



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Iztapalapa



DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

MAESTRÍA EN BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN ANIMAL

**“EFECTO DE LA RESTRICCIÓN CALÓRICA SOBRE LA CONDUCTA SEXUAL
MASCULINA Y LA CALIDAD ESPERMÁTICA EN LA RATA WISTAR DURANTE
EL PROCESO DE ENVEJECIMIENTO”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE: “MAESTRO EN BIOLOGÍA DE LA
REPRODUCCIÓN ANIMAL”**

PRESENTA

BIOL. PABLO LÓPEZ DE JESÚS

CODIRECTORES

DRA. MARCELA ARTEAGA SILVA

DRA. ISABEL ARRIETA CRUZ

ASESORA

DRA. EDITH ARENAS RÍOS

CIUDAD DE MÉXICO, OCTUBRE DEL 2017

COMITÉ TUTORAL

Codirectora Interna:

Dra. Marcela Arteaga Silva. Profesor-Investigador Titular “C” “Departamento de Biología de la Reproducción” Laboratorio de Neuroendocrinología Reproductiva. División de Ciencias Biológicas y de Salud. UAM-Iztapalapa. asm@xanum.uam.mx; arteaga1967@hotmail.com

Codirectora Externa:

Dra. Isabel Arrieta Cruz. Investigador en Ciencias Médicas “D” del Instituto Nacional de Geriátría, Secretaría de Salud. Ciudad de México. arrieta777@mail.com

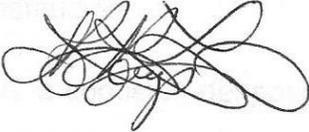
Asesora:

Dra. Edith Arenas Ríos. Profesor-Investigador Titular “C” “Departamento de Biología de la Reproducción” Laboratorio de Reproducción Animal Asistida. División de Ciencias Biológicas y de Salud. UAM-Iztapalapa. editharenas2000@yahoo.com.mx

MIEMBROS DEL JURADO

Dra. Edith Arenas Ríos: Profesor-Investigador Titular "C" "Departamento de Biología de la Reproducción" Laboratorio de Reproducción Animal Asistida. División de Ciencias Biológicas y de Salud. UAM-Iztapalapa. 
editharenas2000@yahoo.com.mx

Dra. Mirna Ruiz Ramos: Profesor de Carrera Tiempo Completo Asociado "C" Interino Carrera: Químico Farmacéutico Biológica. Universidad Nacional Autónoma de México. mirna1411@yahoo.com.mx 

Dra. Rosalina María de Lourdes Reyes Luna: Profesor Investigador Titular "B". Laboratorio de Biología de la Reproducción. Facultad de Ciencias Biológicas. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, Pue.
rreyesluna@hotmail.com 

Ofelia Limón Morales: Estancia Posdoctoral DGAPA-UNAM, 2015-2017. Departamento de Biología, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. ofelia.limon@yahoo.com;
cbs208383129@xanum.uam.mx 

Agradecimientos

Éste trabajo se realizó en el laboratorio de Neuroendocrinología Reproductiva, bajo la codirección de la Dra. Marcela Arteaga Silva del Departamento de biología de la Reproducción de la Universidad Autónoma Metropolitana y en el laboratorio 6 de la Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza Campus II. Bajo la Codirección de la Dra. Isabel Arrieta Cruz.

El programa de la Maestría en Biología de la Reproducción Animal pertenece al Programa Nacional de Posgrados de Calidad (PNPC) con el nivel de reciente creación.

Para la realización de los estudios de maestría el alumno Pablo López De Jesús contó con el apoyo de la beca institucional de la Universidad Autónoma Metropolitana y la beca CONACYT mediante el número de registro CVU/Becario 718777/302735.

A la Universidad Autónoma Metropolitana por brindarme la oportunidad de poder realizar mis estudios de Maestría en ésta prestigiosa institución.

A la Maestría en biología de la Reproducción Animal, A la comisión del posgrado por brindarme la oportunidad de reflejar lo aprendido y por brindarme conocimientos que jamás pensé adquirir.

A mi comité Tutorial: Dras. Marcela Arteaga Silva, Isabel Arrieta Cruz y Edith Arenas Ríos. Por todo el apoyo y conocimientos brindados, por el aporte al escrito de éste documento, por el crecimiento profesional y personal.

A mis sinodales: Dra. Edith Arenas. Por todo el apoyo que me brindo a través de estos años, por los conocimientos y aportes al documento.

Dra. Rosalina Reyes. Por motivarme a realizar los estudios de posgrado, por la formación de la licenciatura, por los conocimientos, ayuda y optimismo que siempre la caracteriza.

Dra, Ofelia Limón. Por toda la ayuda, paciencia y sugerencias hechas, sin duda fueron de gran ayuda.

Dra. Mirna Ruiz. Por el apoyo a la realización de la parte metabólica del trabajo, por los conocimientos adquiridos.

A mis compañeros de laboratorio: Joel Hernández, Ángeles Manzano, Darla Juliana, Sonia Aguirre, Sherline Eunice, Karina Hernández, Tania Molina, Ana Laura López, Mali Nally. Etc. Por todo el apoyo, conocimientos, palabras de aliento y todas las alegrías compartidas.

A la Dra. Malinalli Brianza Padilla: Por todo su apoyo, por sus conocimientos, por enriquecer el trabajo, por su tiempo, por toda la ayuda.

A mis amigos: "Lilis House" que sin duda hicieron esta travesía cómoda, ligera, amigable y sobre todo por su amistad incomparable, sin duda la familia que se puede escoger, los escogería toda la vida.

A mis queridos amigos de sin duda siempre están presentes en mi vida, corazón. Por la ayuda, por los consejos y por estar siempre que los necesito: Prima Laura, Angye, Fernando Juárez, Daniel Ortiz, Marco Antonio Tépoz, quisiera más vida para compartirla a su lado.

A mis amigos que desde lejos apoyaron y contribuyeron a mi formación profesional y personal, que sin duda son parte muy importante en mi vida. Prima Laura, Raúl, Erika, Mari luz, Saúl y Mari cruz. Siempre están en mi corazón.

A mis amiguitos de la MBRA generación 2015. Tania, Sarahí, Sergio, Jaqueline, Alma, Liz y Arturo. Por el apoyo, las risas, porque no pude tener mejores compañeros, amigos y sobre todo unas excelentes personas que admiro y respeto.

Gracias a todos por el apoyo incondicional.

DEDICATORIA

A mis papás: Pablo López y Zenaida De Jesús. Por enseñarme a luchar por lo que queremos, por forjarme en un hogar lleno de valores y amor, por apoyarme siempre, los amo por encima de todo.

A mis Hermanos. Por estar siempre pendiente, por la vida que sin duda volvería a vivir a su lado, por ser un ejemplo de perseverancia, por estar presentes en todo momento.

A mis chaparros: Por ver en sus caritas esos hermosos ojitos de asombro, por ese cariño tan transparente que solo la inocencia puede brindar.

Gracias a ustedes sé lo que es el amor verdadero.

“Los pájaros de la casualidad vuelan sobre mis hombros otra vez”

Millan Kundera

Abreviaturas

RC	Restricción Calórica
CSM	Conducta Sexual Masculina
HHG	Hipotálamo Hipófisis Gónada
GnRH	Hormona liberadora de Gonadotropinas
TNF	Factor de Necrosis Tumoral
IL	Interleucina
RI	Resistencia a la Insulina
GH	Hormona de Crecimiento
CO₂	Dióxido de Carbono
NH₃	Amoniaco
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
T	Testosterona
FSH	Hormona Folículo Estimulante
LH	Hormona Leutinizante
SOD	Superóxido Dismutasa
CAT	Catalasa
DHT	Dihidrotestosterona
SNC	Sistema Nervioso Central
E₂	Estradiol
RA	Receptor a Andrógenos
RE	Receptor a Estrógenos
pH	Potencial de Hidrógeno

LM	Latencia de Monta
LI	Latencia de Intromisión
NM	Número de Montas
NI	Número de Intromisiones
LE	Latencia de Eyaculación
IPE	Intervalo Posteyaculatorio

Índice

1.0 Resumen.....	11
2.0 Abstract.....	12
3.0 Introducción.....	13
4. Antecedentes.....	14
4.1. Envejecimiento y longevidad.....	14
4.2 Teorías del envejecimiento.....	15
4.3 Metabolismo y Reproducción.....	17
4.3.1 Importancia del Metabolismo en la reproducción.....	18
4.3.2 Estrés metabólico y reproducción.....	19
4.3.3 Regulación Hormonal del metabolismo.....	20
4.3.3.1 Insulina.....	20
4.3.3.2 Leptina.....	21
4.3.3.3 Grelina.....	21
4.4 Indicadores Metabólicos.....	21
4.5 Restricción Calórica.....	24
4.6 Hipotálamo- Hipófisis- Testículo.....	25
4.7 Conducta Sexual Masculina en la rata.....	27
4.8 Conducta Sexual Masculina en ratas longevas.....	29
4.9 La Restricción Calórica y parámetros reproductivos.....	32
4.10 Regulación Hormonal de la Conducta Sexual Masculina.....	34
4.11 Regulación Hormonal en Ratas Longevas.....	34
4.12 Parámetros Espermáticos.....	34
4.13 Parámetros Espermáticos en ratas longevas.....	36
5. Justificación.....	36
6. Pregunta de investigación.....	37
7. Hipótesis.....	37
8. Objetivos.....	38

8.1. General.....	38
8.2. Particulares.....	38
9. Diseño experimental.....	38
9.1. Sujetos Experimentales.....	39
9.2. Evaluación de la CSM.....	40
9.3. Evaluación de los parámetros de calidad espermática.....	41
9.4. Evaluación de los parámetros microscópicos del semen tomados de la tuba uterina.....	42
9.5 Análisis de la vitalidad.....	42
9.6. Análisis de la concentración espermática.....	43
9.7. Cuantificación de la concentración de parámetros metabólicos y hormonales en suero sanguíneo	43
10. Análisis estadístico.....	45
11. Resultados.....	46
11.1. Registro del consumo de alimento.....	46
11.2. Pérdida y/o ganancia de peso después de 6 meses de RC.....	47
11.3 Análisis Bromatológico.....	48
11.4 Parámetros de la CSM.....	50
11.5 Parámetros de la Calidad Espermática.....	55
11.6 Cuantificación de Testosterona.....	58
11.7 Indicadores Metabólicos.....	59
12. Discusión.....	62
13. Conclusión.....	70
14. Referencias.....	71

1.0 RESUMEN

Los avances en la comprensión de los mecanismos celulares en el proceso del envejecimiento han permitido retrasar dicho evento y aumentar la longevidad. Diversos estudios indican que el envejecimiento puede estar influenciado por muchos factores, incluyendo los nutricionales. Así, se sabe que el control dietético puede ser un factor importante sobre la longevidad, demostrándose que una reducción del 30 al 40% en el régimen alimenticio, denominada restricción calórica (RC), es la manipulación fisiológica más eficaz para extender la expectativa máxima de vida, en diversos modelos animales de experimentación. El aumento en la longevidad ha sido explicado en parte por los beneficios de la RC en la reducción del estrés oxidante y mejoría en la función neuroendocrina, entre otros factores. De tal forma, que la RC podría mejorar los parámetros reproductivos como la CSM y la calidad espermática. Por lo que el objetivo de este trabajo fue analizar el efecto de la RC sobre la Conducta Sexual Masculina (CSM) y la calidad espermática de la rata Wistar durante el proceso de envejecimiento. Para el presente trabajo se utilizaron ratas macho de 12 meses de edad, a las que se les realizó una prueba de CSM y una de calidad espermática. Antes de iniciar la RC se dividieron los animales en tres grupos: 1.- Control con alimentación *ad libitum* 2.- RC 15% y 3.- RC 35%. La RC se indujo por tres y seis meses, al término de los primeros tres y seis meses de RC se analizó la CSM y la calidad espermática, así como algunos indicadores metabólicos. Los resultados mostraron que la RC mejora la CSM y la calidad espermática de las ratas a los 3 y 6 meses de RC.

2.0 ABSTRACT

Advances in understanding cellular mechanisms in the aging process have allowed to delay it and increase longevity. Many studies indicates that aging may be influenced by several factors, including nutritional ones. Thus, it is known that dietetic control may be an important element in longevity, it is well known that caloric restriction (CR) (i.e. 30-40% decrease in nutritional regimen) is the most effective fisiologic manipulation to extend the maximum life expectancy. Increasing in longevity has been partially explain by the benefits of CR in reducing oxidant stress and improving neuroendocrinal function, among others. Moreover, it is very important to maintain reproduction in long-lived species with commercial livestock value, domestic value, even for preservation of threatened or endangered wildlife species, since it is known that older individuals have reduced reproductive capacity. Thus, CR can maintain reproductive parameters.

Therefore, the objective of this experiment was to analyze the effect of CR in Male Sexual Behavior (MSB) and sperm quality of the Wistar Rat during the aging process. At the beginning of this work were used 12 months old male rats, whose recorded food intake for fifteen days (to know how much food they ate daily *ad libitum*), as well as a MSB test and a quality sperm. Later, these subjects were divided into three groups: 1) Control feed *ad libitum*; 2) 15% CR and 3) 35% CR. CR was induced for three and six months, at the end of these period, MSB and sperm quality, as well as some metabolic indicators were analized. Our results show that CR improves MSB and sperm quality of aging rats at 3 and 6 monts of CR.

3.-INTRODUCCIÓN

El carácter progresivo del envejecimiento, determina que sus causas están presentes durante toda la vida, tanto en individuos jóvenes como en individuos de edad avanzada. Sin embargo, la velocidad con la que se envejece no sólo se encuentra asociada a factores celulares endógenos, como podría ser el acortamiento de los telómeros, el aumento en el estrés oxidante y la disfunción mitocondrial, la senescencia celular, la inestabilidad genómica y la pérdida de la proteostasis (López-Otín *et al.*, 2013), sino también a factores exógenos, tales como las radiaciones ultravioleta y modificaciones en la ingesta dietética podrían modificar a los factores endógenos potenciando o reduciendo sus efectos sobre la calidad y esperanza de vida (López-Otín *et al.*, 2013).

Los estudios actuales indican que el proceso de envejecimiento puede estar influenciado por muchos factores incluyendo los nutricionales (Mitchell *et al.*, 2001; Sharp & Richardson, 2011). Así, se sabe que el control dietético puede ser un factor importante sobre la calidad de vida y en algunos casos la longevidad, demostrándose que la reducción del régimen alimentario con disminución de la ingesta calórica, denominada restricción calórica (RC), es por mucho la manipulación fisiológica más eficaz para extender la expectativa máxima de vida, reportada en diferentes especies como *Caenorhabditis elegans*, en la rata y los ratones (Weindruch y Walford, 1988; Sinclair, 2005) e incluso en monos como *Macaca mulata* (Colman *et al.*, 2009; Xiang & He, 2011; Speakman & Mitchell, 2011). Si bien en estas especies se observa una mejor calidad de vida, y en algunas de estas, incluso un aumento en la longevidad, el cual ha sido explicado, en parte por los beneficios de la RC sobre diferentes mecanismos celulares y fisiológicos como son: la reducción en el estrés oxidante, aumento de la sensibilidad a la insulina y mejoría en la función neuroendocrina (Martin *et al.*, 2006). Interesantemente, la RC podría modificar la función reproductiva a través de la alteración en las señales neuroendocrinas del eje hipotálamo-hipófisis-gónada (HHG); modificando el patrón de liberación de hormonas requeridas para el desarrollo, crecimiento y metabolismo en general (Martin *et al.*, 2008). La posibilidad

de lograr modificar la función reproductiva y mejorar la calidad de vida por la RC, en especies longevas, es de gran importancia para especies con valor pecuario comercial, para especies con valor doméstico e incluso para la preservación de fauna silvestre amenazada o en peligro de extinción, pues se sabe que conforme los individuos van envejeciendo se reduce la capacidad reproductiva y aumenta la probabilidad de padecer enfermedades crónico degenerativas (Strehler, 1962). La RC podría retrasar estos eventos, mejorando la calidad y esperanza de vida. A la fecha, se desconoce cuáles son los efectos de la RC sobre la conducta sexual masculina y algunos aspectos de la función espermática en individuos en proceso de envejecimiento, es por ello que en este estudio se analiza el efecto de la RC sobre la función reproductiva, utilizando como modelo a la rata Wistar.

4. ANTECEDENTES

4.1 Envejecimiento y Longevidad

El envejecimiento desde un punto de vista biológico afecta a todas las especies y se define como un proceso paulatino y gradual de deterioro de la capacidad funcional del organismo con la pérdida progresiva de la función en los distintos tejidos que lo componen. Además, aumenta la vulnerabilidad y susceptibilidad a enfermedades crónico degenerativas, alteraciones del sistema inmune o tumores derivados de la desregulación de la proliferación celular que tiene como punto final la muerte (OMS, 2015).

Por otro lado, se ha descrito que la longevidad es un fenómeno multifactorial, complejo en el que las redes hormonales implicadas en la regulación de la homeostasis y la supervivencia, ejercen un fuerte impacto sobre la duración o esperanza de vida que tienen los individuos (Garasto *et al.*, 2017).

4.2 Teorías del envejecimiento

A través de los años se han propuesto diversas teorías que han sustentado que el envejecimiento no es una enfermedad, sino un proceso fisiológico que afecta a todos los seres vivos, en donde aumenta la incidencia de enfermedades crónicas degenerativas, cardiovasculares y la prevalencia al cáncer, entre otras enfermedades crónico degenerativas y que culmina en la muerte. Dentro de las teorías más relevantes que explican el proceso de envejecimiento se encuentran las siguientes:

La teoría de radicales libres

Sin lugar a dudas, esta es una de las teorías más aceptadas, fue propuesta por Harman en 1956 (Wood *et al.*, 1998). Esta teoría propone que el envejecimiento ocurre como consecuencia del daño acumulativo producido por los radicales libres que se liberan como resultado de la respiración celular.

Se ha observado en una gran variedad de modelos animales, que el tratamiento con antioxidantes es benéfico para la salud, o el desarrollo de enfermedades asociadas al envejecimiento (Pemberthy *et al.*, 2016). El equipo de Sohal reporto que en *Drosophila*, la sobreexpresión de las enzimas superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) lleva a un aumento en la longevidad. Además, la administración de catalasa a la mitocondria tiene también efectos similares (Hernández-Mateos *et al.*, 2010; Pemberthy *et al.*, 2016).

De tal forma, que los radicales libres parecen jugar un papel importante en la patología y fisiología del individuo envejecido.

Acortamiento de telómeros

En los años sesenta Hayflick observó que las células de los mamíferos tenían una longevidad limitada, lo que lo llevó a proponer que éste fenómeno representaba el envejecimiento a nivel celular (Aulinas *et al.*, 2013). Lo que reportó Hayflick es que las células en cultivo se pueden multiplicar un número determinado de veces (60-70 en humanos, 8-10 en ratones) y posteriormente se mantienen vivas, pero son incapaces de proliferar nuevamente. Ahora se sabe que el “fenómeno de Hayflick” o

“senescencia celular” ocurre como resultado del acortamiento gradual de los telómeros, que ocurre cada vez que una célula se divide. Por mucho tiempo se debatió si este fenómeno ocurriría *in vivo*. Además, se ha demostrado que el acortamiento de telómeros no es el único mecanismo por el cual una célula puede adquirir el fenotipo senescente. De hecho, muchos estímulos tales como los radicales libres, la activación inoportuna de oncogenes, o el tratamiento con quimioterapia llevan a un fenotipo indistinguible del descrito por Hayflick (Aulinas *et al.*, 2013).

Por otro lado, se ha demostrado que la senescencia celular es un fenómeno generalizado en animales viejos, observándose de 15% – 20% de las células de la dermis con un fenotipo senescente. Sin embargo, al igual que los radicales libres, el papel de este fenómeno en el envejecimiento del individuo aún no ha sido del todo esclarecido. También se ha demostrado que las células senescentes, tanto *in vivo* como *in vitro*, secretan una gran cantidad de moléculas bioactivas, que son capaces de modular el fenotipo de células adyacentes o cercanas (Miquel, 2006).

