



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

**EFFECTO DE LA EXPOSICIÓN PERINATAL A *Passiflora incarnata* SOBRE LA
CONDUCTA SEXUAL, TESTOSTERONA, ESTRADIOL, FERTILIDAD Y
CALIDAD ESPERMÁTICA EN LA RATA MACHO ADULTA.**

T E S I S

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

P R E S E N T A :

M. V. Z. ARTURO AMARO ROMERO

Comité tutorial

Directora: Dra. Herlinda Bonilla Jaime

Asesora: Dra. Marcela Arteaga Silva

Asesora: Dra. Edith Arenas Ríos

Ciudad de México a 26 de Marzo del 2018.

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 Arturo Amaro Romero contó con el apoyo de la beca institucional de la Universidad Autónoma Metropolitana y la beca CONACYT mediante el número de registro CVU/Becario 717734/426260

MIEMBROS DEL JURADO



Doctora Edith Arenas Ríos.

Departamento en Biología de la Reproducción.

Correo electrónico: editharenas2000@yahoo.com.mx



Doctor Ahiezer Rodríguez Tobón.

Departamento de Biología

Correo electrónico: ahiezerrod@yahoo.com.mx



Doctora Marcela Arteaga Silva.

Departamento de Biología de la Reproducción.

Correo electrónico: arteaga1967@hotmail.com



Doctora Ofelia Limón Morales.

Departamento de Biología de la Reproducción.

Correo electrónico: ofelia.limon@yahoo.com

DEDICATORIA

A mi familia:

Gilberto Amaro Jaramillo, Laura Estela Romero Hinojosa, Gilberto Amaro Romero y Alberto José Amaro Romero.

A mi pareja:

Diana Cecilia Torres López.

A mis amigos y colegas:

Julio César Cervantes Bucio, Julio Cancino Aguilar, Erick Saúl Córdoba, Hernández, Juan Pablo Desentis Desentis, José Luis Payró Dueñas, Juan Manuel Ávila, Ricardo Rodríguez Medina.

A mis maestros:

Herlinda Bonilla Jaime, Edith Arenas Ríos, Marcela Arteaga Silva, Ruy Ortiz Domínguez, Braulio Hernández Godínez, Alejandra Ibáñez Contreras, Federación Canófila Mexicana.

RESUMEN

El éxito reproductivo de los animales está determinado por factores genéticos, hormonales, neuroquímicos y ambientales. Los factores hormonales y neuroendócrinos son importantes para la reproducción desde el desarrollo gestacional hasta la edad adulta, cuando se lleva a cabo la reproducción. Los factores ambientales, como la exposición a fármacos que alteran el balance hormonal y neuroquímico durante la gestación, causan alteraciones en el desarrollo de la conducta sexual, la espermatogénesis y por lo tanto en la fertilidad de los individuos afectados.

Los fármacos que se consideran inseguros para el producto en desarrollo son los ansiolíticos y antidepresivos. Debido a que el riesgo de padecer ansiedad y depresión se incrementa durante la gestación, estos fármacos son frecuentemente administrados durante la gestación aun con los riesgos que implica para el producto. La *Passiflora incarnata* es una droga vegetal utilizada para tratar la ansiedad y depresión que se utiliza durante la gestación para no recurrir al uso de fármacos sintéticos. Sin embargo, la exposición al extracto hidroalcohólico de *Passiflora incarnata* durante la etapa perinatal se ha relacionado con afectaciones sobre la conducta sexual masculina de las ratas macho cuando son adultas.

En el presente trabajo, la administración de 300 mg/Kg de un extracto hidroalcohólico de *Passiflora incarnata* a ratas durante la gestación y lactancia, no alteró la conducta sexual masculina de las ratas cuando fueron adultas, ya que no se observaron diferencias significativas en el número de eyaculaciones entre los

grupos control y experimental. En cuanto a la evaluación de la calidad espermática, esta tampoco se vio afectada, pues tanto el conteo espermático, el porcentaje de normalidad, así como, el porcentaje de viabilidad, no mostraron diferencias significativas entre los grupos control y experimental. En relación con los valores séricos de testosterona y estradiol, no se vieron modificados por la exposición a *Passiflora incarnata* durante la etapa perinatal, ya que no se encontraron diferencias entre los grupos y, además, el porcentaje de machos capaces de preñar a una hembra tampoco fue afectado por la exposición al extracto, pues no hubo diferencia significativa entre grupos, por lo cual, la fertilidad de la descendencia masculina, tampoco se vio afectada.

ABSTRACT

The reproductive success of animals is determined by genetic, hormonal, neurochemical and environmental factors. Hormonal and neuroendocrine factors are important for reproduction from gestational development to adulthood, when reproduction takes place. Environmental factors, such as exposure to drugs that alter the hormonal and neurochemical balance during pregnancy, cause alterations in the development of sexual behavior, spermatogenesis and therefore in the fertility of affected individuals.

