



**BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

**Hipercolesterolemia experimental y sus efectos sobre la
funcionalidad de la membrana de los espermatozoides de
ratón y conejo. Una revisión bibliográfica.**

Tesis para obtener el grado de

Maestra (o) en Ciencias Biológicas

Presenta:

ALBA GABRIELA GONZALEZ MARTINEZ

Directora:

ROSALINA MARÍA DE LOURDES REYES LUNA

Codirector:

DIRECTOR: JESÚS MARTÍNEZ VÁZQUEZ



JULIO 2022

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD Y DE NO PLAGIO

Yo **Alba Gabriela González Martínez** con numero de matrícula 219470568, aspirante al grado de Maestra en Ciencias Biológicas por la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y autora de la tesis titulada **Hipercolesterolemia experimental y sus efectos sobre la funcionalidad de la membrana de los espermatozoides de ratón y conejo. Una revisión bibliográfica.**

DECLARO LO SIGUIENTE:

Que el presente trabajo de investigación, tema de tesis presentada para la obtención del grado de Maestra en Ciencias Biológicas es original, siendo resultado de mi trabajo personal, que no ha sido copiado, que no se han utilizado ideas, formulaciones, citas completas “sensu strictu” e ilustraciones diversas sacadas de cualquier tesis, obra, artículo, memoria, etc. (en versión digital o impresa) sin mencionar de forma clara su origen y autor, tanto en el cuerpo del texto como en las figuras, cuadros, tablas u otros que tengan derechos de autor.

Que el trabajo de investigación que pongo a consideración para evaluación no se ha presentado anteriormente para obtener algún grado académico o título, ni se ha publicado en sitio alguno. En este sentido tengo plena consciencia de que el hecho de no respetar los derechos de autor y el plagiar un trabajo, son objeto de sanciones universitarias. Por lo anterior asumo completamente cualquier responsabilidad (ante la universidad y ante terceros) que pudiera derivarse de alguna irregularidad en este trabajo de tesis, así como en los derechos de este.

H. Puebla de Z. a 28 de junio de 2022



Biol. Alba Gabriela González Martínez



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

H. Puebla de Z. a 21 de junio de 2022.

Asunto: Voto Aprobatorio

**Comité Académico del Posgrado
PRESENTE**

Por medio de la presente se hace constar que se revisó y aprobó la tesis titulada:

"Hipercolesterolemia experimental y sus efectos sobre la funcionalidad de la membrana de los espermatozoides de ratón y conejo. Una revisión bibliográfica"

Que presenta el (la) estudiante **Alba Gabriela González Martínez** con número de matrícula 219470568, aspirante al grado de **Maestro (a) en Ciencias Biológicas**, de la Línea de Generación y Aplicación del Conocimiento: "Estructura y funcionamiento de los seres vivos", notificamos que la tesis reúne los requisitos y se aprueba para su réplica oral en el examen de grado.

Por lo tanto, emitimos los **VOTOS APROBATORIOS** como miembros del **Comité de Jurado de Examen de Grado** como a continuación se indica:

Tutor Interno: Dra. ANGÉLICA TRUJILLO HERNÁNDEZ

Tutor Externo: M. en C. JUAN CARLOS FLORES ALONSO

Revisor: M. en C. UBALDO QUIRÓZ LÓPEZ

Agradecemos de antemano la atención que se sirva prestar a la presente.

RECIBIDO. FCB
H. Puebla de Zaragoza
24 de junio de 2022
posgrado



Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por otorgarme la beca con número 970728 para realizar mis estudios de maestría en el periodo 2019 – 2021.

Agradezco a la Maestría en Ciencias Biológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla por permitirme formar parte de la tercera generación, por el conocimiento y las atenciones brindadas durante mi estancia en la maestría.

Agradezco a mi Directora de tesis, la Dra. Rosalina María de Lourdes Reyes Luna por aceptarme en su laboratorio, por su dedicación y por su apoyo para que esta tesis saliera adelante.

Agradezco a mi co-director de tesis, el Dr. Jesús Martínez Vázquez por ayudarme, por su paciencia y consejos.

A los miembros de mi jurado por su dedicación, tiempo y observaciones.

Agradecimientos

A mis padres Armando González Barbosa y Alba Martínez Rodríguez porque sin su apoyo yo no estaría en esta etapa de mi vida, por siempre motivarme y por su amor incondicional.

A mi hermano Francisco Armando González Martínez por su apoyo y por ser el ejemplo de que trabajando se pueden cumplir las metas que te propones.

A mi amiga Cyndell Alejandra Corona Meléndez que más que una amiga es como la hermana que no tuve, gracias por siempre apoyarme durante este proceso y por darme los mejores momentos durante la carrera.

A mi Amiga Jessy (estrellita) por su gran apoyo, gran amistad y por siempre estar conmigo en los buenos y malos momentos.

A mi novio Carlos Jazael por siempre sacar lo mejor de mí, por apoyarme en todos los momentos difíciles, por enseñarme que cualquier situación difícil tiene una solución y por tu gran amor y cariño que me demuestras todos los días.

Índice

1. Introducción	11
2. Antecedentes	13
2.1 Estructura	13
2.1.1 Síntesis del colesterol.....	14
2.2 Hipercolesterolemia.....	15
2.3 Colesterol y reproducción masculina.....	17
2.4 Capacitación espermática	18
2.4.1 Motilidad espermática en el oviducto	19
2.4.2 Bases moleculares en el proceso de capacitación	20
2.5 Reacción acrosomal.....	22
2.6 Relación del colesterol y capacitación	24
2.7 Colesterol y reacción acrosomal	25
2.8 Hipercolesterolemia y su relación en otros aspectos de la fertilización.....	26
3. Pregunta de investigación	29
4. Justificación	29
5. Objetivos	30
5.1 Objetivo general:.....	30
5.1.1 Objetivos específicos.....	30
6. Metodología	31
6.1 Estrategia de búsqueda.....	31
6.2 Identificación de artículos de acuerdo con las frases de búsqueda.....	33
6.3 Selección de artículos de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión (Fase 1).....	33
6.4 Selección de artículos de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión en base al resumen (Fase 2).....	35
6.5 Análisis de los artículos seleccionados.....	36
7. Resultados	37
7.1 Selección de los artículos en base a la fase II (criterios de inclusión y exclusión de acuerdo con el resumen).....	42
7.2 Análisis de la información	43
7.3 Modelo animal	43

8. Discusión	47
9. Conclusiones.....	56
10. Perspectivas	57
11. Bibliografía	58

Abreviaturas

LDL: lipoproteínas de baja densidad

HDL: lipoproteínas de alta densidad

rQ: quilomicrones

CoA: coenzima A

Ca²⁺: calcio

HCO₃⁻: bicarbonato

PKA1: proteína quinasa A1

Na⁺: sodio

H⁺: hidrogeno

PKA: proteína quinasa

AMPC: monofosfato de adenosina cíclico

TC: colesterol total

TG: triglicéridos

Lxr: receptor X hepático

GM1: gangliósido M1

sAc: adenilil ciclasa soluble

apoB: apolipoproteína B

CETP: proteína de transferencia de éster de colesterol en plasma

apoE: apolipoproteína E

Resumen

En el cuerpo humano, el colesterol es necesaria para producir hormonas sexuales (testosterona, estradiol y progesterona), sales biliares, vitamina D, así como formar parte de las membranas celulares. Se ha visto que estos altos niveles de colesterol provocan infartos de miocardio, hemorragias, trombosis cerebrales, etc., sin embargo, también se ha visto que estos altos niveles se encuentran relacionados con problemas de infertilidad.

Los espermatozoides son células totalmente diferenciadas y su única función es la fecundación del ovulo. Para ello, en estas células, se deben llevar a cabo dos procesos esenciales (capacitación y reacción acrosomal) en el tracto reproductor femenino.

En México la hipercolesterolemia tiene una prevalencia del 43.3% de la población y se ha asociado con el desarrollo de alteraciones en procesos reproductivos masculinos y por lo tanto afectando el éxito de la fecundación. Actualmente los altos niveles de colesterol se han asociado con cambios perjudiciales para los procesos de capacitación espermática y reacción acrosomal, sin embargo, esta molécula puede afectar otros aspectos como: alteraciones morfológicos y celulares.

El presente estudio tuvo como finalidad realizar una revisión bibliográfica sobre los estudios realizados sobre la hipercolesterolemia y su relación con los procesos de capacitación espermática y reacción acrosomal en conejos y ratones los cuales son modelos animales que pueden presentar

hipercolesterolemia en pocos días y por lo tanto son buenos modelos para estos estudios.

Los resultados de este trabajo de revisión indican que existen 8 investigaciones enfocados en la hipercolesterolemia y procesos como capacitación espermática y reacción acrosomal, sin embargo, la mayoría de los artículos encontrados en diferentes plataformas estaban relacionados con la obesidad la cual si bien presenta altos niveles de colesterol no era el enfoque de esta investigación.

De estos estudios relacionados con la hipercolesterolemia los autores coinciden en que la altos niveles de colesterol alteran los procesos de capacitación espermática y reacción acrosomal.

1. Introducción

El colesterol es una molécula indispensable para la vida que se adquiere a través de los alimentos de origen animal. En el cuerpo humano, esta molécula es necesaria para producir hormonas sexuales (testosterona, estradiol y progesterona), sales biliares, vitamina D, así como formar parte de las membranas celulares. La presencia de colesterol en la membrana celular, le confiere las propiedades de fluidez y permeabilidad, características propias de su función (Pasqualini, 2010).

El colesterol es distribuido en el organismo por la sangre, en donde se combina con las proteínas y forman compuestos denominados "lipoproteínas". Las lipoproteínas son moléculas formadas por un ácido graso y proteínas solubles en sangre, de ellas existen dos tipos: las de alta densidad, llamadas HDL y las de baja densidad, llamadas LDL. Las lipoproteínas HDL comúnmente llamadas colesterol "bueno" transportan el colesterol de otras partes del cuerpo al hígado y posteriormente es eliminado a través de diferentes vías mediadas principalmente por el hepatocito, el cual tiene la capacidad de captar colesterol de las lipoproteínas circulantes, y a la vez de excretarlo. Los alimentos que pueden incrementar los niveles de colesterol "bueno" son: frutas, verduras, aceite de oliva, ajo y frutos secos. Las lipoproteínas LDL en ocasiones se les denominan colesterol "malo" porque un nivel arriba de los valores normales de LDL lleva a una acumulación de colesterol en las arterias. Este tipo de colesterol se puede encontrar en alimentos como: dulces, carne, leche, quesos y embutidos (Navarro *et al.*, 2009).

El exceso de colesterol "malo" en sangre puede depositarse en diversos lugares del organismo afectando así la salud del individuo. Se ha visto que estos altos

niveles de colesterol provocan infartos de miocardio, hemorragias, trombosis cerebrales, etc., sin embargo, también se ha visto que estos altos niveles se encuentran relacionados con problemas de infertilidad (Inhor y Patricio 2015).

La infertilidad es una enfermedad del sistema reproductivo y es considerada como un problema de salud pública. La Organización Mundial de la Salud la define como la incapacidad de una pareja para concebir un hijo después de un año de relaciones sexuales regulares sin protección. Se ha reportado que aproximadamente el 15% de las parejas en todo el mundo son infértiles (Agarwal *et al.*, 2015) y entre el 40 y 50% de los casos, la causa de la infertilidad es atribuible, total o parcialmente, al varón (Sharlip *et al.*, 2002).

Una de las causas del incremento de la infertilidad en el mundo es la mala alimentación que trae como consecuencia el aumento de colesterol circulante en el organismo lo cual afecta la fertilidad masculina a través de alteraciones en el sistema endocrino, en la espermatogénesis y en la función y capacidad fecundante de los espermatozoides (El *et al.*, 2011). Se ha demostrado que la función reproductora masculina depende en gran medida del metabolismo del colesterol. Un estudio demostró que los conejos alimentados con una dieta enriquecida en colesterol mostraron: (a) una disminución significativa en la capacidad de los espermatozoides para sufrir la reacción acrosomal y (b) un aumento significativo en la concentración de complejos filipina-esterol en la membrana plasmática de la región acrosómica, solo en los espermatozoides de la cola del epidídimo (Diaz-Fontdevila *et al.*, 1998). Estos dos informes han demostrado que una sobrecarga de colesterol en la dieta provoca la alteración de los dominios lipídicos acrosomales cuando los espermatozoides experimentan su maduración en el epidídimo (Diaz- Fontdevila *et al.*, 1993). El

papel principal del colesterol en la función endocrina es la de ser precursor de los esteroides. De hecho, el colesterol es el precursor de la síntesis de testosterona, que es crucial para la producción de espermatozoides (Parton y Hancock, 2004).