Células madre y células troncales

Se ha propuesto que el envejecimiento y el descenso en la capacidad de regeneración y respuesta al estrés, podrían ser debidos a un agotamiento en las células troncales. Muchos tejidos responden a lesiones mediante la activación de células troncales locales, tales como las células satelitales del músculo, lo que lleva a la reposición de células dañadas y eliminadas por apoptosis. Otros tejidos, como el páncreas y el hígado, parecen utilizar un mecanismo diferente, a través del cual células diferenciadas son capaces de desdiferenciarse, proliferar, y rediferenciarse (Chavarria *et al.*, 2005). Aun en otros casos, tejidos como el corazón son capaces de regenerarse luego de un infarto mediante el reclutamiento de células troncales de la médula ósea. Con el envejecimiento, la capacidad regenerativa de diversos tejidos disminuye, y aparentemente, esto ocurre mediante una variedad de mecanismos. En músculo, el número de células satelitales no disminuye, pero su nicho se encuentra afectado, lo que lleva a una disminución en su capacidad proliferativa y regenerativa.

En contraste, las células troncales asociadas al folículo piloso se pierden paulatinamente con la edad (Mazzoccoli *et al.*, 2014).

4.3 Metabolismo y Reproducción

Se sabe que la reproducción es energícamente costosa y que la capacidad reproductiva de un individuo depende de su estado nutricional, que refleja el equilibrio homeostático entre la ingesta de energía y el gasto que realiza para todos los procesos reproductivos. Considerando que es esencial mantener una cantidad de energía suficiente para la supervivencia del individuo, además de preservar la función reproductiva, podemos decir, que la energía y la reproducción están íntimamente relacionadas. Así, el organismo ha desarrollado complejos mecanismos fisiológicos que limitan la reproducción en función del estado metabólico. En las últimas décadas, se sabe que estos mecanismos están ampliamente integrados, compartiendo componentes metabólicos, endocrinos y neuronales (Krasnow & Steiner, 2006).

El metabolismo energético se refiere a la serie de reacciones que almacenan y consumen combustibles para cubrir las necesidades energéticas del organismo. Los lípidos y los carbohidratos están considerados dentro de los cuatro mayores grupos de biomoléculas, los cuales sirven como combustible y reservas de energía, principalmente la glucosa es uno de los carbohidratos esenciales para la vida celular, los niveles sanguíneos de glucosa se encuentran altamente regulados por diferentes mecanismos (Krasnow & Steiner, 2006).

La reproducción es un proceso metabólicamente caro, ya que requiere una cantidad importante de energía, para que un individuo tenga la capacidad reproductiva debe tener un balance homeostático entre la energía que gasta y la que consume (Krasnow y Steiner, 2006). En consecuencia, la función reproductiva se somete a mecanismos reguladores, que afectan a diferentes niveles del eje Hipotálamo-hipófisis-gonadal (HPG) (Tena-Sempere, 2015).

De todas las variables ambientales que regulan la reproducción, la alimentación es la más importante ya que de ella dependen los procesos primarios de los individuos, pues todos requieren de demanda energética y éstas serán utilizadas en primera instancia para la supervivencia del organismo que involucra: los procesos de termoregulación, función celular, función sensorial y locomoción, entre otras y posteriormente la reproducción (2001; Krasnow & Steiner, 2006).

Todas las funciones del individuo pueden continuar su curso siempre y cuando la ingesta de energía sea suficiente para satisfacer todas estas demandas. Sin embargo, si los alimentos se vuelven escasos o si se produce un gasto desregulado en el organismo, el animal redistribuye la energía en los procesos básicos dejando al crecimiento y la reproducción como punto final, ya que repercutiría en la población invertir energía en la reproducción o crecimiento (Krasnow & Steiner, 2006; Tena-Sempere, 2015).

4. 3 .1 Estrés metabólico y Reproducción

Los organismos mantienen la homeostasis energética a través de la regulación coordinada de la ingesta, utilización y almacenamiento de combustible. Los sistemas fisiológicos complejos y los comportamientos defienden el suministro sostenido de glucosa y otros combustibles a las células del cuerpo. Mediante las acciones concertadas de una serie de mecanismos periféricos y centrales, los animales mantienen la homeostasis energética ajustando la ingesta de alimentos para satisfacer las necesidades energéticas del organismo y a la inversa, modulando el gasto energético para compensar las alteraciones en la ingesta de alimentos. Si los alimentos están fácilmente disponibles, los animales combinan la ingesta de energía y los gastos con una notable precisión durante largos períodos de tiempo, manteniendo el equilibrio energético, así como una cantidad relativamente constante de reservas de energía (Krasnow & Steiner, 2006).

A medida que las reservas de energía de un individuo se agotan gradualmente, la disponibilidad de energía se reduce aún más. Bajo circunstancias en las que la

disponibilidad de energía disminuye debido a que el gasto de energía excede la ingesta de energía, el individuo entra en un estado de balance energético negativo. El balance energético negativo frecuentemente bloquea la reproducción. El grado en que la función reproductiva puede ser inhibida por la baja disponibilidad de energía depende, en parte, de la naturaleza del desafío metabólico, así como del déficit energético. Incluso las sutiles reducciones en la disponibilidad de energía pueden resultar en la disminución de la función reproductiva, y graves problemas metabólicos, a menudo resultan en un cese completo de la actividad reproductiva. Los efectos del déficit energético en la función reproductiva a menudo se pueden observar en los tres niveles del eje HPG, así como en el comportamiento sexual y materno (Krasnow & Steiner, 2006; Tena-Sempere, 2015).

Aunque las consecuencias del estrés metabólico sobre el eje reproductivo pueden manifestarse a lo largo del eje HPG, se cree que el cerebro (neuronas de la hormona liberadora de gonadotropina [GnRH] y sus aferentes) es el sitio principal de este proceso de integración.

4. 3. 2 Regulación hormonal del metabolismo

La ingesta de alimentos está regulada por la liberación de péptidos hipotalámicos, en una red de señales metabólicas, hormonales y neuronales. Algunas de las hormonas que se involucran en la regulación de los carbohidratos y las grasas son: la insulina, la grelina y la leptina. La leptina es una hormona que inhibe el apetito, conocida como la hormona de la saciedad (Anorexigénico), mientras que la grelina tiene el efecto contrario (Hormona Anorecigénica). El tejido adiposo es el encargado de producir la leptina, así como muchas otras moléculas, tal es el caso de las citocinas, se conocen como 26 adipocinas. Entre las adipocinas se encuentran la misma leptina, adiponectina, TNF- α , IL-6, y resistina (Matsuzawa, 2006). Estas estimulan la secreción de otros factores como la grelina o el neuropéptido Y que tienen un papel importante, periférico y central, en una variedad de procesos fisiológicos incluyendo

la asimilación de alimento, balance energético, acción de insulina, metabolismo de lípidos y procesos homeostáticos (Matsuzawa, 2006).

4.3.3.1 Insulina

La insulina está formada por dos cadenas polipeptídicas de 30 y 21 aminoácidos unidas por puentes disulfuro, esta se sintetiza en los islotes de Langerhans, en particular en las células β pancreáticas. Las funciones de la insulina son muy variadas, aunque las más conocidas se relacionan con el metabolismo de los carbohidratos, pero no son de menor importancia las que ejerce sobre el metabolismo de lípidos. La insulina es una hormona que estimula los procesos anabólicos e inhibe los catabólicos. Aumenta la oferta de sustratos en el interior celular para el almacenamiento de energía, también provoca un incremento de las actividades enzimáticas relacionadas con la formación de reservas energéticas (Pérez y Miñambres, 2012). La insulina favorece el transporte de los ácidos grasos procedentes de los quilomicrones y las lipoproteínas liberadas del hígado y su captación por la célula adiposa para ser almacenados. Además, tiene una importante acción inhibitoria sobre la lipasa del tejido adiposo sensible a esta hormona, impidiendo que se liberen ácidos grasos a la sangre y sean transportados a otros tejidos. Cuando la insulina disminuye su capacidad para ejercer sus acciones biológicas en tejidos diana típicos como el músculo esquelético, el hígado o el tejido adiposo se habla de una resistencia a la insulina (RI). Actualmente se considera que la RI de manera crónica o mantenida es la base común de numerosas enfermedades metabólicas como la diabetes tipo II, obesidad y dislipidemias (componentes del Síndrome Metabólico) y enfermedad cardiovascular (Marino *et al.*, 2011; Tena-Sempere, 2015).

4.3.3.2 Leptina

Es una hormona de 167 aminoácidos, que participa en la regulación de la ingesta de alimentos y el peso corporal, con una función anorexigénica (Miana, 2012). Esta hormona es sintetizada en el tejido adiposo blanco y liberada al torrente sanguíneo

de manera proporcional con la cantidad de grasa corporal. En condiciones normales, el perfil de los niveles plasmáticos de leptina durante las 24 h revela que existe una elevación de la misma en alimentación parenteral nocturna (Graaf, 2004; Morton & Schwartz, 2011).

4.3.3.3 Grelina

Es una hormona peptídica de 28 aminoácidos sintetizada fundamentalmente por células del fundus, la parte proximal del estómago, y por las células ϵ de los islotes de Langerhans pancreáticos, pero también en el núcleo arcuato hipotalámico, hipófisis y pulmón. La grelina es ligando natural del receptor de secretagogo de la hormona de crecimiento (GH), además de estimular la síntesis de la GH, favorece la regulación del metabolismo energético, la administración a roedores induce un incremento de peso corporal y adiposidad, además de inclinar el balance energético hacia el almacenamiento de energía (Van der Lely *et al.*, 2004).

4.4 Indicadores metabólicos

Existen diversas formas de cuantificar las condiciones metabólicas en las que se encuentran los individuos, con la finalidad de analizar la calidad de vida, el desgaste energético y la salud en general del organismo. Para ello existen diversos indicadores del metabolismo energético que proporcionan información detallada e independiente de las condiciones metabólicas del individuo.

Dentro de ellos están:

Glucosa. Es un monosacárido que contiene 6 átomos de carbono, es una aldosa, esto es, el grupo carbonilo está en el extremo de la molécula (es un grupo aldehído). Que representa la energía circundante en el organismo, para la utilización primaria del individuo (Karp, 2009).

Urea. Desempeña un papel importante en el metabolismo de los compuestos que contienen nitrógeno por los individuos y es la principal sustancia que contiene

nitrógeno en la orina de los mamíferos. Es una molécula incolora e inodora, muy soluble en agua. El cuerpo lo utiliza en muchos procesos, especialmente la excreción de nitrógeno. El hígado lo forma combinando dos moléculas de amoníaco (NH₃) con una molécula de dióxido de carbono (CO₂) en el ciclo de la urea.

Ácido Úrico. Es un producto del metabolismo de las purinas (componentes de ciertas proteínas) y se produce de forma natural en el organismo. Se crea cuando el cuerpo descompone sustancias llamadas purinas y representa los residuos metabólicos de la alimentación, en cuanto mayor cantidad de alimento ingiera el individuo, mayor será la cantidad de ácido úrico que secrete (Rivero *et al.*, 2004; Ríos *et al.*, 2006).

Colesterol. Es una molécula lipídica es sintetizada por todas las células animales, componente estructural de la membrana celular, esencial para mantener la integridad y la fluidez de la membrana. Además de que es necesaria para la biosíntesis de las hormonas sexuales que darán lugar a las conductas reproductivas de los individuos (Ríos *et al.*, 2006; Karp, 2009).

Triglicéridos. Es un éster derivado del glicerol y tres ácidos grasos. Los triglicéridos son el principal tipo de grasa transportada a todo el organismo para dar energía o para ser almacenados como grasas o lípidos, al igual que el colesterol, son grasas que se encuentran en la sangre que permiten la transferencia bidireccional de la glucosa y la grasa adiposa en la sangre del hígado. (Ríos *et al.*, 2006; Karp, 2009).

Las lipoproteínas son moléculas complejas que transfieren las grasas alrededor del cuerpo en el líquido extracelular, facilitando así que las grasas estén disponibles y absorbidas por el cuerpo de las células a través de la endocitosis mediada por el receptor (Cofan, 2014). Las lipoproteínas están compuestas de múltiples proteínas, típicamente de entre 80-100 proteínas/partículas (organizadas por una única apolipoproteína B para LDL y las partículas más grandes). Una sola partícula de LDL tiene aproximadamente 220-275 angstroms de diámetro y puede transportar de 3.000 a 6.000 moléculas de grasa/partícula. Los lípidos transportados incluyen todas

las moléculas de grasa con colesterol, fosfolípidos y triglicéridos dominantes (Cofan, 2014).

Lipoproteínas de alta densidad (HDL). Son uno de los cinco grupos principales de lipoproteínas. Están compuestas típicamente de 80-100 proteínas por partícula (organizadas por una, dos o tres ApoA, más a medida que las partículas aumentan, aumenta la captación y transporte de más moléculas de grasa) y transportan hasta cientos de moléculas de grasa por partícula. Las partículas de HDL se han dividido en cinco subgrupos, por densidad/tamaño (una relación inversa). (Ríos *et al.*, 2006; Karp, 2009).

Lipoproteínas de baja densidad (LDL) forman parte de los cinco grupos principales de lipoproteínas, presentan menor densidad, en comparación con el agua circundante, (las partículas más grandes) a la más densa (partículas más pequeñas), son los quilomicrones, lipoproteína de muy baja densidad (VLDL), lipoproteína de densidad intermedia (IDL), lipoproteína de baja densidad y alta - lipoproteína de alta densidad (HDL) (Ríos *et al.*, 2006).

Albúmina. Es una proteína que pertenece a la familia de proteínas globulares, de las cuales, las más comunes son las albuminas séricas. Todas las proteínas de la familia de la albúmina son solubles en agua, moderadamente solubles en soluciones concentradas de sal y experimentan desnaturalización por calor. Las albuminas se encuentran comúnmente en el plasma sanguíneo y difieren de otras proteínas de la sangre en que no están glicosiladas. (Karp, 2009). También se ha considerado como un marcador de riesgo vascular y de pronóstico de enfermedad cardiovascular, así como un marcador de enfermedad renal crónica en pacientes con o sin diabetes o hipertensión arterial, además se relaciona con el síndrome metabólico y con la resistencia a la insulina, ambas situaciones frecuentes en insuficiencia renal crónica (Álamo *et al.*, 2007).

4.5 Restricción calórica

El descubrimiento de los efectos de la RC en el incremento de la longevidad abrió un campo de investigación básica-aplicada que trata de adecuar la ingesta de alimento al mejor estado de salud. Esto ha sido el resultado de los primeros estudios, clásicos, realizados por Mc Cay *et al.*, en 1935, en ratas, en donde se observó que ratas con un régimen específico de reducción calórica del 30 al 40% de ingesta de comida *ad libitum* favorecía la expectativa de vida y los animales presentaban un aspecto más saludable. Desde este trabajo pionero, la RC es la única aproximación que de forma convincente ha demostrado retardar el proceso de envejecimiento en numerosos tipos de animales de experimentación, desde levaduras hasta mamíferos (Colman *et al.*, 2009; Xiang & He, 2011; Speakman & Mitchell, 2011). Además, se ha reportado que la eficacia de la RC se basa en una reducción en el aporte calórico general y no sólo en la reducción de un tipo específico de azúcares, grasas o proteínas. Por tanto, para conseguir los efectos benéficos de la RC, ésta debe ser equilibrada, suficiente y abarcar todos los nutrientes.

En la mayoría de los estudios de RC en roedores, la limitación de las calorías totales de carbohidratos, grasas o proteínas se lleva a un nivel del 25% al 40% por debajo de la de los animales con alimentación *ad libitum* con todos los nutrientes esenciales (Weindruch *et al.*, 1986; Koubova y Guarente, 2003), lo que da como resultado un aumento en la esperanza de vida de los roedores (Pugh *et al.*, 1999; Hernandez-Valencia y Patti, 2006; Ketonen *et al.*, 2010). La RC, definida por Neel como la disminución del 15 al 60% de la alimentación *ad libitum* sin malnutrición (Mercken *et al.*, 2012), es la estrategia no genética que, consistentemente, ha demostrado efectos metabólicos benéficos y ha conseguido extender el promedio y el periodo máximo de vida en la mayoría de los seres vivos en los que se ha realizado, desde microorganismos hasta primates no humanos. La RC ha demostrado ser una manipulación fisiológica efectiva para mejorar diversos parámetros metabólicos que ayudan a mantener la homeostasis celular, tales como son: mantener la normoglucemia; mejorar la sensibilidad a la insulina por tejidos como el hígado, el

músculo y el tejido graso; aumenta la secreción de leptina y de la adiponectina; disminuyen los triglicéridos y lipoproteínas de baja densidad (Solon-Biet *et al.*, 2015).

Además de aumentar la vida en los roedores, la RC también se ha demostrado que puede retrasar una amplia gama de enfermedades como el cáncer, la diabetes, las enfermedades cardiovasculares y las enfermedades neurodegenerativas asociadas con el envejecimiento en primates no humanos e incluso en humanos (Roth *et al.*, 2001; Holloszy y Fontana, 2007; Cruzen y Colman, 2009). Por lo tanto, la RC puede influir en los procesos de envejecimiento y contribuir en los aspectos generales de la salud, incluyendo los procesos reproductivos como la conducta sexual masculina y mejoramiento en la calidad espermática, pues al disminuir la ingesta de alimento, se provee de energía suficiente para el funcionamiento del organismo, desde la producción, utilización de la glucosa y secreción de insulina hasta el funcionamiento de todos los órganos a través de la movilización de los nutrientes en torrente sanguíneo. Figura 1.

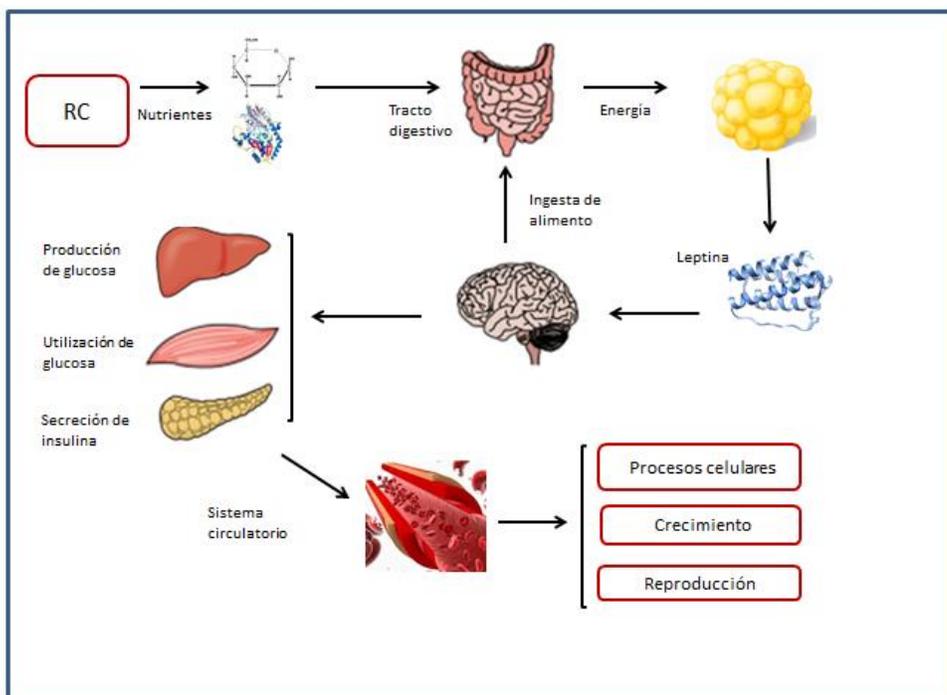


Figura 1. Acción de la RC en la ingesta energética .modificado de Morton y Schwartz., 2010.

