuotas de 5×10^6 de espermatozoides con el estuche comercial RANSEL (RANDOX laboratorios limited, UK). En este método, la GPx cataliza la oxidación de glutación por medio del hidróxido de cumeno. El glutación oxidado en presencia de la glutación reductasa y NADPH (enzima nicotinamida adenina dinucleótido fosfato), es convertido a su forma reducida con una oxidación concomitante de NADPH en NADP^+ (su forma oxidada). Se mide la reducción de la actividad. Las muestras fueron procesadas de la siguiente manera: se colocaron 10 µl de cada muestra en una placa y se les añadieron 250 µl del reactivo R1a que contiene glutación, glutación reductasa y NADPH; posteriormente se les agregaron 10 µl de hidroperóxido de cumeno. La placa fue agitada vigorosamente. Todas las muestras fueron leídas en una lámina a 304 nm en el espectómetro de luminiscencia Perkin-Elmer LS50-B a diferentes tiempos (0, 1 min, 2 min, 3 min) a 37°C para obtener los deltas de absorbancia.

Los resultados fueron expresados como miliunidades por mg de proteína en los testículos o como unidades de actividad por 10×10^7 de espermatozoides.

7.11. Mediciones del esperma

La viabilidad del esperma se evaluó mediante la mezcla de 10 μ l de la solución salina (0.90 % w/v de NaCl) que contenía espermatozoides con 10 μ l de eosina. Se contaron 200 células bajo el microscopio óptico. Los espermatozoides vivos fueron identificados por la integridad de la membrana que impide que los espermatozoides se tiñan con eosina, mientras que los espermatozoides muertos fueron identificados fácilmente después de la tinción ^(16,182). Los resultados se expresaron como el porcentaje de células vivas / muertas en relación con el número total de espermatozoides contados. La concentración y motilidad de los espermatozoides fue evaluada utilizando equipos automatizados (Sperm Quality Analyzer).

7.12. Análisis estadísticos

Todos los datos se presentan como la media aritmética (promedio) \pm el error estándar de la media (EE). Con el fin de analizar los diversos parámetros de los descendientes (correspondientes a los cuatro grupos experimentales), se llevó a cabo el Análisis de Varianza (ANOVA por su abreviación en inglés) de una vía, en donde la alimentación materna y el esquema de ejercicio fueron considerados como factores correspondientes al análisis. Se empleó la prueba de comparación múltiple de Turkey en el ANOVA. La tasa de fertilidad fue analizada usando el test de X^2 . En todos los casos $n=5$ para cada camada y $p < 0.05$ se consideró significativa.

8. RESULTADOS

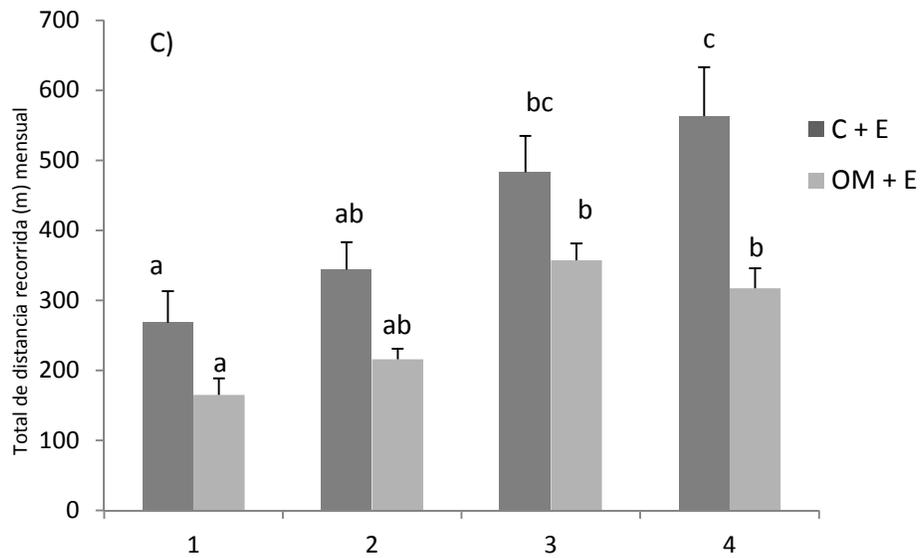
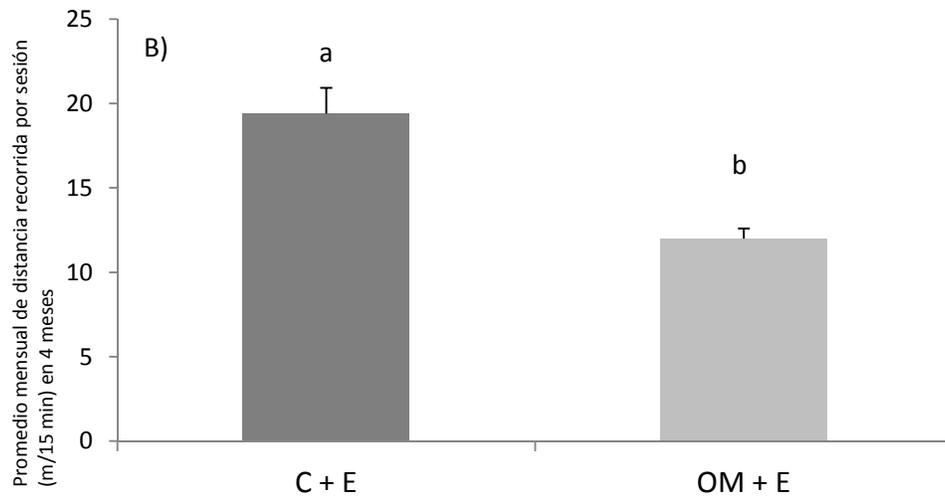
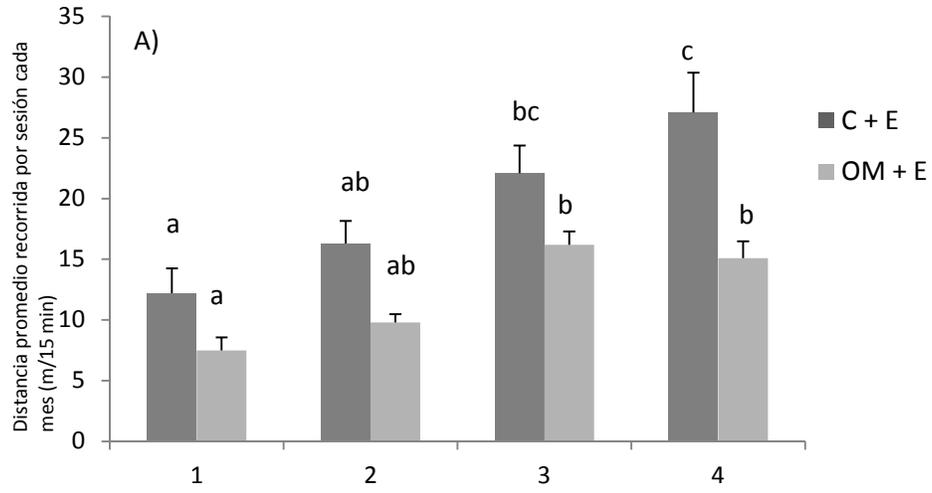
8.1. Ejercicio voluntario

La distancia promedio mensual recorrida en 15 minutos de sesión, fue significativamente menor en el grupo OM+E (15.1 ± 1.37 m/15 min) que en el grupo C+E (27.1 ± 3.26 m /15 min) (Figura 5-A).

La distancia promedio por sesión que recorrieron las ratas en los 4 meses que duró el experimento, fue significativamente menor en el grupo OM+E (12.1 ± 0.61 m) comparado con el grupo C+E (19.4 ± 0.9 m) (Figura 5-B)

La distancia total recorrida en cada uno de los cuatro meses de ejercicio muestra que en ambos grupos (OM+E y C+E) la distancia recorrida mes tras mes se fue incrementando, sin embargo, el grupo OM+E recorrió menos distancia mensual (317 ± 28.7 m) que el grupo C+E (563 ± 70 m) (figura 5-C)

Finalmente, la distancia total recorrida durante el experimento indica que el grupo OM+E recorrió 63.6 % menos distancia que el grupo C+E (263.75 ± 13.2 m vs 414.5 ± 33.4 m) (Figura 5-D).



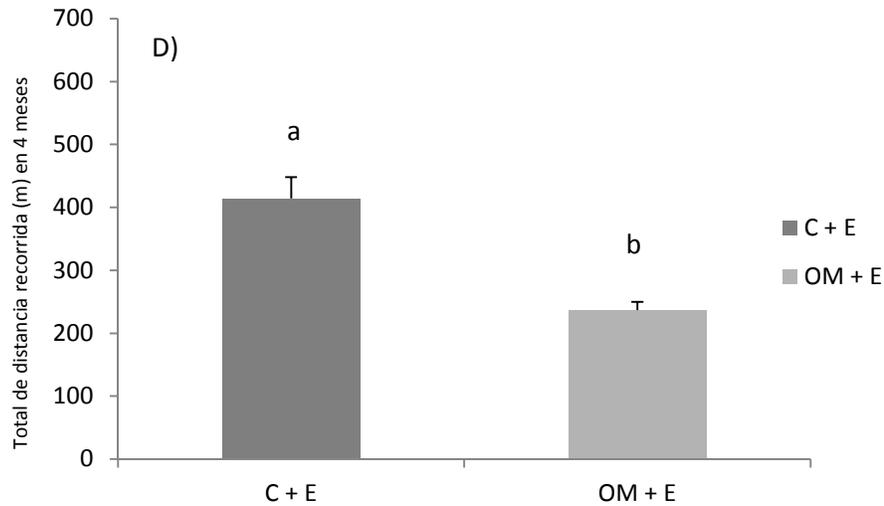


Figura 5. Ejercicio voluntario en la rueda para roedor efectuado desde el día postnatal 330 al 450 entre los grupos de machos F_1 hijos de madres alimentadas con dieta control e intervenidos con ejercicio (C+E) e hijos de madres alimentadas con dieta obesogénica e intervenidos con ejercicio (OM+E). A) Distancia promedio recorrida en 15 minutos de sesión cada mes (m/15 min), B) Distancia promedio recorrida por sesión (m/15 min) en los cuatro meses que duró el experimento, C) Total de distancia recorrida cada mes (m), D) Total de distancia recorrida en los cuatro meses que duró el experimento (m). Promedio \pm EE, $n=5$ machos de diferentes camadas en cada grupo. Columnas que no comparten al menos una letra son estadísticamente diferentes, $p < 0.05$.

8.2. Peso corporal, índice de adiposidad y grasa gonadal

Al término de los cuatro meses que duró el experimento con la intervención, el grupo OM presentó el peso corporal significativamente más alto (627.0 ± 12 g) con respecto a los grupos C (546.0 ± 25.0 g) y C+E (484.0 ± 13.0 g). Resulta apropiado mencionar que en una medición realizada el DPN 320 el grupo OM ingería 20 g/día de alimento y el grupo C ingería 18 g/día, sin embargo la diferencia no fue estadísticamente significativa, acercándose al final del experimento otra medición demostró que los grupos comían prácticamente la misma cantidad de comida. La diferencia en peso entre OM y OM+E no fue significativa, tampoco hubo diferencia en el peso entre C y C+E. Entre los grupos intervenidos con ejercicio, OM+E tuvo mayor peso que C+E (586.0 ± 16.0 g vs 484.0 ± 13.0 g). El ejercicio no afectó el peso de manera estadísticamente

significativa con respecto a los grupos control. El grupo C+E tuvo el menor peso corporal (484.0 ± 13.0 g) (Figura 6-A).

El índice de adiposidad medido como total de tejido adiposo (g) / peso corporal (g) y expresado como porcentaje (%), fue significativamente mayor en el grupo OM ($8.10 \pm 0.40\%$) con respecto a C ($5.80 \pm 0.30\%$) y C+E ($5.50 \pm 0.40\%$). No hubo diferencias significativas entre el índice de adiposidad de OM con respecto a OM+E ni entre C y C+E. Tampoco entre C+E y OM+E. El ejercicio no afectó el índice de adiposidad de manera estadísticamente significativa con respecto a los grupos control. El grupo C+E tuvo el menor índice de adiposidad ($5.50 \pm 0.40\%$) (Figura 6-B).

La grasa gonadal (g) fue significativamente mayor en el grupo OM (16.0 ± 1.30 g) con respecto a C (12.0 ± 0.40 g) y C+E (11.2 ± 1.10 g). No hubo diferencias significativas entre la grasa gonadal de OM con respecto a OM+E ni entre C y C+E. Tampoco entre C+E y OM+E. El ejercicio no afectó la grasa gonadal de manera estadísticamente significativa con respecto a los grupos control. El grupo C+E tuvo la menor cantidad de grasa gonadal (11.2 ± 1.10 g) (Figura 6-C). Cabe mencionar que el peso testicular fue similar en todos los grupos (C: 1.6 ± 0.05 , C+E: 1.5 ± 0.05 , OM: 1.7 ± 0.05 , OM+E: 1.7 ± 0.04 g).

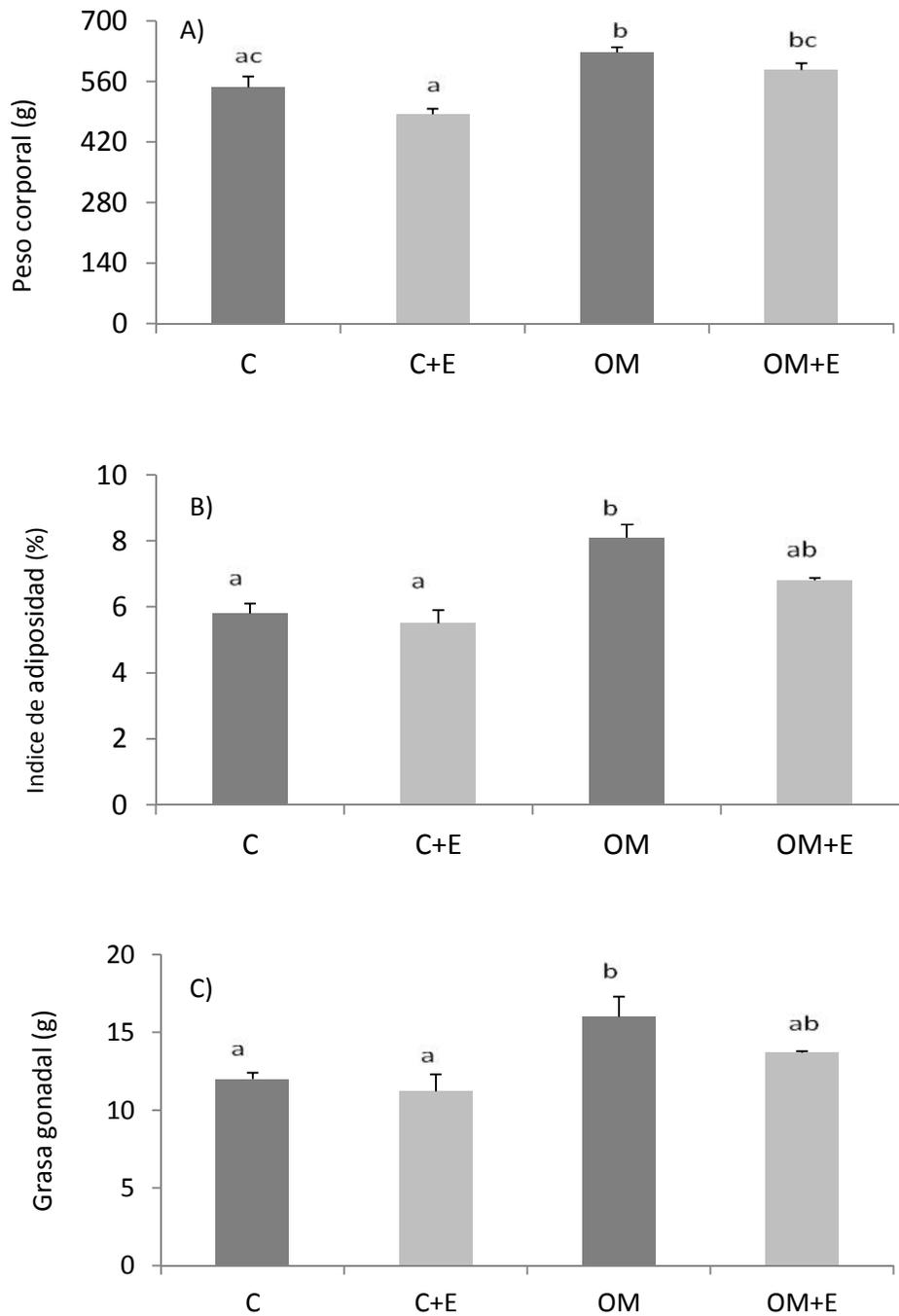


Figura 6. *Peso corporal, Índice de adiposidad y grasa gonadal al día postnatal 450 entre los grupos de machos F₁ descendientes de madres alimentadas con dieta control (C), hijos de madres alimentadas con dieta control e intervenidos con ejercicio (C+E), hijos de madres alimentadas con dieta obesogénica (OM) e hijos de madres alimentadas con dieta alta en grasa e intervenidos con ejercicio (OM+E). A) Peso corporal (g), B) Índice de adiposidad (%) y C)*

Grasa gonadal (g). Promedio \pm EE, n=5 machos de diferentes camadas en cada grupo. Columnas que no comparten al menos una letra son estadísticamente diferentes, $p < 0.05$.

8.3. Biomarcadores de estrés oxidante testicular

El MDA (nmol/mg de proteína) a nivel testicular fue significativamente mayor en el grupo OM (73.6 ± 1.4) con respecto a C (56.3 ± 5.2), C+E (31.0 ± 5.8) y OM+E (44.6 ± 2.0). La lipoperoxidación fue significativamente mayor en C que en C+E y en OM comparado con OM+E demostrando el efecto benéfico del ejercicio al reducir el MDA con respecto a los grupos control. El grupo C+E tuvo el valor más bajo de MDA (56.3 ± 5.2) (Figura 7-A).

La SOD (mU/mg de proteína) a nivel testicular fue significativamente más elevada en el grupo OM (41.5 ± 1.4) que en el grupo C (26.9 ± 0.2) y también fue más elevada en OM+E (42.2 ± 4.6) comparado con C (26.9 ± 0.2) y C+E (22.9 ± 3.1). La intervención con ejercicio no fue significativa con respecto a los grupos control. El ejercicio aumentó la concentración de SOD en OM+E más que en C+E. El grupo C+E tuvo el valor más bajo de actividad de SOD (56.3 ± 5.2) (Figura 7-B).