En mamíferos, los espermatozoides son células totalmente diferenciadas y su única función es la fecundación del ovulo. Para ello, en estas células, se deben llevar a cabo dos procesos esenciales (capacitación y reacción acrosomal) en el tracto reproductor femenino (Patrat *et al.*, 2000).

En México la hipercolesterolemia tiene una prevalencia del 43.3% de la población y se ha asociado con el desarrollo de alteraciones en procesos reproductivos masculinos y por lo tanto afectando el éxito de la fecundación (ENSA., 2020).

2. Antecedentes

2.1 Estructura

El colesterol es una molécula lipídica que pertenece al grupo de los esteroides y se puede encontrar en la membrana de las células animales y en las de los seres humanos, aunque todo organismo viviente contiene esteroides de diferente tipo (entre ellos el colesterol). El colesterol es un lípido de alto peso molecular y tiene como estructura base al ciclopentanoperhidrofenantreno, una molécula tetracíclica de 17 carbonos. A partir de esta molécula base se adicionan un grupo polar hidroxilo y 10 átomos de carbono, para dar una molécula de 27 átomos de carbono con un grupo polar hidroxilo en su átomo de carbono número 3 (Hu *et al.*, 2010) (Fig. 1). Por su carácter hidrofóbico, en sangre es transportado en forma de lipoproteínas y, a nivel celular se puede encontrar formando parte de las membranas o en el citoplasma en forma de “gotitas

grasas”, en donde previamente ha sido esterificado con un ácido graso, ya que el exceso de colesterol libre es tóxico para las células (Li y Chiang, 2007).

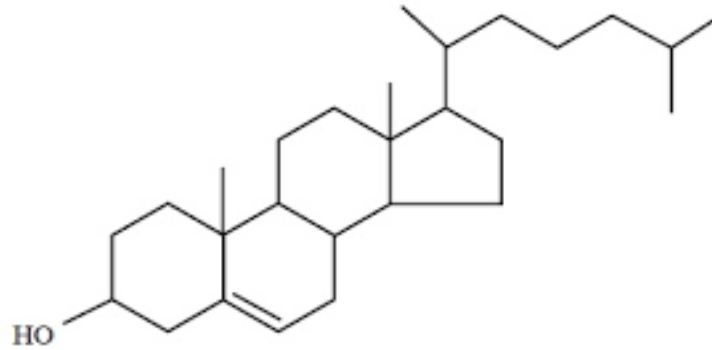


Figura 1. Estructura química del Colesterol (ciclopentanoperhidrofenantreno).

2.1.1 Síntesis del colesterol

El hígado tiene un papel importante en la regulación del metabolismo del colesterol en los humanos. Es capaz de absorberlo, sintetizarlo y secretarlo en forma de esteróles, además de facilitar su recirculación entre el plasma sanguíneo y los compartimentos enterohepáticos. Los hepatocitos captan los remanentes de quilomicrones (rQ), que son productos del metabolismo de los lípidos de la dieta y el punto de partida de la vía centrífuga de los lípidos endógenos (del hígado a tejidos periféricos), además de participar activamente en el metabolismo centrípeto del colesterol (de tejidos periféricos a hígado), al recibir en esta última vía colesterol esterificado para su eliminación (Jones y Glomset, 2015).

Habitualmente se considera que el hígado es el órgano más importante en el mantenimiento de los niveles circulantes de colesterol y parece ser responsable

sólo del 10% de su síntesis *de novo*, el 85% restante está a cargo de tejidos extrahepáticos (intestino, tejido adiposo, corteza adrenal, musculo etc.) (Dietschy, 1997).

Las dos principales fuentes del colesterol celular se derivan de la síntesis *de novo* y la captación de lipoproteínas plasmáticas. El colesterol se sintetiza a partir de acetil CoA a través de una serie de más de 30 reacciones enzimáticas, las cuales pueden ser resumidas en tres etapas, la primera consiste en la síntesis de pirofosfato de isopentenilo, que es la unidad de construcción fundamental de colesterol; seguida de la condensación de seis moléculas de pirofosfato de isopentenilo para formar escualeno, y finalmente, el escualeno se cicla para formar lanosterol, que después de una serie de reacciones se convierte en colesterol (Ikonen, 2013). La segunda fuente de colesterol celular se presenta a través de la captación de colesterol asociado a las lipoproteínas de baja densidad (LDL) mediante el receptor de las LDL (LDLR) y de colesterol en forma de lipoproteínas de alta densidad (HDL-C), además, de remanentes de quilomicrones por receptores específicos (Berg *et al.*, 2016).

2.2 Hipercolesterolemia

La hipercolesterolemia se produce cuando la presencia de colesterol en sangre está por encima de los niveles considerados normales. El nivel de colesterol en la sangre está determinado por factores genéticos y ambientales que incluyen: la edad, el sexo, el peso corporal, la dieta, el consumo de alcohol y tabaco, el ejercicio físico, los antecedentes familiares, los fármacos y también la presencia de diferentes situaciones patológicas (Mata *et al.*, 2015).

Se pueden distinguir dos tipos de hipercolesterolemia:

- Primarias: las que no se asocian a ninguna enfermedad y se deben a causas genéticas.
- Secundarias: aquellas en las que el incremento de colesterol se asocia a diferentes enfermedades.

Las hipercolesterolemias primarias se deben a alteraciones genéticas que afectan a uno o varios genes (poligénicas) de los sistemas transportadores del colesterol o de las proteínas que actúan en el metabolismo de éste. En las poligénicas, además de factores genéticos participan elementos ambientales relacionados especialmente con la ingesta de una alimentación inadecuada, rica en alimentos con alto contenido en colesterol (Vallejo *et al.*, 2015).

Otro tipo de hipercolesterolemia primaria es la Hipercolesterolemia familiar es hereditaria, del tipo autosómica dominante, lo que implica que basta que uno de los progenitores transmita el gen defectuoso, por lo que los hijos tienen un 50% de posibilidades de tener el colesterol elevado.

Las hipercolesterolemias secundarias se pueden asociar a enfermedades:

- Hepáticas: hepatitis y cirrosis.
- Endocrinas: diabetes, hipotiroidismo y anorexia nerviosa.
- Renales: síndrome nefrótico e insuficiencia renal crónica

Además, existen algunas sustancias cuyo consumo se asocia a la hipercolesterolemia, como los esteroides anabolizantes y el consumo excesivo de alcohol (Weighman *et al.*, 2016).

2.3 Colesterol y reproducción masculina

Los altos niveles de colesterol en la circulación sanguínea (hipercolesterolemia) están negativamente relacionados con la salud de los organismos (Kannel *et al.*, 1979). La hipercolesterolemia representa un factor de alto riesgo para enfermedades frecuentes y también se ha asociado con una mala calidad del semen lo que puede conducir a la infertilidad masculina (Pasquiali y Gambineri, 2006).

La bicapa lipídica de la membrana de los espermatozoides de mamíferos está formada principalmente por fosfolípidos y colesterol en una proporción molar de 1:5. El colesterol también es abundante en otras fracciones del semen como en el plasma seminal en forma de gotitas. La membrana de los espermatozoides sufre varias modificaciones desde los testículos, donde se forman, hasta el tracto femenino donde fecunda al ovocito (Castellini *et al.*, 2008). Los lípidos de la membrana, especialmente el colesterol, son responsables de los cambios en la fluidez de la membrana y la respuesta celular al medio ambiente, así como provocar alteraciones en el volumen celular, concentración espermática y morfología, procesos que pueden afectar a los espermatozoides y por ende su capacidad fertilizante (Nguyen *et al.*, 2008).

En el entorno experimental, los animales machos alimentados con una dieta alta en grasas se asociaron con cambios perjudiciales en el semen y en especial en los espermatozoides. Las alteraciones reportadas incluyen una disminución del volumen de semen y del número de espermatozoides asociados con un aumento de anomalías en la morfología de los espermatozoides de los modelos de conejo y ratón. Además, las dietas enriquecidas con grasas de origen animal también provocaron cambios en la concentración y distribución

del colesterol en la membrana plasmática de los espermatozoides que condujeron a la alteración de las funciones de éstas células como: motilidad espermática, resistencia osmótica de la membrana al choque hipoosmótico, capacitación de los espermatozoides y reacción acrosómica inducida (RA), las cuales se redujeron significativamente; probablemente debido a un aumento de colesterol en la membrana plasmática de los espermatozoides (Nicole *et al.*,2012; Saez *et al.*,2010).

2.4 Capacitación espermática

El espermatozoide adquiere la capacidad de mover el flagelo en su tránsito por el epidídimo, pero la hiperactivación del movimiento empieza después de la eyaculación, en el tracto genital femenino. Este proceso es conocido como la capacitación del espermatozoide. En condiciones *in vivo* tanto el tracto reproductivo del macho como de la hembra influyen en este proceso. Por otro lado, la capacitación espermática de manera *in vitro* requiere un periodo de tiempo el cual puede oscilar entre 1-7 horas dependiendo de la especie (Ho y Suarez., 2001).

Nombre común	Tiempo requerido para la capacitación (horas)
Ratón (Austin, 1952), Gato (Hamner et al., 1970) Carnero (Davis, 1981)	1-2
Toro (Parrish et al., 1988) Hámster dorado (Austin y Bishop, 1958a) Rata (Bedford, 1970)	2-4
Conejo (Austin, 1985) Cerdo (Hunter y Hall, 1974a; b) Caballo (Odeh et al., 2003)	5-6
Hombre (Davis, 1981)	6-7

Tabla 1. Intervalos de tiempo requeridos para que se produzca la capacitación *in vitro* en algunas especies de mamíferos (tomado de Avilés-López., 2011).

2.4.1 Motilidad espermática en el oviducto

Una vez que los espermatozoides se encuentren en la porción caudal del istmo, la población de células motiles se encuentran con una secreción viscosa glicoprotéica que modifica la superficie del espermatozoide. La motilidad progresiva disminuye en el medio viscoso facilitando la adherencia de los espermatozoides al epitelio (Rodríguez-Martínez *et al.*, 2001).

Estudios experimentales en animales domésticos como la cabra, vaca, cerdo y conejo han demostrado que en el periodo preovulatorio los espermatozoides que se encuentran en la porción caudal del istmo son incapaces de moverse y permanecen unidos y retenidos hasta cerca de la ovulación lo que se conoce como reservorio espermático (Figura 2). Sin embargo, antes de la ovulación, un número restringido de espermatozoides en el reservorio comienza a reactivarse mediante la pérdida de los factores decapacitantes como mucopolisacáridos y proteínas que habían aportado las glándulas accesorias (vesículas seminales, próstata y glándulas de Cowper) durante la eyaculación; éste es el comienzo del proceso de capacitación, nombre que indica el potencial que adquiere el espermatozoide para hiperactivarse, alcanzar al ovocito y llevar a cabo la reacción acrosomal (Gadella *et al.*, 2008).

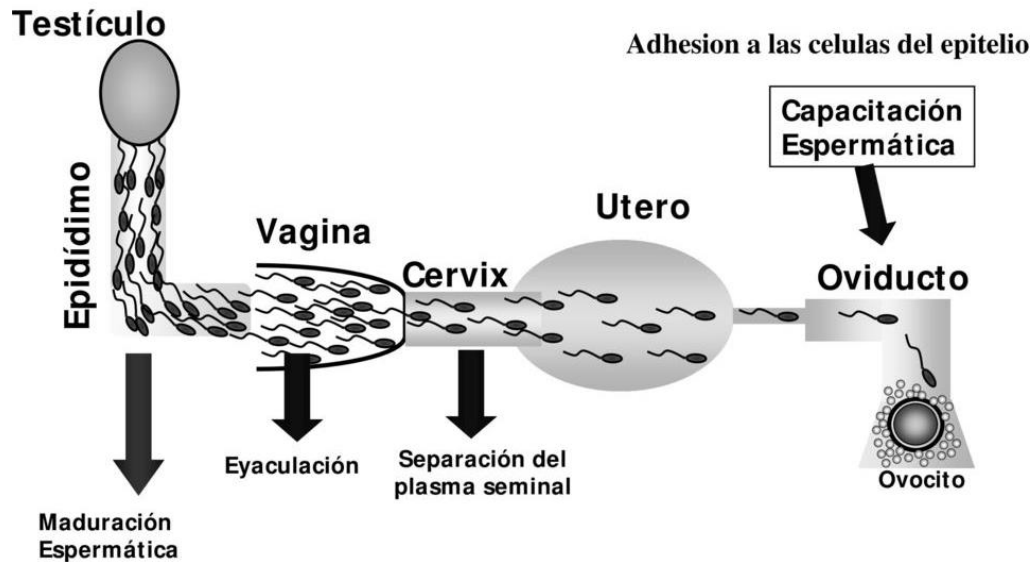


Figura 2. Proceso de capacitación espermática en el tracto reproductor femenino. Tomado de Smith (2013).