4.6 Hipotálamo-hipófisis-Testículo (HHG)

La mayoría de las funciones del eje HHG están implicadas en el desarrollo del control de la gametogénesis y en la secreción de testosterona (T). La T mantiene las estructuras del sistema reproductivo como: la próstata, la vesícula seminal, así como estructuras neurales como: la amígdala, el área preóptica, el mesencéfalo y posteriormente la información viaja al cordón nervioso, tales estructuras están implicadas en el comportamiento reproductivo, como la conducta sexual masculina. A su vez, las funciones de los testículos se regulan por hormonas gonadotrópicas segregadas por la adenohipófisis tales como: la Hormona folículo estimulante (FSH) y la Hormona Leutinizante (LH) (Hull & Domínguez, 2015). Las gonadotropinas estimulan en las gónadas la secreción de sus T y esta hormona esteroidea, a su vez, ejercen un efecto inhibitor sobre la secreción de las gonadotropinas (Hull & Domínguez, 2015). La adenohipófisis produce y segrega dos gonadotropinas: FSH y LH. Las gonadotropinas ejercen tres efectos fundamentales sobre las gónadas: 1) estimulación de la espermatogénesis, 2) estimulación de la secreción hormonal gonadal y 3) mantenimiento de la estructura de las gónadas, ver figura 2 (Hull & Domínguez, 2015).

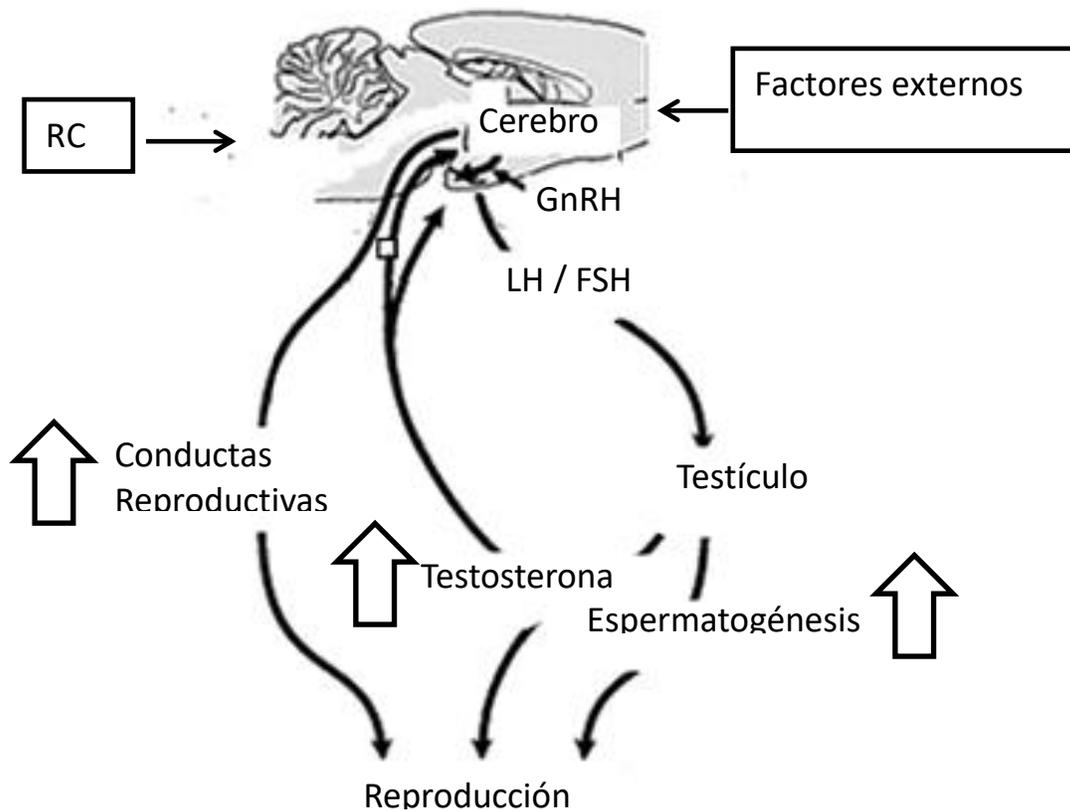


Figura 2. Representación de la activación del eje (HHG). Modificado de Wade & Jones Am., 2004.

4.7 Conducta sexual masculina en la rata

La conducta sexual ha sido persistentemente estudiada en varias disciplinas, para entender sus causas y su valor adaptativo. La conducta sexual se define como una serie de comportamientos que tienen como función biológica la reproducción de un individuo de cualquier especie con reproducción sexual (Ágmo, 2010). El inicio y mantenimiento de la misma involucra interacciones espontáneas entre dos individuos que se dan cuando un sujeto detecta una pareja sexual potencial (Ágmo, 2010). Para que se lleve a cabo la actividad sexual es necesario que se inicien en el individuo, alrededor de la pubertad, diversos cambios neuroendocrinos, conductuales y morfológicos que están regulados por la activación del eje neuroendocrino HHG, de cuya adecuada funcionalidad dependen el desarrollo de los órganos sexuales y la

fertilidad (Hull y Domínguez., 2007; Hull & Domínguez, 2015). Para el estudio y análisis de la conducta sexual, uno de los modelos más estudiados es el de la rata de laboratorio (*Rattus norvegicus*). Esto debido a que, comparte muchas de las bases fisiológicas de los mamíferos en general, su tamaño permite mantener a los individuos experimentales en condiciones de laboratorio a bajo costo, su sistema neuroendocrino se asemeja mucho al del humano. Además de que presentan un comportamiento copulatorio oportunista, es decir, pueden copular bajo diferentes condiciones (Pfaus *et al.*, 2003).

La conducta sexual en los mamíferos implica dos componentes o fases, una fase motivacional que se refiere a estados impulsores que requieren de la organización de conductas individuales en una secuencia de acciones orientadas a una meta que, una vez alcanzada, disminuye la intensidad del estado impulsor y, por ende, cesa la conducta motivada. Además, estos estados impulsores tienen un efecto generalizado, ya que incrementan el nivel general de alerta y con ello también la habilidad para actuar (Guevara-Pérez y Hernández-González, 2006), e incluyen todas las conductas de cortejo para acceder a la hembra, dentro de estas se encuentran: la búsqueda, la persecución y la exploración del cuerpo de la hembra. Aunque estos parámetros, de manera general, indican la motivación del macho, existen paradigmas específicos para evaluar la motivación sexual, como la prueba de incentivos sexuales (Ágmo, 2010). La fase de motivación sexual, requiere de mayor tiempo de ejecución y posterior a ella, generalmente, se realiza la fase consumatoria. Ambas fases se refieren a la cópula en sí; la cual es fácil de identificar, pues las respuestas motoras son altamente estereotipadas (Arteaga-Silva *et al.*, 2015). Dentro de estas conductas se distingue una serie de comportamientos que se reconocen como precopulatorios, copulatorios y postcopulatorios. Durante la conducta precopulatoria, el macho y la hembra se persiguen, hay exploración del área anogenital de la hembra, y se emiten vocalizaciones ultrasónicas (Lucio *et al.*, 2009). Durante las conductas copulatorias en la rata macho se presentan diferentes patrones motores innatos y altamente estereotipados que pueden distinguirse

fácilmente en tres conductas: La monta, caracterizadas por la monta del macho sobre la grupa de la hembra, la realización de movimientos pélvicos por parte del macho. La intromisión, que se inicia como una monta con la inserción peneana intravaginal y la eyaculación (Hernández-González *et al.*, 2002; Pfaff y Agmo, 2002). Finalmente, durante la conducta postcopulatoria, en el macho se da el periodo refractario absoluto y el relativo. En el periodo refractario absoluto el macho presenta poca locomoción, es insensible a estimulación sexual y poco sensible a otro tipo de estímulos; mientras que durante el periodo refractario relativo el macho empieza a responder a estímulos externos y emite vocalizaciones ultrasónicas (Lucio *et al.*, 2009).

4.8 Conducta sexual en ratas macho longevas

Con respecto a la edad y la CSM en estudios clásicos se ha reportado para una variedad de especies de mamíferos como las ratas, los monos e incluso los seres humanos, un declive en la expresión de la conducta sexual que puede ser atribuible a los cambios fisiológicos o incluso psicológicos, en el caso de los humanos (Chambers, *et al.*, 1991; Chambers y Phoenix, 1983; Smith *et al.*, 1992; Nicolosi *et al.*, 2004). Gran parte de la pérdida de la función sexual masculina con el envejecimiento se ha correlacionado con una disminución en la concentración de T en suero. Este cambio se ha demostrado en los seres humanos, en los monos rhesus (Downs y Urbanski, 2006) y en las ratas, incluyendo la cepa Sprague-Dawley (Harman *et al.*, 2001; Wu y Gore, 2009) y las ratas Wistar (Gruenewald *et al.*, 2000). Sin embargo, no todos estos estudios muestran una clara relación entre la T, el envejecimiento y el comportamiento sexual. De hecho, durante esta etapa de la vida, las concentraciones de T en ratas parecen no ser completamente diferentes de las de los animales jóvenes. Así, mientras algunos estudios han demostrado disminuciones relacionadas con la edad en la T otros no han demostrado tal pérdida de la conducta sexual con la T de manera contundente (Gruenewald *et al.*, 2000; Wu y Gore, 2009). Además, también se ha reportado que algunos cambios en la disminución en la CSM, podría estar relacionados con un déficit motor, pues en

general la actividad motora y la exploración se reducen (Sanchez *et al.*, 2008) También se ha reportado que la edad no solo reduce la conducta sexual, sino que también reduce la calidad de los parámetros espermáticos de las muestras de eyaculados; así se sabe que en humanos se reduce el volumen del eyaculado en hombres de 50 años o más, mientras que la concentración de espermatozoides no se reporta afectada por la edad (Kidd *et al.*, 2001). En la rata, se ha reportado efectos similares a los de los humanos, en cuanto a que disminuye el volumen del eyaculado, además de una reducción en el porcentaje de espermatozoides móviles y un incremento en la proporción de espermatozoides con gota citoplásmica en la cauda del epidídimo (Syntin *et al.*, 2001). Sin embargo, los estudios antes mencionados sólo se habían realizado de muestras de testículo y/o epidídimo. Sin embargo, Lucio y su equipo de trabajo (2013) han reportado una técnica para determinar parámetros de calidad espermática a partir de muestras de eyaculado, obtenidos de hembras inmediatamente después de la eyaculación y con la presencia de tapón vaginal, denominadas muestras espermáticas intrauterinas. En este estudio, se utilizaron ratas con edades desde 3 meses, 12 y hasta 24 meses. Además, este grupo de investigación correlaciono la expresión de la CSM de estos mismos machos con los parámetros de calidad espermática. Ellos encontraron un incremento sustancial en la proporción de espermatozoides inmóviles y una reducción en la movilidad en las ratas de 12 y 24 meses de edad. Al analizar los tapones vaginales, no reportan diferencias entre los diferentes grupos de edades de las ratas. En los parámetros de conducta sexual reportan, únicamente, un aumento significativo en la latencia de eyaculación en las ratas de 24 meses de edad, pero no encuentran correlación con las características de las muestras intrauterinas del eyaculado de estas ratas. Sin embargo, en este estudio no se reporta concentración de T en los diferentes grupos de ratas.

4.9 Restricción calórica y parámetros reproductivos

Se ha propuesto que la nutrición juega un papel importante durante la longevidad, de tal forma, que se ha observado que la RC retrasa la aparición de los cambios fisiopatológicos asociados con la edad (Khaled *et al.*, 2008). Así, se ha reportado que la RC induce algunos beneficios sobre la longevidad de ratas como la rata Brown Norway (Luo *et al.*, 2001; Khaled *et al.*, 2008) reportando los efectos de la RC en el peso corporal y en el peso testicular, asociados con el aumento en la expresión de los genes de la enzima super oxido dismutasa (SOD) y de la enzima catalasa (CAT) y una disminución en la lipoperoxidación. Además, en este estudio se demostró que la expresión de los genes para los receptores a estrógenos y la aromatasa testicular, disminuyen durante el envejecimiento de la rata. Además Khaled *et al.*, 2008, en los animales que fueron expuestos durante un mes a 60% de RC, la expresión de los genes para SOD y CAT se incrementó en comparación con los animales sin RC. Estos resultados indican que, durante el envejecimiento, una dieta baja en calorías (sin desnutrición) es benéfica para la expresión de enzimas antioxidantes y mejora la movilidad espermática en el epidídimo, proponiéndose que este efecto es debido a la mejora en la protección de las células a través de un aumento del sistema de defensa antioxidante. Sin embargo, este estudio no evalúa los efectos de la RC sobre la conducta sexual y la calidad espermática.

Resulta interesante destacar que el envejecimiento se encuentra asociado con cambios en el tracto reproductivo masculino, así en las ratas Brown Norway, se ha observado aumento en la expresión de genes relacionados con procesos de envejecimiento en la cauda y cuerpo del epidídimo, sitio en donde los espermatozoides obtienen su maduración y son almacenados (Kathryn y Bernard., 2003). Sin embargo, en un estudio realizado por Govic y su grupo de trabajo (2008) en ratas macho en edad reproductiva (3 meses de edad) y sometidas a RC al 25% y RC al 50% por un periodo de 4 a 5 semanas, en donde evaluaron la conducta sexual y los patrones de preferencia hacia una hembra o un macho; así como la concentración de T y de leptina antes de la RC y después de la RC. Reportan, que

después de la RC al 50%, lejos de mantener un estado saludable en las ratas, se presentaba una reducción importante en el peso corporal, una deficiencia en la ejecución de la CSM y una disminución en la preferencia sexual por la hembra, asociado con una disminución en la concentración de T y de leptina. Mientras que en las ratas con RC del 25% no se presenta este efecto tan agudo, aunque si presentaron valores menores en la concentración de T. Sugiriendo, que la leptina puede estar participando de manera importante en la ejecución de la CSM. Sin embargo, es bien sabido que la T es la responsable de iniciar y mantener la CSM en la rata (Hull & Domínguez, 2015), por lo que resulta necesario indagar con más detenimiento el efecto de la RC en la ejecución de la CSM.

4.10 Regulación hormonal de la conducta sexual masculina

Se sabe en las especies de mamíferos estudiadas, el retiro de hormonas gonadales por medio de la castración provoca una reducción de la CSM disminuyendo tanto la motivación como la ejecución sexual (Lucio *et al.*, 2013). En los estudios realizados en rata macho, se ha reportado que la castración provoca un aumento en las latencias de monta y de intromisión, al cabo de una o dos semanas posteriores a la castración, las ratas pierden la capacidad para lograr intromisiones y la eyaculación. Sin embargo, la monta es la última conducta copulatoria en desaparecer (Hull & Domínguez, 2015).

En relación con el componente motivacional se sabe que cuando se extirpan los testículos, el impulso sexual también decae rápidamente. Observándose que los machos castrados no buscan a las hembras, ni luchan para lograr el acceso a ellas y esta actividad sexual puede ser restituida mediante la administración de hormonas testiculares (Hull & Domínguez, 2015).

El tratamiento con T puede invertir los efectos de la castración sobre la conducta reproductora de la rata macho. El restablecimiento de la CSM después de una terapia sostenida de andrógenos refleja la manera en que desaparecieron estas conductas: primero se presenta la monta, y a continuación le siguen las intromisiones

y por último la eyaculación. Si la terapia de restitución con andrógenos se inicia inmediatamente después de la castración a lo cual se le llama tratamiento de mantenimiento, se necesitan concentraciones más bajas de hormonas para recuperar la conducta sexual. Si se inicia el tratamiento hormonal más tarde, conocido como tratamiento de restablecimiento, las concentraciones de hormonas que se necesitan son más altos (Hull & Domínguez, 2015).

Así, que la T, puede mantener la conducta de apareamiento en los roedores castrados. Sin embargo, la administración de 5 α -dihidrotestosterona (5 α -DHT) que es un metabolito obtenido a partir de una 5 α -reducción de la T, no evita el decaimiento post-castración en la conducta copulatoria, independientemente si se suministra en el momento de la castración o después de varios días (Hull Domínguez, 2007). La 5 α -DHT es importante para el mantenimiento y función de los órganos sexuales accesorios como las vesículas seminales, la próstata y el pene, entre otros. De tal forma, que la T procedente de los testículos parece funcionar principalmente como una pre-hormona que suministra, por un lado, estrógenos a estructuras del Sistema Nervioso Central que regulan la expresión de la conducta sexual y, por otro, la 5 α -DHT a la periferia para regular el mantenimiento de los órganos sexuales accesorios necesarios para la expresión de las conductas copulatorias (Hull & Domínguez, 2015).

La administración de 17 β -estradiol (E₂), producto de la aromatización de la T, solo restituye parcialmente la actividad sexual en las ratas macho castradas, las cuales presentan montas e intromisiones, pero la conducta de eyaculación se restablece únicamente en las ratas que tuvieron experiencia sexual previa a la castración o en quienes el tratamiento se inició inmediatamente después de la cirugía (Hull & Domínguez, 2015). Por otro lado, el tratamiento combinado de E₂ con 5 α -DHT reestablece, en los machos castrados, las conductas de monta, intromisión y de eyaculación (Larsson *et al.*, 1973; Södersten, 1973). Todos estos hallazgos han llevado a la conclusión de que la expresión de la CSM en la rata depende de la

acción sinérgica de un estrógeno y de un andrógeno (Beyer *et al.*, 1981) pero puede verse afectada por factores ambientales (Hull & Domínguez, 2015).

4.11 Regulación hormonal en ratas longevas

Se ha reportado, que, durante etapas longevas en mamíferos se observa la disminución en la concentración de T y con ello una disminución en varios parámetros fisiológicos como el metabolismo, funcionamiento celular y la función reproductiva (Chen *et al.*, 2004). Sin embargo, Estudios clásicos de reemplazo hormonal con T en ratas castradas envejecidas, reportaron que este reemplazo con T no restablece eficazmente la CSM como lo hace en ratas jóvenes (Hull & Domínguez, 2007; Hull & Domínguez, 2015), lo que establece que tal vez la concentración de T no necesariamente es la responsable para llevar a cabo la CSM, y que hay otros cambios en el envejecimiento que pueden explicar esta disminución del comportamiento sexual. Así, se ha planteado que pueden ser los receptores que se unen a la T, receptores para andrógenos (RA) o receptores para estrógenos (RE), principalmente los receptores para estrógenos alfa (RE α). Ambos receptores, se encuentran expresados diferencialmente según la concentración de la hormona circulante, reportándose que la intensidad de los RA en ratas de once meses es más alta, que los RE α en estructuras que regulan la expresión de la CSM, al compararse con ratas de tres meses de edad, en donde la expresión de RA y RE α es igual en estructuras que regulan la conducta sexual masculina (Wu y Gore, 2010).

4.12 Parámetros espermáticos

Los primeros estudios, realizados en rata, indicaron que 83 y 58 millones de espermatozoides por mililitro era la media de los individuos analizados (Farris., 1946; Blandaur y Odor., 1949), posteriormente se realizaron otros análisis que indican concentraciones que varían desde 152 a 230 millones de espermatozoides por eyaculado (Motrich *et al.*, 2007). Además, de la concentración espermática se han evaluado otros parámetros microscópicos como la movilidad y la morfología de los espermatozoides. En otros estudios de los parámetros espermáticos en la rata, las

muestras se obtienen del semen recuperado de la tuba uterina de la hembra. Así, en un estudio realizado por Lucio *et al.*, (2009), en donde los parámetros son descritos como macroscópicos y microscópicos. Dentro de los macroscópicos, los autores proponen: 1) Color del semen: Es la tonalidad del fluido seminal. Determinado mediante observación directa. Debe ser blanco. Si es transparente indica la ausencia de fluidos seminales y/o espermatozoides; 2) Viscosidad del semen: Es la consistencia del fluido seminal. Se determina midiendo la longitud del filamento que se forma con una muestra de semen. Observándose si hay o no formación del filamento; 3) pH del semen; la cual es la alcalinidad o acidez del fluido seminal, obtenida con el papel indicador de pH para sustancias viscosas con rango de 5.5 a 9.0.