La actividad de la GPx (mU/mg de proteína) a nivel testicular fue significativamente más elevada en el grupo OM (144 ± 5.0) con respecto a C (96.0 ± 4.4), C+E (45.0 ± 3.2) y OM+E (44.3 ± 3.0). El ejercicio redujo la actividad de la GPx con respecto a los grupos control. No hubo diferencias significativas entre los grupos que hicieron ejercicio. El grupo OM+E tuvo el valor más bajo de GPx (Figura 7-C).

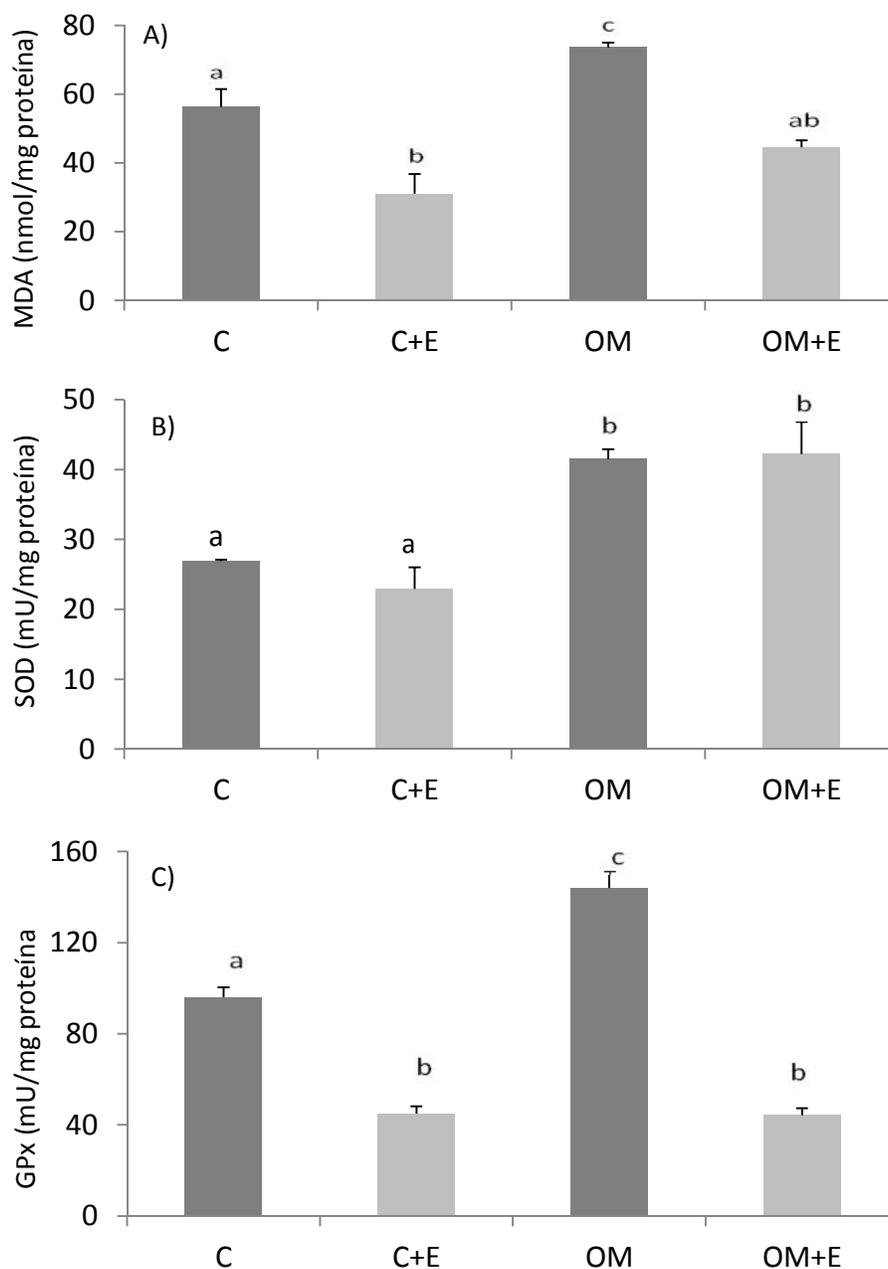


Figura 7. Biomarcadores de estrés oxidante testicular en los grupos de machos F_1 hijos de madres que consumieron dieta control (C), hijos de madres que consumieron dieta control e intervenidos con ejercicio (C+E), hijos de madres que consumieron dieta alta en grasa (OM), e hijos de madres que fueron alimentadas con dieta obesogénica e intervenidos con ejercicio (OM+E). A) Malondialdehído (MDA), B) Superóxido dismutasa (SOD) y C) Glutatión peroxidasa (GPx). Promedio \pm EE, $n = 5$ machos de diferentes camadas en cada grupo. Columnas que no comparten al menos una letra son estadísticamente diferentes, $p < 0.05$.

8.4. Biomarcadores de estrés oxidante espermático

La concentración de MDA (nMol/10⁶espermas) fue significativamente mayor en OM (581.0±3.0) comparado con C (317.0±7.0), C+E (246.0±5.0) y OM+E (437.0±8.0). La lipoperoxidación en el esperma fue significativamente mayor en C que en C+E y en OM comparado con OM+E demostrando el efecto benéfico del ejercicio al reducir el MDA con respecto a los grupos control. El ejercicio aumentó más la concentración de MDA en OM+E más que en C+E. El grupo C+E tuvo el valor más bajo de MDA en el esperma (Figura 8-A).

La SOD (% de actividad/5x10⁶espermas) fue significativamente más baja en el grupo OM (49 ±2.6) que en el grupo C (84.0±2.1), C+E (87.0±0.9) y OM+E (70.0±1.1). La intervención con ejercicio mejoró la concentración de SOD en C+E pero no fue significativa comparando con C. El ejercicio aumentó de manera significativa la concentración de SOD en el esperma de OM+E comparado con OM. El ejercicio aumentó la concentración de SOD en C+E más que en OM+E. El grupo OM tuvo el valor más bajo de actividad de SOD en el esperma (Figura 8-B).

La actividad de la GPx (unidades de actividad/1x10⁷espermas) fue significativamente más baja en el grupo OM (92.0±1.0) con respecto a C (233.0±2.0), C+E (241.0±2.0) y OM+E (144.0±5.0). El ejercicio aumentó la actividad de la GPx con respecto a los grupos control. Si hubo diferencias significativas entre los grupos que hicieron ejercicio, siendo mayor la concentración de GPx espermático en C+E comparando con OM+E. El grupo OM tuvo el valor más bajo de GPx en el esperma (Figura 8-C).

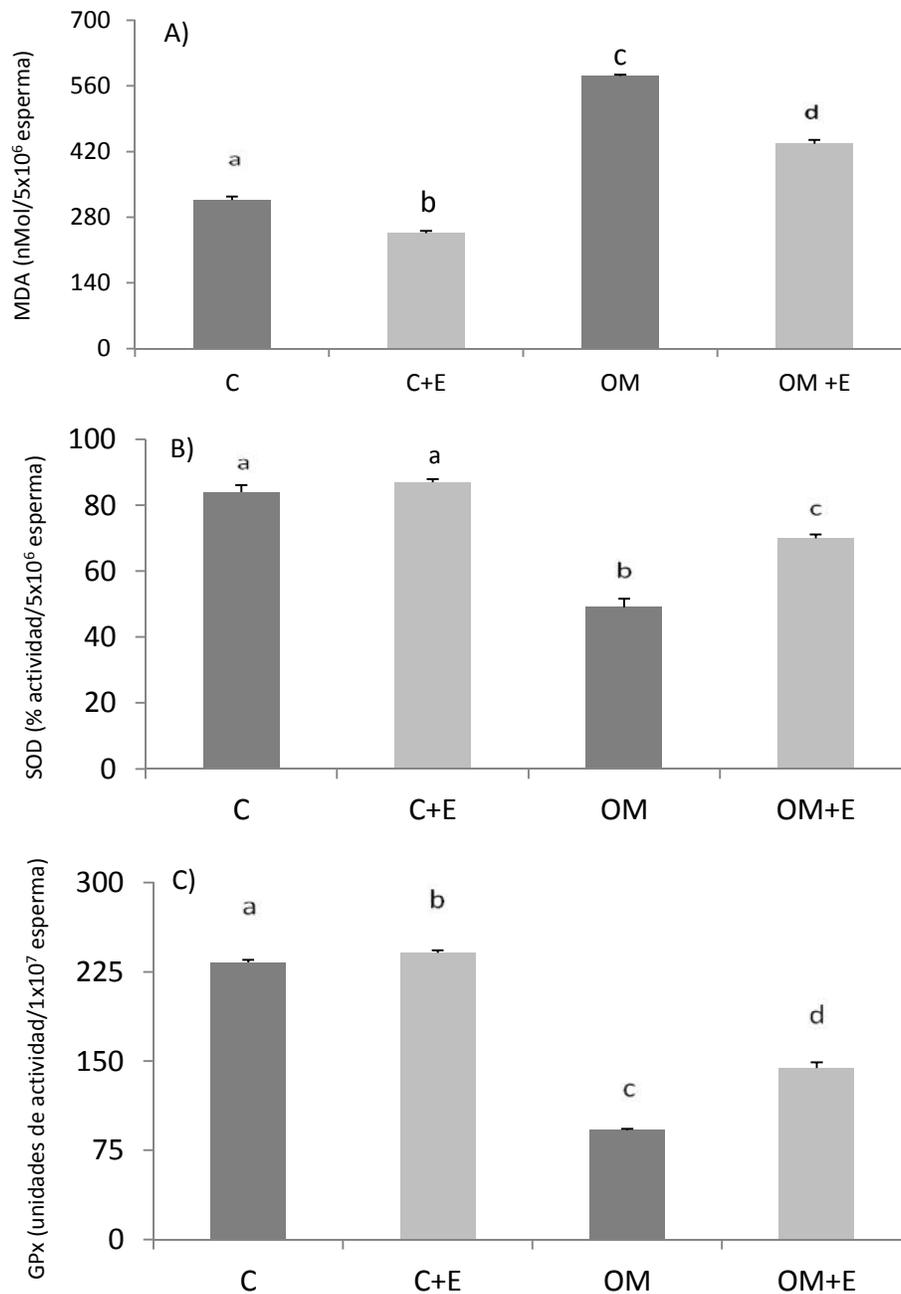


Figura 8. Biomarcadores de estrés oxidante en el espermatozoides de los machos F_1 hijos de madres alimentadas con dieta control (C), hijos de madres alimentadas con dieta control pero intervenidos con ejercicio (C+E), hijos de madres alimentadas con dieta obesogénica (OM), e hijos de madres alimentadas con dieta obesogénica pero intervenidos con ejercicio (OM+E). A) Malondialdehído (MDA), B) Superóxido dismutasa (SOD) y C) Glutatiión peroxidasa (GPx). Promedio \pm EE, $n = 5$ machos de diferentes camadas en cada grupo. Columnas que no comparten al menos una letra son estadísticamente diferentes, $p < 0.05$.

8.5. Parámetros espermáticos

La concentración espermática ($10^6/\text{mL}$) fue significativamente menor en OM (262.8 ± 4.1) comparado con C (298.2 ± 4.8), C+E (382 ± 4.2) y OM+E (358.8 ± 8.9). El ejercicio aumentó significativamente la concentración espermática con respecto a los grupos control. Los grupos que hicieron ejercicio no fueron significativamente diferentes entre ellos. El grupo con menor concentración de espermias fue OM y el grupo con mayor concentración fue C+E (Figura 9-A).

La viabilidad espermática (%) fue significativamente menor en OM (46.0 ± 1.5) con respecto a C (80.5 ± 0.5), C+E (84.0 ± 1.1) y OM+E (72.0 ± 1.8). El ejercicio provocó mayor viabilidad en C+E con respecto a C pero no alcanzó a ser significativamente diferente. Si hubo significancia en la viabilidad entre OM+E y OM. Los grupos que hicieron ejercicio si fueron significativamente diferentes entre ellos, siendo mayor la viabilidad en C+E que en OM+E. El grupo con menor viabilidad del esperma fue OM y el grupo con mayor concentración fue C+E (Figura 9-B).

La movilidad espermática (%) fue significativamente menor en OM (48.0 ± 5.8) con respecto a C (85.0 ± 1.6), C+E (88.0 ± 0.9) y OM+E (72.0 ± 1.2). El ejercicio provocó mayor viabilidad en C+E con respecto a C pero no alcanzó a ser significativamente diferente, lo contrario ocurrió entre OM+E y OM. Los grupos que hicieron ejercicio si fueron significativamente diferentes entre ellos, siendo mayor la viabilidad en C+E que en OM+E. El grupo con menor viabilidad del esperma fue OM y el grupo con mayor concentración fue C+E (Figura 9-C).

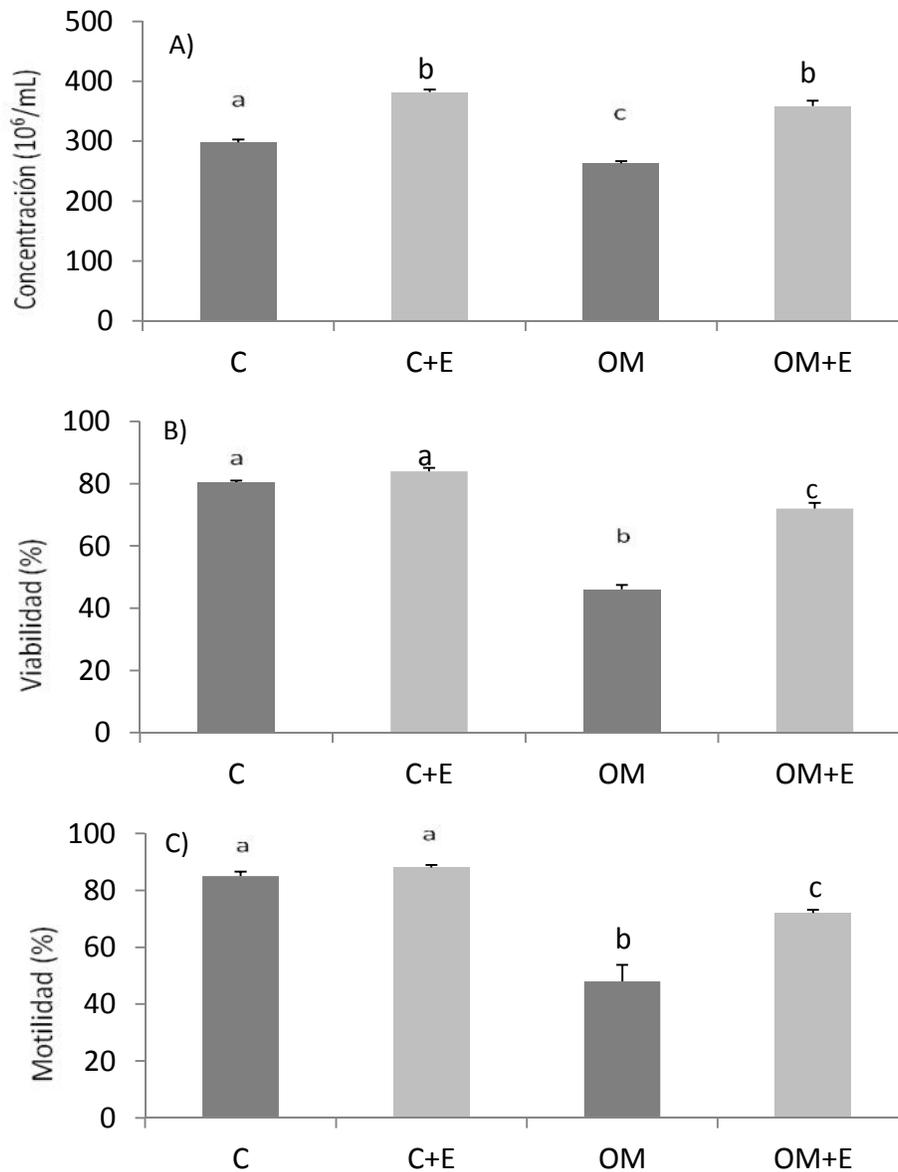


Figura 9. Parámetros espermáticos medidos en los machos F_1 hijos de madres alimentadas con dieta control (C), hijos de madres alimentadas con dieta control pero intervenidos con ejercicio (C+E), hijos de madres alimentadas con dieta obesogénica (OM), e hijos de madres alimentadas con dieta obesogénica pero intervenidos con ejercicio (OM+E). A Concentración, B) Viabilidad y C) Movilidad. Promedio \pm EE, $n = 5$ machos de diferentes camadas en cada grupo. Columnas que no comparten al menos una letra son estadísticamente diferentes, $p < 0.05$.

8.6. Tasa de fertilidad

La tasa de fertilidad se expresó como el porcentaje de machos fértiles y como el porcentaje de hembras preñadas. Se consideró macho fértil a aquel que pudo fertilizar al menos a una de las dos hembras que le fueron asignadas.

La tasa de fertilidad expresada como el porcentaje de machos fértiles del 100% significa que los 5 machos de ese grupo fueron capaces de fertilizar al menos a una de las dos hembras asignadas a cada uno. Una tasa de fertilidad de 60% significa que de los 5 machos de ese grupo, 3 de ellos pudieron fertilizar al menos a una de las dos hembras asignadas a cada uno. El grupo OM tuvo el menor porcentaje de machos fértiles (60%) comparado con los otros tres grupos. El ejercicio en el grupo OM+E elevó el porcentaje de machos fértiles a 80% frente a 60% del grupo OM pero no alcanzó el 100% de los grupos C y C+E. En términos estadísticos la tasa fertilidad expresada como porcentaje de machos fértiles fue similar entre los grupos (Figura 10-A).

La tasa de fertilidad también se expresó como el porcentaje de hembras preñadas. Un porcentaje de hembras preñadas del 100% significa que los 5 machos de ese grupo fueron capaces de fertilizar a las 10 hembras que en total les fueron asignadas como grupo (2 hembras para cada uno). 30% de hembras preñadas significa que de los 5 machos de ese grupo, 3 de ellos pudieron fertilizar al menos a una de las dos hembras que le asignaron a cada uno, es decir, que de las 10 hembras disponibles para fecundar, 3 quedaron preñadas. El grupo OM tuvo el menor porcentaje estadísticamente significativo de hembras preñadas (30%) comparado con C (100%) y C+E (100%) pero no hubo diferencia significativa con OM+E (60%). El ejercicio mejoró parcialmente la fertilidad de los machos OM+E aunque no alcanza a diferenciarse estadísticamente de los grupos C y C+E (Figura 10-B).