2.4.2 Bases moleculares en el proceso de capacitación

El espermatozoide, en la cola del epidídimo y a su paso por el conducto deferente sufre cambios en los dominios de los esteroides de membrana, en la región de la cabeza y en la cola, confiriendo una distribución heterogénea de los mismos a lo largo de toda la membrana plasmática. Estos dominios llamados complejos de esteroles-caveolina, sirven como andamio en la membrana para acoplar proteínas que inducirán diferentes rutas de señalización. En la cabeza hay dos subdominios de membrana plasmática, la acrosomal y la subacrosomal. La membrana acrosomal se caracteriza por presentar islas de composición ordenada de colesterol y esfingolípidos anclados a las proteínas caveolinas. La segunda, o región subacrosomal, es rica en fosfolípidos. Las islas juegan un papel importante en la compartimentalización de las vías de señalización en regiones específicas de la célula; son diseños prefabricados durante la espermatocitogénesis ya que, el espermatozoide, una vez en el lumen testicular, no puede transcribir ni traducir en el núcleo (Sakkas *et al.*, 2003). La

capacitación, se caracteriza por la salida de colesterol de la membrana y el ingreso de Ca^{2+} y HCO_3^- al citosol. El fluido oviductal es rico en albúminas y HDL, capaces de retirar el colesterol de la membrana del espermatozoide, lo que la hace más fluida al producirse la ruptura de la unión de las caveolinas con las proteínas de fusión; estas últimas al quedar libres forman complejos de señalización para la fusión de las membranas plasmática y acrosomal externa y el aumento de la fluidez también permite que proteínas integrales puedan interactuar con las proteínas ancladas a membrana. La pérdida de colesterol favorece además la translocación de algunas proteínas a la zona ecuatorial, donde son necesarias para que el espermatozoide posteriormente pueda adherirse al ovulo (sitios de reconocimiento). La salida de colesterol durante la capacitación también induce la activación de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje y de los canales de HCO_3^- . El ingreso de este último al citosol activa la adenililciclase dependiente de HCO_3^- (ACs) que aumenta las concentraciones de AMP cíclico, activando, a su vez, la proteína quinasa A1 (PKA1); esta última fosforila algunas proteínas en los residuos de serina y desencadena la fosforilación de las tirosinas de proteínas citosólicas. La PKA1 también activaría en la membrana acrosomal externa un canal de Ca^{2+} , con el consecuente aumento de las concentraciones citosólicas de este catión, las cuales

gradualmente activan la fosfolipasa C γ acoplada al receptor del factor de crecimiento epidermal (Baker *et al.*, 2003) (Figura. 3).

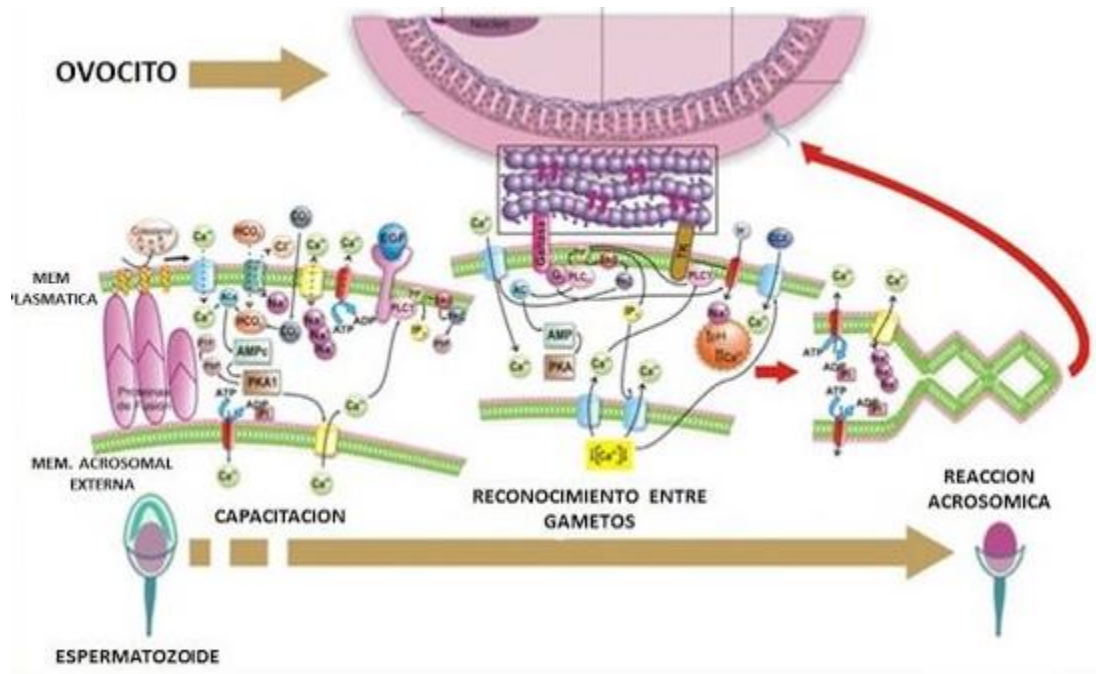


Figura 3. Moléculas involucradas en el proceso de capacitación, reconocimientos entre gametos y reacción acrosomal. Tomado de Olivera *et al.*, (2006).

2.5 Reacción acrosomal

El proceso de reacción acrosomal implica la existencia de moléculas para el reconocimiento entre los gametos masculino y femenino y generar la repuesta fisiológica adecuada. Durante este proceso la membrana plasmática apical de la cabeza del espermatozoide comienza a fusionarse con la membrana

subyacente acrosomal externa, resultando así en la dispersión del contenido acrosomal (Figura 4) (Ren, 2010).

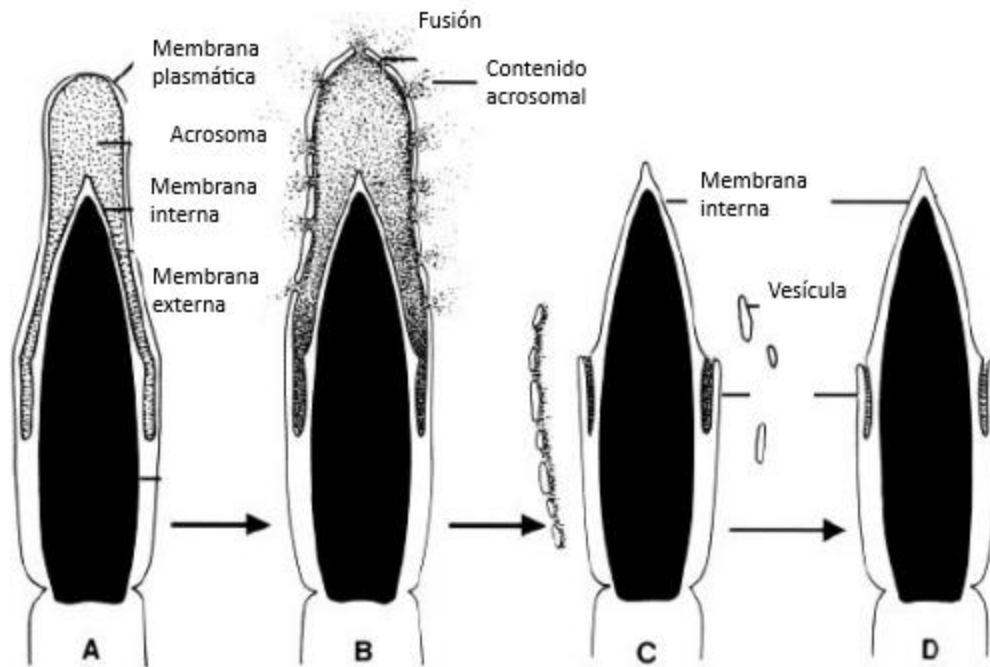


Figura 4. Cambios morfológicos que tienen lugar durante la reacción acrosómica en los espermatozoides de mamíferos. A) acrosoma intacto; B) Fusión entre la membrana acrosomal externa y la membrana plasmática; C) y D) Formación de vesículas compuestas de la membrana plasmática y la membrana acrosomal externa (tomado y modificado de Yanagimachi, 1994).

Morfológicamente, el acrosoma es parecido a un capuchón con un gran contenido de enzimas hidrolíticas, se deriva del aparato de Golgi durante la espermiogénesis y por su origen, estructura y función celular, es comparable a un lisosoma, pero a diferencia de éste, presenta exocitosis regulada por el metabolismo de fosfoinosítidos, interacción de nucleótidos endógenos y exógenos, Ca^{2+} , calmodulina, microtúbulos y microfilamentos (Sutovski *et al.*, 2008).

La entrada de Ca^{2+} provoca la desactivación de las ATPasas, además de un aumento del Na^+ intracelular con una salida de H^+ y, en consecuencia, un aumento del pH intraacrosomal, lo que induce la activación de enzimas como la acrosina, que presenta actividad proteolítica. Además, se ha observado como el aumento de Ca^{2+} intracelular, también conduce a una serie de modificaciones en los lípidos como la formación de segundos mensajeros, que se incorporan a una cascada de acontecimientos que ocurre durante la reacción acrosómica y la activación de determinadas enzimas como una fosfolipasa A_2 , que genera lisofosfatidilcolina y ácido araquidónico, sustancias conocidas por sus propiedades de fusión necesarias en la reacción acrosomal (Ho y Suarez, 2001).

2.6 Relación del colesterol y capacitación

El proceso de capacitación lleva implícito una serie de cambios que se producen tanto de forma secuencial como paralela. Algunos cambios son rápidos (activación de la motilidad espermática) y tienen lugar en el momento en el que el espermatozoide es eyaculado. Otros cambios necesitan de un periodo de tiempo más largo (incremento en la fosforilación de la tirosina, hiperactivación de la motilidad espermática y preparación para la reacción acrosomal) y se desarrollan en el tracto genital femenino. Todos estos procesos se encuentran regulados por la proteína Kinasa A (PKA) (Lishko *et al.*, 2012). Además, el colesterol de la membrana plasmática de los espermatozoides es transferido a proteínas de alto peso molecular como la albumina y lipoproteínas de alta densidad presentes en el fluido oviductal. El flujo de colesterol en la membrana plasmática está asociado con la activación de vías y señales de transducción de membrana, fenómeno relacionado con la capacitación. En el ratón, las ciclodextrinas B promueven el flujo de colesterol dando como resultado un

incremento de la capacitación espermática y en la fosforilación de la tirosina a través de la vía de señalización AMPc/PKA (Travis y Kopf, 2002).

Los lípidos de la membrana de los espermatozoides son muy sensibles a la manipulación de la dieta, se ha reportado que a los conejos alimentados experimentalmente con dietas enriquecidas con grasas saturadas elevan sus niveles plasmáticos de colesterol y esto tendría un impacto en el equilibrio entre el colesterol y los fosfolípidos que organizan la membrana plasmática (Castellini *et al.*, 2008). Diaz-Fondetvilla *et al.*, en 1993 demostraron que los conejos alimentados con una dieta rica en colesterol presentaban un aumento en la distribución de complejos de esterol-filipina en la membrana plasmática de la región acrosomal de los espermatozoides, así como una disminución de esfingomielina en comparación con conejos normales.

Otro estudio ha demostrado que en conejos y hámsteres la capacitación de los espermatozoides en condiciones *in vitro* puede mantenerse en un estado no capacitado si se colocan en una suspensión saturada de colesterol. La capacitación en este entorno solo ocurrirá después de que los espermatozoides se transfieran a un entorno que contenga albúmina o una molécula similar que pueda actuar como aceptor de colesterol (Él *et al.*, 2001).

2.7 Colesterol y reacción acrosomal

La reacción acrosomal es un proceso especializado que consiste en la fusión de la membrana citoplasmática con la membrana acrosomal externa en la zona apical de la cabeza espermática originando la liberación de las enzimas almacenadas en el acrosoma y la exposición de la membrana acrosomal interna.