Para los parámetros espermáticos microscópicos, los autores antes citados proponen que: 1) La Movilidad espermática.- es el movimiento individual de los espermatozoides en una muestra de semen observada al microscopio. Evaluándose como mínimo 100 espermatozoides, distinguiéndose el tipo de movimiento en cada uno de ellos bajo los siguientes criterios: movilidad progresiva rápida, movilidad progresiva lenta, movilidad in situ e inmovilidad; 2) Concentración espermática.- evaluada como el número de espermatozoides, contenidos en 1 ml de semen; 3) Viabilidad espermática.- es la estimación del número de espermatozoides vivos en una muestra de semen; 4) Morfología espermática.- es la estimación del número de espermatozoides que presentan morfología normal (cabeza en forma de hoz y flagelo largo que termina en punta).

Estos parámetros pueden ser estudiados en las muestras obtenidas del útero de las hembras que han copulado con los machos o bien en el epidídimo de los machos (Vigueras-Villaseñor *et al.*, 2011).

4. 13 Parámetros espermáticos en ratas longevas

Se ha demostrado que la longevidad está asociada con un déficit funcional en las células testiculares (Barry *et al.*, 2000) y como consecuencia se ha reportado una disminución en los espermatozoides e incluso una disminución en el número de células germinales. La pérdida de las células germinales podría estar relacionado con una disminución en la capacidad de las células de Sertoli para soportar la supervivencia de las células germinales y la diferenciación, o bien, a la reducción en la disponibilidad de T producida por las células de Leydig (Chen *et al.*, 2004).

Además, se ha reportado que estudios realizados en ratas seniles indican que la morfología de los espermatozoides se ve afectada hasta en un 16% con gota citoplasmática. En cuanto a la movilidad se han reportado datos que varían desde el 23, 75 y 100% de movilidad progresiva mediante el programa CASA (Goyal *et al.*, 2001). Por otro lado, también se ha reportado una disminución de la cuenta espermática para ratas de 12 y 24 meses de edad (Lucio *et al.*, 2009; Lucio *et al.*, 2013). Así como una disminución en el porcentaje de movilidad para ratas Brown Norman de 22 meses de edad (Syntin, 2001).

5.- JUSTIFICACIÓN

A la fecha, existen conocimientos acerca de los mecanismos celulares que han permitido aumentar la longevidad en algunas especies de mamíferos y que estos pueden estar influenciados por factores externos como los nutricionales. Así, se ha demostrado que la reducción del régimen alimentario con disminución de la ingesta calórica, es decir, la restricción calórica es eficaz para extender la expectativa de vida y para mantener a los individuos más saludables (Martin *et al.*, 2006). Además, se ha propuesto que la RC podría modificar la función reproductiva a través de la alteración en el patrón de liberación de hormonas en el eje HHG, requeridas para el desarrollo, crecimiento y metabolismo en general (Martin *et al.*, 2008).

Por otro lado, la conducta sexual; así como la adecuada producción espermática es necesaria para la reproducción y perpetuación de las especies, muchas de las cuales tienen un valor comercial, como en el caso de las especies pecuarias o bien las especies de fauna silvestre, muchas de ellas se encuentran alojadas en granjas, zoológicos o en unidades de medio ambiente. Sin embargo, la conducta sexual al igual que la calidad espermática van disminuyendo conforme avanza la edad en los individuos, afectando el éxito reproductor por parte del macho (Redman y Ravussin, 2009; Anderson y Weindruch, 2010). De tal forma, que el presente estudio tiene como objeto analizar el efecto de la RC sobre la función reproductiva en la rata macho longeva, estos estudios serán de gran relevancia para elucidar los efectos de la RC sobre la conducta sexual y la calidad espermática de la rata, que han sido poco explorados en la investigación científica. Por otro lado, resulta de interés este tema por su posible aplicación en el mantenimiento de especies pecuarias con importancia económica o prevenir la extinción de especies amenazadas refugiadas en zoológicos o unidades de medio ambiente.

6. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál será el efecto de la RC leve (15%) y moderada (35%) respecto a la conducta sexual y la calidad espermática en la rata macho Wistar en proceso de envejecimiento?

7. HIPÓTESIS

La RC ha demostrado efectos metabólicos benéficos consiguiendo extender el periodo máximo de vida, por lo que se espera que la RC leve (15 %) y moderada (35%) mejorará la conducta sexual masculina y la calidad espermática en la rata Wistar durante el proceso de envejecimiento.

8. OBJETIVOS

8.1 GENERAL

Determinar si la RC leve y moderada mantiene la conducta sexual masculina; así como la función espermática en la rata Wistar en proceso de envejecimiento.

8.2 PARTICULARES

Analizar el efecto de la RC leve y moderada en ratas macho Wistar en proceso de envejecimiento (15 y 18 meses de edad)

Sobre: La conducta sexual, la calidad espermática, la concentración de testosterona y los marcadores metabólicos

9. DISEÑO EXPERIMENTAL (MATERIALES Y MÉTODOS)

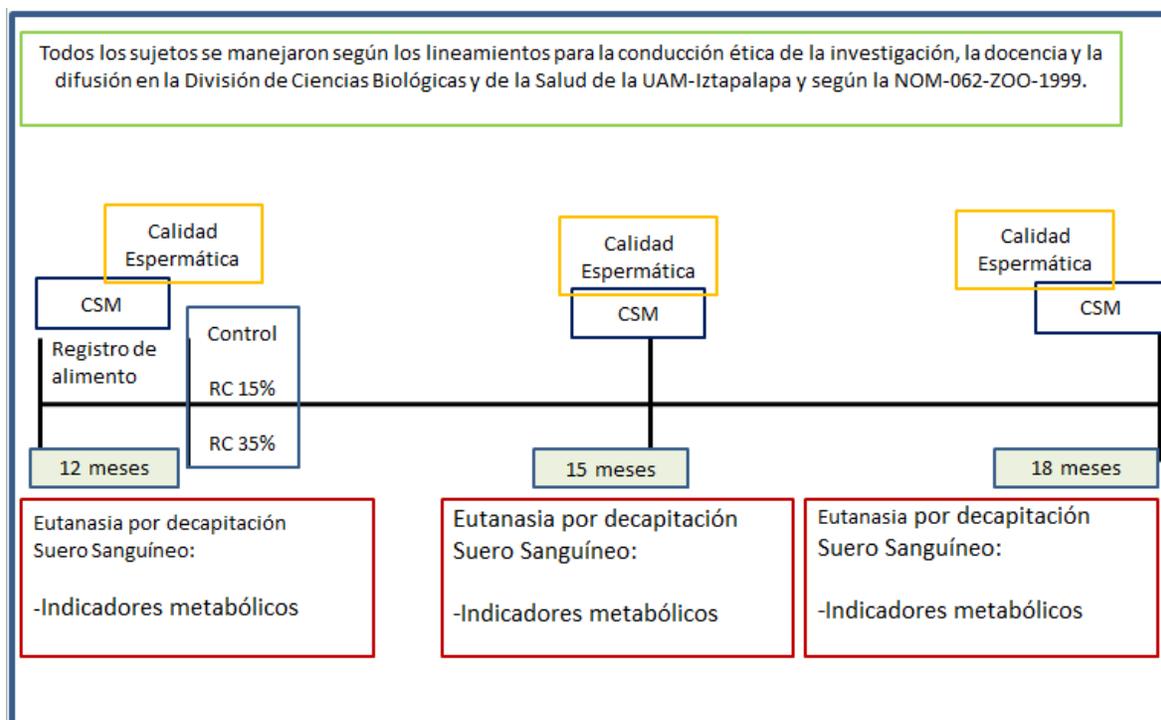


Figura 4. Diseño experimental de la restricción calórica en ratas de 15 y 18 meses de edad.

9.1. Sujetos experimentales

Los sujetos experimentales utilizados para este proyecto fueron solicitados al bioterio de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, contaban con 12 meses de edad y eran sexualmente expertos.

Tanto los machos como las hembras utilizados en este estudio se manejaron según los lineamientos para la conducción ética de la investigación, la docencia y la difusión en la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la UAM-Iztapalapa y la NOM-062-ZOO-1999.

Las ratas macho Wistar de 12 meses de edad son equivalentes en edad a 40 y 50 años en el humano, según el modelo propuesto por Sengupta, 2012. Estos sujetos fueron mantenidos en cajas individuales bajo un ciclo de luz-obscuridad invertido 12hrs:12hrs (encendido de luz a las 8:00 pm y apagado a las 8:00 am) a una temperatura constante de 24°C.

Durante 15 días se registró el consumo de alimento y peso corporal para conocer el consumo diario de alimento y ganancia de peso corporal. Esto con el objeto de saber cuánto fue el consumo de alimento *ad libitum* diario de cada uno de los sujetos, para realizar la RC de acuerdo al consumo *ad libitum* diario de cada rata. El alimento que consumían todos los sujetos es de la Línea Bio-Dieta-Lab de ABENE. DDL-7100 de uso veterinario, alimento balanceado para roedores de laboratorio e investigación (rata, ratones y hámster). Con Análisis garantizado de Proteína: 23.0% mín; Grasa: 4.5% mí. Fibra: 6.0% máx. Cénizas 8.0% máx. Humedad: 12.0% más y E.L.N: 46.5%. SAGARPA A-6440.

El registró de consumo de alimento se realizó una hora después del encendido de la luz, posteriormente, las ratas fueron asignadas de manera aleatoria a los siguientes grupos experimentales:

Grupo 1 (Control). - Ratas de 12 meses de edad con comida *ad libitum* (n=15); Grupo 2.- Ratas de 12 meses de edad con RC leve (15%) (n=15), Grupo 3.- Ratas de 12 meses de edad con RC moderada (35%) (n=15).

Así como en estudios previos realizados por Govic *et al.*, 2008., para este estudio el porcentaje de RC fue seleccionado conservando la salud y el estado nutricional de los animales.

9.2. Evaluación de la conducta sexual masculina

Se realizaron de manera individual dos pruebas de ejecución sexual a cada una de las ratas. Este registro se realizó en las primeras 4 horas del apagado de la luz, durante la fase de oscuridad del ciclo y bajo luz roja tenue. El macho se colocó en un redondel de Plexiglas de 50 cm x 42 cm de base y 42 cm de altura con piso de aserrín durante 5 minutos para que se adapte al mismo. Pasado este tiempo, se introdujo una hembra receptiva tratada previamente con benzoato de estradiol (5µg/50µl, 48 horas previas a la prueba) y progesterona (500µg/50µl 4 horas previas a la prueba), con la que se le permitió interactuar libremente. Se tuvo un número mayor de hembras, pues cada macho por lo menos interactuaba con dos hembras; la primera se sacrificó inmediatamente era eyaculada, posteriormente se tomó la muestra intrauterina del eyaculado del macho (Lucio *et al.*, 2008; 2009). La segunda hembra se introdujo en el redondel para continuar la cópula hasta cumplirse el criterio de 30 minutos por registro de conducta sexual masculina. Durante los 30 min se registraron los siguientes parámetros:

- Latencia de monta (LM): Tiempo que transcurre desde que la hembra es introducida a la caja hasta que el macho realiza la primera monta de la serie copulatoria.

- Latencia de intromisión (LI): Tiempo que transcurre desde el ingreso de la hembra a la caja hasta que se da la primera intromisión de la primera serie copulatoria.

- Número de Montas (NM): Número total de montas que ocurren antes de la eyaculación.
- Número de intromisiones (NI): Número de intromisiones que ejecuta la rata macho antes de la eyaculación.
- Latencia de eyaculación (LE): Tiempo que transcurre desde la primera intromisión hasta la eyaculación de esa serie copulatoria.
- Intervalo Post-eyaculatorio (o refractario) (IPE): Tiempo que transcurre desde la eyaculación hasta la primera intromisión de la segunda serie copulatoria.
- Hit rate: Se calcula dividiendo el número total de intromisiones entre la sumatoria del número de montas e intromisiones ($HR= I/M+I$).

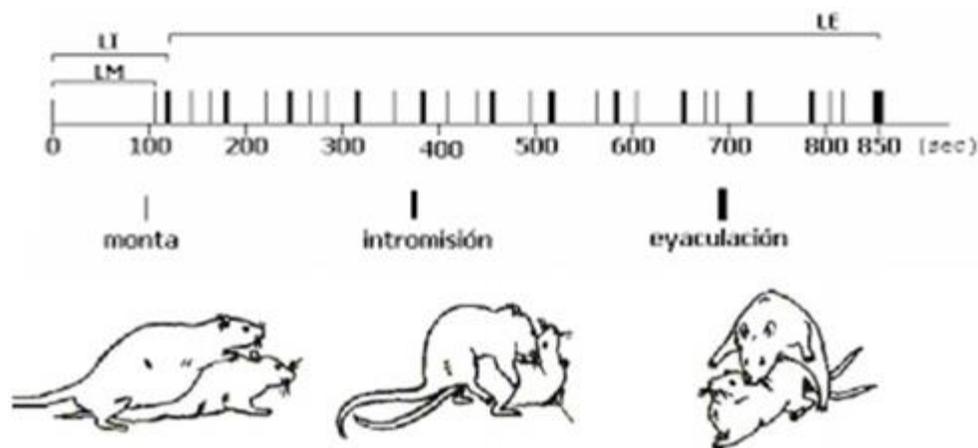


Figura 5. Copulograma que representa una serie eyaculatoria en las pruebas de CSM.(LM= latencia de monta; LI= latencia de intromisión; LE= latencia de eyaculación) Modificado de Guevara-Pérez y Hernández-González, 2006.

9.3. Evaluación de los parámetros de calidad espermática

Una vez que la hembra fue eyaculada, se retiró del redondel de observación y se verificó la presencia de tapón vaginal. Posteriormente, a la hembra se le practicó eutanasia por decapitación, para realizar una incisión abdominal y exponer los cuernos uterinos, se ligaron con hilo cáñamo en la región proximal y distal de la tuba

uterina. Posteriormente, se extrajo de la cavidad pélvica de la hembra y fueron sumergidos en una caja de Petri con solución salina (0.9%) a 37°C. Posteriormente, el contenido seminal de ambos cuernos uterinos se vertió a través de un lavado con un ml de solución salina isotónica, dicho contenido se recuperó en tubos Falcón de 15 ml, mantenidos en baño maría a 37°C para el inmediato análisis de los parámetros microscópicos (Lucio *et al.*, 2009).

9.4. Evaluación de los parámetros microscópicos del semen tomado de la tuba uterina.

Esta evaluación comprendió la valoración de la movilidad, vitalidad, concentración y morfología espermática, tomada de la muestra de la tuba uterina (Lucio *et al.*, 2009).

Preparación de la alícuota

Se homogenizó el semen con pipeteos constantes, posteriormente se tomaron 10 µl y se colocó en un porta objetos de 25x75 mm y se cubrió con un cubreobjetos de 22x22 mm, las células se observaron en objetivo a 40x con microscopio de luz.

Para evaluar la movilidad se contabilizaron un total de 200 células en diferentes campos elegidos al azar, se leen campos centrales en dirección a las manecillas del reloj, clasificando la movilidad en porcentajes de acuerdo a la siguiente categoría: a) Motilidad progresiva, b) Motilidad no progresiva y c) Inmóviles (OMS 2010, Lucio. 2009)

9.5. Análisis de viabilidad

La viabilidad espermática muestra la cantidad total de espermatozoides que se encuentran vivos cuando estos se someten a algún colorante vital basándose en las células muertas que presentan daño membranal, se permite el paso del colorante diferenciándose los espermatozoides vivos de los que están muertos.

Para este estudio se utilizó eosina amarillenta al 5% en PBS. Se homogenizó el semen con una pipeta de transferencia, se colocó en un portaobjetos 10 µl de colorante y se añadió 10 µl de semen, se mezcló hasta que quedara homogéneo, se

colocó un cubreobjetos de 24x40 mm, se dejó pasar un minuto para que se establezca la muestra y se realizó un conteo de 200 espermatozoides con un objetivo a 40x. Espermatozoides vivos (no teñidos) y espermatozoides muertos (teñidos).

Para la interpretación de los resultados se obtuvo el porcentaje de espermatozoides vivos, del total de 200 células contadas.

9.6. Análisis de la concentración espermática

Para el conteo espermático se usó un portaobjetos. Previamente se hizo el conteo de 3 campos al azar, se tomó la media de estos valores para hacer la dilución, se utilizó una solución que contenía formaldehído al 10% para inmovilizar a los espermatozoides dentro de un tubo cónico. Dependiendo del conteo de estos tres campos se hizo la dilución con base a las células que se veían. Las diluciones más utilizadas son 1/5, 1/10, 1/20 o 1/50, dependiendo del número de espermatozoides contados en la preparación anterior; una vez hecha la dilución se cargó la Cámara de Neubauer con 10µl y se procedió a contar los cuadros. Para saber la concentración de células por ml se sumaron las cantidades obtenidas de las 2 cámaras y se realizaron los cálculos dependiendo de la dilución realizada y del número de cuadros contados en la cámara de Neubauer; una vez determinada la concentración por mililitro se multiplicó por el volumen de la muestra para saber la concentración total del eyaculado.

9.7. Cuantificación de la concentración de parámetros metabólicos y hormonales en suero

La cuantificación de hormonas esteroideas sexuales, en este caso de testosterona y de marcadores metabólicos generales como: glucosa, colesterol, triglicéridos, HDL, LDL, creatinina, Albúmina y ácido úrico, en suero sanguíneo en todos los grupos experimentales se realizaron mediante la técnica de radioinmunoanálisis (RIA) para la T y por ELISA para el resto de los marcadores metabólicos. Todos los sujetos fueron sacrificados por decapitación, previa anestesia con la finalidad de obtener las muestras sanguíneas, se colectaron las muestras en tubos con tapón separador de

suero (BD Vacutainer SST, México, D.F). El suero se obtuvo por centrifugación, 15 minutos a 3000 rpm.

La T en suero se cuantificó utilizando un kit comercial (TKTT-1, Diagnostic Product Corporation, CA, Estados Unidos). El método de RIA utiliza Iodo marcado (^{125}I), diseñado para la determinación cuantitativa de esta hormona. Para ello se utilizaron tubos recubiertos con anticuerpos anti-T, en donde la hormona marcada con ^{125}I compete por los sitios de unión al anticuerpo con la hormona presente en la muestra. Luego de la incubación, los tubos fueron introducidos en el contador gamma (Cobra, Packard, Estados Unidos) donde la cantidad de cuentas leídas están inversamente relacionadas con la cantidad de hormona presente en la muestra, que se determinó comparando las cuentas con una curva de calibración (Martínez-Mota *et al.*, 2008). Estas mediciones fueron realizadas en Procesos Sistematizados de Medición, S.A. de C.V. América No. 247, Col. Barrio San Lucas Del. Coyoacán, México, D.F. C.P. 04030, el cual cuenta con el registro de uso de radiactividad.

En el caso del resto de los marcadores metabólicos se cuantificaron a través del método de Elisa utilizando un kit comercial (ALPO Diagnostics Estados Unidos), se siguieron las especificaciones del fabricante para cada uno de los casos se utilizó un marcador específico (Glucosa, Ácido urico, Úrea, Colesterol, Triglicéridos, HDL, LDL y Albúmina, el cual se acopla a las moléculas y es cuantificado por el lector "Spectra Junior" dando así el valor a partir del suero sanguíneo. Estos análisis se llevaron a cabo en el Laboratorio de Investigación Básica del Instituto Nacional de Geriátrica de la Secretaría de Salud.

10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los parámetros fueron expresados como la media \pm D.S. Los datos de conducta, los parámetros de calidad espermática, las concentraciones de T y los marcadores metabólicos en suero fueron analizados por ANOVA, para cada uno de los parámetros, seguida por la prueba post hoc Tukey. Los valores de $p < 0.05$ fueron considerados significativos.

11. RESULTADOS

11.1 Registro de consumo de alimento

El registro del consumo diario de alimento *ad libitum* de los animales previo a la RC fue de 30 ± 4 gr; los cuales fueron sometidos a experimentación.

Una vez que se contó con el consumo diario de alimento se realizó la RC leve (15%) mediante la siguiente operación ($15\% \times 30\text{gr} / 100\% = 4.5\text{gr}$ “de reducción”) para disminuir la cantidad de alimento que ingerían los animales, del mismo modo se realizó la reducción de alimento para los animales con RC moderada (35%) (Figura 6).