Después de 21 días de gestación nacieron las crías engendradas por los machos F1 de este estudio y no observamos diferencias significativas en el tamaño de la camada F₂ entre los 4 grupos (C=10.4±0.2; C+E=10.6±0.2; OM=10.2±0.6; OM+E=11±0.3 crías/camada).

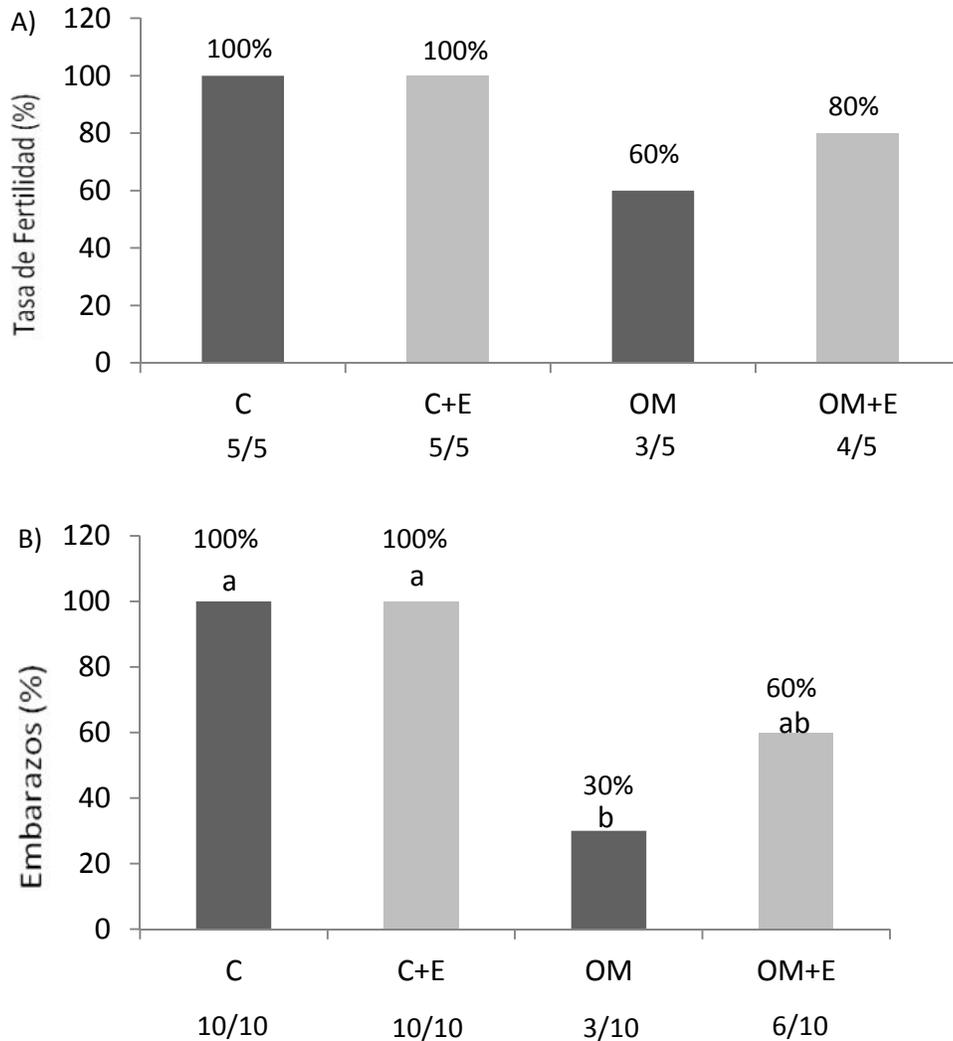


Figura 10. Tasa de fertilidad al día postnatal 450 en machos hijos de los diferentes grupos de madres: C, C+E, OM y OM+E. A) Porcentaje de machos fértiles, B) Porcentaje de hembras preñadas, n=5 machos de diferentes camadas en cada grupo. Cada macho experimental fue reunido con dos hembras no experimentales. $P < 0.05$ para columnas que no comparten al menos una letra.

9. DISCUSION

En esta tesis nos propusimos abordar el tema de la obesidad materna (antes y durante el embarazo y a través de la lactancia) y sus efectos adversos en el desarrollo sexual y función reproductiva de los descendientes, esto a través de la programación *in utero* o teoría del origen durante el desarrollo de la salud y la enfermedad (DOHaD por sus siglas en inglés). Específicamente estudiamos los efectos de la obesidad materna sobre la calidad espermática y la capacidad reproductiva de los descendientes, además, nuestro propósito principal era aportar evidencia sobre los efectos que un mecanismo de intervención como el ejercicio físico voluntario podría llegar a tener en las crías adversamente programadas, mejorando o quizás revirtiendo, los efectos de la obesidad materna, aún si la intervención con ejercicio ocurría a una edad en la que previamente habíamos visto que ya se veía afectada la función reproductiva (alrededor del DPN 330).

Nosotros previamente reportamos que la obesidad materna programa negativamente la fertilidad en las crías macho F₁ OM al aumentar el peso corporal, la grasa gonadal y el índice de adiposidad y disminuir la viabilidad y concentración espermática ⁽¹⁴⁰⁾ y en esta tesis corroboramos dichos efectos. La infertilidad masculina representa el 40% de los problemas de infertilidad ⁽⁴⁷⁾ y la obesidad es un factor importante de infertilidad ^(73,87). En humanos, la obesidad masculina está asociada con menores valores en suero de la globulina fijadora de hormonas sexuales, menor concentración de testosterona y mayor concentración de estrógenos ^(85,124). Estos cambios están acompañados por alta incidencia de azoospermia u oligozoospermia ⁽¹⁴⁷⁾, y cambios estructurales en las células germinales y espermatozoides ⁽¹²⁶⁾. Ratones machos que fueron alimentados con una dieta rica en grasa, mostraron menor motilidad espermática y capacitación así como mayor estrés oxidante y daño al ADN ⁽¹²⁾.

En este contexto, nosotros encontramos que tanto los testículos como el esperma de la F₁OM tenían mayor estrés oxidante. Sin embargo, la actividad de SOD y GPx fueron altas en los testículos y bajas en el esperma de los hijos de OM comparado con C. Esto se debe a que los testículos tienen un elaborado sistema de defensa antioxidante para asegurar que el estrés oxidante no afecte las funciones espermatogénica y esteroidogénica ⁽⁷⁾. Nosotros atribuimos las diferentes respuestas antioxidantes en el esperma y de estos en los testículos, al hecho de que el esperma tiene muy poca capacidad de transcripción debido a su relativa falta de citoplasma ⁽⁴⁰⁾. La mitocondria espermática tiene poca capacidad para responder al ataque de ROS, debido a que

no es capaz de responder produciendo más enzimas para contraatacar el estrés oxidante y reparar el daño al ADN. Así el esperma maduro no puede producir enzimas antioxidantes de *novo* debido a la falta de la maquinaria sintética requerida cuando se tiene la presencia de ROS incrementada. En contraste, las células somáticas testiculares juegan un papel importante en las defensas antioxidantes para proteger las células espermáticas, y así, responder al estrés oxidante produciendo nuevas enzimas para contraatacar las ROS incrementadas ⁽⁴⁰⁾.

La gran cantidad de grasa acumulada alrededor de los testículos en el grupo OM (grasa gonadal), pudo causar que se elevara la temperatura escrotal y comprometería la función espermática. Los cambios en la temperatura escrotal están asociados con baja fertilidad ⁽¹⁴⁹⁾. La lipectomía escrotal en pacientes infértiles con lipomatosis escrotal puede mejorar el conteo espermático y la movilidad ⁽¹⁴⁹⁾. En nuestro estudio, la mejoría de los parámetros espermáticos en el grupo OM+E pudo ser consecuencia, en parte, de la pérdida de grasa gonadal a partir del gasto energético que implicó la actividad física moderada.

En el índice de adiposidad, grasa y peso corporal, la intervención con ejercicio no provocó efectos significativos a nivel estadístico, obtuvimos mejorías parciales, esto quiere decir que si bien los machos obesos que hicieron ejercicio (OM+E) no mejoran significativamente respecto a los machos obesos sin ejercicio (OM), alcanzan un nivel intermedio entre los machos C y los machos OM.

A pesar de que la pérdida de peso y cambios en el estilo de vida son el primer paso obvio para el manejo de la obesidad debido a que disminuyen el riesgo de padecer enfermedades crónicas asociadas a un IMC alto, son escasos los estudios de intervención que demuestren los efectos benéficos de la pérdida de peso en mejorar la calidad espermática y la fertilidad masculina ^(1,152). Algunos de estos estudios demostraron que la pérdida de peso en hombres obesos podía mejorar las concentraciones en sangre de hormonas sexuales, logrando un descenso significativo en la concentración de estradiol y un incremento en las hormonas FSH, testosterona total y SHBG en hombres con obesidad mórbida que perdieron peso mediante una gastroplastía vertical con banda ^(15,56). En otro estudio se aplicó una dieta muy baja en calorías y algunos cambios en el comportamiento y los resultados fueron una mayor concentración de SHBG y testosterona y menor concentración de insulina y leptina ⁽⁸⁸⁾, estos resultados fueron confirmados por un estudio con hombres con hipoandrogenismo leve, trastorno usualmente definido como bajo nivel de testosterona y cuya característica peculiar es la obesidad abdominal que

independientemente predice el desarrollo de resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2⁽¹¹³⁾. Estos resultados fueron replicados en tres estudios más^(126,158,159). De manera que el hipogonadismo hipogonadotrópico y la consecuente hiperestrogenemia en hombres obesos parece ser corregida mediante la pérdida de peso, independientemente de cómo se haya alcanzado dicha pérdida. La elección del método usado para alcanzar la pérdida de peso debe ser individualizado^(1,152). La cirugía bariátrica puede ser una opción en un selecto número de hombres obesos mórbidos^(119,120,152) y el uso de fármacos insulino sensibilizadores para perder peso y mejorar el perfil hormonal en hombres todavía debe ser investigado⁽¹⁵²⁾.

Existe evidencia de parte de varios estudios donde la pérdida de peso, como parte de un estilo de vida saludable, puede ayudar a mejorar la disfunción eréctil^(44,84). De estos estudios se puede concluir que reducir el IMC en hombres obesos puede normalizar las concentraciones de hormonas sexuales y mejorar la disfunción eréctil. Y si la obesidad incrementa la fragmentación de ADN, el estrés oxidante y la hipertermia escrotal, la pérdida de peso podría revertir algunos, si no todos, de estos procesos y eventualmente mejorar la fertilidad en hombres obesos⁽⁹⁷⁾.

Si se ha demostrado que la obesidad durante el embarazo predispone a los descendientes a desarrollar enfermedades crónicas más tarde en la vida⁽¹⁸⁹⁾ y traspasarlas a las siguientes generaciones⁽¹⁷⁾, resulta imperante buscar intervenciones efectivas que puedan ser usadas para prevenir o revertir los resultados adversos de la obesidad materna. Hay evidencia creciente en estudios con humanos⁽¹⁰⁷⁾ y con animales^(166,188) que indican que los cambios en el estilo de vida de madres obesas como la reducción en la ingesta de calorías y/o el incremento en el ejercicio y/o la cirugía como el *bypass* gástrico (cirugía en la que se reduce el tamaño del estómago mediante el uso de grapas y es irreversible) realizada en la mujer obesa que busca un embarazo sin riesgos⁽⁹²⁾ previenen la ganancia de peso excesiva durante el embarazo y los subsecuentes resultados adversos en la salud de los hijos⁽²⁷⁾.

Si las estas intervenciones quirúrgicas como el *bypass* no pueden ser aplicadas a todas las mujeres obesas antes o durante el embarazo (por factores de riesgos físicos o alto costo monetario), aplicar mecanismos más económicos y sencillos como el ejercicio y/o la restricción calórica en la madre obesa también pueden resultar beneficiosos para los hijos cuando ya son adultos^(92,107,166,188). Si la madre obesa no puede o no alcanzó a ser intervenida ni con dieta, ni con ejercicio, ni con cirugía, ni con medicamentos, resulta muy importante determinar si cuando

los hijos crecen pueden revertir la programación adversa, mediante la práctica de ejercicio como un mecanismo de intervención económico y sin riesgos.

En el presente trabajo evidenciamos que el ejercicio mejoró la calidad espermática de ratas macho (hijos de madres obesas) y esa mejoría pudo deberse a los efectos que el ejercicio tuvo sobre los parámetros metabólicos que a su vez, afectan la calidad espermática. Estos efectos del ejercicio se deben en parte, a que mejora el metabolismo de la glucosa y la acción de la insulina, posiblemente a nivel celular directamente en el esperma.

Aunque nosotros no medimos estos parámetros en este experimento, Palmer *et al.*, indica que la tolerancia a la glucosa fue un importante indicador de la función espermática al correlacionarse positivamente con el porcentaje de espermias no capacitadas y el porcentaje de espermias con el ADN dañado y correlacionarse negativamente con el porcentaje de espermias morfológicamente normales. Por otra parte, la sensibilidad a la insulina estuvo negativamente correlacionada con el porcentaje de espermias con defectos en la cola ⁽¹²⁵⁾.

Se ha reportado que el ejercicio incrementa las concentraciones de testosterona en suero y disminuye la adiposidad mejorando la calidad espermática ⁽⁶⁸⁾. Sin embargo, no todas las actividades físicas son benéficas para la salud reproductiva. En humanos, el ejercicio extenuante ha sido propuesto como un factor de riesgo para la infertilidad masculina como es el caso de corredores de largas distancias y ciclistas que tienen baja concentración de testosterona y calidad espermática ^(39,181). En hombres jóvenes, la actividad física regular está asociada con mayores concentraciones de esperma que en hombres de la misma edad pero sedentarios ⁽⁵¹⁾. Intervenciones con dieta y ejercicio en ratas macho obesas mejoran la morfología y la motilidad espermática y disminuye el daño al ADN espermático y las ROS ⁽¹²⁵⁾.

En ratones corredores regulares desde jóvenes, los túbulos seminíferos exhibieron abundantes células de Sertoli y una estratificación bien organizada de la espermatogonia y un gran número de esperma abluminal que puede ser asociado con el menor estrés oxidante en los testículos ⁽³¹⁾. Se ha reportado que la dieta y/o la natación como mecanismos de intervención en ratones obesos mejoraron la motilidad y la morfología, redujo el daño en el esperma y los niveles de ROS. Estos parámetros espermáticos estuvieron altamente correlacionados con la glicemia, la insulina y el colesterol en suero, no así con la adiposidad o la concentración de testosterona, sugiriéndose una relación entre metabolismo y función espermática ^(124,125). Nuestro equipo de trabajo también ha encontrado que el estatus metabólico mejora con el ejercicio en ratas obesas

^(166,188) y un efecto similar (el ejercicio mejoró los niveles de adiposidad, colesterol en suero y respuesta a la insulina) también se observó en humanos obesos ⁽¹⁶⁹⁾.

En el presente estudio observamos que los machos OM+E se ejercitaron menos que los C+E. Los hijos machos OM pesaron más y tenían mayor índice de adiposidad que las hijos macho C. Además del hecho de que el ejercicio resulta más difícil cuando se tiene más grasa y más peso, podrían necesitarse varios estudios para determinar si la duración del turno individual, el periodo total de ejercicio y la edad a la que las ratas se inicien en el ejercicio (p.e 450 hasta 650 DPN) modificarían los resultados que nosotros hemos observado. También posible que los hijos OM estuvieran menos motivados para el ejercicio que los machos control.

Un estudio reciente ⁽¹³⁸⁾ en ratas, muestra que la genética podría jugar un papel en la motivación por hacer ejercicio. Ellos pusieron ratas de ambos sexos, a correr en la rueda y midieron la distancia que cada una recorrió en un lapso de 6 días. A las 26 ratas que sumaron mayores distancias las entrecruzaron (ratas “super atletas”) y lo mismo hicieron con las que recorrieron menos distancia (ratas “perezosas”). Esto se repitió durante 10 generaciones. Encontraron pequeñas diferencias en la composición corporal y los niveles de las mitocondrias en las células musculares de las ratas pero lo más llamativo fue que encontraron diferencias genéticas entre los dos grupos, identificaron 36 genes que pueden desempeñar un papel crucial en la predisposición a tener o no tener la motivación para hacer ejercicio.

Esto podría ser un paso importante en la identificación de las causas adicionales para la obesidad en los seres humanos. Sería muy útil saber si un niño está genéticamente predispuesto a tener poca motivación por hacer ejercicio porque aumentaría potencialmente el riesgo de que creciera obeso y/o fuese un adulto obeso. Continuando con esta investigación, los autores publicaron otro artículo ⁽¹³⁹⁾ donde señalan que las ratas que fueron selectivamente entrecruzadas por correr más distancia, desarrollaron la parte del cerebro (*Nucleus accumbens*) que es la responsable del procesamiento de la recompensa y que hace que “disfruten” de hacer ejercicio debido a la segregación de mayores concentraciones de dopamina. En ratones, la obesidad materna puede afectar la segregación de dopamina en el cerebro de los hijos induciéndoles a comer comidas altas en grasa y azúcar ^(60,171), así que potencialmente podría ser otra causa más que los predisponga a la obesidad pero debido a la poca satisfacción y motivación que la actividad física les pueda llegar a provocar.

Para tratar de establecer algún paralelo entre nuestro modelo experimental y su aplicabilidad en términos humanos, encontramos estudios que dilucidaban la edad de las ratas *Wistar* en términos humanos ^(9,146) y señalaban que aunque resultaba obvio correlacionar la edad promedio de vida de la rata con la edad de vida promedio humana, no era correcto pues debe tomarse en consideración la fase de la vida en la que se está afectando a la rata. La inmensa mayoría de los experimentos que se hacen con ellas no sobrepasan los 120 días, por eso, aunque nuestras ratas de 450 días apenas si llegaban a la media de edad de esta especie, podría decirse que eran “viejas” comparativamente hablando. Escasísimos son los estudios que utilizan esta especie por más de 600 días ⁽⁸²⁾. Teniendo esto en cuenta calculamos que nuestras ratas intervenidas con ejercicio tenían en términos de edad humana, 31 años al empezar el experimento y 43 años al finalizarlo.