La importancia de la reacción acrosomal radica en la liberación de las enzimas hidrolíticas que son requeridas para que el espermatozoide pueda penetrar la zona pelúcida; este proceso se desencadena luego que el espermatozoide entra en contacto con una serie de moléculas presentes en la zona pelúcida, lo cual permite el reconocimiento específico entre el espermatozoide y el ovocito (Paatrat *et al.*, 2000).

El momento en el que un espermatozoide inicia con el proceso de reacción acrosomal, depende en gran parte del estado de la membrana celular y, en particular, de la cantidad de colesterol contenido en la membrana plasmática. Durante la capacitación, el colesterol se pierde de la membrana plasmática de los espermatozoides, y cuando se elimina suficiente colesterol, la membrana se vuelve inestable, lo que aumenta su capacidad para fusionarse con la membrana acrosómica externa, lo que da como resultado la reacción del acrosomal (Khorasani *et al.*, 2000).

Otro estudio mostro que cuando se añadió colesterol al medio de incubación en el que se encontraban los espermatozoides en varias especies (conejo, rata y ratón) no sufrieron la reacción del acrosoma, cuando se trataron con progesterona para inducirla. Por lo tanto, el colesterol agregado de manera experimental afecta la capacitación y reacción acrosomal (Khorasani *et al.*, 2000).

2.8 Hipercolesterolemia y su relación en otros aspectos de la fertilización

En cuanto a otras alteraciones con respecto a las concentraciones normales de colesterol y la fertilidad espermática, Biswas *et al.*, (2017) mencionan que los altos niveles en ratas Wistar mostraron aumentos significativos en el índice de obesidad y los niveles de TC (colesterol total), TG (triglicéridos) y LDL

(lipoproteínas de baja densidad). El peso de los órganos reproductivos y el recuento de espermatozoides en el epidídimo disminuyeron significativamente. Además, la presencia de anomalías morfológicas en los espermatozoides aumentó en animales alimentados con una dieta rica en colesterol, en donde se observaron diferentes tipos de anomalías en la cabeza de los espermatozoides de rata. Entre ellas, presentaban doble cabeza; espermatozoides sin cabeza, sin ganchos, amorfos, con microcefalia y macrocefalia. La hipercolesterolemia también provocó deformidad del flagelo del espermatozoide. Las anomalías observadas fueron: doble cola, cola doblada, rota y sin cabeza, lo cual demuestra una reducción potencial de la capacidad fertilizante de los espermatozoides.

Batanieh *et al.*, (2005) realizaron una investigación en donde alimentaron a ratas albinas con una dieta rica en colesterol. El tratamiento provocó una reducción en la motilidad y densidad de los espermatozoides en la cola del epidídimo y los testículos. También se observó una reducción en el tamaño de las células epiteliales, reducción del diámetro de los túbulos seminíferos y del diámetro de las células de Leydig, reducción del número de hembras preñadas por los machos que ingirieron una dieta rica en colesterol y reducción del número de implantaciones y del número de fetos viables en ratas hembra preñadas por machos hipercolesterolémicos. La administración intragástrica de colesterol a ratas macho durante 60 días redujo significativamente el número de hembras preñadas por estos machos. Sin embargo, el número de implantes y el número de fetos viables disminuyó en las ratas hembra preñadas por machos que ingirieron altas concentraciones de colesterol en su dieta lo

cual demuestra que existe una relación negativa entre estos dos aspectos (colesterol y fertilidad).

Gupta y Dixit (1988) mostraron que existe una relación negativa entre el colesterol y la fertilidad de ratas y conejos macho encontrando un aumento en la concentración de TC, TG y fosfolípidos en los testículos, así como una reducción en espermatozoides, células espermáticas, túbulos seminíferos y células de Leydig.

Zhu *et al.*, (2010) demostraron que los conejos con un alto nivel de colesterol en sangre tuvieron un aumento en los niveles de TC (colesterol total), TG (triglicéridos) y LDL-C (lipoproteínas de baja densidad), así como los niveles de T, LH y FSH los cuales disminuyeron drásticamente. En comparación con el grupo control, la longitud del pene fue corta y el tamaño testicular disminuyó en el grupo de prueba lo cual indica que la ingesta de una gran cantidad de alimentos ricos en grasas induciría hiperlipidemia dietética, provocaría un trastorno funcional del eje hipotálamo-pituitario-gonadal e induciría daño en la función de la espermatogénesis.

Wang *et al.*, (2007) mostraron que las ratas alimentadas con una dieta alta en colesterol provocaron la disminución del testículo, así como un aumento en los niveles de TG y TC, el nivel de testosterona disminuyó, así como la concentración de estradiol al final de la 3ª, 4ª y 5ª semana de alimentación. El examen microscópico mostró que las células epiteliales espermatozoides estaban dispuestas en desorden, las capas de células espermatozoides se redujeron y el número de espermatozoides maduros se redujo.

3. Pregunta de investigación

¿La hipercolesterolemia inducida experimentalmente afecta la funcionalidad de la membrana plasmática de los espermatozoides de ratón y conejo y por ende la capacitación y reacción acrosomal durante el proceso de la fertilización?

4. Justificación

A nivel mundial, existe un gran problema en cuanto al consumo de alimentos ricos en grasa. En el organismo, esta grasa es fundamental para el correcto funcionamiento del organismo, pero el exceso de colesterol tiene un efecto negativo en la salud principalmente la cardiovascular siendo la más estudiada debido a la gran incidencia y prevalencia de este tipo de enfermedades, sin embargo, existen otras áreas menos exploradas como la reproductiva.

El cuerpo utiliza el colesterol para producir hormonas sexuales, así como para llevar a cabo procesos importantes como la fecundación. Un aumento o disminución drásticos de los niveles normales de colesterol producen cambios notables en estos procesos y pueden interferir en las funciones reproductivas y, por lo tanto, en la obtención de un embarazo. Por lo anterior, en el presente trabajo se realizó una investigación bibliográfica sobre los avances científicos enfocados en la hipercolesterolemia y su relación negativa en los procesos de capacitación espermática y reacción acrosomal en ratón y conejo, los cuales son modelos animales utilizados debido a su alto rendimiento reproductivo y por tener una tendencia a sufrir hipercolesterolemia a los pocos días.

5. Objetivos

5.1 Objetivo general:

Describir mediante una revisión sistemática los estudios reportados científicamente en la literatura sobre el efecto de la hipercolesterolemia en los eventos de capacitación espermática y reacción acrosomal en ratón y conejo.

5.1.1 Objetivos específicos

Identificar en la base de datos PubMed, Science Direct y Web of Science los artículos científicos relacionados con la hipercolesterolemia, la capacitación espermática y reacción acrosomal en ratón y conejo.

Elaborar una base de datos con la información relevante de los artículos científicos encontrados.

Seleccionar los artículos de la base de datos, que cumplan con los criterios de inclusión y que las frases de búsqueda estén presentes en el título y en el resumen.

Distinguir los artículos publicados en el modelo de ratón y las estrategias experimentales utilizadas para inducir la hipercolesterolemia y su relación con la capacitación espermática y reacción acrosomal.

Clasificar las estrategias experimentales utilizadas para inducir la hipercolesterolemia en los artículos con el modelo de conejo y su relación con la capacitación espermática y reacción acrosomal.

Evaluar los resultados de los artículos relacionados con la capacitación espermática y la reacción acrosomal.

Analizar las perspectivas de esta revisión con relación a la infertilidad.

6. Metodología

6.1 Estrategia de búsqueda

Se realizó una búsqueda bibliográfica en tres bases de datos:

PubMed es un proyecto desarrollado por el National Center for Biotechnology information (NCBI) de la National Library of Medicine (NLM), posee una de las mayores citas de literatura biomédica de MEDLINE sobrepasando los 30 millones. Además, cuenta con revistas del área de ciencias de la vida; así como textos digitales (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Science Direct es un sitio web, el cual forma parte de SciVerse y es proporcionado por la editorial médica y científica Elsevier. Refiere a más de 2,500 revistas y 11,000 libros; ofreciendo un promedio de 9,5 millones de artículos; así como capítulos de libros (<https://www.sciencedirect.com>).

Web of Science es una plataforma de la empresa Clarivate Analytics formada por una amplia colección de bases de datos bibliográficas, citas y referencias de publicaciones científicas de cualquier disciplina del conocimiento. Proporciona información bibliográfica, permite evaluar, analizar el rendimiento y la calidad científica de la investigación (<https://www-webofscience-com.proxydgb.buap.mx/wos/woscc/basic-search>).

Para establecer los criterios de búsqueda se establecieron palabras clave las cuales fueron: Hypercholesterolemia, high colesterol, cholesterol-enriched diet, dyslipidemia, infertility, sperm capacitation, acrosome reaction, sperm function, y fertilizing ability sperm.

Para poder realizar la búsqueda de artículos en las diferentes plataformas se formaron frases de búsqueda.

Frases de búsqueda
Hypercholesterolemia and infertility
Hypercholesterolemia and sperm capacitation
Hypercholesterolemia and acrosome reaction
Hypercholesterolemia and sperm function
Hypercholesterolemia and fertilizing ability sperm
High cholesterol and infertility
High cholesterol and sperm capacitation
High cholesterol and acrosome reaction
High cholesterol and sperm function
High cholesterol and fertilizing ability sperm
Cholesterol- enriched diet and infertility
Cholesterol- enriched diet and sperm capacitation
Cholesterol- enriched diet and acrosome reaction
Cholesterol- enriched diet and sperm function
Cholesterol- enriched diet and fertilizin ability sperm
Dyslipidemia and infertility
Dyslipidemia and sperm capacitation
Dyslipidemia and acrosome reaction
Dyslipidemia and sperm function
Dyslipidemia and fertilizin ability sperm

6.2 Identificación de artículos de acuerdo con las frases de búsqueda

La elección de los artículos encontrados en las diferentes plataformas se realizó mediante la relación con las frases de búsqueda. Posteriormente se realizó una base de datos de los artículos relacionados enfocándose en:

- Título
- Autor(es)
- Año de publicación
- Revista
- Resumen

6.3 Selección de artículos de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión (Fase 1)

Para la selección de artículos se utilizaron los siguientes criterios de inclusión y exclusión.

CRITERIOS DE CALIDAD

CRITERIOS DE CALIDAD	
CRITERIOS DE INCLUSIÓN	<ul style="list-style-type: none">• Modelo de experimentación: animal• Que cualquiera de las frases de búsqueda se encuentre en: título o resumen• Artículo de investigación• Disponibilidad del texto: resumen• Idioma: ingles

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Temporalidad: 2010-2022
- Artículos sin palabras clave en título o resumen
- Tesis, libros, review, metaanálisis
- Artículos con otras especies

Es importante mencionar que cada plataforma cuenta con diferentes filtros los cuales se pueden aplicar en la búsqueda. A continuación, se muestran los filtros utilizados de cada plataforma (tabla 2)

Pubmed	Que cualquier palabras clave este en título o resumen Temporalidad: 2010-2022 Disponibilidad: resumen Especies: Otros animales Idioma: ingles
Science Direct	Que cualquier palabras clave este en título o resumen Temporalidad: 2010-2022
Web of Science	Temporalidad: 2010-2022 Idioma: ingles

Tabla 2. Filtros que comparten las plataformas: Pubmed, Science Direct, Web of Science

Sin embargo, Pubmed, Science Direct y Web of Science no cuentan con los mismos filtros directamente en la plataforma se tuvo que aplicar de manera manual los demás filtros para así completar los criterios de búsqueda y así todas las plataformas cumplieran con los datos de inclusión y exclusión. A continuación, muestro los filtros aplicados de manera manual (Fase 1):

- Palabras clave en título o resumen (Web of Science)
- Disponibilidad de texto (Web of Science y Science Direct)
- Modelo animal (Web of Science y Science Direct)
- Idioma (Science Direct)
- Disponibilidad del texto (web of Science y Science Direct)
- Artículo de investigación (Web of Science y PubMed)

Un punto que resaltar es que en caso de que algún artículo se encontrara en las tres plataformas solo se tomaría uno para evitar un conteo repetido.

6.4 Selección de artículos de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión en base al resumen (Fase 2)

Una vez obtenidos los artículos de la primera fase, basándonos en los criterios de inclusión y exclusión correspondientes de esa fase, se revisó el resumen en base a criterios de inclusión y exclusión de la fase 2 para determinar cuáles serían los artículos aceptados.