Ejemplo:

30gr-----100% Alimento *ad libitum*

x----- 15%

x = 4.5gr.

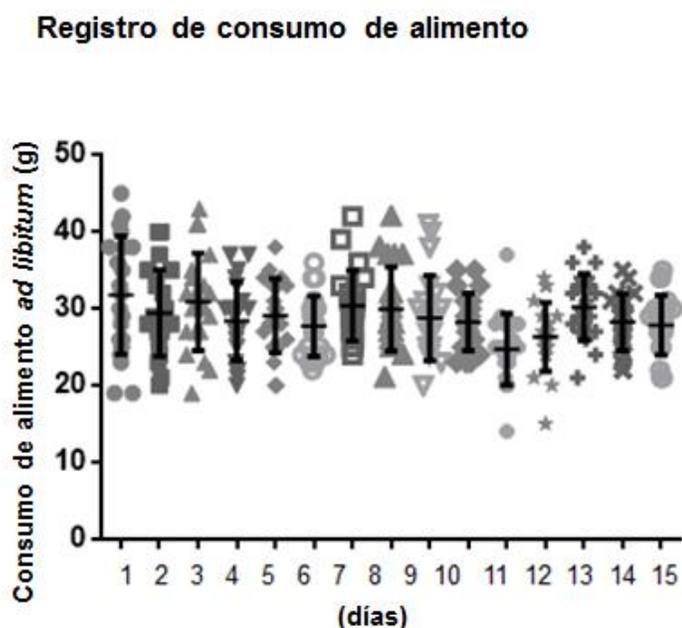


Figura 6. Consumo de alimento *ad libitum* diario de los animales previo a la RC.

11.2. Pérdida y/o ganancia de peso después de 6 meses de restricción calórica

Transcurridos los 6 meses de RC se evaluó el peso corporal de los animales sometidos a RC leve (15%) y moderada (35%), comparándose Vs el grupo control (alimentación *ad libitum*).

En la Figura 6 se muestran los valores en gramos del peso corporal de los animales al inicio cuando las ratas tenían 12 meses de edad y después de 6 meses de RC cuando las ratas tenían 18 meses de edad. Los animales del grupo *ad libitum* presentaron un leve aumento en el peso corporal, al inicio los individuos pesaron en promedio: 584 ± 43 gr y al finalizar el experimento pesaron 623 ± 50 gr, ya que su alimentación era *ad libitum* lo que favoreció la ganancia de peso corporal para este grupo, tal como se observa en las fotografías "A". (Figura 7 y 8).

Las barras con líneas verticales reflejan el peso corporal de los individuos sometidos a una RC leve (15%) observándose un decremento significativo del mismo, las ratas al inicio tenían un peso de 584 ± 43 gr. con una disminución gradual que llegó a los 420 ± 30 gr (figura 2 y figura 3). Por otro lado, el peso de los animales sometidos a una RC moderada (35%) se reporta en las barras con líneas horizontales, en donde se muestran los pesos al inicio del experimento, el cual corresponde a 584 ± 43 gr. Con una disminución significativa 430 ± 20 gr. Lo que se ve claramente en la apariencia física de los animales de la figura B y C. (figura 7 y 8).

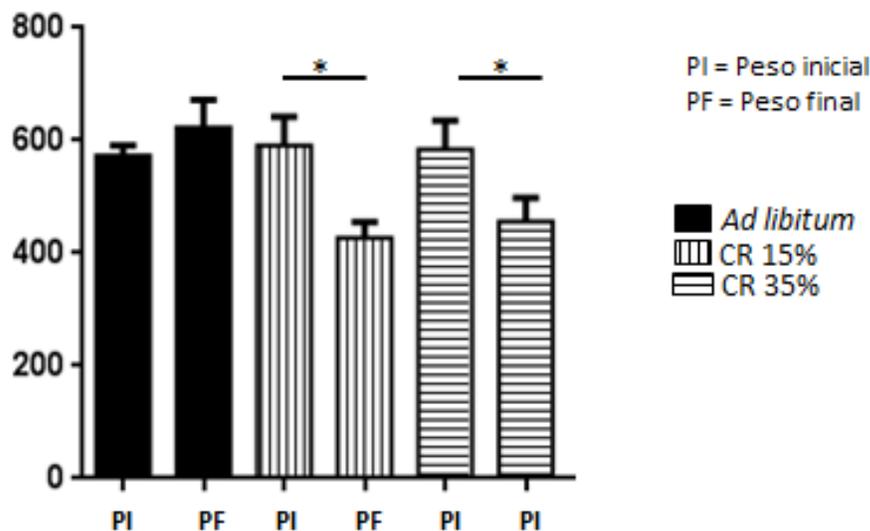


Figura 7. Muestra la media \pm DS de los pesos corporales de los animales sometidos al experimento, sólo los grupos con RC leve y moderada Vs el grupo control $*p < 0.05$.



Figura 8. Fotografías que muestran el fenotipo de las ratas después de 6 meses de experimentación. A) Grupo *Ad libitum*, B) Ratas del grupo de RC leve (15%). C) Ratas del grupo de RC moderada (35%).

11.3 Análisis bromatológico

La Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa proporcionó un Análisis Bromatológico del alimento que maneja el bioterio, en donde especifica el contenido de los nutrientes en porcentaje, el cual no fue claro, ver Tabla 1.

De tal modo que se realizó un análisis bromatológico: “Análisis químico inmediato” el cual arroja la información derivada de nutrientes, porcentaje de nutriente que contiene el alimento que consumían los animales sometidos a la RC, ver Tabla 2.

Además, para verificar el contenido energético del alimento también se realizó un análisis de “Determinación de energía bruta” para corroborar la ingesta energética contenida en el alimento que consumían los animales durante los tres y seis meses de tratamiento, ver Tabla 3. Así se pudo comprobar que los animales con comida *ad libitum* ingerían entre 116 y 134 kcal/ día. Del mismo modo se verificó y demostró que los animales sometidos a un régimen de RC al 15 % ingerían de 99 hasta 108 kcal/ día y el grupo RC al 35 % consumía de 78 hasta 86 kcal/ día. Lo que indica una disminución en la ingesta de alimento de los grupos RC Vs el grupo *ad libitum*.

Tabla 1. Análisis bromatológico proporcionado por la UAMI.

Nutriente	Porcentaje	Restringido 15 %	Restringido 35 %
Proteína	28 %	4.2	9.8
Grasa	4.5 %	0.67	1.57
Fibra	6 %	0.9	2.1

Tabla 2. Análisis bromatológico inmediato FMVZ- UNAM.

Análisis Químico Inmediato	
Materia seca	92.04%
Humedad	7.96%
Proteína Cruda	25.37%
Extracto Etéreo	7.44%
Cenizas	9.10%
Fibra Cruda	4.18%
Extracto libre de Nitrógeno	45.94%

Tabla 3. Muestra las calorías contenidas en un gramo de alimento.

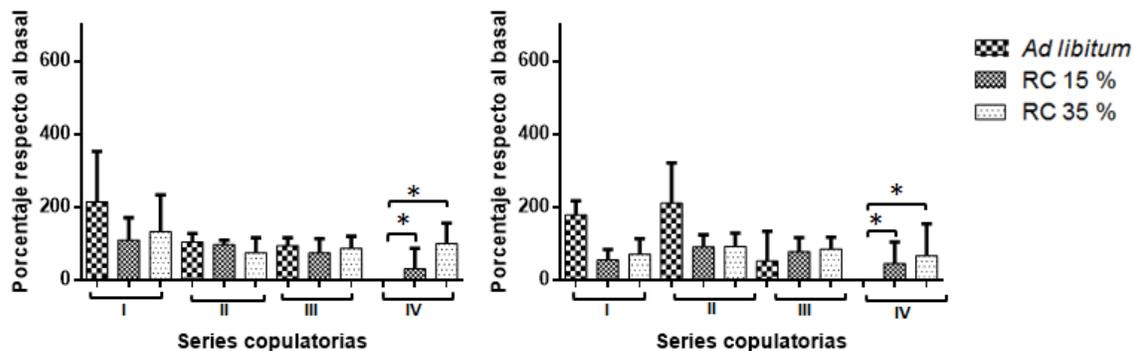
Energía bruta	
Kcal.	Gramos de alimento
4.32	1g.

11.4 Parámetros de la CSM

El análisis de la CSM consistió en la evaluación de los parámetros de las latencias, así como el número de las conductas de monta e intromisión. Estos valores se muestran en las gráficas a continuación descritas. Obsérvese, que la ejecución de la CSM fue la óptima, es decir presentaron valores normales para su edad, según lo reportado por Lucio *et al.*, 2013. Observándose un aumento en el porcentaje del tiempo de ejecución de las latencias de monta según transcurría el tiempo de exposición a la RC (Figura 9), tomando en cuenta los valores basales (que en los gráficos representan el cien por ciento), es decir los valores que presentaron los animales a los 12 meses de edad, antes de distribuirse en los grupos de RC y el grupo *ad libitum*. Así, se encontró que a los tres meses de RC el grupo *ad libitum* no presentó una cuarta serie copulatoria por lo que hubo una clara diferencia en el porcentaje de número de montas entre el grupo *ad libitum* Vs los grupos restringidos calóricamente, nótese también la disminución del porcentaje del tiempo en el que transcurrían las montas en cada uno de los grupos (*ad libitum* y RC) no obstante se observó que el grupo *ad libitum* presentó diferencias en el porcentaje del tiempo de ejecución de las montas Vs los grupos de RC, recordando que todos los animales eran sexualmente expertos al inicio del experimento.

A)

Efecto de la RC sobre la LM a los 15 y 18 meses de edad



B)

Efecto de la RC sobre el NM a los 15 y 18 meses de edad

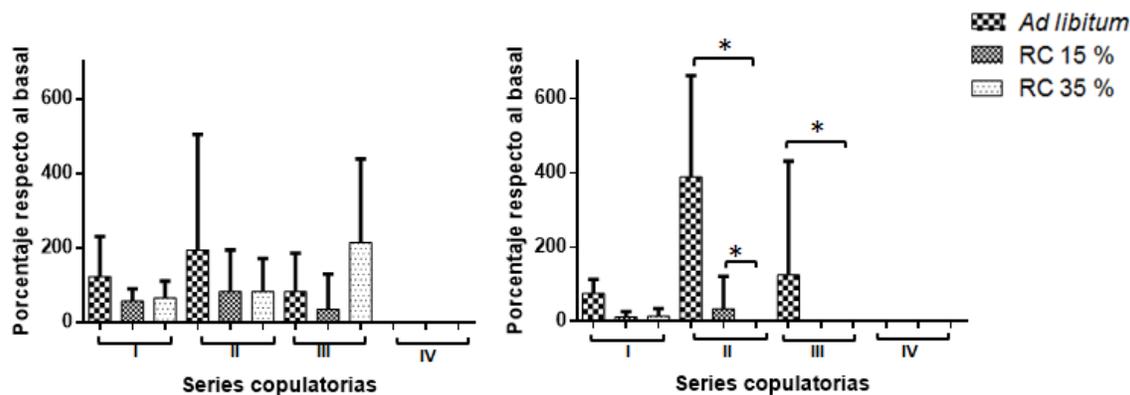
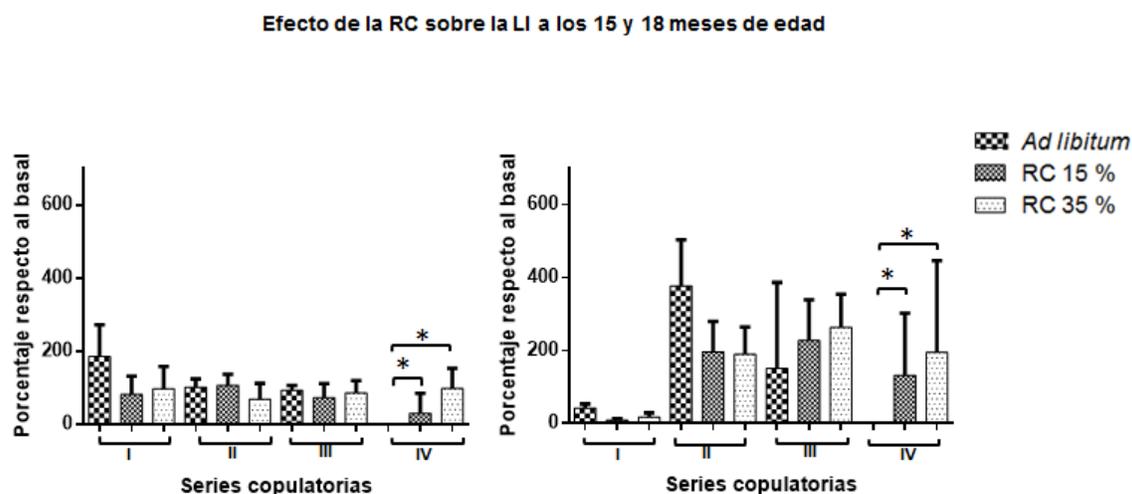


Figura 9. A) Muestra la media \pm DS del porcentaje de las latencias monta (LM) de los individuos de cada grupo. B) Media \pm DS del Porcentaje del número de montas (NM) realizadas durante las pruebas de CSM, * $p < 0.05$.

Para el porcentaje de la latencia de intromisión (LI) no se observó aumento a los 3 y 6 meses de tratamiento, observándose así que desde los valores basales (cien por ciento) un aumento al doble en la LI del grupo *ad libitum* respecto a los de RC, aunque éste no es significativo. Además, los grupos con RC presentaban hasta una cuarta serie copulatoria a diferencia de los animales con alimentación *ad libitum*.

También se observó que no hubo cambios en el porcentaje del número de intromisiones (NI) que realizaban los animales, antes de presentarse la eyaculación, excepto en los sometidos a RC que a los 3 meses presentaron una cuarta serie copulatoria y a los seis meses solamente el grupo RC al 35 % lo presentó. Véase Figura 10.

A)



B)

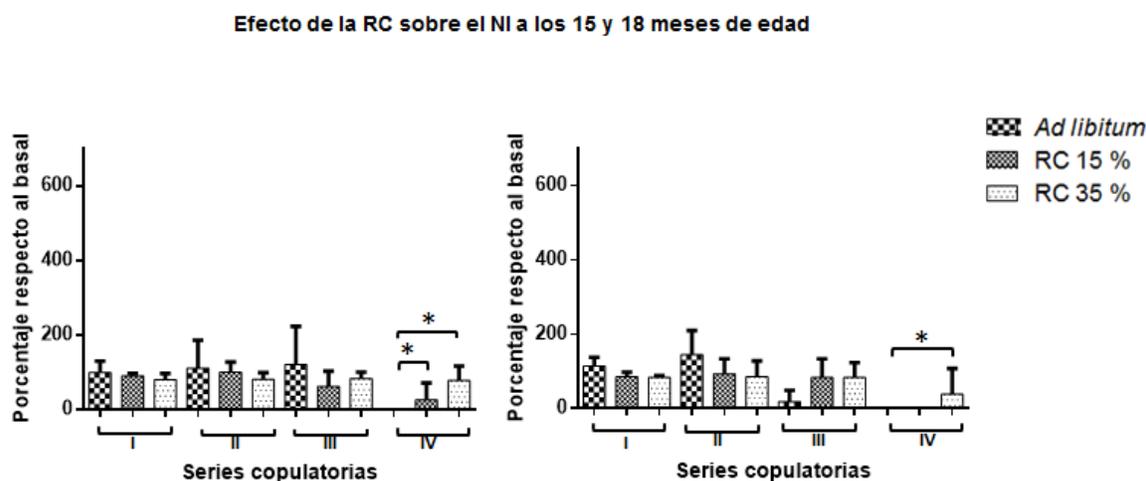
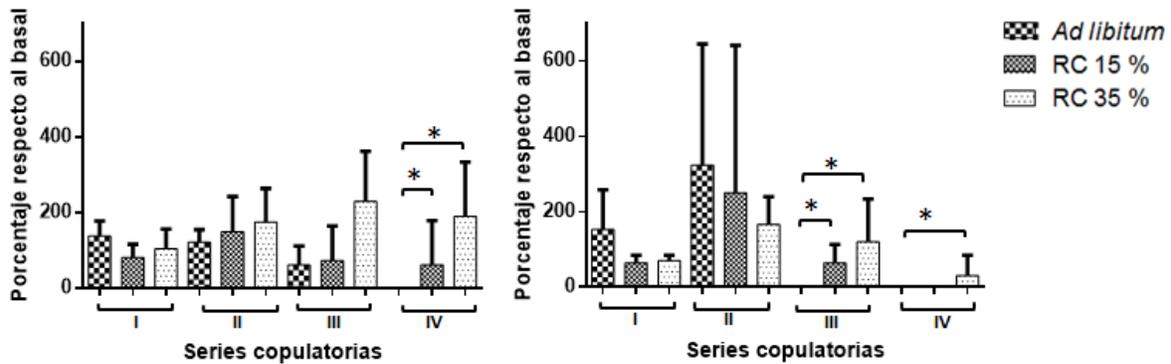


Figura 10. A) Muestra la media \pm DS del Porcentaje de latencia de Intromisión (LI) de los diferentes grupos experimentales. B) Media \pm DS del Porcentaje del número de montas (NM). * $p < 0.05$.

En cuanto al porcentaje de la latencia de eyaculación (LE) se encontró que los valores basales de este parámetro en todos los individuos antes de distribuirse en los tres grupos experimentales, presentaban hasta tres eyaculaciones. Una vez transcurridos tres meses de RC hubo aumento en el porcentaje de LE, además de que se puede observar una cuarta serie eyaculatoria respecto al grupo con alimentación *ad libitum*, lo mismo se observó cuando los animales llegaron a 18 meses de edad, es decir cuando ya han transcurrido seis meses de exposición a la RC, además de observarse un aumento significativo ($p < 0.05$) en la LE, reportándose dos eyaculaciones para el grupo *ad libitum*, tres eyaculaciones para el grupo al 15 % de RC y hasta cuatro eyaculaciones para el grupo al 35 % de RC, véase Figura 11. Por otra parte, se observó que el porcentaje del intervalo posteyaculatorio (IPE), se mantenía constante para el grupo con alimentación *ad libitum*, pero los grupos experimentales aumentaban conforme transcurrían las series copulatorias, esto a los tres meses de tratamiento, mismo fenómeno observamos a los seis meses de RC. Observándose que aumenta el porcentaje del IPE en la tercera y cuarta serie copulatoria para los grupos de RC, ya que los animales pertenecientes al grupo RC al 15 % presentan una tercera serie copulatoria y una cuarta serie copulatoria para las ratas del grupo RC al 35 % respecto al grupo con alimentación *ad libitum*., Figura 11.

A)

Efecto de la RC sobre la LE a los 15 y 18 meses de edad



B)

Efecto de la RC sobre el IPE a los 15 y 18 meses de edad

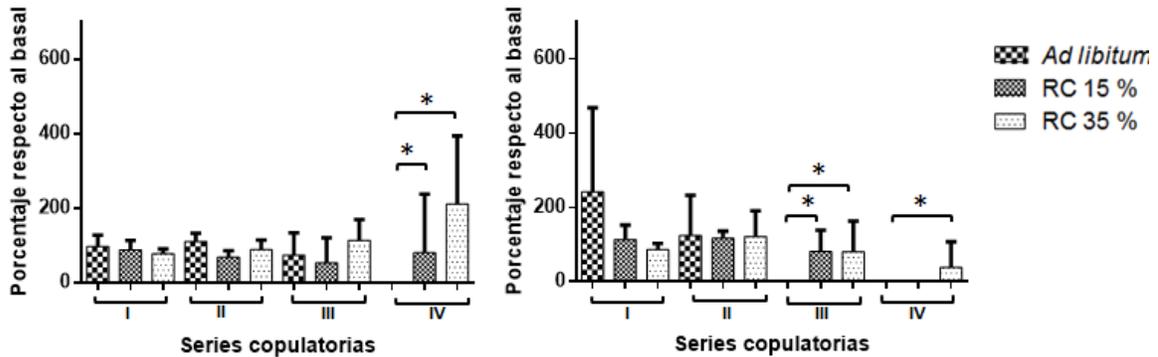


Figura 11. A) Muestra la media \pm DS del Porcentaje de la latencia de eyaculación (LE) de los animales a los 3 y 6 meses de exposición a RC, B) Media \pm DS del Porcentaje del IPE a los tres y seis meses de RC. * $p < 0.05$.