Se ha determinado que a partir de los 40 años los hombres experimentan un decremento en la concentración de testosterona, lo cual afectaría su función reproductiva, pero también se ha reportado que ha aumentado el rango de edad a la que los hombres engendran su primer hijo, en Estados Unidos, por ejemplo, desde 1980 la tasa de fertilidad de hombres entre 30 y 40 años ha aumentado en 21% y la tasa de fertilidad en hombres de 40 años o más, se ha incrementado en 30% en contraste la tasa de fertilidad en hombres menores de 30 años ha bajado en 15% ⁽⁷⁴⁾. Debido a que muchos factores relacionados con la fertilidad se ven afectados por la edad tanto en hombres como en mujeres, cada vez es más común que las parejas recurran a la reproducción asistida ⁽¹⁴⁵⁾, atribuyéndose 25% de la infertilidad a factores masculinos ⁽⁸⁹⁾.

Como se mencionó en los resultados, en este estudio no encontramos diferencias significativas entre los grupos cuando se expresó la tasa de fertilidad como el porcentaje de machos fértiles, sin embargo, en otro estudio llevado a cabo en nuestro laboratorio ⁽¹⁴⁰⁾, se midió el porcentaje de machos fértiles y de hembras preñadas a los 110, 450 y 650 DPN en ratas macho hijos de madres obesas (OM) vs hijos de madres control (C) y se encontró que a los 110 DPN no hay diferencias significativas en estos parámetros entre los grupos C y OM pero a los 650 DPN el porcentaje de machos fértiles fue de 82% en C y de 32% en OM y el porcentaje de hembras preñadas fue de 80% en C y de 18% en OM. Este estudio que duró 200 días más que el nuestro, muestra que la obesidad materna acelera significativamente el envejecimiento de la tasa de fertilidad en las crías macho ⁽¹⁴⁰⁾.

10. CONCLUSIONES

Se ha demostrado en diversos estudios epidemiológicos y con animales de experimentación, que la obesidad materna programa negativamente la salud metabólica, conductual y reproductiva de los hijos. En este experimento nosotros corroboramos que las crías macho hijos de madres obesas tienen menor calidad espermática y función reproductiva.

Resulta imperante buscar intervenciones efectivas que puedan ser usadas para prevenir o revertir los resultados adversos de la obesidad materna. La manera más sencilla de prevenir los efectos adversos en los hijos sería intervenir a las futuras madres antes del embarazo, de forma que no fuesen obesas al momento de la concepción. Si la madre obesa no puede o no alcanzó a ser intervenida antes y/o durante el embarazo, resulta muy importante determinar si cuando los hijos crecen se puede revertir la programación adversa, por ejemplo, mediante la práctica de ejercicio como un mecanismo de intervención económico y sin riesgos.

Nosotros demostramos en este experimento, que el ejercicio físico voluntario, moderado y regular practicado en la rueda para roedor mejoró la calidad espermática y la función reproductiva en los hijos macho F₁, a pesar de haberse iniciado en la actividad física a una edad en que la tasa de fertilidad ya había empezado a disminuir.

Se puede inferir que un estilo de vida saludable que incluya actividad física regular en los descendientes de madres obesas, puede funcionar como una medida de intervención valiosa para reducir los efectos de la obesidad materna y de esta manera evitar su progresión hacia la enfermedad y/o una limitada capacidad reproductiva, aun cuando no se realice la actividad a edades tempranas de la vida.

12. LITERATURA CITADA

1. Abd El Gawad MS, Mohamed SA, and Gibreal AF. Semen quality and reproductive hormones changes in men with severe obesity and after weight reduction. *J Am Sci* 2013; 9(4): 607-614.
2. Agarwal A, Saleh RA, and Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertility and Sterility*. 2003;79(4):829-843.
3. Aggerholm AS, Thulstrup AM, Toft G, Ramlau-Hansen CH, and Bonde JP. Is overweight a risk factor for reduced semen quality and altered serum sex hormone profile? *FertilSteril*. 2008; 90:619-626.
4. Aitken RJ. A free radical theory of male infertility. *Reprod Fertil Dev*. 1994;6(1):19-23; discussion 23-14.
5. Aitken RJ and Baker MA. Reactive oxygen species generation by human spermatozoa: a continuing enigma. *International journal of andrology*. 2002;25(4):191-194.
6. Aitken RJ, Clarkson JS and Fishel S. Generation of reactive oxygen species, lipid peroxidation, and human sperm function. *BiolReprod*. 1989; 41(1): 183-97.
7. Aitken RJ and Roman SD. Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Oxidative medicine and cellular longevity* 2008;1(1):15-24.
8. Ambrosio G, Zweier JL and Flaherty JT. The relationship between oxygen radical generation and impairment of myocardial energy metabolism following post ischemic reperfusion. *J Mol Cell Cardiol*. 1991; 23(12): 1359-1374.
9. Andreollo NA, dos Santos EF, Araújo MR, and Lopes LR. Rat's age versus human's age: what is the relationship?. *ABCD Arq Bras Cir Dig*. 2012; 25(1): 49-51.
10. Anway MD, Cupp AS, Uzumcu M and Skinner MK. Epigenetic transgenerational actions of endocrine disruptors and male fertility. *Science*. 2005; 308: 1466-1469.
11. Arendas K, Qiu Q and Gruslin A. Obesity in pregnancy: pre-conceptional to postpartum consequences. *J Obstet Gynaecol Can*. 2008; 30(6):477-488.
12. Bakos HW, Mitchell M, Setchell BP, and Lane M. The effect of paternal diet-induced obesity on sperm function and fertilization in a mouse model. *International journal of andrology*. 2011;34:402-410.

13. Bakos HW, Henshaw RC, Mitchell M and Lane M. Paternal body mass index is associated with decreased blastocyst development and reduced live birth rates following assisted reproductive technology. *FertilSteril*. 2011; 95:1700-1704.
14. Barker DJ, Winter PD, Osmond C, Margetts B and Simmons SJ. Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet*. 1989; 2: 577-580
15. Bastounis EA, Karayiannakis AJ, Syrigos K, et al. Sex hormone changes in morbidity obese patients after vertical banded gastroplasty. *Eur Surg Res*. 1998; 30:43-47.
16. Bjorndahl L, Soderlund I and Kvist U. Evaluation of the one-step eosin-nigrosin staining technique for human sperm viability assessment. *Hum Reprod*. 2003; 18: 813-816.
17. Blondeau B, Garofano A, Czernichow P, and Bréant B. Age-dependent inability of the endocrine pancreas to adapt to pregnancy: a long-term consequence of perinatal malnutrition in the rat. *Endocrinology*. 1999; 140: 4208-4213.
18. Bo S, Cavelli-Perin P, Scaglione L, Ciccone G and Pagano G. Low birthweight and metabolic abnormalities in twins with increased susceptibility to Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med*. 2000; 5: 365-370.
19. Boney CM, Verma A, Tucker R and Vohr BR. Metabolic syndrome in childhood: Association with birth weight, maternal obesity and gestational diabetes mellitus. *Pediatrics*. 2005; 115: e290-e296.
20. Browne SE, Ferrante RJ and Beal MF. Oxidative stress in Huntington's disease. *Brain Pathol*. 1999; 9(1): 147-63.
21. Burdge GC, Slater-Jefferies J, et al. Dietary protein restriction of pregnant rats in the F0 generation induces methylation of hepatic gene promoters in the adult male offspring in the F1 and F2 generations. *Br J Nutr*. 2007; 97: 435-439.
22. Burdge GC, Lillycrop KA, et al. The nature of the growth pattern and of the metabolic response to fasting in the rat are dependent upon the dietary protein and folic acid intakes of their pregnant dams and post-weaning fat consumption. *Br J Nutr*. 2007; 1-10.
23. Cabler S, Agarwal A, du Plessis SS. Obesity and male fertility. *Male Infertility* 2012; 349-360.
24. Cabler S, Agarwal A, Flint M, and du Plessis SS. Obesity: modern man's fertility nemesis. *Asian journal of andrology*. 2010;12(4):480-489.
25. Campos M, Delgado E, Morgado S, Sánchez-Correa B, González MR, Gordillo J, De Julián y Fernández de Velasco J, Tarazona R, García J. Influencia del ejercicio físico y el índice

de masa corporal sobre la calidad espermática: análisis en pacientes de reproducción asistida. *Rev Asoc Est Biol Rep.* 2011;16(1): 25-32.

26. Cantón, E. La sobrecarga de grasa agrava el estrés oxidativo en el síndrome metabólico. *Eur J Clin Invest.* 2008; 38(7): 510-515.

27. Carter LG, Qi NR, De Cabo R, and Pearson KJ. Maternal exercise improves insulin sensitivity in mature rat offspring. *Medicine and science in sports and exercise.* 2013;45(5):832-840.

28. Catalano PM and Eherberg HM. The short and long-term implications of maternal obesity on the mother and her offspring. *BJOG.* 2006; 113: 1126-1133.

29. Chassin OA, Ortigoza JL y Durante M. Seminario: El ejercicio actual de la medicina:Obesidad.2007. www.facmed.unam.mx/sms/seam2k1/2007/may_01_ponencia.html.

30. Chavarro JE, Toth TL, Wright DL, Meeker JD, and Hauser R. Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. *Fertility and sterility.* 2010;93(7):2222-2231.

31. Chigurupati S, Son TG, Hyun DH, Lathia JD, Mughal MR, Savell J, Li SC, Nagaraju GP, Chan SL, Arumugam TV, and Mattson MP. Lifelong running reduces oxidative stress and degenerative changes in the testes of mice. *The Journal of endocrinology.* 2008;199(2):333-341.

32. Connor KL, Vickers MH, Beltrand J, Meaney MJ, and Sloboda DM. Nature, nurture or nutrition? Impact of maternal nutrition on maternal care, offspring development and reproductive function. *The Journal of physiology.* 2012;590:2167-2180.

33. Dabelea D, Knowler WC and Pettitt DJ. Effect of diabetes in pregnancy on offspring: follow-up research in the Pima Indians. *J. Matern Fetal Med.* 2000; 9:83-88.

34. De Groot, L., *Endocrinology*, W.B Saunders Company, Editor. 1995: USA p. 2307-2310, 2314-2316, 2352.

35. De Lamirande E and Gagnon C. Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects. *Human Reprod.* 1995; 10: 15-21.

36. Dennery PA. Effects of oxidative stress on embryonic development. *Birth Defects Res Embryo Today.* 2007; 81(3): 155-162.

37. Dennery PA. Oxidative stress in development: nature or nurture? *Free Radic Biol Med.* 2010; 49(7): 147-51.

38. Desai M, Jellyman JK, Han G, Beall M, Lane RH, and Ross MG. Rat maternal obesity and high-fat diet program offspring metabolic syndrome. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2014, 237.e1-237. e13.
39. Di Luigi L, Romanelli F, Sgrò P, and Lenzi A. Andrological aspects of physical exercise and sport medicine. *Endocrine* 2012: 278-284.
40. Drevet JR. The antioxidant glutathione peroxidase family and spermatozoa: a complex story. *Molecular and cellular endocrinology*. 2006; 250:70-79.
41. Elejalde-Guerra, J.I. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *An Med Interna*. 2001. 18: 26-335.
42. Engelbert MJ, et al. The effects of intra-uterine growth retardation and postnatal undernutrition on onset of puberty in male and female rats. *Pediatr Res*. 2000; 48(6): 803-807.
43. Erdemir F, Atilgan D, Marcok F, Boztepe O, Suha-Parlaktas B and Sahin S. The effect of diet induced obesity on testicular tissue and serum oxidative stress parameters. *Actas Urol Esp*, 2011.
44. Esposito K, Giugliano F, Di Palo C, et al. Effect of lifestyle changes on erectile dysfunction in obese men: A randomized controlled trial. *JAMA*. 2004; 291: 2978-2984.
45. Evenson DP, Jost LK, Marshall D, et al. Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. *Human Reproduction*. 1999; 14(4): 1039-1049.
46. Fernandez-Twinn DS and Ozanne SE. Mechanisms by which poor early growth programs type-2 diabetes, obesity and the metabolic syndrome. *Physiol Behav*. 2006; 88:234-243.
47. Fleming S, Green S and Hall J. Analysis and alleviation of male infertility. *Microsc Anal*. 1995; (35): 37-39.
48. Franco MC, Akamine EH, Reboucas N, Carvalho MH, Tostes RC, Nigro D and Fortes ZB. Long-term effects of intrauterine malnutrition on vascular function in female offsprings: implications of oxidative stress. *Life Sci*. 2007; 80: 709-715.
49. Fullston T, Owens JA, Ohlsson-Teague EMC, Palmer NO, Mitchell M, Print CC, Bakos H and Lane M. Diet induced paternal obesity epigenetically modifies sperm and impairs the metabolic and reproductive health of two subsequent generations. *Cell (under review)*, 2011.

50. Fullston T, Palmer NO, Owens JA, Mitchell M, and Bakos HW, and Lane M. Diet-induced paternal obesity in the absence of diabetes diminishes the reproductive health of two subsequent generations of mice. *Hum Reprod.* 2012;27(5):1391-1400.
51. Galjaard S, Devlieger R, and Van Assche FA. Fetal growth and developmental programming. *Journal of perinatal medicine.* 2013; 41: 101-105.
52. Gallo LA, Tran M, Moritz KM, and Wlodek ME. Developmental programming: variations in early growth and adult diseases. *Clinical and experimental pharmacology & physiology.* 2013;40: 795-802.
53. Garibay-Nieto N and Miranda-Lora AL. Impacto de la programación fetal y la nutrición durante el primer año de vida en el desarrollo de obesidad y sus complicaciones. *Bol Med Hosp Infant Mex.*2008; vol 65: 451-467.
54. Gaskins AJ, Mendiola J, Afeiche M, Jorgensen N, Swan SH, and Chavarro JE. Physical activity and television watching in relation to semen quality in young men. *British journal of sports medicine.* 2013; Feb 4 [Epub ahead of print].
55. George J and Anderson R. Obesity, bariatric surgery and male reproductive function. 2013. Edimburgo: 179-189.
56. Globerman H, Shen-Orz Z, and Karnieli E. Inhibin B in men with severe obesity and after weight reduction following gastroplasty. *Endocr Res.* 2005; 31: 17-26.
57. Gluckman P and Hanson M. Eds. Developmental origins of health and diseases. Cambridge University Press. 2006.
58. Gnessi, L., A. Fabbri, and G. Spera, *Gonadal peptides as mediators of development and functional control of the testis: an integrated system with hormones and local environment.* *Endocr Rev*, 1997. **18**(4): p. 541-609.
59. Greenspan FS, S.G., *Basic and clinical endocrinology*, A. Lange, Editor. 1997: USA p. 95-100.
60. Grissom NM, Lyde R, et al. Obesity at conception programs the opioid system in the offspring brain. *Neuropsychopharmacology.* 2014; 39(4): 801-810.
61. Griswold MD. The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol.* 1998; 9(4): 411-416.

62. Grunnet L, Vielworth S, Vaag AA and Poulsen P. Birth weight is non-genetically associated with glucose intolerance in elderly twins, independent of adult obesity. *J Intern Med.* 2007; 262: 96-103
63. Gutiérrez J, Rivera-Dommarco J. et al. Encuesta Nacional de Salud y Nutrición. Resultados Nacionales. Cuernavaca, Morelos. Instituto Nacional de Salud Pública. 2012.
64. Guyton AC, H.J., *Textbook of medical physiology*, W.B.S. Company, Editor. 1996: Philadelphia. p. 855-857, 925-927.
65. Guzman C, et al. Protein restriction during fetal and neonatal development in the rat alters reproductive function and accelerates reproductive ageing in female progeny. *J Physiol.* 2006; 572(1): 97-108.
66. Habert R, Lejeune H and Saenz JM. Origin, differentiation and regulation of fetal and adult Leydig cells. *Mol Cell Endocrinol.* 2001; 179(1-2): 47-74.
67. Habert R and Picon R. Testosterone, dihydrotestosterone and estradiol-17 beta levels in maternal and fetal plasma and in fetal testes in the rat. *J Steroid Biochem.* 1984; 21(2): 193-198.
68. Hakonsen LB, Thulstrup AM, Aggerholm AS, Olsen J, Bonde JP, Andersen CY, Bungum M, Ernst EH, Hansen ML, and Ramlau-Hansen CH. Does weight loss improve semen quality and reproductive hormones? Results from a cohort of severely obese men. *Reproductive health.* 2011;8:24.
69. Hales CN and Barker DJ. The thrifty phenotype hypothesis. *Br Med Bull.* 2001; 60: 5-20.
70. Hales CN, Barker DJ and Clark PMS. et al. Fetal and infant growth and impaired glucose tolerance at age 64. *BMJ.* 1991; 303: 1019-1022.
71. Hall JG. The importance of the fetal origin of adult disease for geneticists. *Clin Genet.* 2007;72:67-72.
72. Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol.* 2006. 141(2): 312-322.
73. Hammoud AO, Wilde N, Gibson M, Parks A, Carrell DT, and Meikle AW. Male obesity and alteration in sperm parameters. *Fertility and sterility.* 2008;90(6):2222-2225.
74. Harris ID, Fronczak C, Roth L and Meacham RB. Fertility and the aging male. *Reviews in Urology.* 2011; 13(4): e184-e190.
75. Hernández-Matos YD, López-Pérez R, Martínez-Sánchez G y Mallok A. Impacto de las especies reactivas de oxígeno sobre la fertilidad masculina. *Revista de*

Endocrinología y Nutrición. 2010; 18(3): 153-158.

76. Hicks JJT and Sierra RY. Estrés oxidante. Concepto y clasificación. *Revista de Endocrinología y Nutrición*. 2006. 14: 223-226.

77. Hjojjund NH, Bonde JP, Jensen TK and Olsen J. Diurnal scrotal skin temperature and semen quality. The Danish First Pregnancy Planner Study Team. *Int. J. Androl*. 2000; 23: 309-318.

78. Hofny ER Ali M.E, Abdel-Hafez HZ, Kamal Eel D, Mohamed E.E, Abd El-Azeem, HG and Mostafa T. Semen parameters and hormonal profile in obese fertile and infertile males. *FertilSteril*. 2010; 94: 581-584.

79. Hounsgaard ML, Hakonsen LB, Vested A, Thulstrup AM, Olsen J, Bonde JP, Nohr EA, and Ramlau-Hansen CH. Maternal pre-pregnancy body mass index and pubertal development among sons. *Andrology*. 2014;2(2):198-204.

80. Howie GJ, Sloboda DM, Kamal T, and Vickers MH. Maternal nutritional history predicts obesity in adult offspring independent of postnatal diet. *The Journal of physiology*. 2009;587:905-15.