Criterios de inclusión	Palabras clave: Resumen Modelo experimental: conejo o ratón indicado en el resumen Sexo del modelo experimental: macho Modelo de hipercolesterolemia Tipo de artículo: experimental
Criterios de exclusión	Que las palabras clave NO se encuentren en el resumen Modelo experimental hembra o que no sea conejo o ratón

Posteriormente se realizó una base de datos con los artículos que cumplieron con los datos de inclusión. La base de datos contenía lo siguiente:

- Título del artículo
- Autores
- Año de publicación
- Revista
- Resumen
- Modelo experimental
- Modelo de hipercolesterolemia
- Tipo de artículo

6.5 Análisis de los artículos seleccionados

Cada artículo aceptado procedente del último filtro fue analizado tomando en cuenta los siguientes aspectos:

1) Problema de investigación

2) Experimento realizado

3) Resultados obtenidos

7. Resultados

En la tabla 3 se muestra el número de artículos encontrados en la plataforma Pubmed de acuerdo con las frases de búsqueda y la primera fase, así como el total de artículos seleccionados después de aplicar la segunda fase.

Plataforma Pubmed	Primer fase	Segunda fase
Hypercholesterolemia and infertility	14	3
Hypercholesterolemia and sperm capacitation	1	1
Hypercholesterolemia and acrosome reaction	1	1
Hypercholesterolemia and sperm function	5	0
Hypercholesterolemia and fertilizing ability	1	0
High cholesterol and infertility	23	0
High cholesterol and sperm capacitation	4	0
High cholesterol and acrosome reaction	6	0
High cholesterol and sperm function	0	0
High cholesterol and fertilizing ability sperm	0	0
Cholesterol- enriched diet and infertility	1	0

Cholesterol- enriched diet and sperm capacitation	0	0
Cholesterol- enriched diet and acrosome reaction	0	0
Cholesterol- enriched diet and sperm function	0	0
Cholesterol- enriched diet and fertilizing ability sperm	0	0
Dyslipidemia and infertility	0	0
Dyslipidemia and sperm capacitation	0	0
Dyslipidemia and acrosome reaction	0	0
Dyslipidemia and sperm function	0	0
Dyslipidemia and fertilizing ability sperm	0	0
Total	57	5

Tabla 3. Numero de artículos encontrados en la Plataforma Pubmed de acuerdo con la fase I y fase II.

La tabla 4 muestra el número de artículos encontrados en la plataforma Science de acuerdo con las frases de búsqueda y la primera fase, así como el total de artículos seleccionados después de aplicar la segunda fase.

Plataforma Science	Primera fase	Segunda fase
Hypercholesterolemia and infertility	17	2
Hypercholesterolemia and sperm capacitation	2	0
Hypercholesterolemia and acrosome reaction	1	0

Hypercholesterolemia and sperm function	0	0
Hypercholesterolemia and fertilizing ability	3	0
High cholesterol and infertility	5	0
High cholesterol and sperm capacitation	2	0
High cholesterol and acrosome reaction	0	0
High cholesterol and sperm function	0	0
High cholesterol and fertilizing ability sperm	2	0
Cholesterol- enriched diet and infertility	0	0
Cholesterol- enriched diet and sperm capacitation	0	0
Cholesterol- enriched diet and acrosome reaction	0	0
Cholesterol- enriched diet and sperm function	0	0
Cholesterol- enriched diet and fertilizing ability sperm	0	0
Dyslipidemia and infertility	0	0
Dyslipidemia and sperm capacitation	0	0
Dyslipidemia and acrosome reaction	0	0
Dyslipidemia and sperm function	0	0
Dyslipidemia and fertilizing ability sperm	0	0
Total	32	2

Tabla 4. Numero de artículos encontrados en la Plataforma Science Direct de acuerdo con la fase I y fase II.

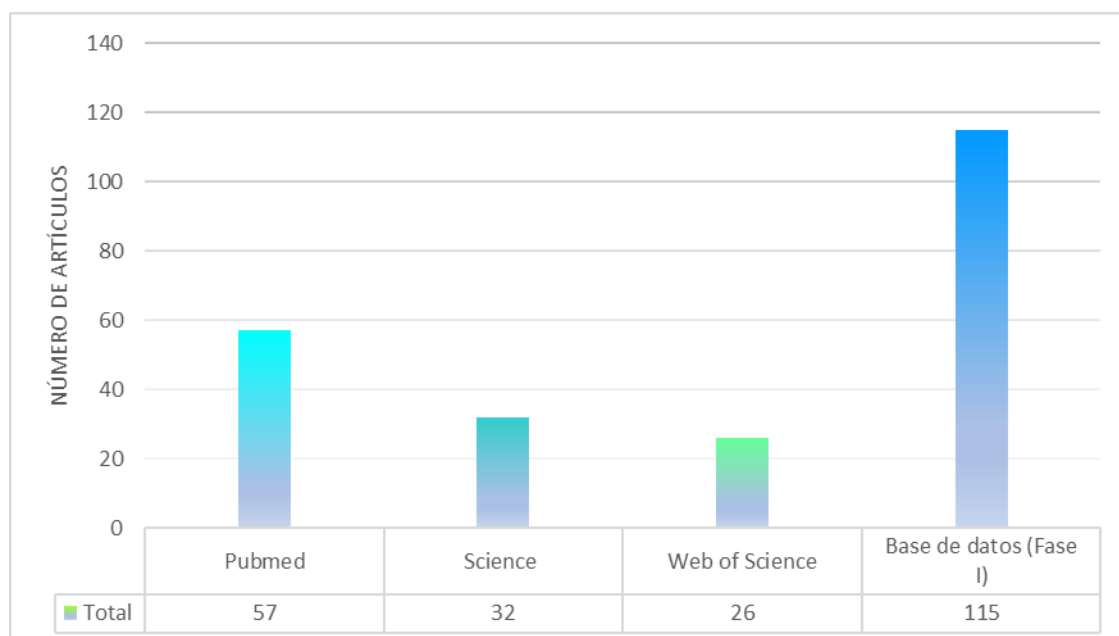
La tabla 5 muestra el número de artículos encontrados en la plataforma Web of Science de acuerdo con las frases de búsqueda y la primera fase, así como el total de artículos seleccionados después de aplicar la segunda fase.

Plataforma Web of Science	Primera fase	Segunda fase
Hypercholesterolemia and infertility	9	0
Hypercholesterolemia and sperm capacitation	0	0
Hypercholesterolemia and acrosome reaction	0	0
Hypercholesterolemia and sperm function	0	0
Hypercholesterolemia and fertilizing ability	0	0
High cholesterol and infertility	8	0
High cholesterol and sperm capacitation	3	0
High cholesterol and acrosome reaction	0	0
High cholesterol and sperm function	0	0
High cholesterol and fertilizing ability sperm	2	0
Cholesterol- enriched diet and infertility	2	0
Cholesterol- enriched diet and sperm capacitation	0	0

Cholesterol- enriched diet and acrosome reaction	0	0
Cholesterol- enriched diet and sperm function	0	0
Cholesterol- enriched diet and fertilizing ability sperm	1	0
Dyslipidemia and infertility	0	
Dyslipidemia and sperm capacitation	1	1
Dyslipidemia and acrosome reaction	0	0
Dyslipidemia and sperm function	0	0
Dyslipidemia and fertilizing ability sperm	0	0
Total	26	1

Tabla 5. Numero de artículos encontrados en la Plataforma Web of Science de acuerdo con la fase I y fase II.

Se obtuvieron un total de 115 artículos encontrados en las tres plataformas utilizadas los cuales contenían los criterios de inclusión y exclusión en título o



https://docs.google.com/spreadsheets/d/12RKmQZi3turNJus2hqDd_3exybQSLGM/edit#gid=1468900298

Figura 5. Numero de artículos encontrados en Pubmed, Science Direct y Web of Science correspondientes a la temporalidad 2010-2022.

7.1 Selección de los artículos en base a la fase II (criterios de inclusión y exclusión de acuerdo con el resumen).

Una vez seleccionados los 115 artículos procedentes de la Fase I se analizó cada uno de acuerdo con los criterios establecidos en la fase II (resumen, modelo experimental, sexo, modelo de hipercolesterolemia y tipo de artículo) de los cuales solo 8 cumplieron los criterios de inclusión mientras que 107 no cumplieron con estos criterios (Figura

6). https://docs.google.com/spreadsheets/d/12RKmQZi3turNJus2hqDd_3exybQSLGM/edit#gid=572886298

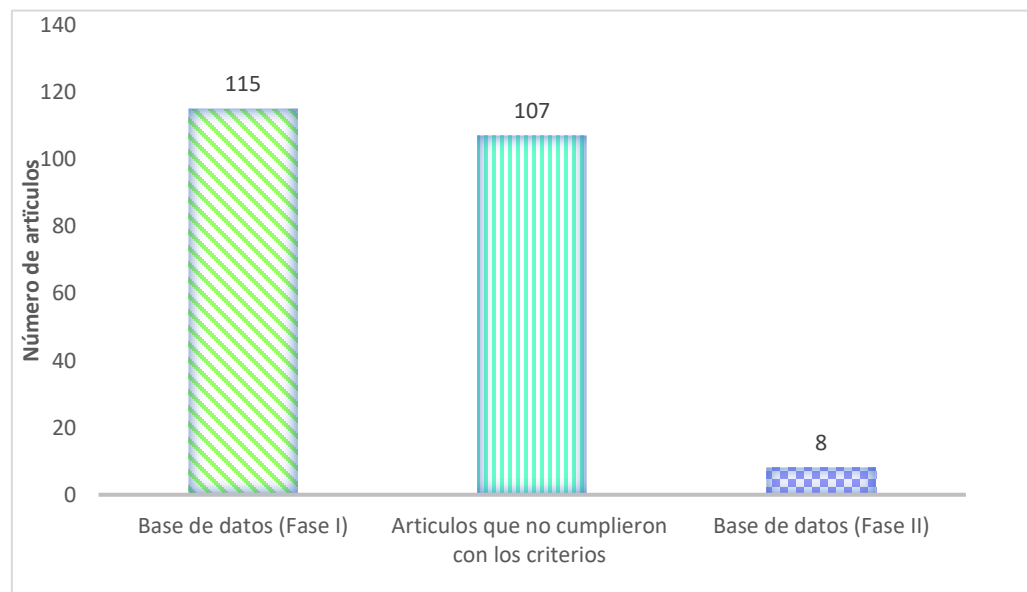


Figura 6. Número de artículos de la base de datos (Fase I), número de artículos que no cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión y número total de artículos aceptados en la Fase II.

7.2 Análisis de la información

La base de datos fase III se construyó mediante el análisis de los 8 artículos en función del título, objetivo, modelo experimental, modelo de hipercolesterolemia, tipo de dieta, metodología y resultados.

https://docs.google.com/spreadsheets/d/12RkmQZi3turNJus2hqDd_3exybQSXLGM/edit#gid=507500395

Al obtener los artículos de la fase II se puede observar que el análisis sobre la relación de la hipercolesterolemia y los procesos de capacitación y reacción acrosomal es muy reducido, siendo los años 2017 y 2019 en donde se encontró en cada uno, 2 artículos de investigación (Figura 7).