Una vez analizados todos los parámetros de la CSM se realizó el análisis de la eficiencia copulatoria (*HIT-RATE*) para poder comprobar y corroborar los resultados antes descritos. Así, se observó que al inicio del experimento los individuos tenían un valor basal de 0.71 ± 0.14 , antes de ser distribuidos azarosamente en los tres grupos experimentales. A los tres meses de RC, los grupos de RC 15 % y 35 %, presentaron

una eficiencia copulatoria de 0.80 ± 0.04 y 0.75 ± 0.12 , respectivamente, y los del grupo *ad libitum* una eficiencia copulatoria de 0.62 ± 0.14 siendo menor que la de los grupos de RC aunque no fue significativo. Del mismo modo ocurrió a los seis meses de exposición a RC, es decir, cuando los animales tenían 18 meses de edad, la eficiencia copulatoria mostró diferencias ya que los grupos RC 15 % y 35 % mantienen dicha eficiencia copulatoria hasta en un valor de 0.87 ± 0.07 y 0.87 ± 0.09 a diferencia del grupo con alimentación *ad libitum*, que fueron de 0.60 ± 0.08 , ver Tabla 3.

Tabla 3. Muestra la media \pm DS los valores obtenidos en la eficiencia copulatoria (*HIT-RATE*).

<i>Ad libitum</i>		RC 15 %		RC 35 %	
3 meses	6 meses	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
0.62 ± 0.14	0.60 ± 0.08	0.80 ± 0.4	$0.87 \pm 0.07^*$	0.75 ± 0.12	$0.87 \pm 0.09^*$

(*) Muestra los valores significativos

11.5 Parámetros de la calidad espermática

Seguido de los parámetros de la CSM se revisaron los parámetros de la Calidad espermática, de los cuales se observó y registró lo siguiente:

En el análisis de la Movilidad espermática, los valores basales de todos los animales con 12 meses de edad presentaron una movilidad progresiva homogénea de hasta

el 50 %. Conforme transcurrieron los primeros tres meses de exposición a la RC se observó que el grupo control, que era alimentado *ad libitum* no presentó cambios en el patrón de movilidad progresiva a los tres meses de tratamiento comparado contra los dos grupos sometidos a RC, pero sí hubo una disminución aparente aunque no fue significativa comparado contra el grupo RC al 15 % a los seis meses de RC, por otro lado el grupo RC al 35 % tampoco presentó diferencias respecto al grupo *ad libitum*., véase Figura 12. Del mismo modo ocurre a los seis meses de exposición a RC, no se observan cambios significativos en la movilidad progresiva de los grupos experimentales Vs el grupo *ad libitum*, véase Figura 12 B).

Efecto de la RC sobre la movilidad progresiva espermática a los 15 y 18 meses de edad

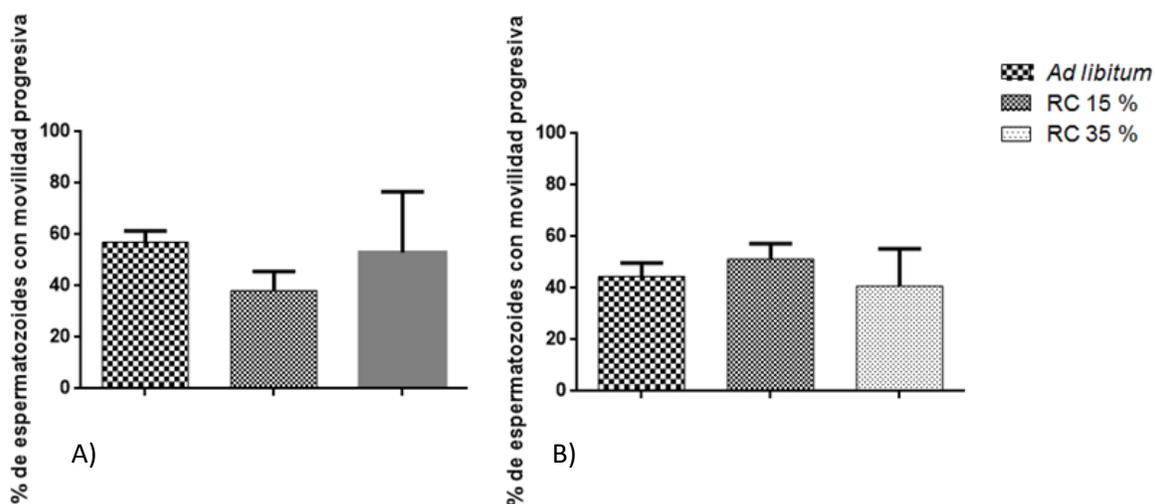


Figura 12. Muestra la media \pm DS de los valores de la movilidad progresiva (A) A los tres meses de RC no hay cambios en la movilidad (B). Media \pm DS a los seis meses de tratamiento, no hay cambios en la movilidad progresiva. * $p < 0.05$.

En cuanto a la Vitalidad, los valores basales de todos los sujetos antes de distribuirse en los tres grupos, se observó hasta un 95 % de espermatozoides vivos para todos los animales. Por otro lado no se reportaron diferencias entre los grupos RC Vs *ad libitum* para dicha prueba de vitalidad después de exponer a los animales por tres y seis meses de experimentación, ver Figura 13 A) y B).

Efecto de la RC sobre la vitalidad espermática a los 15 y 18 meses de edad

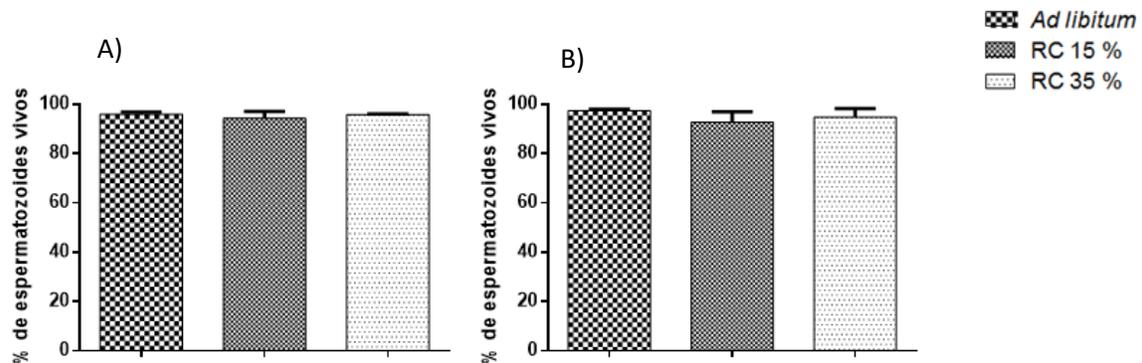


Figura 13. Muestra la media \pm DS de los valores de la vitalidad del experimento (A) después de tres de la RC (B) después de seis meses de RC. * $p < 0.05$.

Los datos de concentración espermática mostraron una homogeneidad para todos los animales, cuando tenían 12 meses de edad, es decir, cuando no tenían tratamiento. Así mismo se observó una tendencia a aumentar para los grupos RC después de tres meses de tratamiento respecto al grupo control, véase Figura 14 A).

Al transcurrir seis meses de RC, es decir cuando los animales tenían 18 meses de edad, se observó una disminución en la concentración espermática en los tres grupos (*ad libitum* y RC) respecto a los tres meses de tratamiento. Además de que se reporta un aumento significativo para el grupo RC al 15 % Vs el grupo con alimentación *ad libitum*, ver Figura 14 B).

Efecto de la RC sobre la cuenta espermática a los 15 y 18 meses de edad

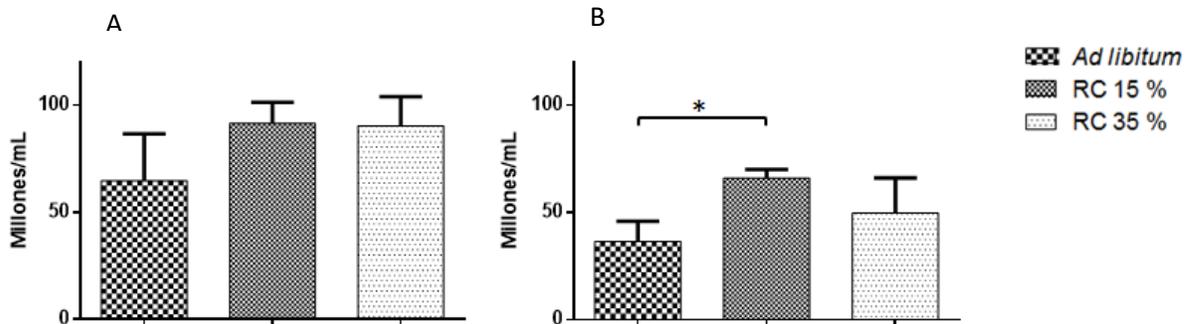


Figura 14. Muestra la media \pm DS de los valores de la concentración espermática, (A) Valores que corresponden a los tres meses de RC, no hay cambios en la cuenta espermática. (B) Gráficos a los seis meses de RC, se reporta aumento en la cuenta espermática para el grupo RC al 15 %. * $p < 0.05$.

11.6 Cuantificación de la concentración de Testosterona

Una vez que los animales fueron eutanaciados por decapitación, se colectó la sangre y posteriormente se centrifugó para obtener el plasma sanguíneo, para la cuantificación de la [T], de tal modo que se encontró lo siguiente:

Al exponer a RC durante seis meses a los animales, se logró mantener las concentraciones séricas de [T] para las ratas sometidas a 15 % y 35 % de RC, incluso se alcanza valores como cuando los animales tenían 12 meses de edad. Así mismo se observó una disminución significativa de [T] para el grupo *ad libitum*, ver Figura 15.

Efecto de la RC sobre la concentración de testosterona a los 18 meses de edad

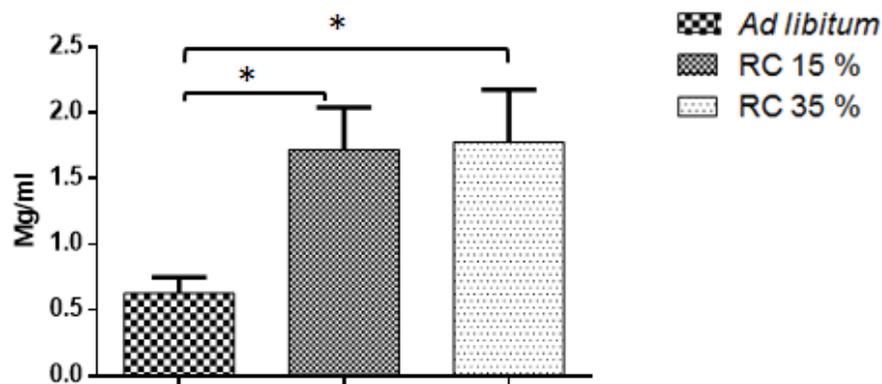


Figura 15. Representación gráfica de las concentraciones de Testosterona. Se observa una disminución para el grupo *ad libitum*. * $p < 0.05$.

11.7 Indicadores Metabólicos

Una vez realizada la eutanasia por decapitación, se colectó la sangre y posteriormente se centrifugó para obtener el plasma sanguíneo y poder cuantificar los indicadores metabólicos.

Después de tres meses de someter a las ratas a RC observamos que la glucosa en plasma sanguíneo se encuentra sin cambios significativos para los grupos sometidos a RC, respecto al grupo *ad libitum*. El mismo fenómeno se repite para los siguientes indicadores del metabolismo: Urea, Ácido Úrico, LDL y creatinina, pues no presentaron diferencias significativas, de los grupos sometidos a RC respecto al grupo *ad libitum*. Véase Tabla 4.

Para los valores del colesterol se reporta un aumento significativo en el caso del grupo RC al 15 %, respecto al grupo *ad libitum* e incluso al RC al 35 %, ver Tabla 4.

El siguiente indicador metabólico que también reportó un aumento significativo fueron: los Triglicéridos, en esta ocasión fue para el grupo RC al 15%, esto respecto al grupo *ad libitum* y el grupo RC al 35 %, ver Tabla 4. De igual forma se observó un aumento significativo para las HDL del grupo RC al 15 %, ver Tabla 4. Finalmente no se reportan cambios significativos para la albúmina, véase Tabla 4.

Una vez transcurridos los seis meses de RC, es decir cuando las ratas tenían 18 meses de edad se procedió a cuantificar nuevamente los indicadores metabólicos y se observó lo siguiente: A los seis meses de exposición a RC se observó que no hay cambios significativos en ninguno de los indicadores metabólicos (Glucosa, Urea, Ácido úrico, Colesterol, triglicéridos, HDL, LDL, Creatinina y Albúmina) de los grupos sometidos a experimentación (*ad libitum* Vs los grupos RC al 15 y 35 %).ver Tabla 4. Observándose que hay una estabilización metabólica en la fisiología de los animales ya que los valores de todos los indicadores del metabolismo se encuentran dentro de los parámetros normales.

Tabla 4. Se muestran los valores encontrados de los indicadores metabólicos a los 3 y 6 meses de restricción calórica.

Parámetros	Ad Libitum		RC 15 %		RC 35 %	
	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses	3 meses	6 meses
Glucosa mg/dL	148±31.1	174.1±42.4	136±18.7	182.8±46.6	173.6±32.8	144.8±25.0
Urea mg/dL	73.5±4.4	75.2±9.5	66.2±10.9	78.2±11.5	60±7.7	66.6±9.5
Ácido úrico mg/dL	0.6±0.2	2.8±3.6	1.7±1.0	1.7±0.4	1.2±0.3	1.3±0.2
Colesterol mg/dL	65.5±3.5	141.8±108.0	186.3±24.0*	99.7±12.17	121.6±21.0	79±11.1
Triglicéridos mg/dL	83.5±3.5	80.9±26.4	214±36.0*	103.3±56.3	119.6±86.9	81.5±33.7
HDL mg/dL	37.5±2.1	51.6±30.4	107.6±12.8*	49.6±12.3	73.3±6.4	25.7±9.1
LDL mg/dL	11.3±4.5	43.1±23.0	35.8±14.3	30.3±12.4	24.4±7.27	36.4±14.3
Creatinina mg/dL	0.7±0.02	0.6±0.10	0.6±0.10	0.6±0.09	0.6±0.01	0.6±0.09
Albúmina mg/dL	4.3±0.2	4.2±0.19	3.5±0.2	4.4±0.3	3.8±0.1	4.0±0.3

* Muestra los valores significativos

12. Discusión

El envejecimiento en los individuos es un proceso paulatino y gradual del deterioro de la función en los distintos tejidos que lo componen, debido a la degradación de sus elementos a nivel molecular, aumentando la vulnerabilidad y susceptibilidad a enfermedades crónico degenerativas, derivados de la desregulación de la proliferación celular y que tiene como punto final la muerte (OMS, 2015).

De tal modo que según lo demostrado en este proyecto La RC leve y moderada reduce el peso corporal de los animales después de seis meses de tratamiento, además presentan un fenotipo con características físicas mejoradas, por otro lado no presentan diferencias significativas en los parámetros de la CSM. Aunque se demostró que la RC leve y moderada mantienen los parámetros de la CSM después de seis meses de tratamiento, es decir, cuando los animales tenían 18 meses de edad así como los parámetros de calidad espermática no se ven afectados después de seis meses de exposición a RC, que están íntimamente ligadas a las concentraciones séricas de T, que se mantienen aún con 6 meses de RC. Además se demostró que las ratas con exposición a RC durante 6 meses no presentan alteraciones metabólicas.

Se han reportado diversos cambios a través del proceso de envejecimiento; tales como la reducción del metabolismo, la función renal, reducción en la función muscular, cardiovascular y del sistema nervioso central (Gabriel *et al.*, 2012). También se ha reportado que, el envejecimiento disminuye la función celular y fisiológica, de tal modo que, la disfunción del eje HHG reduce la homeostasis del individuo, trayendo consigo alteraciones a la salud en general (Garasto *et al.*, 2017), observando una disminución en las concentraciones séricas de T en individuos a partir de los 50 años (Martínez *et al.*, 2008). De tal forma, que conforme los individuos envejecen decae la función neuroendócrina, provocando así, el declive de las concentraciones séricas de T, lo anterior, no solo se ha reportado en humanos, sino también, en roedores (Álvarez *et al.*, 2009; Molina *et al.*, 2010). Dicho efecto

también fue observado en el presente estudio, ya que, en las ratas de 12 meses obtuvimos una concentración de T de: 1.94 ± 0.02 mg/mL. Sin embargo, los animales del grupo *ad libitum* a los 18 meses de edad, presentan una concentración de T de: 0.62 ± 0.12 mg/mL., mientras que los animales sometidos a un régimen de RC del 15 al 35 % durante 6 meses, a la misma edad (18 meses) se observó un aumento significativo de las concentraciones séricas de T, para el grupo RC al 15%: 1.71 ± 0.32 mg/mL y para el grupo RC al 35 %: 2.56 ± 1.79 . De tal modo que, la disminución de T solo fue observada en los animales del grupo *ad libitum*, y no así, en las ratas sometidas a RC; fenómeno que también se observa en los experimentos realizados por Govic *et al.*, (2008), al someter a las ratas Wistar a RC al 50 %, demostrándose que, la reducción de la ingesta de alimento, mantiene los niveles séricos de T. Es importante señalar que, aun cuando los animales son sometidos a una RC al 35 %, como en el presente trabajo, los niveles séricos de T se mantienen; resultados que son consistentes no solo con el presente trabajo, sino también con lo reportado para *Macaca Mulatta* (Sitzman *et al.*, 2014).

Se sabe que, los niveles séricos de T son indispensables para el funcionamiento de los órganos reproductivos, por lo que el aumento de T para los animales sometidos a RC mantiene, entre otras funciones, el proceso de espermatogénesis en el testículo, lo que se ve reflejado en la cuenta espermática con una concentración de 68 millones/mL para el grupo RC al 15 %; 50 millones/mL para el grupo RC al 35 y 36 millones/mL para el *ad libitum*. Nuestros datos concuerdan con autores que reportan un declive en el conteo de espermatozoides para ratas, de edades similares a nuestros controles de 18 meses de edad (Syntin, 2001; Lucio *et al.*, 2009; Lucio *et al.*, 2013; Niu *et al.*, 2014). Así mismo, se ha reportado que otras variables como la movilidad espermática se ve afectada, asociado con la disminución de T, tanto para rata Brown Norman, rata Wistar y humano (Syntin, 2001; Lucio 2009; Nui *et al.*, 2014). Los datos de movilidad y vitalidad espermática, obtenidos en el presente estudio, concuerdan con los valores reportados por Sitzman (2010) cuando se sometió al Monos Reshus a RC al 30%, así como, con los valores reportados para *Macaca Mulatta*, manteniendo las concentraciones séricas de T, la calidad espermática y la

morfología normal del testículo, cuando fueron revisados histológicamente (Sitzman *et al.*, 2014).

Así mismo, se ha observado que el envejecimiento trae consigo la disminución de la CSM, dependiente de T (Harman *et al.*, 2001; Wu y Gore, 2009). Aumentando los parámetros de LI y LE en ratas, a partir de los 12 meses de edad, siendo muy evidente el aumento en la LE en ratas de 24 meses de edad (Lucio *et al.*, 2013). De igual manera, observamos que, para ratas de 18 meses de edad sin tratamiento (Grupo *Ad libitum*) tienen un aumento en la LE, además que, para esa edad presentan solamente dos eyaculaciones, disminuyendo la actividad de la CSM tal como lo reporta Lucio *et al.*, (2013).