81. Ibañez C. Beneficios del ejercicio en las crías descendientes de ratas con obesidad experimental. Tesis de Maestría en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México. 2014.

82. Ichikawa M, and Fujita Y. Effects of nitrogen and energy metabolism on body weight in later life of male Wistar rats consuming a constant amount of food. *Journal of Nutrition*. 1987; 117(10): 1751-1758.

83. Iwasaki A and Gagnon C. Formation of reactive oxygen species in spermatozoa of infertile patients. *Fertil. Steril*. 1992; 57: 409-416.

84. Jackson G. The importance of risk factor reduction in erectile dysfunction. *Currente Sexual Health Reports*. 2007; 4: 114-117.

85. Jensen TK, Andersson AM, Jørgensen N. et al. Body mass index in relation to semen quality and reproductive hormones among 1,558 Danish men. *Fertility and Sterility*. 2004; 82(4): 863-870.

86. Johnson MH and Everitt BJ. Essential Reproduction. Oxford: Blackwell Science Ltd, 2000.

87. Kay VJ, and Barratt CLR. Male obesity: impact on fertility. *British Journal of Diabetes & Vascular Disease*. 2009; 9(5): 237-241.
88. Kaukua J, Pekkarinen T, Sane T and Mustajoki P. Sex hormones and sexual function in obese men losing weight. *Obes Res*. 2003; 11: 689-694.
89. Kidd SA, Eskenazi B, and Wyrobek AJ. Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertility and Sterility*. 2001; 75(2): 237-248.
90. Kirk SL, Samuelsson AM, Argenton M, Dhonye H, Kalamatianos T, Poston L, Taylor PD, and Coen CW. Maternal obesity induced by diet rats permanently influences central processes regulating food intake in offspring. *PloS one*. 2009; 4:e5870.
91. Knobil E, N.J., *The physiology of reproduction* L. Raven Press, Editor. 1994: New York. p. 1365-1368, 1178, 1184.
92. Kral JG, Biron S, Simard S, Hould FS, Lebel S, Marceau S, and Marceau P. Large maternal weight loss from obesity surgery prevents transmission of obesity to children who were followed for 2 to 18 years. 2006; 118: e1644-1649.
93. Lagerros YT and Rossner S. Obesity management: what brings success?. *Therap Adv Gastroenterol*. 2013; 6:77-88.
94. Langley SC, and Jackson AA. Increased systolic blood pressure in adult rats induced by fetal exposure to maternal low protein diets. *Clin. Sci (Lond)*. 1994; 86: 217-222.
95. Leddy MA, Power ML and Schulkin J. The impact of maternal obesity on maternal and fetal health. *Rev Obstet Gynecol*. 2008; 1(4): 170-178.
96. Leonhart M, et al. Effects of perinatal maternal food restriction on pituitary-gonadal axis and plasma leptin level in rat pup at birth and weaning and on timing on puberty. *Biol Reprod*. 2003; 68(2): 390-400.
97. Lima N, Cavaliere H, Knobel A, and Madeiros-Nieto G. Decreased androgen levels in massively obese men may be associated with impaired function of the gonadostat. *Int J Obes*. 2000; 24: 1433-1437.
98. Lucas A. Programming by early nutrition: An experimental approach. *J Nutr*. 1998; 128:401S-406S.
99. Luo ZC, Xiao L and Nuyt AM. Mechanisms of developmental programming of the metabolic syndrome and related disorders. *World J Diabetes*. 2010; 1: 89-98.
100. Makkar G, Ng EH, Yeung WS and Ho PC. The significance of the

ionophore-challenged acrosome reaction in the prediction of successful outcome of controlled ovarian stimulation and intrauterine insemination. *Hum Reprod.* 2003; 18: 534-539.

101. Martinez de Villarreal LE. Programación fetal de enfermedades expresadas en la etapa adulta. *Medicina Universitaria.* 2008; 10(39): 108-113.

102. Martin-Gronert MS and Ozanne SE. Early life programming of obesity. *Developmental period medicine.* 2013;17(1):7-12.

103. Martini AC, Molina RI, Tissera A, Ruiz RD, and de Cuneo MF. The impact of obesity on male reproduction: its biological significance. *Expert review of endocrinology & metabolism.* 2013; 8: 139-148.

104. Mayer-Davis E, Rifas-Shiman S, Zhou I, Hu FB, Colditz GA and Gillman MW. Breast-feeding and risk for childhood obesity. Does maternal diabetes or obesity status mater?. *Diabetes Care.* 2006;29:2231-2237.

105. Mitchell M, Bakos HW, Lane M. Paternal diet-induced obesity impairs embryo development and implantation in the mouse. *Fertility and sterility.* 2011;95(4):1349-1753.

106. Monrad RN, Grunnet LG, Rasmussen EL, Malis C, Vaag AA and Poulsen P. Age-dependent nongenetic influences of birth weight and adult body fat on insulin sensitivity in twins. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94: 2394-2399.

107. Mottola MF. Physical activity and maternal obesity: cardiovascular adaptations, exercise recommendations, and pregnancy outcomes. *Nutrition reviews.* 2013;71 Suppl 1:S31-36.

108. Nathanielsz PW. Animal models that elucidate basic principles of the developmental origins of adult diseases. *ILAR journal/National Research Council, Institute of Laboratory Animal Resources.* 2006; 47:73-82.

109. Nelson SM, Mathews P and Poston L. Maternal metabolism of pregnancy outcomes. *Hum Reprod Update.* 2010; 16: 255-275.

110. Ng SF, Lin RC, Laybutt DR, Barres R, Owens JA, Morris MJ. Chronic high-fat diet in fathers programs beta-cell dysfunction in female rat offspring. *Nature.* 2010;467(7318):963-966.

111. Nguyen T and Lau DC. The obesity epidemic and its impact on hypertension. *The Canadian journal of cardiology.* 2012; 28:326-333.

112. Nijland MJ, Ford SP and Nathanielsz PW. Prenatal origins of adult disease. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2008; 20(2): 132-133.

113. Niskanen L, Laaksonen DE, Punnonen K, Mustajoki P, Kaukua J, and Rissanen A. Changes in sex hormone-binding globulin and testosterone during weight loss and weight maintenance in abdominally obese men with the metabolic syndrome. *Diabetes Obes Metab.* 2004; 6: 208-215.
114. Nivoit P, Omrens C, Van Assche FA, Jansen E, Poston L, Remacle C, and Reusens B. Established diet-induced obesity in female rats leads to offspring hyperphagia, adiposity and insulin resistance. *Diabetologia.* 2009; 1133-1142.
115. Oben JA, Mourilidarane A, Sammuelson AM, et al. Maternal obesity during pregnancy and lactation programmes the development of offspring non-alcoholic fatty liver disease in mice. *Journal of Hepatology.* 2010; 56(6): 913-920.
116. Oben JA, Patel T, Mouralidarane A, et al. Maternal obesity programmes offspring development of non-alcoholic fatty pancreas disease. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010; 394: 24-28.
117. Oh W, Gelardi NL and Cha CJ. The cross-generation effect of neonatal macrosomia in rat pups of streptozotocin-induced diabetes. *Pediatr Res.* 1991; 29: 606-610.
118. Olaso R and Habert R. Genetic and cellular analysis of male germ cell development. *J Androl.* 2000; 21(4): 497-511.
119. Oliveira L, and Goulart-Fernandez, F. Male fertility, obesity, and bariatric surgery. *Reproductive Sciences.* 2012; 19(8): 778-786.
120. Oliveira L, Zani EL, DestroSaad R, Adame E, de Oliveira LC, and Fregonesi A. Bariatric surgery does not interfere with sperm quality-A preliminary long-term study. *Reproductive Science.* 2012; 19(10): 1067-1082.
121. Omu AE. Sperm Parameters: Paradigmatic Index of good health and longevity. *Med Princ Pract.* 2013; 22: supply 1.
122. Orth, J.M., G.L. Gunsalus, and A.A. Lamperti, *Evidence from Sertoli cell-depleted rats. indicates that spermatid number in adults depends on numbers of Sertoli cells produced during perinatal development.* *Endocrinology*, 1988. **122**(3): p. 787-94
123. ONU. Organización de Naciones Unidas. Estadísticas Sanitarias Mundiales. 2013.
124. Palmer NO, Bakos HW, Fullston T, and Lane M. Impact of obesity on male fertility, sperm function and molecular composition. *Spermatogenesis.* 2012;2(4):253-263.

125. Palmer NO, Bakos HW, Owens JA, Setchell BP, and Lane M. Diet and exercise in an obese mouse fed a high-fat diet improve metabolic health and reverse perturbed sperm function. *American journal of physiology, endocrinology and metabolism*. 2012;302(7):E768-780.
126. Pasquali R, Casimirri F, Melchionda N et al. Weight loss and sex steroid metabolism in massively obese men. *J Endocrinol Invest*. 1988; 11: 205-210.
127. Pauli EM, Legro RS, Demers LM, Kunselman AR, Dodson WC, and Lee PA. Diminished paternity and gonadal function with increasing obesity in men. *FertilSteril*. 2008; 90:436-351.
128. Pettitt DJ and Jovanovic L. Birth weight as a predictor of type 2 diabetes mellitus: the U shaped curve. *Curr Diab Rep*. 2001; 1: 78-81.
129. Plagemann A, Harder T, Franke K and Kohlhoff R. Long term impact of neonatal breastfeeding on body weight and glucose tolerance in children of diabetic mothers. *Diabetes Care*. 2002; 25:16-22.
130. Poulsen P, Vaag AA, Kyvik KK, Moller-Jensen D and Beck-Nielsen H. Low birth weight is associated with NIDDM in discordant monozygotic and dizygotic twin pairs. *Diabetologia*. 1997; 40: 439-446.
131. Quinn DVM. Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years?. *Nutrition*. 2005; 21(6): 775-777.
132. Rae MT, et al. Effect of maternal undernutrition on fetal testicular steroidogenesis during the CNS androgen-responsive period in male sheep fetuses. *Reproduction*. 2002; 124(1): 33-39.
133. Ramlau-Hansen CH, Nohr EA, Thulstrup AM, Bonde JP, Storgaard L, and Olsen J. Is maternal obesity related to semen quality in the male offspring? A pilot study. *Hum Reprod*. 2007;22(10):2758-2762.
134. Ramlau-Hansen CH, Hansen M, Jensen CK, Olsen J, Bonde JP and Thulstrup AM. Semen quality and reproductive hormones according to birth weight and body mass index in childhood and adult life. Two decades of follow-up. *Fertil Steril* . 2010; 94:610-618.
135. Randall D, B.W., French K, *Fisiología animal*, M.-H. Interamericana, Editor. 1998: Madrid p. 507-509.
136. Ravelli AC, van der Meulen JH, Michels RP, et al. Glucose intolerance in adults after prenatal exposure to famine. *Lancet*. 1998; 351: 173-177.

137. Rhind SM, Rae MT and Brooks AN. Effects of nutrition and environmental factors on the fetal programming of the reproductive axis. *Reproduction*. 2001; 122(2): 205-214.
138. Roberts MD, Brown JD, Company JM, et al. Phenotypic and molecular differences between rats selectively-bred to voluntarily run high versus low nightly distances. *American Journal of physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2013; DOI. 10.1152/ajpregu.00581.2012.
139. Roberts MD, Toedebusch RG, Wells KD, et al. Nucleus accumbens neuronal maturation differences in young rats bred for low versus high voluntary running behaviour. *J Physiol*. 2014; 592(Pt 10): 2119-2135.
140. Rodríguez-González GL, Vega CC, Boeck L, Vázquez M, Bautista CJ, Reyes-Castro LA, Saldaña O, Lovera D, Nathanielsz PW and Zambrano E. Maternal obesity and over-nutrition increase oxidative stress in male rat offspring reproductive system and decrease fertility. *Int J Obes*. 2015; doi:10.1038/ijo.2014.209.
141. Rodriguez JS, Rodriguez-Gonzalez GL, Reyes-Castro LA, Ibanez C, Ramirez A, Chavira R, Larrea F, Nathanielsz PW, and Zambrano E. Maternal obesity in the rat programs male offspring exploratory, learning and motivation behavior: prevention by dietary intervention pre-gestation or in gestation. *International journal of developmental neuroscience*. 2012;30(2):75-81.
142. Romano, F., et al., *The contractile phenotype of peritubular smooth muscle cells is locally controlled: possible implications in male fertility*. *Contraception*, 2005. **72**(4): p. 294-7.
143. Ruager-Martin R, Hyde MJ, and Modi N. Maternal obesity and infant outcomes. *Early human development*. 2010; 86:715-722.
144. Samuelsson AM, Matthews PA, Argenton M, Christie MR, McConnell JM, Jansen EH, Piersma AH, Ozanne SE, Twinn DF, Remacle C, Rowlerson A, Poston L, and Taylor PD. Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming. *Hypertension*. 2008; 51:383-392.
145. Sartorius GA and Nieschlag E. Paternal age and reproduction. *Hum Reprod Update*. 2010; 16: 65-79.
146. Sengupta P. The laboratory rat: relating its age with human's. *Int J Prev Med*. 2013; 4(6): 624-630.

147. Sermondade N, Faure C, Fezeu L, Levy R, and Czernichow S. Obesity and increased risk for oligozoospermia and azoospermia. *Archives of internal medicine*. 2012;172(5):440-442.
148. Schulz LO, Bennett PH, Ravussin E, et al. Effects of traditional and western environments on prevalence of type 2 diabetes in Pima Indians in Mexico and the US. *Diabetes Care*. 2006; 29(8): 1866-1877.
149. Shafik A, and Olfat S. Lipectomy in the treatment of scrotal lipomatosis. *Br J Urol*. 1981;53(1):55-61.
150. Sharma R, Biedenharn KR, Fedor JM and Agarwal A. Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. *Reprod Biol Endocrinol* 2013; 11:66.
151. Sharpe, R.M., et al., *Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood*. *Reproduction*, 2003. **125**(6): p. 769-84.
152. Shayeb AG, and Bhattacharya S. Male obesity and reproductive potential. *Br J Diabetes Vac Dis*. 2009; 9: 7-12.
153. Sikka SC. Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Frontiers in bioscience*. 1996;1:e78-86.
154. Silverman BL, Metzger BE, Cho NH and Loeb CA. Impaired glucose tolerance in adolescent offspring of diabetic mothers. Relationship to fetal hyperinsulinism. *Diabetes Care*. 1995; 18: 611-617.
155. Sloboda DM, Howie GJ, Pleasants A, Gluckman PD, and Vickers MH. Pre- and postnatal nutritional histories influence reproductive maturation and ovarian function in the rat. *PloS one*. 2009;4(8):e6744.
156. Solomons NW. Developmental origins of health and diseases: concept, caveats and consequences for public health nutrition. *Nutrition reviews*. 2009; 67 suppl1: 512-516.
157. Song JH, Fujimoto K and Miyazawa T. Polyunsaturated (n-3) fattyacids susceptible to peroxidation are increased in plasma and tissue lipids of rats fed docosahexaenoic acid-containing oils. *J Nutr*. 2000; 30(12): 3028-33.
158. Stanik S, Dornfeld LP, Maxwell MH, Viosca SP, and Korenman SG. The effect of weight loss on reproductive hormones in obese men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1981; 53: 828-832.
159. Strain GW, Zumoff B, Miller LK et al. Effect of massive weight loss on hypothalamic-pituitary-gonadal function in obese men. *J Clin Endocrinol Metab*. 1988; 66: 1019-1023.

160. Swift DL, Johannsen NM, Lavie CJ, Earnest CP, and Church TS. The role of exercise and physical activity in weight loss and maintenance. *Progress in cardiovascular diseases*. 2014;56(4):441-447.
161. Teerds KJ, de Rooij DG and Keijer J. Functional relationship between obesity and male reproduction: from humans to animal models. *Human Reproduction Update*. 2011; 17(5): 667-683.
162. Tresguerras, J., *Fisiología humana*, M.-H. Interamericana, Editor. 1999: Madrid. p. 1034-1039.
163. Tunc O, Bakos HW, and Tremellen K. Impact of body mass index on seminal oxidative stress. *Andrologia*. 2011; 43:121-128.
164. Turdi S, Ge W, Hu N, Bradley KM, Wang X, and Ren J. Interaction between maternal and postnatal high fat diet leads to a greater risk of myocardial dysfunction in offspring via enhanced lipotoxicity, IRS-1 serine phosphorylation and mitochondrial defects. *Journal of molecular and cellular cardiology*. 2013;55:117-129.
165. Van Assche FA, Holemans K and Aerts L. Long-term consequences for offspring of diabetes during pregnancy. *Br Med Bull*. 2001; 60: 173-182.
166. Vega CC, Reyes-Castro LA, Bautista CJ, Larrea F, Nathanielsz PW, and Zambrano E. Exercise in obese female rats has beneficial effects on maternal and male and female offspring metabolism. *Int J Obes (Lond)*. 2013; doi:10.1038/ijo.2013.150.
167. Viguera-Villasenor RM, Rojas-Castaneda JC, Chavez-Saldana M, Gutierrez-Perez O, Garcia-Cruz ME, Cuevas-Alpuche O, Reyes-Romero MM, and Zambrano E. Alterations in the spermatogenic function generated by obesity in rats. *Acta histochemica*. 2011;113(2):214-220.
168. Viguera-Villasenor RM, et al. The effect of estrogen on testicular gonocyte maturation. *Reprod Toxicol*. 2006; 22(3): 513-520.
169. Villareal DT, Chode S, Parimi N, Sinacore DR, Hilton T, Armamento-Villareal R, Napoli N, Qualls C and Shah K. Weight loss, exercise, or both and physical function in obese older adults. *N Engl J Med*. 2011; 364:1218-1229.
170. Vincent HK, et al. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. *Diabetes Obes Metab*. 2007; 9(6): 813-839.
171. Vucetic Z, Kimmel J, et al. Maternal high-fat alters methylation and gene expression of dopamine and opioid-related genes. *Endocrinology*. 2010; 151(10): 4756-4764.
172. Waites, G.M. and R.T. Gladwell, *Physiological significance of fluid secretion in the testis*

- and blood-testis barrier*. *Physiol Rev*, 1982. 62(2): p. 624-71.
173. Walker, W.H., *Molecular mechanisms controlling Sertoli cell proliferation and differentiation*. *Endocrinology*, 2003. **144**(9): p. 3719-21.
174. Wang, R.S., et al., *Androgen receptor roles in spermatogenesis and fertility: lessons from testicular cell-specific androgen receptor knockout mice*. *Endocr Rev*, 2009. 30(2): p. 119-32.
175. Wang Y, et al. Diet induced obesity affects testis development in pubertal rats. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2007; 13(6): 514-519.
176. Wegner CC, Clifford AL, Jilbert PM, Henry MA and Gentry WL. Abnormally high body mass index and tobacco use are associated with poor sperm quality as revealed by reduced sperm binding to hyaluronan-coated slides. *FertilSteril*. 2010; 93: 332-334.
177. Wells JC. Adaptive variability in the duration of critical windows of plasticity: Implications for the programming of obesity. *Evolution, medicine, and public health*. 2014; 2014: 109-121.
178. Williams L, et al. Animal models of in utero exposure to a high fat diet: a review. *Biochem Biophys Acta*. 2014; 1842(3): 507-519.
179. Williams, R., *Tratado de endocrinología*, Interamericana, Editor. 1984: España p. 308-315.
180. Wilson JD, F.D., *Textbook of endocrinology*, W.B.S. Company, Editor. 1992: USA p. 801-805
181. Wise LA, Cramer DW, Hornstein MD, Ashby RK, and Missmer SA. Physical activity and semen quality among men attending an infertility clinic. *Fertility and sterility*. 2011;95(3):1025-1030.
182. World Health Organization. *WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen*. Switzerland: WHO Press, 2010.
183. World Health Organization. *Global status report on noncommunicable diseases 2010*. Geneva: World Health Organization, 2011.
184. Yu CK, Teoh TG and Robinson S. Obesity in pregnancy. *BJOG: an international Journal of obstetrics and gynaecology*. 2006; 113(10): 1117-1125.
185. Zambrano E. Mecanismos transgeneracionales en el desarrollo de enfermedades metabólicas. *Revista de Investigación Clínica*. 2009; 1 (61): 41-52.
186. Zambrano E, Bautista CJ, Deas M, Martinez-Samayoa PM, Gonzalez-Zamorano M, Ledesma H, Morales J, Larrea F, and Nathanielsz PW. A low maternal protein diet during

pregnancy and lactation has sex- and window of exposure-specific effects on offspring growth and food intake, glucose metabolism and serum leptin in the rat. *The Journal of physiology*. 2006;571:221-230.