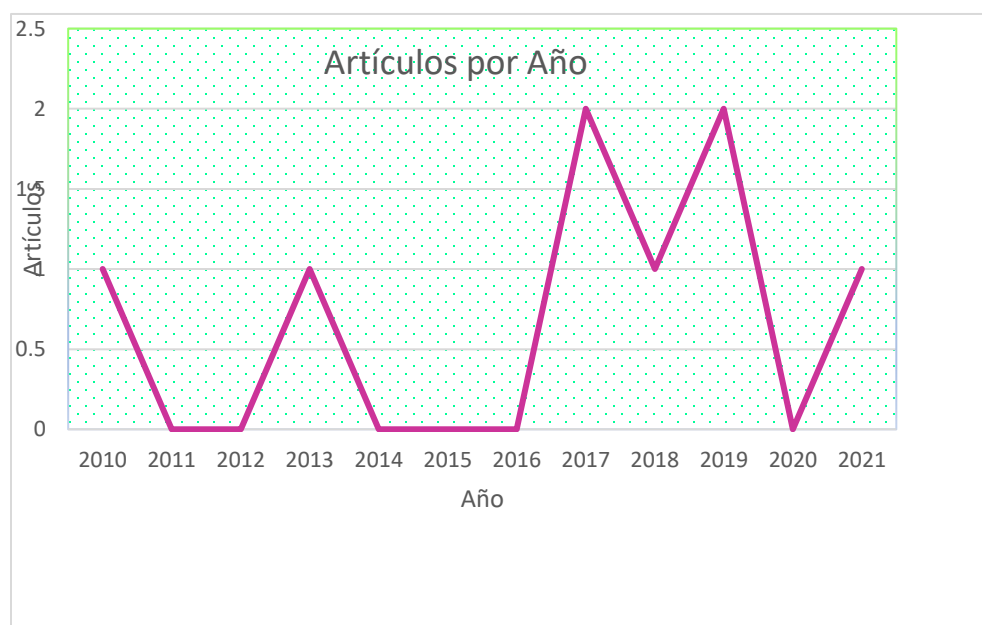


Figura 7. Numero de articulo por año en base a los criterios de inclusión y exclusión pertenecientes a la fase II

7.3 Modelo animal

El uso de animales en investigación ha sido recomendado para perfeccionar y validar procedimientos existentes, desarrollar nuevos materiales y comprender

los diversos procesos fisiológicos y patológicos. De los artículos analizados en donde se ha investigado la relación entre la hipercolesterolemia y los procesos de capacitación y reacción acrosomal han sido en modelos como ratón y conejo

- Conejo blanco de Nueva Zelanda (*Oryctolagus cuniculus*) es un modelo utilizado para evaluar el metabolismo de lipoproteínas, con una dieta estándar normal, tienen niveles de colesterol (TC) (30–90 mg/dL) cuando son alimentados con una dieta de colesterol, rápidamente desarrollan hipercolesterolemia.
- Ratones C57BL/6 (*Mus musculus*), pertenecen a la familia (Muridae), tienen una predisposición genética al desarrollo de alteraciones en el perfil lipídico entre otras afecciones cuando se alimentan con una dieta rica en grasas.
- Ratones ($Lxr \alpha;\beta - / -$) se derivaron de un fondo de cepa mixta (C57BL/6:129Sv) son modelos importantes en la fisiología reproductiva masculina mostrando infertilidad a partir de los cinco meses y evolucionaron a la esterilidad a los 10 meses. Presentan alteraciones tanto de testículo como de epidídimo los cuales podría desencadenarse en animales jóvenes $Lxr\alpha;\beta - / -$ mediante una dieta alta en colesterol (HCD)

De los 8 artículos seleccionados se analizó los parámetros que se midieron y se observó que existen una gran similitud. A continuación, se en listan los parámetros utilizadas:

Análisis del colesterol

- Muestras de sangre: Para el análisis en conejos se tomó una muestra de sangre de la vena marginal de la oreja mientras que para los ratones la muestra de sangre se tomó de la aorta abdominal. El colesterol de lipoproteínas de baja densidad (LDL-c) se calculó de la siguiente manera: $LDL-c = [TC-TG/5]-HDL-c$. El índice aterogénico se calculó utilizando la siguiente fórmula: $TC (mg/dl)/HDL-c (mg/dl)$. Donde: triglicéridos (TG), colesterol total (TC), y el colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-c)
- Cromatografía de gases: Los lípidos de los espermatozoides se extrajeron mediante el método de Bligh y Dyer (Bligh & Dyer 1959) y la concentración de colesterol se analizó mediante una cromatografía de gases.

Integridad de la membrana

- Prueba hipoosmótica: determinación de la proporción de espermatozoides que presentan acumulación de líquidos intracelulares al incubarse en una solución hipoosmótica que corresponde a espermatozoides (no dañados) con integridad de membrana y actividad funcional normal.
- Ensayo de oxisteroles: Los lípidos totales se extrajeron de un conjunto de seis millones de espermatozoides según el método de Folch *et al.* 1957. Los oxisteroles se cuantificaron mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

Capacitación espermática

- Determinación del flujo de calcio de los espermatozoides obtenidos del epidídimo caudal: citometría de flujo.

- Evaluación enzimática de fosfo-tirosina en espermatozoides.
- Acumulación de la proteína YWHAZ (14-3-3 ζ) mediante Western Blot. Proteínas adaptadoras presente en prácticamente todos los tejidos tanto de invertebrados como de vertebrados, y contiene siete isoformas en mamíferos. Varias isoformas están presentes en los testículos: 14-3-3θ, 14-3-3β y 14-3-3ζ.

Reacción acrosomal

- Identificación de estadios tempranos de la formación del acrosoma (espermiogénesis) en células espermatozógenas mediante el método de transiluminación.
- Medición del índice de asimetría: Medir distancia entre eje central y cada borde acrosomal (distancias 1 y 2), medir distancia entre los dos bordes del acrosoma, relacionar cada distancia con la distancia total. Cuando la distancia 1 y 2 son similares el índice de asimetría se aproxima a 0.

$$\text{Índice de asimetría} = \frac{1-2}{1+2} * 100$$

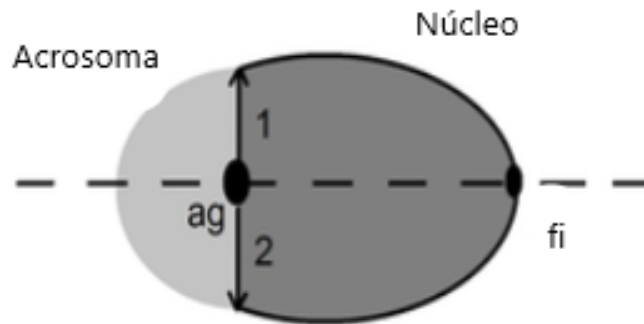


Fig. 8. Medida de asimetría. El semicírculo gris claro delimita el acrosoma. El óvalo gris, parcialmente cubierto por el acrosoma, representa el núcleo. El eje central (línea discontinua) es una línea imaginaria que cruza el gránulo acrosomal (ag) y las fosas de implantación (fi): conexión cola cabeza. Las distancias 1 y 2 están representadas por flechas entre el eje central y cada borde acrosomal. (Tomado y modificado de Layla Simon, 2018).

- Tinción de inmunofluorescencia: identificación de microtúbulos y filamentos de actina para determinar el desarrollo del acrosoma durante la espermiogénesis.

8. Discusión

De los 115 artículos procedentes de la fase I, 57 artículos fueron obtenidos de la plataforma Pubmed siendo esta, la plataforma que más artículos arrojó durante la búsqueda, seguida de Science y por último Web of Science. Esto se debe a que PubMed es una base de datos, de acceso libre y especializada en ciencias de la salud, con más de 30 millones de referencias bibliográficas,

con trabajos publicados en más de 5.300 revistas científicas y con un incremento de unas 800 mil referencias al año (Estrada., 2011). Esta plataforma cuenta con diferentes filtros cuyos objetivos son ofrecer la máxima información bibliográfica de la forma más concreta y rápida posible. En cambio, Science direct cuenta con 16 millones de referencias bibliográficas, 2,500 revistas y más de 40,000 libros electrónicos. (Estrada-Lorenzo y Trueba-González., 2009). Por otro lado, Web of Science es la segunda gran base de datos bibliográfica, sin embargo, solo nos brindó un artículo diferente a los encontrados en Pubmed y Science Direct. Esto puede deberse a que una de las mayores desventajas de la base de datos es que no brinda acceso directo al resumen o al texto completo de las publicaciones haciendo que investigación del tema sea más limitada (Jiménez., 2007). Otra gran desventaja es su elevado precio ocasionando que solo las instituciones grandes o integradas a un consorcio tengan acceso a esta base de datos científica, hecho que repercute en la divulgación científica (Aleixandre *et al.*, 2007).

En el presente trabajo se pudieron identificar 8 artículos, los cuales se enfocaban en la relación de hipercolesterolemia, capacitación espermática y reacción acrosomal. De los 107 artículos que cumplieron con los criterios de inclusión de la fase II se enfocaban en aspectos como obesidad o síndrome metabólico los cuales también presentan niveles altos de colesterol sin embargo no estaban enfocados en los objetivos de esta investigación. Además, estos artículos se orientaban en otras alteraciones como: morfología del espermatozoide, análisis del semen o bien se enfocaban en analizar tratamientos para poder disminuir estas alteraciones.

El exceso de colesterol afecta a varios tipos de células, promoviendo cambios funcionales y morfológicos. En los espermatozoides, el colesterol se acumula en el acrosoma y puede interferir con procesos como la capacitación de los espermatozoides y la reacción del acrosoma (Simon *et al.*, 2017). El aumento en los niveles de colesterol está relacionado con la presencia de gotitas de lípidos y espirales dentro de las células espermátogénicas. La presencia de estas estructuras podría explicar las alteraciones en la posición del acrosoma durante el proceso de elongación (Tabbas., 2002).

Datos recientes demuestran que los componentes del citoesqueleto pueden localizarse en balsas de lípidos y ser plataformas para el anclaje del citoesqueleto. Además, las balsas pueden agruparse dependiendo del colesterol y la actina que se unen a la membrana. Este proceso podría estar presente en las espermátides mientras adquieren la forma final del espermatozoide, un proceso dependiente del citoesqueleto. Por lo tanto, el enriquecimiento en colesterol de las balsas podría alterar la organización y ubicación de los microtúbulos y los filamentos de actina durante el desarrollo de manchette (anillo que rodea el núcleo y que actúa como organizador de microtúbulos) (Goswami *et al.*, 2008). Estudios demuestran que la actina, microtúbulos y GM1 están involucrados en el ensamblaje preciso del complejo manchette. Se observó que el esfingolípido GM1 se dispersó por toda la membrana en las espermátides de modelos hipercolesterolémicos afectando el desarrollo del acrosoma (Goudenege *et al.*, 2007).

Los espermatozoides de los mamíferos son células muy peculiares ya que tienen su material genético transcripcionalmente inerte, debido a su altísimo grado de compactación, lo que permite su protección durante el trayecto

hacia el lugar de la fecundación. Los eventos moleculares que ocurren durante la maduración posttesticular dependen en gran medida de la composición y dinámica de su membrana. Se ha demostrado que en modelos hipercolesterolémicos el principal problema para que los espermatozoides logren la capacitación reside a nivel de la membrana plasmática (Marchiani *et al.* 2015).

Los flujos de calcio se han descrito como esenciales para la regulación de la capacitación (Lishko *et al.* 2012). El calcio está involucrado en la cascada de señalización que regula la capacitación al participar en la activación del sAC (Adenilil ciclase soluble), en la adquisición del movimiento de hiperactivación espermática y en el desencadenamiento de la reacción acrosomal. El $[Ca^{2+}]$ del espermatozoide tiene un papel dual como activador e inhibidor de la capacitación (Navarrete *et al.* 2015). Whitefield *et al.* 2017 mencionan que menos espermatozoides de ratones macho $Lxr\alpha;\beta^{-/-}$ alimentados con una dieta alta en colesterol tenían la capacidad de participar en la capacitación, debido al aumento en $[Ca^{2+}]$. También se observó una disminución en la proteína PMCA4 esto podría explicar el aumento de las concentraciones de calcio.

La regulación de los espermatozoides $[Ca^{2+}]$ depende de varios canales iónicos y bombas de expulsión importantes, siendo una de las principales la bomba de calcio PMCA4. Las PMCA son una familia de enzimas que expulsan calcio del citosol a través de la membrana plasmática de las células eucariotas (Jaiswal y Conti, 2003). La disminución en la acumulación de proteína PMCA4 explica la tendencia de la concentración de calcio a aumentar durante la

capacitación. PMCA4 es adquirido parcialmente por los espermatozoides durante la espermatogénesis en los testículos y también se transfiere a los espermatozoides durante el tránsito epididimario a través de los epididimosomas. Se ha demostrado que en animales hipercolesterolémicos existe una disminución en la cantidad de espermatozoides PMCA4 esto puede deberse a un menor contenido de epididimosoma y, por lo tanto, probablemente también debido a un defecto en su adquisición por parte de los espermatozoides en maduración afectando el proceso de capacitación espermática (Patel *et al.*, 2013). Esta información nos muestra como la hipercolesterolemia puede afectar procesos fundamentales para la concepción de un embarazo, datos que nos indican la importancia del estudio bibliográfico de la hipercolesterolemia en los eventos como la reacción acrosomal y capacitación.