Del mismo modo observamos que, hay una disminución en el NM, así como el NI, lo que facilitaba la eyaculación de la rata. De tal forma que, las ratas sometidas a RC al 15 y al 35 % presentan un aumento en el NE (hasta 4 por animal) durante la prueba de CSM. Mismo efecto reportó Govic *et al.*, (2008) con RC en ratas jóvenes Wistar al 25%, demostrando que, ésta reducción de alimento mejora la CSM por medio de los parámetros de LI, LE. De tal modo que, existe una correlación directa entre las concentraciones de T en sangre, la CSM y la calidad espermática.

Numerosos reportes han demostrado que, cuando hay un déficit de T decae la CSM aun cuando los animales son adultos jóvenes (Chen *et al.*, 2005; Govic *et al.*, 2008). También se ha reportado que, cuando los animales son sometidos a una RC alta (40 a 50%) decaen los parámetros reproductivos, por disminución de T en sangre, esencial para mantenerlos, debido a que, la RC es elevada en el animal, cayendo en desnutrición y por tanto afectando varios órganos del animal (Chen *et al.*, 2005; Govic *et al.*, 2008).

Por lo anterior, podemos decir que, aun cuando la RC provocó la pérdida significativa de peso de los animales sometidos a RC, siendo: 471 ±41 gr. para el grupo al 15%; 419 ± 55 gr. para el grupo al 35% y 623 ± 18 gr. para el grupo *ad libitum*. Tenemos certeza de que, nuestro estudio, no provocó desnutrición, sobre todo, si tomamos en cuenta primero que; encontramos una correlación positiva entre el incremento de T con la CSM, y la calidad espermática, además que, los animales

con menos peso, presentaron mejoría en su actividad locomotora, pues tenían mejor condición para realizar la persecución de la hembra (Fase motivacional de la CSM) permitiendo el éxito durante las pruebas, tal como ocurre en animales jóvenes adultos.

La segunda evidencia, de no tener desnutrición son los reportes que demuestran que una rata de laboratorio adulta, necesita de entre 60 a 70 kcal, para realizar sus funciones fisiológicas de manera adecuada (Martínez *et al.*, 2009). De tal forma que, nuestros animales aún con RC al 35% ingerían entre 78 a 86 Kcal, RC al 15% entre 99 a 108 Kcal y el grupo control con alimentación *ad libitum* de entre 119 a 134 Kcal. Energía suficiente para cumplir sus funciones fisiológicas y resguardo energético, así se logró mantener las condiciones adecuadas para la mantención de las conductas reproductivas.

Por otro lado, se ha correlacionado, el envejecimiento con el aumento del peso corporal de los animales, observando que, mientras los animales envejecen aumentan de peso (Sengupta, 2013). Lo cual, concuerda con lo obtenido en el presente trabajo, ya que, observamos que nuestros animales sometidos a RC tienen un peso equivalente a ratas de 6 o 7 meses de edad, a diferencia del grupo *ad libitum* que efectivamente, según lo reportado por Sengupta (2013) tienen el peso correspondiente a ratas de 18 meses de edad.

Se sabe que, es necesaria la correcta comunicación y transporte de nutrientes en el organismo para realizar las funciones vitales, las cuales llevan a expresar de manera correcta las conductas reproductivas, así mismo es necesario mantener valores normales de glucosa, colesterol, triglicéridos, LDL, HDL, ácido úrico, albúmina, urea y creatinina para una idóneo mantenimiento, funcionamiento y comunicación del organismo (Krasnow & Steiner, 2006). En nuestro trabajo, se observó que, hay un aporte energético suficiente para las ratas, pues, al analizar los indicadores metabólicos, observamos una concentración de glucosa de: 182.85 ± 46.60 mg/dL para el grupo RC al 15%; 144 ± 25.04 mg/dL para el grupo RC al 35% y 174 ± 42.45 mg/dL para el grupo *ad libitum*; valores que han sido reportados para ratas con una buena concentración glucémica (Brianza-Padilla *et al.*, 2015; Dupont *et al.*, 2013).

Pues representa la energía circulante y necesaria para poder ejercer sus actividades fisiológicas necesarias (Karp, 2009). Además, al revisar otros indicadores del metabolismo energético para correlacionar las funciones celulares, se encontró que las concentraciones de triglicéridos fueron de: 146.28 ± 56.38 mg/dL para el Grupo RC al 15%; de 81.5 ± 33.78 mg/dL para las ratas sometidas a RC al 35% y de 80.93 ± 36.43 mg/dL para el grupo *ad libitum*; que representa la energía secundaria, después de la utilización de la glucosa, y que está relacionada con las concentraciones de colesterol que fueron de: 99.71 ± 12.17 mg/dL para los animales sometidos a RC al 15%; de 79 ± 11.16 mg/dL para el grupo RC al 35% y de 141.83 ± 108.09 mg/dL para el grupo *ad libitum*; que se presentan como valores normales según lo reportado por otros autores, para ratas con normocolesterolemia, así como, para los valores de HDL y LDL para ratas adultas (3 meses de edad) (Heber *et al.*, 2012; Liu *et al.*, 2017).

Por otro lado, se ha reportado que los valores normales de creatinina (0.2 - 0.8 mg/dl) y albúmina (3.4 - 4.8 g/dl) son necesarios, ya que, la creatinina representa una reserva energética extra (proteínas musculares), y por otro lado, la albúmina es un transportador de nutrientes, necesario para la distribución de éstos, a través del sistema circulatorio (Álamo *et al.*, 2007). De tal modo que, nuestras concentraciones de creatinina: 0.66 ± 0.09 mg/dL para el grupo RC al 15%; 0.6 ± 0.09 mg/dL para el grupo RC al 35% y 0.6 ± 0.1 para el grupo *ad libitum*; así como nuestras concentraciones de albúmina que fueron: 4400 ± 300 mg/dL para las ratas RC al 15%; de 4000 ± 300 para el grupo RC al 35% y de 4200 ± 190 mg/dL para las ratas del grupo *ad libitum*; mismas que concuerdan con lo reportado para ratas sanas de edad adulta (3 meses de edad) (Álamo *et al.*, 2007; Martínez *et al.*, 2008).

Así mismo encontramos que los valores de urea fueron: 67.92 ± 11.59 mg/dL para los animales del grupo RC al 15%, 62.53 ± 9.54 mg/dL para las ratas del grupo RC al 35% y de 75.26 ± 9.54 mg/dL para el grupo *ad libitum*, para el caso de ácido úrico fueron de: 1.88 ± 0.42 mg/dL para los individuos del grupo RC al 15%, de 1.29 ± 0.28 mg/dL para los animales del grupo RC al 35% y de 1.41 ± 0.35 mg/dL para el grupo control, mismos que han sido reportados para ratas adultas, que además están

dentro de los valores normales y que son el producto final del metabolismo, de la función renal (Rivero *et al.*, 2004; Liu *et al.*, 2017).

Los resultados obtenidos en el proyecto de investigación, aportan información indispensable y relevante, ya que la RC tiene efecto positivo sobre la longevidad reproductiva, asociada con los parámetros metabólicos. Estudios previos indican que, aumenta la esperanza de vida de los organismos, así mismo tiene efecto para retrasar los procesos asociados al envejecimiento (Colman *et al.*, 2009), aumento a la sensibilidad de insulina e incidencia a enfermedades crónicas degenerativas (Colman *et al.*, 2009; Xiang & He, 2011; Speakman & Mitchell, 2011). Esto puede verse mejorado por los beneficios de la RC primero a nivel celular y luego en el eje HHG; pues se sabe que un aumento en la ingesta de calorías promueve un aumento en la liberación de radicales libres, particularmente, radical superóxido, por un aumento de los procesos catabólicos ligados a la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial, misma que se ha reportado como la fuente principal de especies reactivas de oxígeno (EROS) (Meng *et al.*, 2017), lo anterior puede provocar un desbalance entre las ERO producidas y el sistema antioxidante y de reparación celular, provocando estrés oxidante (Meng *et al.*, 2017). Por lo que, la RC disminuye el estrés oxidante, mejorando la funcionabilidad celular, por la disminución de la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial, y por ende, disminución de la producción de los radicales libres, tal como lo muestra la figura 17.

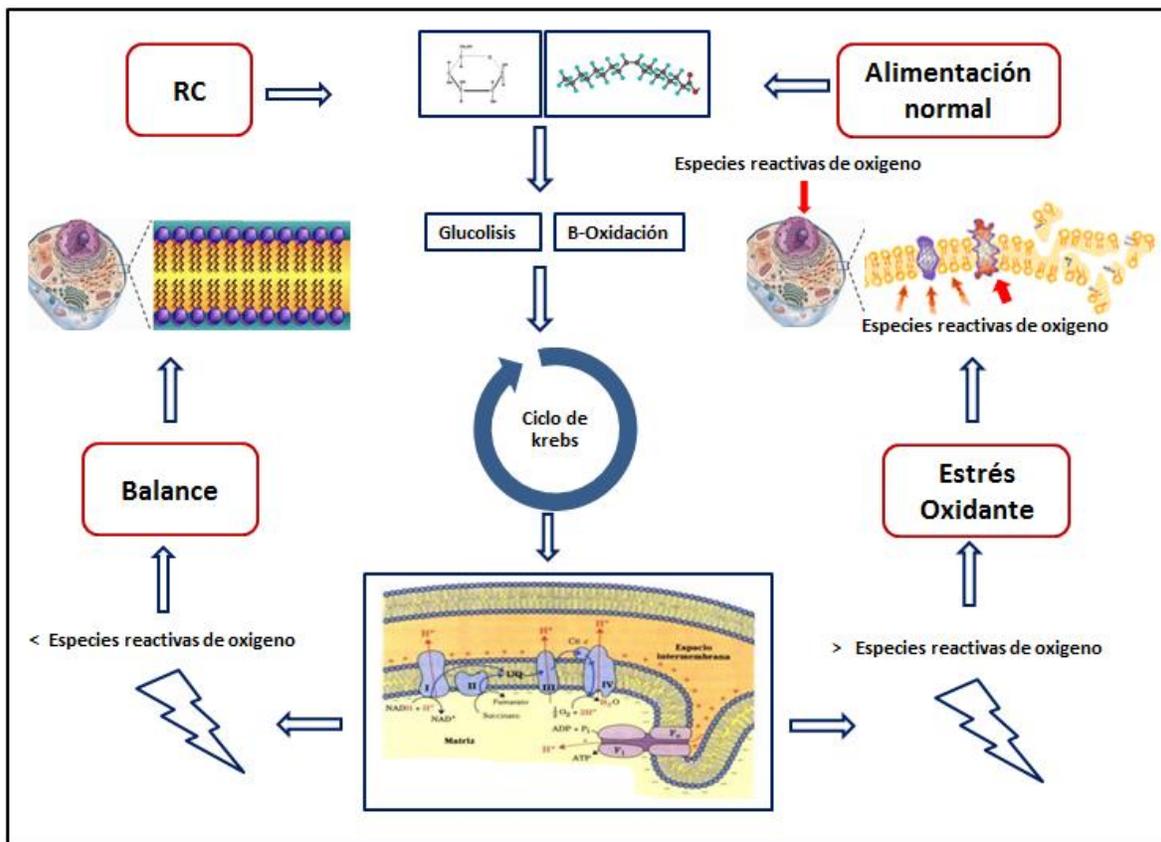


Figura 16. Efectos de la RC a nivel celular. Al tener alimentación normal (*ad libitum*) se ingiere mayor cantidad de nutrientes que serán metabolizadas y producirán mayor cantidad de EROS en la cadena transportadora de electrones, caso contrario ocurre con la RC, lo que permite un balance entre las EROS y antioxidantes, haciendo que haya buena función celular.

Así mismo, la RC ofrece beneficios no solo a nivel celular, sino que, al proveer de energía suficiente al individuo para realizar sus funciones vitales, también hace posible el mejoramiento del eje HHT, tal como lo observamos en nuestros animales sometidos a RC al 15 y al 35%, que al disminuir la ingesta de alimento, sin desnutrición, seguramente hace posible la disminución de EROS al mismo tiempo, da funcionalidad celular. Por lo que esta disminución de alimento aportó energía suficiente, cuantificable a través de indicadores metabólicos, que hicieron posible el funcionamiento del eje HHT, viéndose reflejado durante las pruebas de CSM (Fase motivacional y consumatoria), en el análisis de calidad espermática a través del aumento de T en las ratas sometidas a RC, tal como se observa en la figura 18.

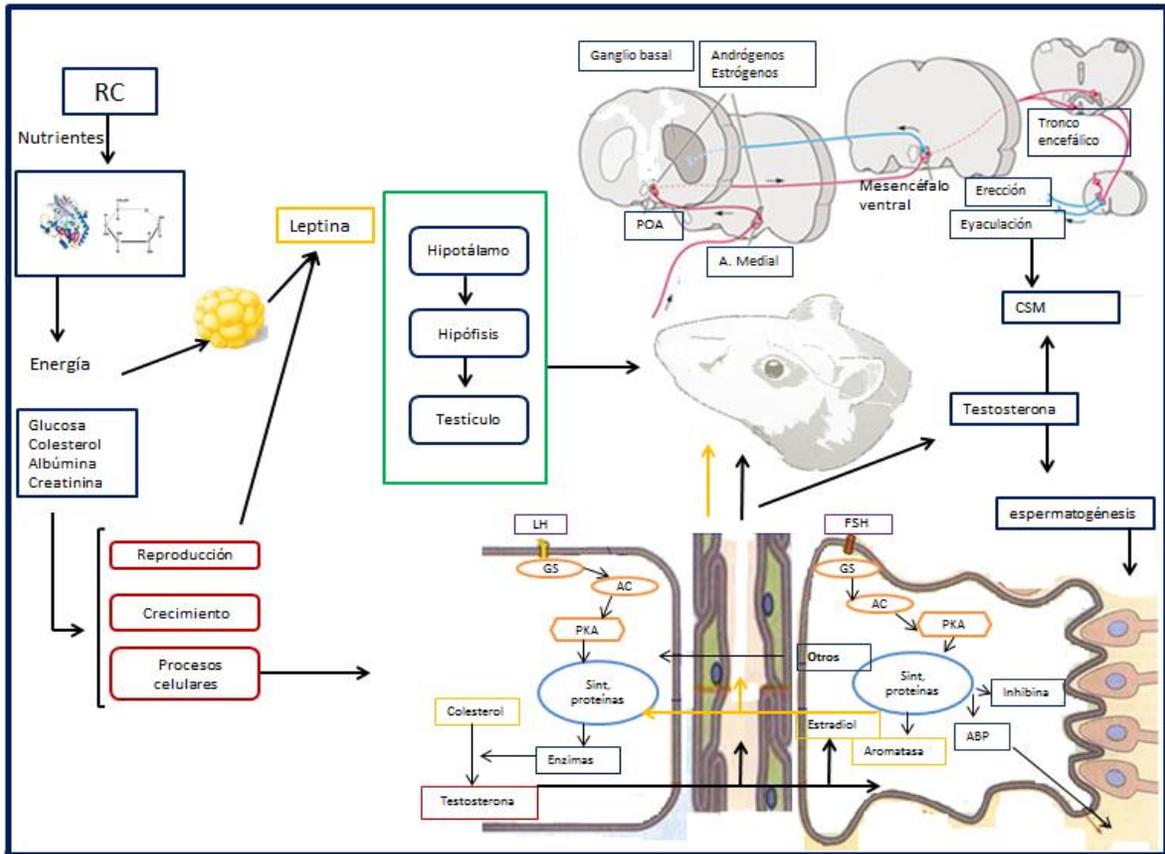


Figura 17. Efectos de la RC en la rata longeva. Al reducir la ingesta de alimento sin desnutrición mantiene con energía suficiente para la activación del eje HHG, de tal modo que mantiene elevadas las concentraciones séricas de T dando como resultado una adecuada CSM, así como una correcta función celular para la espermatogénesis.

Así se observó el mejoramiento de los parámetros reproductivos de las ratas sometidas a RC, seguramente aportando beneficios al organismo, viéndose reflejado de manera directa en el mantenimiento del eje reproductivo y sustentado con los indicadores del metabolismo.

13 Conclusión

La RC leve (15%) y moderada (35%) en la rata Wistar, en el envejecimiento (a los 6 meses de tratamiento), mejora los parámetros de: Latencia de monta, Latencia de intromisión, Número de intromisiones, Número de montas, Latencia de eyaculación y el Número de eyaculaciones, implicados en la conducta sexual masculina y la concentración espermática, debido al incremento de testosterona a los seis meses tratamiento.

14. REFERENCIAS

- 1 Ágmo (2010). Una perspectiva histórica sobre el estudio científico de la conducta sexual. In: M.A. Guevara Pérez, M. Arteaga Silva, A. Contreras Gómez, M. Hernández González, H. Bonilla Jaime, (Eds.). *Aproximaciones al estudio de la neurociencia del comportamiento*. 23 – 46.
- 2 Álamo, J.M., Galindo, A., Morales, S., Daza, G., Socas, M., Suárez-Artacho, G., Suárez-Grau, J.M., García-Moreno, J., Pareja, F., and Gómez, M.A. (2007). Efectos de la desnutrición sobre la colagenización de anastomosis intestinales: análisis de procolágeno y telopéptido carboxiterminal mediante radioinmunoanálisis. *Rev. Esp. Enfermedades Dig.* 99.
- 3 Anderson, R.M., and Weindruch, R. (2010). Metabolic reprogramming, caloric restriction and aging. *Trends Endocrinol. Metab.* 21, 134–141.
- 4 Börner, U., Szász, G., Bablok, W., and Busch, E.W. (1979). [A specific fully enzymatic method for creatinine: reference values in serum (author's transl)]. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.* 17, 679–682.
- 5 Arteaga-Silva, M., Mendoza-Mendoza, TN., Hernández-Rodríguez, J., Viguera Villaseñor, RM., Montes López, S., Limón-Morales, O., Bonilla Jaime, H y Vázquez Palacios, G. (2015). La exposición posnatal al cadmio disminuye los niveles de testosterona y provoca un déficit de la motivación y ejecución sexual en ratas macho adultas.
- 6 Aulinas, A., Santos, A., Valassi, E., Mato, E., Crespo, I., Resmini, E., Roig, O., Bell, O., and Webb, S.M. (2013). Telomeres, aging and Cushing's syndrome: Are they related? *Endocrinol. Nutr. Engl. Ed.* 60, 329–335.
- 7 Brianza-Padilla, M., Bonilla-Jaime, H., Almanza-Pérez, J.C., López-López, A.L., Sánchez-Muñoz, F., and Vázquez-Palacios, G. (2016). Effects of different periods of paradoxical sleep deprivation and sleep recovery on lipid and

- glucose metabolism and appetite hormones in rats. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* 41, 235–243.
- 8 Beyer, C., Contreras, J.L., Morali, G., and Larsson, K. (1981). Effects of castration and sex steroid treatment on the motor copulatory pattern of the rat. *Physiol. Behav.* 27, 727–730.
 - 9 Blandau, R.J., and Odor, D.L. (1949). The total number of spermatozoa reaching various segments of the reproductive tract in the female Albino rat at intervals after insemination. *Anat. Rec.* 103, 93–109.
 - 10 Chambers, K.C., and Phoenix, C.H. (1983). Sexual behavior in response to testosterone in old long-term-castrated rhesus males. *Neurobiol. Aging* 4, 223–227.
 - 11 Chambers, K.C., Thornton, J.E., and Roselli, C.E. (1991). Age-related deficits in brain androgen binding and metabolism, testosterone, and sexual behavior of male rats. *Neurobiol. Aging* 12, 123–130.
 - 12 Chen, H., Hardy, M.P., and Zirkin, B.R. (2004). Age-Related Decreases in Leydig Cell Testosterone Production Are Not Restored by Exposure to LH *in Vitro*. *Endocrinology* 143, 1637–1642.
 - 13 Chen, H., Irizarry, R.A., Luo, L., and Zirkin, B.R. (2005). Leydig cell gene expression: effects of age and caloric restriction. *Exp. Gerontol.* 39, 31–43.
 - 14 Colman, R.J., Beasley, T.M., Kemnitz, J.W., Johnson, S.C., Weindruch, R., and Anderson, R.M. (2014). Caloric restriction reduces age-related and all-cause mortality in rhesus monkeys. *Nat. Commun.* 5, 3557.
 - 15 Cofan Pujol, M. (2014). Mecanismos básicos. Absorción y excreción de colesterol y otros esteroides. *Clínica E Investig. En Arterioscler.* 26, 41–47.