187. Zambrano E, Guzmán C, Rodríguez-González G, Durand-Carbajal M, and Nathanielsz PW. Fetal programming of sexual development and reproductive function. *Molecular and cellular endocrinology*. 2014;382:538-549.

188. Zambrano E, Martinez-Samayoa PM, Rodriguez-Gonzalez GL, and Nathanielsz PW. Dietary intervention prior to pregnancy reverses metabolic programming in male offspring of obese rats. *The Journal of physiology*. 2010;588:1791-1799.

189. Zambrano E and Nathanielsz PW. Mechanisms by which maternal obesity programs offspring for obesity: evidence from animal studies. *Nutrition reviews*. 2013;71 Suppl 1:S42-54.

190. Zambrano E, Rodriguez-Gonzalez GL, Guzman C, Garcia-Becerra R, Boeck L, Diaz L, Menjivar M, Larrea F, and Nathanielsz PW. A maternal low protein diet during pregnancy and lactation in the rat impairs male reproductive development. *The Journal of physiology*. 2005;563:275-284.

ABREVIACIONES

AAALAC	Asociación Internacional para la evaluación y acreditación del cuidado de animales de laboratorio (por sus siglas en inglés)
ABP	Proteína fijadora de andrógenos
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ANOVA	Análisis de varianza (por sus siglas en inglés)
AR	Receptor de andrógenos
BHT	Butil hidroxitolueno
C	Control
CO₂	Dióxido de carbono
C+E	Control + Intervención con ejercicio voluntario en la rueda para roedor
Cu-ZnSOD	Enzima citocromo-oxidasa
d	Días
DOHaD	Origen durante el desarrollo de la salud y la enfermedad (por sus siglas en inglés)
DPN	Días posteriores al nacimiento o día post-natal
EE	Error estándar de la media
F₀	Generación parental
F₁	Primera generación filial
FSH	Hormona estimulante del folículo (por sus siglas en inglés)
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropinas (por sus siglas en inglés)
GPx	Glutación peroxidasa
HCl	Acido clorhídrico
HO-	Radical hidroxilo
H₂O	Agua
H₂O₂	Peróxido de hidrógeno
IMC	Índice de masa corporal (kg/m ²)
INNSZ	Instituto Nacional de Nutrición Salvador Zubirán
INT	Cloruro de 2-(4-yodofenil)-3-(4-nitrofenol)-5-feniltetrazolío
Kcal	Kilocalorías
LH	Hormona luteinizante (por sus siglas en inglés)
LPO	Lipoperoxidación

MDA	Malondialdehído
MnSOD	Enzima superóxido dismutasa
O₂	Oxígeno molecular
OM	Obesidad materna
OM+E	Obesidad materna + Intervención con ejercicio voluntario en la rueda para roedor
OMS	Organización Mundial de la Salud
P450scc	Enzima citocromo que rompe la cadena lateral de 6 carbonos del colesterol
RANSEL	Estuche comercial para el análisis de la glutatión peroxidasa
R1a	Reactivo que contiene glutatión, glutatión reductasa y NADPH
RANSOD	Estuche comercial para el análisis de la superóxido dismutasa
ROO-	Radical peroxilo
ROOH	Hidroxiperoxilo orgánico
ROS	Especies reactivas de oxígeno (por sus siglas en inglés)
SGF	Factor de crecimiento seminífero
SHBG	Globulina fijadora de hormonas sexuales (por sus siglas en inglés)
SOD	Superóxido dismutasa
StAR	Proteína reguladora aguda de esteroidogénesis
TBARS	Prueba del ácido tiobarbitúrico (por sus siglas en inglés)
TCA	Ácido tricloroacético

TABLAS y FIGURAS

Tabla 1. Complicaciones durante el embarazo, parto, postparto y neonatales en mujeres obesas embarazadas.....	9
Tabla 2. Efectos del medio ambiente fetal en la descendencia.....	12
Tabla 3. Composición nutricional de las dietas.....	31
Figura 1. Eje hipotálamo – hipófisis – testículo.....	16
Figura 2. Estructura del testículo.....	18
Figura 3. Diseño de estudio.....	30
Figura 4. Rueda para roedor adaptada a nuestro experimento.....	34
Figura 5. Ejercicio voluntario.....	40
Figura 6. Peso corporal, Índice de adiposidad y grasa gonadal.....	42
Figura 7. Biomarcadores de estrés oxidante testicular.....	44
Figura 8. Biomarcadores de estrés oxidante en el esperma.....	46
Figura 9. Parámetros espermáticos.....	48
Figura 10. Tasa de fertilidad.....	50

Adult exercise effects on oxidative stress and reproductive programming in male offspring of obese rats

Mery Santos,¹ Guadalupe L. Rodríguez-González,¹ Carlos Ibáñez,¹ Claudia C. Vega,¹ Peter W. Nathanielsz,² and Elena Zambrano¹

¹Reproductive Biology Department, National Institute of Medical Science and Nutrition, Salvador Zubiran, Mexico; and ²Center for Pregnancy and Newborn Research, Department of Obstetrics, University of Texas Health Sciences Center San Antonio, Texas

Submitted 18 September 2014; accepted in final form 9 December 2014

Santos M, Rodríguez-González GL, Ibáñez C, Vega CC, Nathanielsz PW, Zambrano E. Adult exercise effects on oxidative stress and reproductive programming in male offspring of obese rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 308: R219–R225, 2015. First published December 10, 2014; doi:10.1152/ajpregu.00398.2014.—Exercise improves health but few data are available regarding benefits of exercise in offspring exposed to developmental programming. There is currently a worldwide epidemic of obesity. Obesity in pregnant women predisposes offspring to obesity. Maternal obesity has well documented effects on offspring reproduction. Few studies address ability of offspring exercise to reduce adverse outcomes. We observed increased oxidative stress and impaired sperm function in rat offspring of obese mothers. We hypothesized that regular offspring exercise reverses adverse effects of maternal obesity on offspring sperm quality and fertility. Female Wistar rats ate chow (C) or high-energy, obesogenic diet (MO) from weaning through lactation, bred at postnatal day (PND) 120, and ate their pregnancy diet until weaning. All offspring ate C diet from weaning. Five male offspring (different litters) ran on a wheel for 15 min, 5 times/week from PND 330 to 450 and were euthanized at PND 450. Average distance run per session was lower in MO offspring who had higher body weight, adiposity index, and gonadal fat and showed increases in testicular oxidative stress biomarkers. Sperm from MO offspring had reduced antioxidant enzyme activity, lower sperm quality, and fertility. Exercise in MO offspring decreased testicular oxidative stress, increased sperm antioxidant activity and sperm quality, and improved fertility. Exercise intervention has beneficial effects on adiposity index, gonadal fat, oxidative stress markers, sperm quality, and fertility. Thus regular physical exercise in male MO offspring recuperates key male reproductive functions even at advanced age: it's never too late.

developmental programming; oxidative stress; interventions; fertility.

EXERCISE IS WELL KNOWN to improve health (7, 43). Programming by adverse conditions during development is now well accepted as a major determinant of offspring life-course health. Developmental programming can be defined as the response to a specific challenge to the mammalian organism during a critical developmental time window that changes the trajectory of growth altering phenotype with resulting effects on health that can persist throughout life (14, 57). Developmental effects of suboptimal maternal nutrition have been extensively investigated (15, 28, 44) including programming resulting from maternal obesity (50).

Address for reprint requests and other correspondence: E. Zambrano, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. Vasco de Quiroga 15, Sección XVI, Tlalpan, 14000, México, D.F. México (e-mail: zamgon@unam.mx).

The incidence of obesity has increased substantially worldwide over recent years and obesity is now recognized as a major, universal health problem by organizations such as the World Health Organization (WHO) (53) with over 1.1 billion individuals throughout the world classified as obese (37). Increased prevalence of obesity is also reflected among women of reproductive age and recognized as a major complication in pregnant women (30, 55).

Maternal over nutrition and obesity during pregnancy and/or lactation affects offspring metabolic phenotype (56), cardiovascular function (46), anxiety behavior, associative learning, and motivation (36). In contrast, programming of offspring reproductive capacity by maternal obesity is poorly documented. We have reported that male offspring of pregnant rats fed a low-protein diet develop obesity and have lower sperm counts and a 50% decrease in fertility rate (58). At the other extreme of maternal nutrition, maternal over nutrition and obesity during pregnancy and lactation decreases sperm viability, motility, and concentration in adult male offspring accompanied by manifestation of increased testicular oxidative stress (35, 55). Female rat offspring from mothers fed with high-fat diet during pregnancy and lactation have earlier puberty onset (42), higher leptin and insulin serum levels (21), and altered reproductive function reflected in an increased incidence of prolonged or persistent estrus (10). Maternal obesity in humans leads to earlier onset of puberty (20) and affects semen quality in male offspring (34). In mice Founder generation F₀ paternal obesity compromises F₁ female pancreatic function (29). F₁ females oocytes show increased oxidative stress and altered mitochondrial function and F₁ males have altered sperm function with reduced motility, increased reactive oxygen species (ROS) levels, and decreased in vitro fertilization rates (13).

Human (23, 49) and animal studies (31, 38, 56) show that offspring of obese mothers are themselves predisposed to obesity. Obesity and male infertility have increased in parallel (25), which potentially explains the positive correlation between male obesity and low sperm quality and fertility (32). Human (8, 19, 45) and animal studies (33) show that spermatozooids from obese male have decreased motility, more morphological defects, increased DNA damage, and higher oxidative stress. While the etiology of male infertility is clearly multifactorial, oxidative stress is now considered to play an important role. In humans, paternal obesity is associated with increased oxidative stress in sperm (41), reduction in semen quality, and decreased fertility (6). Similarly, obese male rats have lower sperm quality and higher epididymal lipoperoxidation (48).

Given the existence of multiple negative effects of adverse programming on life-course health, there is a pressing need for development of interventions that effectively prevent or reverse unwanted outcomes. Adult exercise provides numerous health benefits (43), and we have shown that exercise in obese female rats before and during pregnancy has beneficial effects on maternal and male and female offspring metabolism (47). Lifestyle changes that induce weight loss such as dietary and exercise interventions can improve semen parameters and therefore fertility in obese men (6). From the lack of information available about the beneficial exercise effects on negative developmental programming outcomes in offspring, the present study aimed to determine the effects of maternal obesity on male offspring metabolism and fertility and determine whether developmental programming outcomes are permanent or are reversible by offspring lifestyle modification. We hypothesized that regular offspring exercise even in early adult life, would reverse the adverse effects of maternal obesity on offspring metabolism, sperm quality, and fertility.

METHODS

Standardization of phenotype of females (F_0) recruited to produce study F_1 offspring. All procedures were approved by the Animal Experimentation Ethics Committee of the Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INNSZ), Mexico City, Mexico. Female albino Wistar rats were born and maintained in the animal facility of the INNSZ, which is accredited by and adheres to the standards of the Association for Assessment and Accreditation of Laboratory Animal Care International (AAALAC). Rats were maintained at 22–23°C under controlled lighting (lights on 07:00 to 19:00 h) and fed normal laboratory chow (Zeigler Rodent RQ22-5) containing 22.0% protein, 5.0% fat, 31.0% polysaccharide, 31.0% simple sugars, 4.0% fiber, 6.0% minerals, and 1.0% vitamins (wt/wt), energy 4.0 kcal/g. At age 14–16 wk, when they weighed 200–240 g, females were bred to randomly assigned, nonlitter mate, proven male breeders. At delivery (*day 0*) litters that provided F_0 mothers were culled to 10 pups containing at least four females. Litters with less than 10 or more than 14 pups were excluded. At weaning (*day 21*) one female F_0 pup from each litter was randomly assigned to either a control (C; $n = 5$) group that received the laboratory chow or to a maternal obesity group (MO; $n = 5$) fed a high-energy, obesogenic diet containing 23.5% protein, 20.0% animal lard, 5.0% fat, 20.2% polysaccharide, 20.2% simple sugars, 5.0% fiber, 5.0% mineral mix, 1.0% vitamin mix (wt/wt), energy 4.9 kcal/g. Thus each F_0 group contained only one female from any litter and F_0 females in different groups, but not

within groups, were sisters, providing maximal possible homogeneity in F_0 mothers' own developmental programming and genetics.

F_1 offspring. F_0 female rats were placed with proven male breeders on *day 120* and conceived during the next cycle. To minimize consumption of the obesogenic diet by the males during the mating period, males were placed with females at night and removed during the morning. Lactating mothers were maintained on their pregnancy diet. Litter size and pup weight were recorded at birth. Anogenital distance was measured to identify males and females (54). Litters with less than 10 or more than 14 pups were excluded. To ensure F_1 offspring homogeneity, on postnatal day (PND) 2 all litters studied were adjusted to 10 pups with equal numbers of males and females as closely as possible. Offspring were weaned at PND 21, housed 5 per cage, and fed chow diet throughout the study. Only male offspring were studied. At PND 330 five males per group from different litters were randomly selected to begin wheel-running exercise (C_{ex}, C exercised; MO_{ex}, MO exercised) (Fig. 1).

Voluntary moderate exercise. F_1 C_{ex} and MO_{ex} rats were trained to wheel run (15-min sessions) on 2 days in the week before PND 330. A pilot study established an optimum running schedule of 15 min, which was always completed. Throughout to ensure some recovery time as in human athletic training schedules, the study rats were allowed two nonconsecutive rest days weekly. Rats ran for only one 15-min session 5 days per week during 4 months (PND 330–PND 450). Distances run were quantified using a bicycle odometer (47). The last bout of exercise took place 24 h before tissue collection.

F_1 offspring at PND 450. At PND 450, following a 6-h fast, male rats were decapitated by trained personnel, experienced in using a rodent guillotine (Thomas Scientific,) between 12:00 to 14:00 h. Testes were dissected, cleaned of fat, weighed, frozen, and stored at –70°C until analyzed. The sternal, pancreatic, perirenal, retroperitoneal, and gonadal fat pads were dissected and weighed individually. Adiposity index was calculated as total adipose tissue (g) divided by body weight (g). At PND 450 the cauda epididymis and vas deferens were rapidly removed and placed in saline at 37°C to release sperm by squeezing the vas deferens with tweezers and triturating the cauda epididymis with scissors.

Tissue and sample preparation. Frozen testes were homogenized in saline, and aliquots were frozen at –70°C for no more than 24 h for later protein quantification using the Bradford method, and for determination of antioxidant enzymes activity. Lipid peroxidation was determined at the time of homogenization of the testis. All determinations were performed in duplicate and averaged for statistical analysis.

Sperm aliquots containing 5×10^6 and 1×10^7 spermatozoa underwent 6 thermal shock cycles from –70°C to 45°C, sonication for 2 min with 6 intervals of 20 s each, and were then placed in ice and

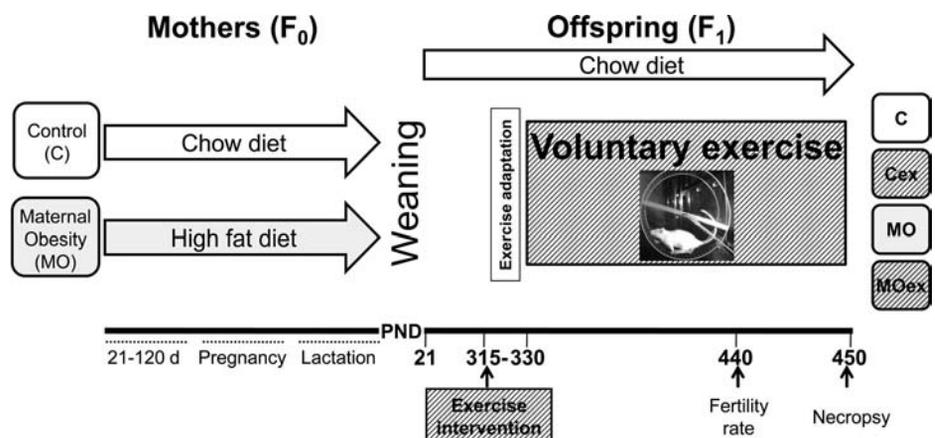


Fig. 1. Study design. d, days; PND, postnatal days. C, control; C_{ex}, control with exercise; MO, maternal obesity; MO_{ex}, maternal obesity with exercise.

frozen at -70°C for no more than 24 h for later quantification of antioxidant enzymes.