Los modelos animales de laboratorio juegan un papel importante en el estudio de las enfermedades humanas. El uso de animales apropiados es fundamental no solo para la investigación básica, sino también para el desarrollo de herramientas terapéuticas y de diagnóstico (Bahr y Wolf., 2012). Para la realización de este trabajo se identificaron dos modelos animales que han sido estudiados para ver la relación entre la hipercolesterolemia, capacitación espermática y reacción acrosomal. Los conejos son utilizados para el estudio de hipercolesterolemia debido a que tienen un metabolismo similar al de los humanos y son sensibles a una dieta rica en colesterol es por ello que los modelos de conejos han proporcionado información valiosa sobre la hipercolesterolemia. Actualmente, se utilizan comúnmente tres tipos de modelos de conejos para el estudio del

metabolismo de los lípidos: 1) conejos alimentados con colesterol, 2) conejos hiperlipidémicos hereditarios de Watanabe, análogos a la hipercolesterolemia familiar humana debido a la deficiencia genética de los receptores de LDL, y 3) conejos genéticamente modificados (transgénicos y knock-out) (Aikawa et al., 1999). Además, los niveles de colesterol muestran una mayor variación en las hembras que en los machos y son más bajos en las hembras gestantes y lactantes que en las no gestantes ni lactantes. Debido a estas características de los valores de referencia de colesterol en plasma en machos se utilizan con más frecuencia que el de las hembras (Roberts *et al.*, 1974).

El metabolismo de lípidos en conejo y en humano es muy similar, compartiendo ciertas características como: 1) apoB, VLDL y LDL son las lipoproteínas plasmáticas predominantes, 2) presencia de la proteína de transferencia de éster de colesterol en plasma (CETP), un importante regulador del metabolismo del colesterol, 3) presencia de apoB-48 (proteína que contiene y transporta lípidos) presente en los quilomicrones derivados del intestino provocando el transporte de lípidos de la dieta desde el intestino a sus diferentes destinos metabólicos en diversos tejidos, 4) receptores de LDL hepáticos altamente regulados a la baja de acuerdo con el nivel de captación de colesterol en el hígado. Debido a estas similitudes entre conejos y humanos, los conejos son un modelo ideal para el estudio del metabolismo de lípidos (Fan *et al.*, 2001).

Taylor y Fan en 1997 mencionan que los conejos son sensibles al colesterol de la dieta y rápidamente desarrollan una hipercolesterolemia severa. Cuando los conejos son alimentados con una dieta de pienso que contiene

hasta un 2% de colesterol, muestran una rápida elevación del colesterol plasmático, que puede superar los 2000 mg/dl. Esta respuesta se puede mejorar aún más adicionando grasa extra en la dieta como se observa en los artículos encontrados en esta revisión los cuales agregaban grasas saturadas para aumentar los niveles de colesterol y así crear el estado hipercolesterolémico.

Aunque, en el conejo se han producido muchos avances en cuanto al conocimiento del metabolismo de lípidos, actualmente el desarrollo de ratones modificados genéticamente para apoE y genes del receptor de LDL (KO) ha sido una herramienta utilizada por los investigadores para estudiar esta alteración (Getz y Reardon, 2012). Esto concuerda con los artículos encontrados en esta revisión, siendo los artículos de ratones los más recientes, 2019 y 2021.

Los ratones son los modelos animales más utilizados en la investigación biomédica, incluida la biología reproductiva. Lo más importante es que los ratones son genéticamente muy similares a los humanos, por ejemplo; en la espermatogénesis, la maduración de los espermatozoides, la capacitación y la fertilización (Church *et al.*, 2009).

El modelo de ratón ha sido una herramienta muy útil para diversas investigaciones debido en gran parte a la relativa facilidad de la manipulación genética, sin embargo, se descubrió que los roedores (ratones, ratas y hámsters) difieren de los humanos en muchos aspectos del metabolismo de las lipoproteínas. Por ejemplo, aproximadamente dos tercios de la reserva de colesterol en los seres humanos se deriva de la síntesis in vivo, mientras que una gran parte del colesterol se deriva de la dieta de los roedores (Endo,

1980). El ratón y la rata de tipo salvaje son mamíferos HDL es decir que esta lipoproteína es la principal en el plasma, mientras que los humanos y los conejos son mamíferos LDL. La capacidad de ratones y ratas para excretar ácido biliar, que se deriva del colesterol, es mucho mayor que en humanos y conejos (Names, 2004). Los ratones carecen de la proteína de transferencia de éster de colesterol en plasma (CETP). CETP es una enzima que transfiere el éster de colesterol de HDL a VLDL y LDL a cambio de triglicéridos. En ratones normales que carecen de CETP, más del 80 % del colesterol plasmático se transporta en HDL, por lo que los ratones con niveles elevados de colesterol HDL son resistentes a la hipercolesterolemia (Jiang *et al.*, 1993). Para superar estas diferencias en el uso de ratones como modelos para la investigación destinada a comprender el metabolismo del colesterol en humanos y por lo tanto en comprender el estado hipercolesterolémico, se generaron ratones modificadas genéticamente.

Los receptores X del hígado α (LXR α) y β (LXR β) son receptores nucleares activados por oxisteroles y actúan como los principales reguladores de la homeostasis del colesterol en varios tipos de células (Maqdasy *et al.*, 2016). La importancia de los LXR en la fisiología reproductiva masculina se da por el modelo de ratón Lxr α ; β - / - en el que los ratones macho mostraron esterilidad a los 10 meses. Este fenotipo muestra alteraciones tanto de testículo como de epidídimo (Volle *et al.* 2007). Ouvrier *et al.*, 2011 demostraron que el fenotipo epididimario podría desencadenarse en animales jóvenes Lxr α ; β - / - mediante una dieta alta en colesterol (HCD) a pesar de que los testículos no mostraban alteraciones estructurales y funcionales. Este estudio reveló la peculiar susceptibilidad del epidídimo a la

sobrecarga de colesterol y proporcionó un nuevo modelo de infertilidad derivada de la hipercolesterolemia inducida por la dieta y por lo tanto ser un buen modelo para los eventos de capacitación y reacción acrosomal.

Los ratones C57BL/6J desarrollan hiperlipidemia si se exponen a una dieta rica en grasas. El ratón C57BL/6J se adoptó como estándar a pesar de que las lesiones inducidas incluso por dietas extremas eran de tamaño, complejidad y distribución limitada (Breslow., 1994). Esto cambió con la producción de varios ratones genéticamente inactivados y transgénicos, que en muchos casos produjeron efectos notables sobre las lipoproteínas plasmáticas. El ejemplo más típico es el modelo deficiente en apoE el cual presenta una hiperlipidemia masiva (Kashyap *et al.*, 1995). Sin embargo, los trabajos encontrados en esta revisión bibliográfica se centraron en ratones C57BL/6J y ratón Lxr α ; β - / - los cuales presentan alteraciones en el metabolismo de lípidos al tener una dieta rica en grasas.

De acuerdo con la información presentada ambos modelos tanto conejo como ratón tiene sus ventajas y desventajas, sin embargo, los modelos animales ideales deben poseer varias características importantes (Fan y Watanabe, 2003), ser fáciles de adquirir y mantener a un costo razonable, fáciles de manejar y del tamaño adecuado para permitir todas las manipulaciones experimentales previstas. Idealmente, el animal debería reproducirse en un entorno de laboratorio y tener una base genética bien definida. Finalmente, el modelo animal debería compartir con los humanos los aspectos más importantes del metabolismo de los lípidos. Desafortunadamente, no existe un solo modelo animal que cumpla con

todos estos requisitos. Debido a esto es importante que el investigador elija el modelo más adecuado de acuerdo con su investigación y enfoque (Moghadasian., 2002).

La información acerca de la hipercolesterolemia y su relación con los procesos de capacitación y reacción acrosomal de los espermatozoides en los últimos 10 años ha sido muy limitada con respecto a este enfoque. Sin embargo, otros aspectos como obesidad y síndrome metabólico los cuales presentan altos niveles de colesterol han sido más investigados en cuanto a su relación con la infertilidad. Como se mencionó anteriormente no es necesario que una persona presente estas enfermedades para tener un alto nivel de colesterol es por ello que se deben realizar más estudios en cuanto a la hipercolesterolemia, ya que el colesterol es un lípido muy importante que está relacionado con estos dos procesos (capacitación y reacción acrosomal) y por lo tanto con la fertilidad.

9. Conclusiones

- La búsqueda arrojó 8 artículos relacionados con la hipercolesterolemia y su relación con la capacitación espermática y reacción acrosomal.
- El buscador científico que arrojó un mayor número de artículos relacionados con el tema fue PUBMED.
- Con base en la revisión bibliográfica los modelos que comparten más características con el humano en cuanto al metabolismo de lípidos es el conejo.

- Se han generado varias cepas de ratones modificadas genéticamente para alterar la distribución del colesterol plasmático para así poder investigar el metabolismo del colesterol en humanos.
- En los últimos años las investigaciones en cuanto a la relación de la hipercolesterolemia, reacción acrosomal y capacitación espermática son limitadas.
- Con la información obtenida en esta revisión se puede concluir que las revisiones bibliográficas son una herramienta muy útil para la recopilación sobre algún tema de importancia y así poder generar una actualización sobre el tema de interés.

10. Perspectivas

A partir de esta búsqueda científica se puede observar que el tema de investigación muestra escasez de reportes por lo tanto es necesario:

- Fomentar la importancia de la hipercolesterolemia en procesos de reproducción.
- Fomentar el uso de modelos animales para la investigación del tema dependiendo de las necesidades del investigador acerca del tema.
- Fomentar la percepción acerca de que no es necesario tener alguna enfermedad relacionada con el peso para tener altos niveles de colesterol.

11. Bibliografía

1. Agarwal, A., Mulgund, A., Hamada, A., & Chyatte, M. R. (2015). A unique insight into male infertility around the world. *Reproductive Biology Endocrinology*, 13,24–37.
2. Aikawa, M., Voglic, S.J., Sugiyama, S., Rabkin, E., Taubman, M.B., Fallon, J.T., Libby, P. (1999). Dietary lipid lowering reduces tissue factor expression in rabbit atheroma. *Circulation*,100:1215–1222.
3. Aleixandre-Benavent, R., Valderrama, C., González-Alcalde, G. (2007). El factor de impacto de las revistas científicas: limitaciones e indicadores alternativos. *El profesional de la informacion*,16(1):4-11.
4. Austin, M.A., Hutter, C.M., Zimmern, R.L., Humphries, S.E. (2004). Genetic causes of monogenic heterozygous familial hypercholesterolemia: a huge prevalence review. *American Journal Epidemiology*,160 (5):407–20.
5. Bahr, A., and Wolf, E. (2012). Domestic animal models for biomedical research. *Play Domestic. Animation*,47: 59–71.
6. Baker, M. A., Lewis, B., Hetherington, L., & Aitken, R. J. (2003). Development of the signalling pathways associated with sperm capacitation during epididymal maturation. *Molecular Reproduction and Development*, 64, 446–457.
7. Batanieh, H. N., Nusier, M.K. (2005). Efecto de la dieta con colesterol sobre la función reproductora en ratas albinas macho. *Europe PubMed Central*,26(3):398-404.
8. Berg, J.M., Tymoczko, J.L. & Stryer, L. (2016). Cholesterol is Synthesized from Acetyl Coenzyme A in Three Stages. *Vitamin Hormonal*, 83,45-49.
9. Biswas, A., D'souza, U.J. y Bhat, S. (2017). El hipercolesterolemia dietético induce el estrés oxidativo desafiando la espermatogénesis en el modelo de rata: un vínculo con una posible infertilidad. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 8,5065-71.
10. Breslow, J.L. (1994). Lipoprotein metabolism and atherosclerosis susceptibility in transgenic mice. *Current Opinion in Lipidology*,5: 175-184.