- 16 Cruzen, C., and Colman, R.J. (2009). Effects of Caloric Restriction on Cardiovascular Aging in Non-human Primates and Humans. *Clin. Geriatr. Med.* 25, 733–743.
- 17 Downs, J.L. (2006). Aging-related sex-dependent loss of the circulating leptin 24-h rhythm in the rhesus monkey. *J. Endocrinol.* 190, 117–127.
- 18 Dupont, J., Reverchon, M., Bertoldo, M.J., and Froment, P. (2014). Nutritional signals and reproduction. *Mol. Cell. Endocrinol.* 382, 527–537.
- 19 Farris E. (1946). Spermatozoa count in albino rats. *Anat Rec.* 94:360-361.
- 20 Font de Mora Saínz, J., and Burks, D. (2001). Las rutas de señales de la insulina: mecanismos de integración de la homeostasis energética y la reproducción. *Endocrinol. Nutr.* 48, 295–302.
- 21 Ortiz, G.G., Arias-Merino, E.D., Velázquez-Brizuela, I.E., Pacheco-Moisés, F.P., Flores-Alvarado, L.J., Torres-Sánchez, E.D., Cortés-Enríquez, F., González-Renovato, E.D., and Ortiz-Velázquez, I.G. (2012). [Aging and metabolism: changes and regulation]. *Arch. Latinoam. Nutr.* 62, 249–257.
- 22 Garasto, S., Montesanto, A., Corsonello, A., Lattanzio, F., Fusco, S., Passarino, G., Prestipino Giarritta, V., and Corica, F. (2017). Thyroid hormones in extreme longevity. *Mech. Ageing Dev.* 165, 98–106.
- 23 Goyal H.O., Braden T.D., Mansour M., Williams C.S., Kamaleldin A, Srivastava K.K. (2001). Diethylbestrol-treated adult rats with altered epididymal sperm numbers and sperm mobility parameters but without alterations in sperm production and sperm morphology. *Biol Reprod.* 64:927-934.
- 24 Govic, A., Levay, E.A., Hazi, A., Penman, J., Kent, S., and Paolini, A.G. (2008). Alterations in male sexual behaviour, attractiveness and testosterone

- levels induced by an adult-onset calorie restriction regimen. *Behav. Brain Res.* 190, 140–146.
- 25 Govic, A., Kent, S., Levay, E.A., Hazi, A., Penman, J., and Paolini, A.G. (2008). Testosterone, social and sexual behavior of perinatally and lifelong calorie restricted offspring. *Physiol. Behav.* 94, 516–522.
- 26 Gruenewald, D. A., Naai, M. A., Marck, B. T., & Matsumoto, A. M. (2000). Age-related decrease in hypothalamic gonadotropin-releasing hormone (GnRH) gene expression, but not pituitary responsiveness to GnRH, in the male brown Norway rat. *Journal of Andrology*, 21(1), 72-84.
- 27 Guevara, M.A . y Hernández-González, M . (2006). Registro y análisis automatizado de señales bioeléctricas cerebrales durante la ejecución sexual. Universidad de Guadalajara. ISBN: 970-27-0898-2.
- 28 Harman, S.M., Metter, E.J., Tobin, J.D., Pearson, J., and Blackman, M.R. (2001). Longitudinal Effects of Aging on Serum Total and Free Testosterone Levels in Healthy Men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86, 724–731.
- 29 Heber, F., Vélez, L., R Ferreira, S., Amalfi, S., and Motta, A. (2012). The role of prenatal hyperandrogenism on lipid metabolism during adult life in a rat model.
- 30 Hernández-Matos, Y., Delgado Roche, L., López-Pérez, R., Martínez-Sánchez, G., and Mallok, A. (2017). Impacto de las especies reactivas del oxígeno sobre la fertilidad masculina.
- 31 Hernández-González, M. and Prieto-Beracoechea, C.A. (2002). Un acercamiento a la Motivación. En. Hernández–González ed. Motivación animal y humana. Manual moderno. 3-17.

- 32 Hernandez-Valencia, M., and Patti, M.-E. (2006). A Thin Phenotype Is Protective for Impaired Glucose Tolerance and Related to Low Birth Weight in Mice. *Arch. Med. Res.* 37, 813–817.
- 33 Holloszy, J.O., and Fontana, L. (2007). Caloric restriction in humans. *Exp. Gerontol.* 42, 709–712.
- 34 Hull, E., Wood, R. I. and McKenna, K. E. (2006). Neurobiology of male sexual behavior. In: Neill J. D., et al., editors. *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction.* 1729–1824.
- 35 Hull, E.M., and Dominguez, J.M. (2007). Sexual behavior in male rodents. *Horm. Behav.* 52, 45–55.
- 36 Hull, E. and Dominguez, J. (2015). Male Sexual Behavior. In: Neill J. D., et al., editors. *Knobil and Neill's Physiology of reproduction.* 2211-2268.
- 37 Karp Gerald (2009). *Biología celular y molecular, conceptos y experimentos.* McGraw- Hill interamericana editors S.A de C.V.
- 38 Jervis, K. (2003). Effects of caloric restriction on gene expression along the epididymis of the Brown Norway rat during aging. *Exp. Gerontol.* 38, 549–560.
- 39 Ketonen, J., Pilvi, T., and Mervaala, E. (2010). Caloric restriction reverses high-fat diet-induced endothelial dysfunction and vascular superoxide production in C57Bl/6 mice. *Heart Vessels* 25, 254–262.
- 40 Hamden, K., Silandre, D., Delalande, C., El Feki, A., and Carreau, S. (2008). Age-related decrease in aromatase and estrogen receptor (ER α and ER β) expression in rat testes: protective effect of low caloric diets. *Asian J. Androl.* 10, 177–187.
- 41 Kidd, S.A., Eskenazi, B., and Wyrobek, A.J. (2001). Effects of male age on semen quality and fertility: a review of the literature. *Fertil. Steril.* 75, 237–248.

- 42 Koubova J. and Guarente L. (2003). How does calorie restriction work? *Genes Dev.* 17,313-321.
- 43 Krasnow S. M y Steiner R. A. (2006) Physiological mechanisms integrating metabolism and reproduction. In Knobil and Neill's *Physiology of Reproduction.* 2553-2625.
- 44 Larsson, K., Sodersten, P., Beyer, C. (1973). Induction of male sexual behaviour by oestradiol benzoate in combination with dihydrotestosterone. *J. Endocrinol.* 57, 563–564.
- 45 López-Otín, C., Blasco, M.A., Partridge, L., Serrano, M., and Kroemer, G. (2013). The Hallmarks of Aging. *Cell* 153, 1194–1217.
- 46 Lucio, R.A., Tlachi-López, J.L. (2008). Análisis de la cópula y el eyaculado en la rata albina (*Rattus norvegicus*). *Manual de Laboratorio.* Góngora Ed. pp. 1-48.
- 47 Lucio, R.A., Tlachi-López, J.L., Eguibar, J.R. Agmo, A. (2013). Sperm count and sperm motility decrease in old rats. *Phys and Beh.* 100-11:73-79.
- 48 Lucio, R.A., Tlachi-López, J.L., Zempoalteca R., Velázquez-Moctezuma, J. (2009). Analysis of the parameters of the ejaculate in the laboratory Wistar rat: technical description. *Vet.* 40:405-415.
- 49 Liu, Q., Lei, Z., Cui, L., Zhang, J., Awais, I., Dai, M., Wang, X., and Yuan, Z. (2017). A two-year dietary carcinogenicity study of cyadox in Sprague-Dawley rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 87, 9–22.
- 50 Luo L, Chen H, Zirkin B.R. (2001). Leydig cell aging: steroidogenic acute regulatory protein (StAR) and cholesterol side-chain cleavage enzyme. *J Androl.* 22,149–56.
- 51 Matsuzawa Y. (2006). Definition and history of metabolic syndrome. *Nihon Rinsho.* 9, 9-12.

- 52 Martin, B., Mattson, M.P., and Maudsley, S. (2006). Caloric restriction and intermittent fasting: Two potential diets for successful brain aging. *Ageing Res. Rev.* 5, 332–353.
- 53 Martin, B., Golden, E., Carlson, O.D., Egan, J.M., Mattson, M.P., and Maudsley, S. (2008). Caloric restriction: Impact upon pituitary function and reproduction. *Ageing Res. Rev.* 7, 209–224.
- 54 Martinezmota, L., Cruzmartinez, J., Marquezbaltazar, S., and Fernandezguasti, A. (2008). Estrogens participate in the antidepressant-like effect of desipramine and fluoxetine in male rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 88, 332–340.
- 55 Mazzoccoli, G., Tevy, M.F., Borghesan, M., Vergini, M.R.D., and Vinciguerra, M. (2014). Caloric restriction and aging stem cells: The stick and the carrot? *Exp. Gerontol.* 50, 137–148.
- 56 McCay, C.M., Crowell, M.F., and Maynard, L.A. (1989). The effect of retarded growth upon the length of life span and upon the ultimate body size. 1935. *Nutr. Burbank Los Angel. Cty. Calif* 5, 155–171; discussion 172.
- 57 Miana Ortega, M. (2012). Cambios en el metabolismo energético cardiaco en ratas con sobrepeso alimentadas con una dieta con alto contenido en grasa. *Clínica E Investig. En Arterioscler.* 24, 264–265.
- 58 Mercken, E.M., Carboneau, B.A., Krzysik-Walker, S.M., and de Cabo, R. (2012). Of mice and men: The benefits of caloric restriction, exercise, and mimetics. *Ageing Res. Rev.* 11, 390–398.
- 59 Mitchell B.D., Hsueh W.C., King T.M., Pollin T.I., Sorkin J, Agarwala R., Schäffer A.A., Shuldiner A.R. (2001). Heritability of life span in the Old Order Amish. *Am J Med Genet.* 102,346-352.

- 60 Miquel J. (2006) Integration of theories of ageing. *Rev, Española de geriatría y Gerontología*. 55-63.
- 61 Molina Rosa Isabel, Martini Ana Carolina, Tissera Andrea, Olmedo José, Senestrari Daniel, Fiol de Cuneo Marta, y Ruiz Rubén Daniel. (2010). Envejecimiento y calidad seminal: un análisis de 9.168 casos en Córdoba, Argentina. *Arch. Esp. Urol*. 63, 214-222.
- 62 Motrich R.D., Ponce A.A., Rivero V.E. (2007). Effect of tamoxifen treatment on the semen quality and fertility of the male rat. *Fertil Steril*. 2, 452-461.
- 63 Martínez Moreno Alma Gabriela, López-Espinoza Antonio, Díaz Reséndiz, Felipe de Jesús. (2009). Consumo de soluciones endulzadas en ratas albinas: sabor vs calorías. *21*, 191-198.
- 64 Morton Gregory J. y Schwartz Michael W. (2011). Leptin and the Central Nervous System Control of Glucose Metabolism. *Physiol Rev* 91, 389–411.
- 65 Nicolosi A, Laumann EO, Glasser DB, Moreira ED Jr, Paik A, Gingell C (2004). Sexual behavior and sexual dysfunctions after age 40: the global study of sexual attitudes and behaviors. *Urology*; 64, 991– 7.
- 66 Niu, S., Chen, J., Duan, F., Song, Q., Qin, M., Wang, Z., and Liu, J. (2014). Possible mechanism underlying the effect of Heshouwuyin, a tonifying kidney herb, on sperm quality in aging rats. *BMC Complement. Altern. Med*. 14.
- 67 OMS (2015). Organización Mundial de la Salud. Evaluation of certain food contaminants. WHO Technical Report. Series 930. World Health Organization, Geneva.
- 68 Pérez Antonio y Miñambres Inka (2012). Insulin aspart for the treatment of hospital hyperglycemia. *Avances en Diabetología*. 28, 32-38.
- 69 Pemberthy López Carolina, Jaramillo-Gómez Nicolás, Velásquez Mejía Camilo Andrés, Cardona-Vélez Jonathan, Contreras-Martínez Heidy, Jaramillo-Restrepo Valentina. (2016). Current concepts of aging and cardiovascular disease. *3*, 210-217.

- 70 Pfaff D. W. and Ågmo, A. (2002). Reproductive motivation. In H. Pashler & R. Gallistel (Eds.), *Steven's Handbook of Experimental Psychology. Learning, Motivation, and Emotion*. 709-736.
- 71 Pfaus J.G., Kippin T.E., Coria-Avila, G. (2003). What can animal models tell us about human sexual response? *Annual Review of Sex Research* 14, 1-63.
- 72 Pugh T.D., Oberley T.D., Weindruch R. (1999). Dietary intervention at middle age: caloric restriction but not dehydroepiandrosterone sulfate increases lifespan and lifetime cancer incidence in mice. *Cancer Res*, 59, 1642-1648.
- 73 Redman, L.M., and Ravussin, E. (2009). Endocrine alterations in response to calorie restriction in humans. *Mol. Cell. Endocrinol.* 299, 129–136.
- 74 Ríos C., Marín M P, Catafau M, Wittwer F. (2006). Concentraciones sanguíneas de β -hidroxibutirato, NEFA, colesterol y urea en cabras lecheras de tres rebaños con sistemas intensivos de producción y su relación con el balance nutricional. *Nutrición rch. Med. Vet.* 38, Nº 1.
- 75 Rivero Mariana A., Padola Nora L., Etcheverría Analía I., Parma Alberto E. (2004). *Escherichia coli* enterohemorrágica y síndrome uremico hemolítico en Argentina. *Medicina*. 64, 352-356.
- 76 Roth G.S., Ingram D.K., Lane M.A. (2001). Caloric restriction in primates and relevance to humans. *Acad Sci.* 928, 305-315.
- 77 Sanchez HL., Silva LB., Portiansky EL., Herenu CB., GoyaRG., Zucolilli GO. (2008). Dopaminergic mesencephalic systems and behavioral performance in very old rats. *Neuroscience* 154, 1598-1606.
- 78 Sengupta P. (2013). The laboratory Rat. Relating its Age with Humans. *Int. J. Prev Med.* 6, 624-630.
- 79 Sharp Z.D. and Richardson A. (2011). Aging and cancer: can mTOR inhibitors kill two birds with one drug *Target Oncol.* 6, 41-51.
- 80 Sinclair D.A. (2005). Toward a theory of caloric restriction and longevity regulation. *Mech Ageing Dev.* 126, 987-1002.

- 81 Smith E.R., Stefanick M.L., Clark J.T., Davidson J.M. (1992). Hormones and sexual behavior in relationship to aging in male rats. *Horm Behav.* 26, 110–35.
- 82 Södersten P. (1973). Estrogen-activated sexual behavior in male rats. *Horm Behav.* 4, 247–256.
- 83 Sitzmann Brandon D., Leone Erin H., Mattison Julie A., Ingram Donald K., Roth George S., Urbanski Henryk F., Zelinski Mary B., Ottinger Mary Ann. (2010). Effects of Moderate Calorie Restriction on Testosterone Production and Semen Characteristics in Young Rhesus Macaques (*Macaca mulatta*). *Biol. of reprod* 83, 635–640.
- 84 Sitzmann Brandon D., Brown Donald I., Garyfallou Vasilios T., Kohama Steven G., Mattison Julie A., Ingram Donald K., Roth George S., Ottinger Mary Ann, Urbanski Henryk F. (2014). Impact of moderate calorie restriction on testicular morphology and endocrine function in adult rhesus macaques (*Macaca mulatta*). *Age.* 36, 183–197.
- 85 Solon-Biet S.M., Mitchell S.J., de Cabo R., Raubenheimer D., Le Couteur D.G., Simpson S.J. (2015). Macronutrients and caloric intake in health and longevity. *J Endocrinol.* 226, 17-28.
- 86 Speakman J.R and Mitchell S.E. (2011). Caloric Restriction. *Molecular Aspects of medicine.*3, 159-221.
- 87 Strehler, B. L. (1962). *Time, cells, and aging*. New York: Academic Press.
- 88 Syntin P and Robaire B. (2001). Sperm structural and motility changes during aging in the Brown Norway rat. *Journal Andrology.* 22, 235-244.
- 89 Tena-Sempere, M., and Barreiro, M.L. (2015). Leptin in male reproduction: the testis paradigm. *Mol. Cell. Endocrinol.* 188, 9–13.
- 90 Valdés Chavarri, M., Pascual Figal, D., Prósper Cardoso, F., Moreno Montañés, J., García Olmos, D., and Barcia Albacar, J.A. (2005). Medicina regenerativa con células madre adultas. *Rev. Clínica Esp.* 205, 556–564.

- 91 Van der Lely A, Tschop M, Heiman M, Ghigo E. (2004). Biological, physiological, pathophysiological, and pharmacological aspects of ghrelin. *Endocr.* 25, 426457.
- 92 Viguera-Villaseñor R.M., Rojas-Castañeda J.C, Chávez-Saldaña M., Gutiérrez-Pérez O, García-Cruz M.E., Cuevas-Alpuche O., Reyes-Romero M.M, Zambrano E. (2011). Alterations in the spermatogenic function generated by obesity in rats. *Acta Histochem.* 113, 214-20.
- 93 Wade George N., Jones Juli E. (2004). Neuroendocrinology of nutritional infertility, *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comp. Phys.* 6, 1277-1296.
- 94 Weindruch R and Walford R.L. (1988). *The Retardation of Aging and Disease by Dietary Restriction* Springfield, IL: Charles C Thomas. 436.
- 95 Weindruch R., Walford R.L., Fligiel S., Guthrie D. (1986). The retardation of aging in mice by dietary restriction: Longevity, cancer, immunity and lifetime energy intake. *J Nutr*, 116, 641-654.
- 96 Wood, R. (1998). Integration of chemosensory and hormonal input in the male Syrian hamster brain. *Annals of the New York Academy of Sciences.* Vol 855, olfaction and taste xii: an international symposium . 362–372.
- 97 Wu D and Gore A.C. (2009). Sexual experience changes sex hormones but not hypothalamic steroid hormone receptor expression in young and middle aged male rats. *Horm Behav.* 56, 299–308.
- 98 Wu D and Gore A.C. (2010). Changes in androgen receptor, Estrogen Receptor Alpha, and Sexual Behavior with Aging and Testosterone in Male Rats. *Horm. Behav.* 58, 306-316.
- 99 Xiang L. and He G. (2011). Caloric Restriction and Antiaging effects. *Ann Nutr Metab.* 58, 42-48.
- 100 Zirkin, B.R., and Chen, H. (2000). Regulation of Leydig Cell Steroidogenic Function During Aging¹. *Biol. Reprod.* 63, 977–981.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00045
Matrícula: 2153803771

EFFECTO DE LA RESTRICCIÓN CALÓRICA SOBRE LA CONDUCTA SEXUAL MASCULINA Y LA CALIDAD ESPERMÁTICA EN LA RATA WISTAR DURANTE EL PROCESO DE ENVEJECIMIENTO.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 11:00 horas del día 19 del mes de octubre del año 2017 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

- DRA. EDITH ARENAS RIOS
- DRA. ROSALINA MARIA DE LOURDES REYES LUNA
- DRA. OFELIA LIMON MORALES
- DRA. MIRNA RUIZ RAMOS

Bajo la Presidencia de la primera y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRO EN BIOLOGIA DE LA REPRODUCCION ANIMAL

DE: PABLO LOPEZ DE JESUS




PABLO LOPEZ DE JESUS
ALUMNO

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

Acto continuo, la presidenta del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

REVISÓ



LIC. JULIO CESAR DE LARA SASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISIÓN DE CBS



DRA. EDITH PONCE ALQUICIRA

PRESIDENTA



DRA. EDITH ARENAS RIOS

VOCAL



DRA. ROSALINA MARIA DE LOURDES REYES LUNA

VOCAL



DRA. OFELIA LIMON MORALES

SECRETARIA



DRA. MIRNA RUIZ RAMOS