Lipid peroxidation assay. Aliquots containing 5 million sperm were adjusted with saline to 100 μl . Lipid peroxidation was determined in 100- μl aliquots of either homogenized testes or 5×10^6 sperm by measurement of malondialdehyde (MDA) by the thiobarbituric acid-reactive substances assay (TBARS). All samples were read at 532 nm in a Perkin-Elmer LS50-B luminescence spectrometer. Results are expressed as either nanomoles of MDA per milligram of protein or nanomoles MDA per 5 million sperm (47). Intra- and interassay coefficients of variation were <6 and $<8\%$, respectively.

Superoxide dismutase activity. Superoxide dismutase (SOD) activity was determined in 10- μl aliquots of homogenized testes or sperm with a RANSOD kit (RANDOX Laboratories). A standard curve was obtained according to the manufacturer's instructions. All samples were read at 505 nm in a Perkin-Elmer LS50-B luminescence spectrometer at 0, 30 s, and 3 min at 37°C to obtain the deltas of absorbance. Results are expressed as either units of activity per milligram of protein or percentage of activity per 5 million sperm (47).

Glutathione peroxidase activity. Glutathione peroxidase (GPx) activity was determined in a 10- μl aliquot of homogenized testes or sperm with the RANSEL kit (RANDOX Laboratories). All samples were read at 304 nm in a Perkin-Elmer LS50-B luminescence spectrometer at basal, 1, 2, and 3 min at 37°C to obtain the deltas of absorbance. Results are expressed as either milliunits per milligram of protein in the testes or activity units per 10 million sperm (47).

Sperm measurements. Sperm viability was assessed by mixing 10 μl of saline (0.90% wt/vol of NaCl) containing spermatozooids with 10 μl of eosin. Live spermatozoa were identified by absence of staining as a sign of membrane integrity. Results are expressed as the percentage of live cells. Sperm concentration and motility were evaluated with a computerized sperm analyzer (Sperm Quality Analyzer). All sperm measurements performed were according to the WHO guidelines (52).

Evaluation of fertility rate. At PND 440 individual experimental males were placed for 1 wk with two nonexperimental females aged 4 months. Males were then separated from the females who were kept individually until day 15 of any potential gestation. The male was

considered fertile when at least one of the two females became pregnant (58). Results are expressed as percentages of fertile males and as percentages of pregnant females.

Statistical analysis. All data are presented as means \pm SE. For differences within maternal diet and exercise intervention, data were analyzed using one-way multiple analysis of variance (ANOVA) followed by the Tukey test. Fertility rate was analyzed using the χ^2 test. A $P < 0.05$ was considered significant. One male per litter was chosen randomly to form a group of 5.

RESULTS

Voluntary exercise. The average distance run during the first month of exercise was (C_{ex} : 12.2 ± 2 , MO_{ex} : 7.5 ± 1.06 m/15 min, $P < 0.05$); at the fourth month the average distance run increased 2.2 and 2 times, respectively. The average distance run per 15 min session in the 4 mo was lower in male offspring of MO mothers compared with C offspring (Fig. 2A).

Body weight, adiposity index, and gonadal fat. Unexercised MO male offspring had increased body weight, adiposity index, and gonadal fat compared with C and C_{ex} offspring (Fig. 2, B–D), whereas testicular weight was similar in all groups (C : 1.6 ± 0.05 , C_{ex} : 1.5 ± 0.05 , MO : 1.7 ± 0.05 , MO_{ex} : 1.7 ± 0.04 g). At the end of the voluntary exercise program, none of these parameters were different between C_{ex} and C group (Fig. 2, B–D). Exercise in the MO_{ex} group did not decrease body weight (Fig. 2B), but it partially ameliorate adiposity index and gonadal fat compared with C and C_{ex} (Fig. 2, C and D).

Testicular oxidative stress biomarkers. Unexercised MO offspring increased testicular MDA levels as well as SOD and GPx antioxidant enzyme activity compared with C offspring (Fig. 3, A–C). Exercise in C_{ex} and MO_{ex} groups decreased MDA concentration and GPx activity compared with C and MO, respectively (Fig. 3, A and C). Exercise had no effect on SOD activity (Fig. 3B).

Sperm oxidative stress biomarkers. Sperm MDA was increased and SOD and GPx activity decreased in unexercised

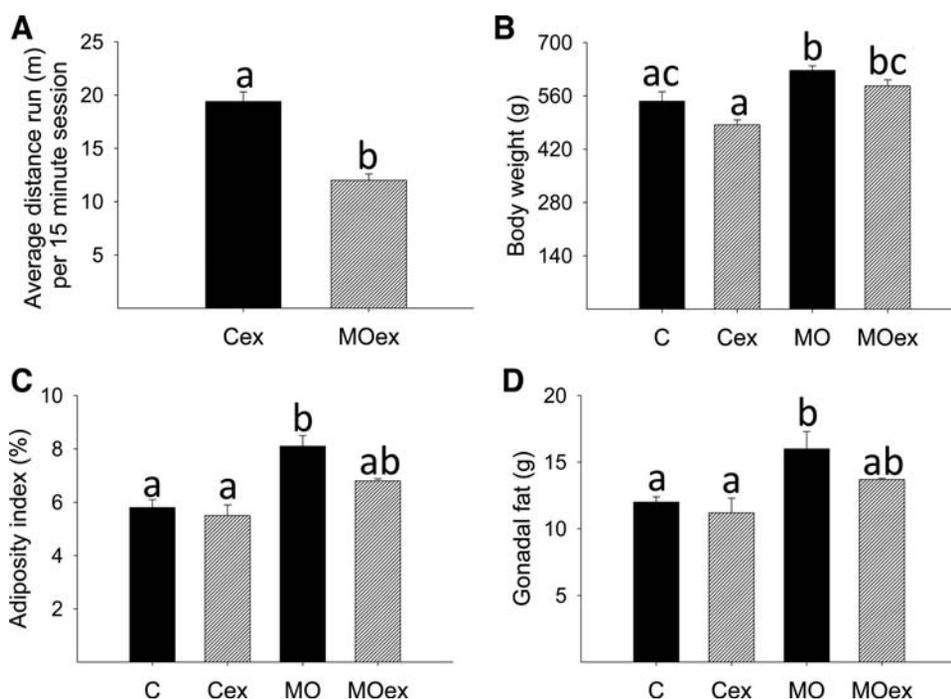


Fig. 2. Voluntary exercise and weights at postnatal day 450 in male offspring of different groups of mothers: C, C_{ex} , MO, and MO_{ex} . A: average distance run; B: body weight; C: adiposity index; D: gonadal fat. Values are means \pm SE, $n = 5$ from different litters. $P < 0.05$ for data not sharing at least one letter.

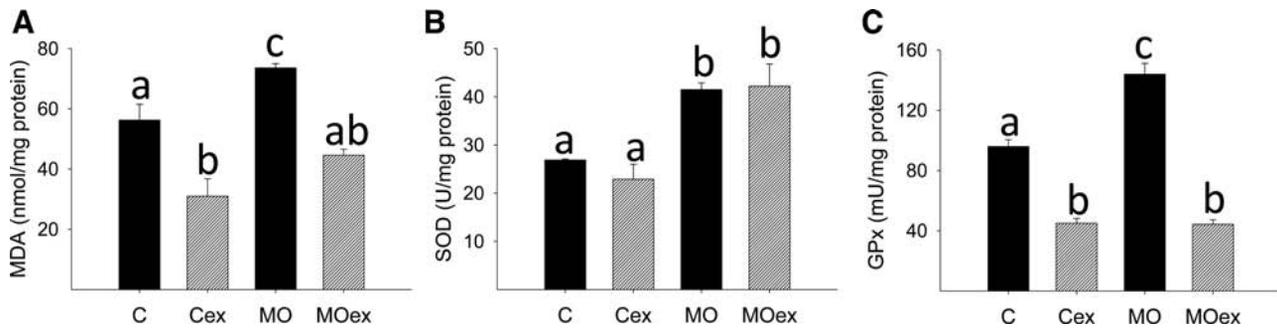


Fig. 3. Testicular oxidative stress biomarkers at postnatal day 450 in male offspring of different groups of mothers: C, C_{ex}, MO, and MO_{ex}. A: malondialdehyde (MDA); B: superoxide dismutase (SOD); C: glutathione peroxidase (GPx). Values are means \pm SE, $n = 5$ rats from different litters. $P < 0.05$ for data not sharing at least one letter.

MO compared with C offspring (Fig. 4, A–C). MDA levels were lower in C_{ex} and MO_{ex} compared with C and MO, respectively (Fig. 4A). There were no differences in the antioxidant enzyme activity in the sperm between C and C_{ex} (Fig. 4, B and C). Exercise in the MO_{ex} group increased SOD and GPx activity compared with the MO group but values remained lower than C and C_{ex} values (Fig. 4, B and C).

Sperm parameters. Sperm quality evaluated by concentration, viability, and motility was lower in the unexercised MO compared with C offspring (Fig. 5, A–C). Sperm concentration increased in C_{ex} and MO_{ex} compared with C and MO offspring (Fig. 5A). MO_{ex} improved viability and motility compared with MO, but values did not reach those in C and C_{ex} (Fig. 5, A–C).

Fertility rate. Fertility rate reported as the percentages of fertile males was similar between groups (Fig. 6A). However, when expressed as percentage of pregnant females, the fertility rate was lower in MO offspring compared with C and C_{ex}. MO_{ex} partially improved male fertility since it was not different from C (Fig. 6B). No differences were observed in F₂ litter size among the four groups (C = 10.4 ± 0.2 , C_{ex} = 10.6 ± 0.2 , MO = 10.2 ± 0.6 , MO_{ex} = 11 ± 0.3 pups/litter).

DISCUSSION

There is growing evidence that the offspring of obese women have an increased risk of metabolic diseases in adult life. However, it has not been established if obesity during pregnancy programs the male F₁ reproductive capacity. There is also a need to determine whether adverse outcomes can be reversed by later-life behavioral modification. In a previous study conducted in young adult male offspring of obese mothers at PND 110 despite differences from controls in some

hormones (e.g., testosterone) and sperm quality by this age, fertility rate was not different (35). Therefore, we decided to exercise the rats after reproductive function is affected, around PND 330. The present study shows that maternal obesity impairs sperm quality and fertility in F₁ male rat offspring and that these adverse outcomes can be ameliorated by increasing physical activity even in later life.

It is well known that body weight can be affected by individual's diet and physical activity. Epidemiological and animal studies have shown that the environment experienced in utero and in early neonatal life can increase the risk not only of developing metabolic diseases but also of adult obesity (24). We have reported that male offspring from obese mothers are fatter with higher leptin and insulin serum levels than offspring of controls (47, 56). Others have reported similar observations (11, 22). In this study we report that body weight, gonadal fat and adiposity index were increased in the MO F₁.

Obesity is an important factor for infertility (18). In humans, male obesity is associated with decreased serum sex hormone-binding globulin, testosterone concentrations, and increased estrogen levels (32). These changes are accompanied by higher incidence of azoospermia or oligozoospermia (39) and structural changes in germ cells and sperms (32). Changes in scrotal temperature are associated with lower fertility (40). In the present study we found that male offspring from the MO group had an increase in gonadal fat and a decrease in sperm concentration and viability. These results may be because of the higher fat accumulation around the testes in the MO group with a resulting elevation in scrotal temperature, which impairs sperm function. Scrotal lipectomy in infertile patients with scrotal lipomatosis improves sperm count and motility (40).

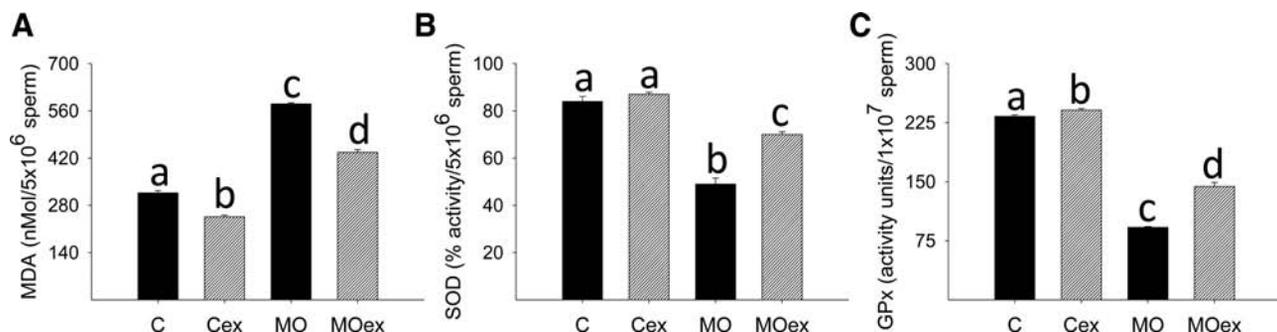


Fig. 4. Oxidative stress biomarkers in sperm at postnatal day 450 in male offspring of different groups of mothers: C, C_{ex}, MO, and MO_{ex}. A: MDA; B: SOD; C: GPx. Values are means \pm SE, $n = 5$ rats from different litters. $P < 0.05$ for data not sharing at least one letter.

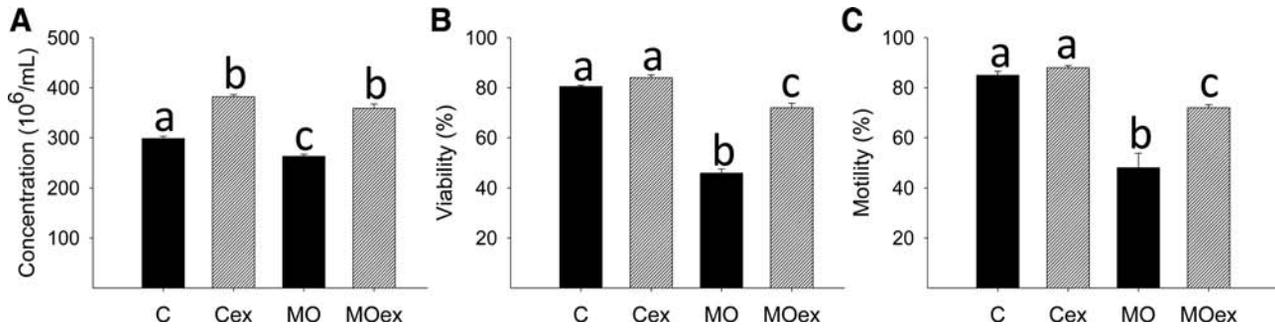


Fig. 5. Sperm at postnatal day 450 in male offspring of different groups of mothers: C, C_{ex}, MO, and MO_{ex}. A: sperm concentration; B: viability; C: motility. Values are means \pm SE, $n = 5$ rats from different litters. $P < 0.05$ for data not sharing at least one letter.

The improvement of sperm parameters in the MO_{ex} group might therefore be a consequence of the loss of gonadal fat.

Sperm are more susceptible to oxidative stress because they lack cytoplasmic antioxidant enzymes and have high membrane polyunsaturated fatty acid levels (3). Therefore, the lipid environment to which spermatozoa are exposed likely has an important role in sperm development and function (3). Lipoperoxidation and its products (e.g., MDA) are very toxic for sperm (2), damaging the plasma membrane, proteins, and DNA and increasing apoptosis (1). Male mice fed a high-fat diet show decreased sperm motility and capacitation as well as increased oxidative stress and DNA damage (5). In this context, we found that both the testes and sperm from the F₁ MO had an increase in oxidative stress. Testes contain a sophisticated antioxidant defense system to ensure that oxidative stress

does not affect spermatogenic and steroidogenic functions (4). However, sperm mitochondria have little capacity to respond to ROS attack because they are unable to respond by producing more enzymes to counteract oxidative stress and repair DNA damage. We attribute the different antioxidant responses in sperm from those in the testes to the fact that sperm are much less transcriptionally active due to the relative lack of cytoplasm (12). Thus mature sperm do not produce antioxidant enzymes de novo due to the lack of the required synthetic machinery even in the presence of increased ROS. In contrast, testicular somatic cells play an important role in antioxidant defenses to protect spermatogenic cells, and therefore respond to oxidative stress by producing new enzymes to counteract the increased ROS. As a result in our study, SOD and GPx were higher in the testes and lower in sperm from MO offspring compared with C. Paternal obesity impairs embryo development and implantation (26) and decreases the reproductive function of both male and female in the next two generations, probably through germ cell epigenetic alterations (13). However, effects of maternal obesity on offspring reproductive capacity have been generally overlooked. Female F₁ offspring of rats fed a high-fat diet during pregnancy and lactation exhibit early sexual maturation and a longer proestrous phase (57). The present study provides evidence that maternal obesity negatively programs fertility in the male offspring.

Human and animal studies indicate that obesity during pregnancy predisposes the offspring to chronic diseases in later life (57). Therefore, there is a need for effective interventions that can be used to prevent or reverse the adverse outcomes of maternal obesity. There is growing evidence in human (27) and animal studies (47, 56) that indicates that changes in lifestyle of obese mothers such as reducing calorie intake or increasing exercise prevents excessive weight gain during pregnancy and the subsequent adverse outcomes in offspring health. However, if these interventions cannot be applied in obese pregnant women, it is necessary to determine whether interventions in offspring are beneficial.

To date few studies in obese men have examined the effects of weight loss and exercise alone or separately on reproductive capacity. Exercise has been reported to increase serum testosterone levels and decreasing adiposity improves sperm quality (17). In young men, regular activity is associated with higher sperm concentration than men who are sedentary (16). Diet and exercise intervention in obese male rats improved sperm motility and morphology and diminished sperm DNA damage and ROS (33). In mice seminiferous tubules of lifelong regular

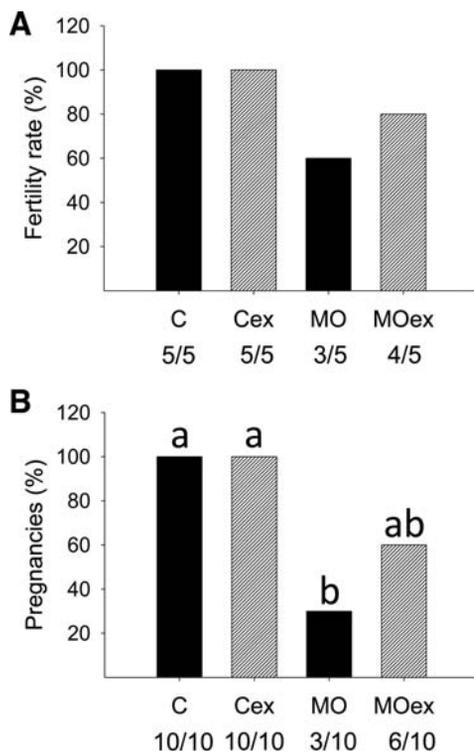


Fig. 6. Fertility rate at postnatal day 450 in male offspring of different groups of mothers: C, C_{ex}, MO, and MO_{ex}. A: percent fertile males; B: percent pregnant females. $n = 5$ male rats from different litters. Each experimental male was placed with two nonexperimental females. $P < 0.05$ for data not sharing at least one letter.

runners exhibited abundant Sertoli cells and well-organized stratification of spermatogenesis and a larger number of luminal sperm, which may be associated with the decrease in testicular oxidative stress (9). However, not all physical activity is beneficial for reproductive health. In humans strenuous exercise has been proposed as a risk factor for male factor infertility since long-distance runners and cyclists have lower testosterone levels and semen quality due to a negative energy balance. (16). In another study in men attending a fertility clinic bicycling 5 h or more per week was associated with lower sperm concentration (51). Palmer et al. (32, 33) have reported that either diet and/or swimming exercise intervention in obese mice improves sperm motility and morphology and reduces sperm damage and ROS levels, which were correlated with the metabolic status. In the present study we found that the negative effects of maternal obesity in male reproductive capacity were ameliorated by offspring lifestyle exercise modification since regular voluntary exercise reduced body weight and fat accumulation, oxidative stress in the testes and sperm, and increased sperm quality and improved fertility rate.