11. Castellini, C, Cardinali, R., Dal Bosco, A., Minelli, A., Camici, O. (2008). Lipid composition of the main fractions of rabbit semen *Theriogenology* 65, 703-12.
12. Church, D.M., Goodstadt, L., Hillier, L.W., Zody, M.C., Goldstein, S. (2009). Lineage-specific biology revealed by a finished genome assembly of the mouse. *PLoS Biol*, 7:5.
13. Diaz-Fontdevila, M., Pena, W., Bustos-Obregon, E. (1998). Experimental hypercholesterolaemia in rabbits. Effect on lipid domains in homologous spermatozoa. *Andrologia*, 30(1):15–22
14. Diaz-Fontdevila, M., y Bustos-Obregon, E. (1993). Cholesterol and polyunsaturated acid enriched diet: effect on kinetics of the acrosome reaction in rabbit spermatozoa. *Molecular Reproduction and Development*, 35 (2): 176–180
15. Dietschy, J.M. (1997). Theoretical considerations of what regulates low-density lipoprotein and highdensity lipoprotein cholesterol. *American Journal Clinical Nutrition*, 65,1581-1589.
16. ÉL., L., Muralla, J., and Muller, M. (2001). Incorporation of lipids into boar sperm reduces cold sensitivity, but not capacitance potential. *Biology Reproduction*, 64, 69–79.
17. El-Hajjaji, F., Z., Oumeddour, A., Pommier, A., Ouvrier, A., Viennois, E., Dufour, J. (2011). Liver X receptors, lipids and their reproductive secrets in the male. *Biochemical Biophys Acta*, 1812:974–81.
18. Endo, A. (1980). Regulation of cholesterol synthesis, as focused on the regulation of HMG-CoA reductase. *Seikagaku*, 52:1033–1049.
19. Estrada, J.M. (2011). La búsqueda bibliográfica y su aplicación en PubMed-MEDLINE.
20. Estrada-Lorenzo, J.M. y Trueba-Gómez, J. (2009). Búsquedas bibliográficas en PubMed,
21. Faiz, F., Hooper, A.J., Van Bockxmeer, F.M., (2012). Molecular pathology of familial hypercholesterolemia, related dyslipidemias, and therapies

- beyond statins. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 49(1):1–17.
22. Fan, J., Shimoyamada, H., Sun, H., Marcovina, S., Honda, K., Watanabe, T. (2001). Transgenic rabbits expressing human apolipoprotein (a) develop more extensive atherosclerotic lesions in response to a high-cholesterol diet. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 21:88–94.
 23. Fan, J., Watanabe, T. (2003). Transgenic rabbits as therapeutic protein bioreactors and human disease models. *Pharmacology & Therapeutics*, 99:261–282.
 24. Gadella, B. M., Tsai, P., Boerke, A., and Brewis, I. A. (2008). Sperm head membrane reorganization during capacitation. *Developmental Biology*, 52, 473.
 25. Getz, G.S., y Reardon, C.A. (2012). Animal models of atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 32:1104–1115.
 26. Goswami, D., Gowrishankar, K., Bilgrami, S., Ghosh, S., Raghupathy, R., Chadda, R. (2008). Nanoclusters of GPI-anchored proteins are formed by cortical actin-driven activity. *Cell*, 135:1085–1097.
 27. Goudenege, S., Dargelos, E., Claverol, S., Bonneau, M., Cottin, P., Poussard, S. (2007). Comparative proteomic analysis of myotube caveolae after milli-calpain deregulation. *Proteomics*, 2007; 7:3289–3298
 28. Gupta, R.S., Dixit, V.P. (1988) Efecto del colesterol dietético sobre la espermatogénesis. *Fertil Steril*, 27, 236–243.
 29. Ho, H. C., & Suarez, S. S. (2001). Hyperactivation of mammalian spermatozoa: function and regulation. *Reproduction*, 122(4), 519–526.
 30. Hu, J., Zhang, Z., Shen, W.-J., and Azhar, S. (2010). Cellular cholesterol delivery, intracellular processing and utilization for biosynthesis of steroid hormones. *Nutrition & Metabolism*, 7(1), 47.
 31. Ikonen, E. (2013). Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization. *Nature Review Molecular Cell Biology*, 9, 125–138.
 32. Inhorn, M. C., Patrizio, P. (2015). Infertility around the globe: new thinking on gender, reproductive technologies and global movements in the 21st century. *Human Reproduction Update*, 21, 411–426.

33. Jaiswal, B.S. y Conti, M. (2003). Calcium regulation of the soluble adenylyl cyclase expressed in mammalian spermatozoa. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 10676–10681.
34. Jiang, X.C., Masucci-Magoulas, L., Mar, J., Lin, M., Walsh, A., Breslow, J.L., Tall, A. (1993). Down-regulation of mRNA for the low density lipoprotein receptor in transgenic mice containing the gene for human cholesteryl ester transfer protein. Mechanism to explain accumulation of lipoprotein B particles. *Journal Biology Chemical*, 268(36) 27406-27412.
35. Jiménez, G. (2007). Presentación sobre los servicios del ISI Web of Knowledge a las instituciones pertenecientes al Consorcio de Universidades Mexicanas, CUMEX. San Luis Potosí
36. Jones, A., Glomset, J. (2015). Biosynthesis function and metabolism of sterol esters. *Sterols and Bile Acids*. Danielsson and J. Sjovall (eds), Elsevier Science Publishers B.V. (Biomedical División).
37. Kannel, W.B., Castelli, W., P., Gordon, T. (1979). Cholesterol in predicting atherosclerotic disease: new perspectives based on the Framingham study *Annals Internal Medicine* 90,85–91.
38. Kashyap, V.S., Samantarina-Fojo, S., Brown, D.R. (1995). Apolipoprotein E deficiency in mice: gene replacement and prevention of atherosclerosis using adenovirus vectors. *Journal Clinical Investigation*, 96: 1612-1620.
39. Khorasani, S. O. Y., Cheung, A. P., and Sotavento, C. Y. G. (2000). Efectos inhibidores del colesterol sobre la reacción acrosómica inducida por el esperma humano. *Journal Andrology*, 21, 586–594.
40. Li, T. y Chiang, J., Y. (2007). PXR induces CYP27A1 and regulates cholesterol metabolism in the intestine. *Journal Lipids Research*, **48**: 373–84.
41. Lishko PV, Kirichok Y, Ren D, Navarro B, Chung JJ & Clapham DE 2012 The control of male fertility by spermatozoan ion channels. *Annual Review of Physiology*, 74 453–475.
42. Lishko, P., V., Kirichok, Y., Ren, D., Navarro, B., Chung, J., Clapham, D., & E. (2012). The control of male fertility by spermatozoan ion channels. *Annual Review of Physiology*, 74, 453–475.

43. Maqdasy, S., Trousson, A., Tauveron, I., Volle, D.H., Baron, S. Lobaccaro, J.M. (2016). Once and for all, LXRalpha and LXRbeta are gatekeepers of the endocrine system. *Molecular Aspects of Medicine*, 49 31–46.
44. Marchiani, S., Vignozzi, L., Filippi, S., Gurrieri, B., Comeglio, P., Morelli, A. (2015). Metabolic syndrome-associated sperm alterations in an experimental rabbit model: relation with metabolic profile, testis and epididymis gene expression and effect of tamoxifen treatment. *Molecular Cellular Endocrinology*, 401: 12–24.
45. Moghadasian, M.H. (2002). Experimental atherosclerosis: a historical overview. *Life Sciences*, 70:855–865.
46. Names, N. (2004). Three obstacles which confronted the development of compactin. *Atherosclerosis Supplements*, 5:21.
47. Navarrete FA, Garcia-Vazquez FA, Alvau A, Escoffier J, Krapf D, Sanchez-Cardenas C, Salicioni AM, Darszon A & Visconti PE 2015 Biphasic role of calcium in mouse sperm capacitation signaling pathways. *Journal of Cellular Physiology*, 230 1758–1769
48. Navarro, V., Zabala, A., Gómez, S., and Portillo, M. (2009). Metabolismo del colesterol: bases actualizadas. *Revista Española, Obesidad*, 7, 360–384.
49. Nguyen., R., H., W., A., J., Skjaerven., R., Baird., D., and D. (2008). Body mass index and infertility in men. *Human Reproduction*, 22, 2488–2493.
50. Nicole., O., Palmer., N., O., B., H., W., Owens., J., A., S., and B., P. (2012). Diet and exercise in an obese mouse fed a high-fat diet improve metabolic health and reverse the function of disturbed sperm. *American Journal Physiology Endocrinology Metabolism*, 302, 768 – 780.
51. Ouvrier, A., Alves, G., Damon-Soubeyrand, C., Marceau, G., Cadet, R., Janny, L., Brugnon, F., Kocer, A., Pommier, A. y Lobaccaro, J.M. (2011). Dietary cholesterol-induced post-testicular infertility. *PLoS ONE* 6 e26966.
52. Parton, R., G. y Hancock, J., F. (2004). Balsas de lípidos y microorganización de la membrana plasmática: conocimientos de Ras. *Trends Celular Biology*, 14: 141–7

53. Pasquali, R., Gambineri, A. (2006). Metabolic effects of obesity on reproduction. *Reproductive Biomedicine Online*, 12, 542–551.
54. Pasqualini, J. R. (2010). Enzymes involved in the formation and transformation of steroid hormones in the fetal and placental compartments. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 97, 401–415.
55. Patel, R., Al-Dossary, A.A., Stabley, D.L., Barone, C., Galileo, D.S., Strehler, E.E., y Martin-DeLeon, P.A. (2013). Plasma membrane Ca²⁺-ATPase 4 in murine epididymis: secretion of splice variants in the luminal fluid and a role in sperm maturation. *Biology of Reproduction* 89:6.
56. Patrat, C., Serres, C., and Jouannet, P. (2000). The acrosome reaction in human spermatozoa. *Biology of the Cell*, 92, 255–266.
57. Ren, D. (2001). A sperm ion channel required for sperm motility and male fertility. *Nature*, 413(6856):603–609.
58. Roberts, D.C.K., West, C.E., Redgrave, T.G., Smith, J.B. (1974). Plasma cholesterol concentration in normal and cholesterol-fed rabbits. *Atherosclerosis*, 19:369–380
59. Rodriguez-Martínez, H., Ekstedt, E., Einarsson, S. (1990). Acidification of epididymal fluid in the boar. *International Journal Andrology*, 13, 238-243.
60. Saez, T., E., B., P., V., Monclus, M., A., C., M., E., Clementi, M., and A. (2010). Hypercholesterolemia alters the functionality of sperm in rabbits. *PLoS One*, 5, 13457.
61. Sakkas, D., Leppens-Luisier, G., Lucas, H., Chardonens, D., Campana, A., Franken, D. R., and Urner, F. (2003). Localization of tyrosine phosphorylated proteins in human sperm and relation to capacitation and zona pellucida binding. *Biology of Reproduction*, 68, 1463–1469.
62. SEMERGEN, 3:193-199.
63. Sharlip, I. D., Jarow, J. P., Belker, A. M., Lipshultz, L. I., Sigman, M., and Thomas, A. J. (2002). Políticas de mejores prácticas para la infertilidad masculina. *Fertility and Sterility*, 77, 873–882.
64. Simón, L., Funes, A.K., Yapur, M.A., Cabrillana, M.E., Monclus, M.A., Boarelli, P.V. (2017). Disorders of the acrosome of Manchette during

spermiogenesis and low efficiency of the seminiferous tubules in a hypercholesterolemic rabbit model, *PLUS ONE*, 12(2).

65. Sutovski, P., and Manandhar, G. (2007). Mammalian spermatogenesis and sperm structure; anatomical and compartmental analysis. En: *The Sperm Cell: Production, Maturation, Fertilization, Regeneration* (E. De Jonge C. J and B. C. L. R, Eds.). Cambridge University Press.
66. Tabas, I. (2022). Consequences of cellular cholesterol accumulation: basic concepts and physiological implications. *Jornal Clinical Investigation*, 110(7):905–11.
67. Taylor, J.M., y Fan, J. (1997). Transgenic rabbit models for the study of atherosclerosis. *Frontiers in Bioscience*, 2:298–308.
68. Travis, A., J., Kropft., and G., S. (2002). The role of cholesterol output in regulating the fertilization potential of mammalian sperm. *Journal Clinic Investigation*, 110, 731–736.
69. Volle, D.H., Mouzat, K., Duggavathi, R., Siddeek, B., Dechelotte, P., Sion, B., Veysiere, G., Benahmed, M. y Lobaccaro, J.M. (2007). Multiple roles of the nuclear receptors for oxysterols liver X receptor to maintain male fertility. *Molecular Endocrinology*, 21: 1014–1027.
70. Wang, Y., Liu, X.P., Qin, D.N., Chen, S., and Li, Y.S. (2007). La obesidad inducida por la dieta afecta el desarrollo de los testículos en ratas púberas. *Andrology*, 13:514-519.
71. Watts, G.F., Gidding, S., Wierzbicki, A.S., Toth, P.P., Alonso, R., Brown, W.V. (2014). Integrated guide on the care of familial hypercholesterolemia of the FH International Foundation. *International Journal Cardiology*, 171(3):309–25.