Finally, an important finding in the present study in relation to its potential as an intervention is the observation that MO_{ex} F₁ males exercised less than C_{ex}. The male MO offspring weighed more and had higher adiposity index than the C offspring. In addition to the fact that exercise is more difficult in the presence of obesity and increased weight, it is also possible that MO offspring are less motivated to exercise than C F₁ males. Further studies will be needed to explore this interesting question in a controlled animal model as well as to determine whether longer individual bout duration and overall period of exercise modify the outcomes we have observed.

Perspectives and Significance

In conclusion, the present study shows that maternal obesity impaired offspring reproductive capacity and that regular physical voluntary exercise even in old male offspring of obese mothers ameliorated the fertility rate that is the functional end point of reproduction. The encouraging feature of these data is the indication that it is never too late for exercise to be beneficial.

ACKNOWLEDGMENTS

M. Santos and G. L. Rodríguez-González are graduate students from Doctorado en Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. C. Ibáñez is a graduate student from Doctorado en Ciencias Bioquímicas, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México and is recipient of Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACyT) fellowship.

GRANTS

This work was supported by CONACyT 155166.

DISCLOSURES

No conflicts of interest, financial or otherwise, are declared by the author(s).

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Author contributions: M.S., G.L.R.G., C.I., and C.C.V. performed experiments; G.L.R.G. prepared figures; P.W.N. and E.Z. conception and design of research; P.W.N. edited and revised manuscript; E.Z. interpreted results of experiments; E.Z. approved final version of manuscript.

REFERENCES

1. Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril* 79: 829–843, 2003.
2. Aitken RJ. A free radical theory of male infertility. *Reprod Fertil Dev* 6: 19–23, 1994.
3. Aitken RJ, Baker MA. Reactive oxygen species generation by human spermatozoa: a continuing enigma. *Intl J Androl* 25: 191–194, 2002.
4. Aitken RJ, Roman SD. Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Oxid Med Cell Longev* 1: 15–24, 2008.
5. Bakos HW, Mitchell M, Setchell BP, Lane M. The effect of paternal diet-induced obesity on sperm function and fertilization in a mouse model. *Intl J Androl* 34: 402–410, 2011.
6. Cabler S, Agarwal A, Flint M, du Plessis SS. Obesity: modern man's fertility nemesis. *Asian J Androl* 12: 480–489, 2010.
7. Carter LG, Qi NR, De Cabo R, Pearson KJ. Maternal exercise improves insulin sensitivity in mature rat offspring. *Med Sci Sports Exerc* 45: 832–840, 2013.
8. Chavarro JE, Toth TL, Wright DL, Meeker JD, Hauser R. Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. *Fertil Steril* 93: 2222–2231, 2010.
9. Chigurupati S, Son TG, Hyun DH, Lathia JD, Mughal MR, Savell J, Li SC, Nagaraju GP, Chan SL, Arumugam TV, Mattson MP. Lifelong running reduces oxidative stress and degenerative changes in the testes of mice. *J Endocrinol* 199: 333–341, 2008.
10. Connor KL, Vickers MH, Beltrand J, Meaney MJ, Sloboda DM. Nature, nurture or nutrition? Impact of maternal nutrition on maternal care, offspring development and reproductive function. *J Physiol* 590: 2167–2180, 2012.
11. Desai M, Jellyman JK, Han G, Beall M, Lane RH, Ross MG. Rat maternal obesity and high-fat diet program offspring metabolic syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 211: 237.e1–237.e13, 2014.
12. Drevet JR. The antioxidant glutathione peroxidase family and spermatozoa: a complex story. *Mol Cell Endocrinol* 250: 70–79, 2006.
13. Fullston T, Palmer NO, Owens JA, Mitchell M, Bakos HW, Lane M. Diet-induced paternal obesity in the absence of diabetes diminishes the reproductive health of two subsequent generations of mice. *Hum Reprod* 27: 1391–1400, 2012.
14. Galjaard S, Devlieger R, Van Assche FA. Fetal growth and developmental programming. *J Perinat Med* 41: 101–105, 2013.
15. Gallo LA, Tran M, Moritz KM, Wlodek ME. Developmental programming: variations in early growth and adult disease. *Clin Exper Pharmacol Physiol* 40: 795–802, 2013.
16. Gaskins AJ, Mendiola J, Afeiche M, Jorgensen N, Swan SH, Chavarro JE. Physical activity and television watching in relation to semen quality in young men. *Br J Sports Med*, 2013 Feb 4. [Epub ahead of print].
17. Hakonsen LB, Thulstrup AM, Aggerholm AS, Olsen J, Bonde JP, Andersen CY, Bungum M, Ernst EH, Hansen ML, Ramlau-Hansen CH. Does weight loss improve semen quality and reproductive hormones? Results from a cohort of severely obese men. *Reprod Health* 8: 24, 2011.
18. Hammoud AO, Wilde N, Gibson M, Parks A, Carrell DT, Meikle AW. Male obesity and alteration in sperm parameters. *Fertil Steril* 90: 2222–2225, 2008.
19. Hofny ER, Ali ME, Abdel-Hafez HZ, Kamal Eel D, Mohamed EE, Abd El-Azeem HG, Mostafa T. Semen parameters and hormonal profile in obese fertile and infertile males. *Fertil Steril* 94: 581–584, 2010.
20. Hounsgaard ML, Hakonsen LB, Vested A, Thulstrup AM, Olsen J, Bonde JP, Nohr EA, Ramlau-Hansen CH. Maternal pre-pregnancy body mass index and pubertal development among sons. *Andrology* 2: 198–204, 2014.
21. Howie GJ, Sloboda DM, Kamal T, Vickers MH. Maternal nutritional history predicts obesity in adult offspring independent of postnatal diet. *J Physiol* 587: 905–915, 2009.
22. Kirk SL, Samuelsson AM, Argenton M, Dhonye H, Kalamatianos T, Poston L, Taylor PD, Coen CW. Maternal obesity induced by diet in rats permanently influences central processes regulating food intake in offspring. *PLoS One* 4: e5870, 2009.
23. Kral JG, Biron S, Simard S, Hould FS, Lebel S, Marceau S, Marceau P. Large maternal weight loss from obesity surgery prevents transmission of obesity to children who were followed for 2 to 18 years. *Pediatrics* 118: e1644–e1649, 2006.

24. **Martin-Gronert MS, Ozanne SE.** Early life programming of obesity. *Med Wieku Rozwoj* 17: 7–12, 2013.
25. **Martini AC, Molina RI, Tissera A, Ruiz RD, de Cuneo MF.** The impact of obesity on male reproduction: its biological significance. *Expert Rev Endocrinol Metab* 8: 139–148, 2013.
26. **Mitchell M, Bakos HW, Lane M.** Paternal diet-induced obesity impairs embryo development and implantation in the mouse. *Fertil Steril* 95: 1349–1353, 2011.
27. **Mottola MF.** Physical activity and maternal obesity: cardiovascular adaptations, exercise recommendations, and pregnancy outcomes. *Nutr Rev* 71, Suppl 1: S31–S36, 2013.
28. **Nathanielsz PW.** Animal models that elucidate basic principles of the developmental origins of adult diseases. *ILAR J* 47: 73–82, 2006.
29. **Ng SF, Lin RC, Laybutt DR, Barres R, Owens JA, Morris MJ.** Chronic high-fat diet in fathers programs beta-cell dysfunction in female rat offspring. *Nature* 467: 963–966, 2010.
30. **Nguyen T, Lau DC.** The obesity epidemic and its impact on hypertension. *Can J Cardiol* 28: 326–333, 2012.
31. **Nivoit P, Morens C, Van Assche FA, Jansen E, Poston L, Remacle C, Reusens B.** Established diet-induced obesity in female rats leads to offspring hyperphagia, adiposity and insulin resistance. *Diabetologia* 52: 1133–1142, 2009.
32. **Palmer NO, Bakos HW, Fullston T, Lane M.** Impact of obesity on male fertility, sperm function and molecular composition. *Spermatogenesis* 2: 253–263, 2012.
33. **Palmer NO, Bakos HW, Owens JA, Setchell BP, Lane M.** Diet and exercise in an obese mouse fed a high-fat diet improve metabolic health and reverse perturbed sperm function. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 302: E768–E780, 2012.
34. **Ramlau-Hansen CH, Nohr EA, Thulstrup AM, Bonde JP, Storgaard L, Olsen J.** Is maternal obesity related to semen quality in the male offspring? A pilot study. *Hum Reprod* 22: 2758–2762, 2007.
35. **Rodríguez-González GL, Vega. CC, Boeck L, Vázquez M, Bautista CJ, Reyes-Castro LA, Saldaña O, Lovera D, Nathanielsz PW, Zambrano E.** Maternal obesity and over-nutrition increase oxidative stress in male rat offspring reproductive system and decrease fertility. *Int J Obes (Lond)*. 2014 Dec 15. doi: [10.1038/ijo.2014.209](https://doi.org/10.1038/ijo.2014.209).
36. **Rodríguez JS, Rodríguez-González GL, Reyes-Castro LA, Ibanez C, Ramirez A, Chavira R, Larrea F, Nathanielsz PW, Zambrano E.** Maternal obesity in the rat programs male offspring exploratory, learning and motivation behavior: prevention by dietary intervention pre-gestation or in gestation. *Intl J Dev Neurosci* 30: 75–81, 2012.
37. **Ruager-Martin R, Hyde MJ, Modi N.** Maternal obesity and infant outcomes. *Early Hum Dev* 86: 715–722, 2010.
38. **Samuelsson AM, Matthews PA, Argenton M, Christie MR, McConnell JM, Jansen EH, Piersma AH, Ozanne SE, Twinn DF, Remacle C, Rowlerson A, Poston L, Taylor PD.** Diet-induced obesity in female mice leads to offspring hyperphagia, adiposity, hypertension, and insulin resistance: a novel murine model of developmental programming. *Hypertension* 51: 383–392, 2008.
39. **Sermondade N, Faure C, Fezeu L, Levy R, Czernichow S.** Obesity and increased risk for oligozoospermia and azoospermia. *Arch Intern Med* 172: 440–442, 2012.
40. **Shafik A, Olfat S.** Lipectomy in the treatment of scrotal lipomatosis. *Br J Urol* 53: 55–61, 1981.
41. **Sikka SC.** Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function. *Front Biosci* 1: e78–e86, 1996.
42. **Sloboda DM, Howie GJ, Pleasants A, Gluckman PD, Vickers MH.** Pre- and postnatal nutritional histories influence reproductive maturation and ovarian function in the rat. *PLoS One* 4: e6744, 2009.
43. **Swift DL, Johannsen NM, Lavie CJ, Earnest CP, Church TS.** The role of exercise and physical activity in weight loss and maintenance. *Prog Cardiovasc Dis* 56: 441–447, 2014.
44. **Tarry-Adkins JL, Ozanne SE.** Mechanisms of early life programming: current knowledge and future directions. *Am J Clin Nutr* 94: 1765S–1771S, 2011.
45. **Tunc O, Bakos HW, Tremellen K.** Impact of body mass index on seminal oxidative stress. *Andrologia* 43: 121–128, 2011.
46. **Turdi S, Ge W, Hu N, Bradley KM, Wang X, Ren J.** Interaction between maternal and postnatal high fat diet leads to a greater risk of myocardial dysfunction in offspring via enhanced lipotoxicity, IRS-1 serine phosphorylation and mitochondrial defects. *J Mol Cell Cardiol* 55: 117–129, 2013.
47. **Vega CC, Reyes-Castro LA, Bautista CJ, Larrea F, Nathanielsz PW, Zambrano E.** Exercise in obese female rats has beneficial effects on maternal and male and female offspring metabolism. *Int J Obes (Lond)* doi:[10.1038/ijo.2013.150](https://doi.org/10.1038/ijo.2013.150), 2013.
48. **Vigueras-Villasenor RM, Rojas-Castaneda JC, Chavez-Saldana M, Gutierrez-Perez O, Garcia-Cruz ME, Cuevas-Alpuche O, Reyes-Romero MM, Zambrano E.** Alterations in the spermatid function generated by obesity in rats. *Acta Histochem* 113: 214–220, 2011.
49. **Villamor E, Cnattingius S.** Interpregnancy weight change and risk of adverse pregnancy outcomes: a population-based study. *Lancet* 368: 1164–1170, 2006.
50. **Wells JC.** Adaptive variability in the duration of critical windows of plasticity: Implications for the programming of obesity. *Evol Med Public Health* 2014: 109–121, 2014.
51. **Wise LA, Cramer DW, Hornstein MD, Ashby RK, Missmer SA.** Physical activity and semen quality among men attending an infertility clinic. *Fertil Steril* 95: 1025–1030, 2011.
52. **World Health Organization.** *WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen*. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2010.
53. **World Health Organization.** *Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2010*. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 2011.
54. **Zambrano E, Bautista CJ, Deas M, Martinez-Samayoa PM, Gonzalez-Zamorano M, Ledesma H, Morales J, Larrea F, Nathanielsz PW.** A low maternal protein diet during pregnancy and lactation has sex- and window of exposure-specific effects on offspring growth and food intake, glucose metabolism and serum leptin in the rat. *J Physiol* 571: 221–230, 2006.
55. **Zambrano E, Guzmán C, Rodríguez-González G, Durand-Carbajal M, Nathanielsz PW.** Fetal programming of sexual development and reproductive function. *Mol Cell Endocrinol* 382: 538–549, 2014.
56. **Zambrano E, Martínez-Samayoa PM, Rodríguez-González GL, Nathanielsz PW.** Dietary intervention prior to pregnancy reverses metabolic programming in male offspring of obese rats. *J Physiol* 588: 1791–1799, 2010.
57. **Zambrano E, Nathanielsz PW.** Mechanisms by which maternal obesity programs offspring for obesity: evidence from animal studies. *Nut Rev* 71, Suppl 1: S42–S54, 2013.
58. **Zambrano E, Rodríguez-González GL, Guzman C, Garcia-Becerra R, Boeck L, Diaz L, Menjivar M, Larrea F, Nathanielsz PW.** A maternal low protein diet during pregnancy and lactation in the rat impairs male reproductive development. *J Physiol* 563: 275–284, 2005.

PREMIO EN INVESTIGACIÓN EN NUTRICIÓN 2015

Comité Organizador del Premio en Investigación en Nutrición 2015

Fondo Nestlé para la Nutrición de la Fundación Mexicana para la Salud A.C.
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán
Fomento de Nutrición y Salud A.C.
Colegio Mexicano de Nutriólogos A.C.
Asociación Mexicana de Facultades y Escuelas de Nutrición



TRABAJOS GANADORES

CATEGORÍA: APLICADA

1er. Lugar **Weight Status of Mexican immigrant women: a comparison with women in Mexico and with US-born Mexican American women.**

Sylvia D. Guendelman Ph.D., Miranda Ritterman Weintraub Ph.D. MPH, Lia CH Fernald Ph.D. y Martha Kaufer Horwitz DSc NC.

Clinica de Obesidad y Trastornos de la Conducta Alimentaria. Departamento de Endocrinología y Metabolismo. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

2do. Lugar **Feasibility and impact of Creciendo Sanos, a clinic-based pilot intervention to prevent obesity among preschool children in Mexico City.**

Gloria Oliva Martínez Andrade, Elizabeth M. Cespedes, Sheryl L. Rifas-Shiman, Guillermina Romero Quechol, Marco Aurelio González Unzaga, María Amalia Benítez Trejo, Samuel Flores Huerta, Chrissy Horan, Jess Haines, Elsie M. Taveras, Ricardo Pérez Cuevas y Matthew Gillman.

Unidad de Investigación Epidemiológica y en Servicios de Salud. IMSS Centro Médico Siglo XXI.

CATEGORÍA: BÁSICA

1er. Lugar **Adult exercise effects on oxidative stress and reproductive programming in male offspring of obese rats.**

Mery Santos, Guadalupe L. Rodríguez González, Carlos Ibáñez, Claudia C. Vega, Peter Nathanielsz y Elena Zambrano.

Departamento de Biología de la Reproducción. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

2do. Lugar **Transcriptional regulation of the sodium-coupled neutral amino acid transporter (SNAT 2) by 17 β -estradiol.**

Laura A. Velázquez Villegas, Víctor Ortiz, Anders Ström, Nimbe Torres, David A. Engler, Risë Matsunami, David Ordaz Rosado, Rocío García Becerra, Adriana M. López Barradas, Fernando Larrea, Jan Ake Gustafsson, Armando R. Tovar.

Departamento de Fisiología de la Nutrición. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

CATEGORÍA: ENTORNO SOCIAL Y CULTURAL DE LA NUTRICIÓN

1er. Lugar **Social disorder, physical activity and adiposity in Mexican adults: evidence from a longitudinal study.**

Luis Ortiz Hernández, Ian Janssen.

Departamento de Atención a la Salud de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

2do. Lugar **Body dissatisfaction and sociocultural factors in women with and without BED: their relation with eating psychopathology.**

ML Bautista Díaz, K Franco Paredes, JM Mancilla Díaz, G Álvarez Rayón, X López Aguilar, T Ocampo Téllez-Girón, Y Soto González.

Laboratorio de Trastornos del Comportamiento Alimentario. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Iztacala.