The drugs that are considered unsafe for the product under development are anxiolytics and antidepressants. Because the risk of suffering from anxiety and depression increases during pregnancy, these drugs are often administered during pregnancy even with the risks involved for the product. The *Passiflora incarnata* is a vegetable drug used to treat anxiety and depression that is used during pregnancy to avoid resorting to the use of synthetic drugs. However, exposure to the hydroalcoholic extract of *Passiflora incarnata* during the perinatal stage has also been linked to effects on the male sexual behavior of male rats when they are adults.

In the present work, the administration of 300 mg / Kg of a hydroalcoholic extract of *Passiflora incarnata* to rats during pregnancy and lactation, did not alter the male sexual behavior of the rats when they were adults, since no significant differences were observed in the number of ejaculations between the control and experimental groups. Regarding the evaluation of sperm quality, this was not affected either, since both the sperm count, the percentage of normality, as well as the percentage

of viability, did not show significant differences between the control and experimental groups. In relation to the serum values of testosterone and estradiol, they were not modified by exposure to *Passiflora incarnata* during the perinatal stage, since no differences were found between the groups and, in addition, the percentage of males capable of pregnant a female Neither was affected by exposure to the extract, as there was no significant difference between groups, therefore, the fertility of the male offspring was not affected either.

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
	I.1. GABA y 5-HT en el neurodesarrollo.....	2
	I.2. Diferenciación Sexual.....	4
	I.2.1. Primera etapa.....	4
	I.2.2. Segunda etapa.....	4
	I.2.3. Tercera etapa.....	6
	I.3. Eje hipotálamo-hipofisario-gonadal.	7
	I.4. Conducta sexual masculina.	9
	I.4.1. Evaluación de conducta sexual masculina.....	11
	I.4.2. Efecto de la Testosterona y Estradiol sobre la conducta sexual masculina.....	11
	I.4.3. GABA y 5-HT sobre la conducta sexual masculina.....	13
	I.5. Calidad espermática.....	14
	I.5.1. Evaluación Espermática.....	15
	I.5.2. Participación de la Testosterona y Estradiol sobre la espermatogénesis y la fertilidad.....	16
	I.5.3. GABA y 5-HT sobre espermatogénesis y fertilidad.....	19
	I.6. <i>Passiflora incarnata</i>	21
II.	ANTECEDENTES.....	23
III.	JUSTIFICACIÓN.	25
IV.	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	27
V.	HIPÓTESIS.....	27
VI.	OBJETIVO GENERAL.....	27
VII.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
VIII.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	28

VIII.1.	Obtención del extracto.....	28
VIII.2.	Obtención de las ratas de estudio.....	29
VIII.3.	Evaluación de la conducta sexual.....	30
VIII.4.	Fertilidad.....	31
VIII.5.	Medición hormonal.....	32
VIII.6.	Calidad espermática.....	32
VIII.6.1.	Concentración espermática.....	33
VIII.6.2.	Vitalidad espermática.....	34
VIII.6.3.	Morfología espermática.....	34
VIII.7.	Análisis Estadístico.....	35
IX.	RESULTADOS.....	35
IX.1.	Efecto de la administración pre y posnatal de <i>Passiflora incarnata</i> sobre la conducta sexual masculina.....	35
IX.2.	Efecto de la administración pre y posnatal de <i>Passiflora incarnata</i> sobre la calidad espermática.....	37
IX.3.	Efecto de la administración pre y posnatal de <i>Passiflora incarnata</i> sobre la fertilidad de las crías macho adultas.	38
IX.4.	Efecto de la administración pre y posnatal de <i>Passiflora incarnata</i> sobre los valores séricos de Testosterona y Estradiol de las crías macho adultas.....	39
X.	DISCUSIÓN.	40
XI.	CONCLUSIÓN.	52
XII.	BIBLIOGRAFÍA.....	53

I. INTRODUCCIÓN

La alteración en el funcionamiento de un organismo o de una parte de él se conoce como trastorno. Los trastornos depresivos y ansiosos tienen una incidencia dos veces mayor en mujeres que en hombres, siendo la etapa reproductiva cuando más frecuentemente se observan y, dentro de esta, el período perinatal es en el que existe la mayor incidencia con un 18-19% de los casos (Monteiro y cols., 2014). Los tratamientos más frecuentemente utilizados son los antidepresivos inhibidores de la recaptura de serotonina (ISRS) e inhibidores de la enzima monoamino oxidasa (IMAO), así como, ansiolíticos como el diazepam, aún con los efectos que puedan ejercer sobre el producto en formación. Como alternativa para aminorar el riesgo para el producto, las mujeres pueden hacer uso de las drogas vegetales que consideran inocuas, como *Passiflora incarnata* (*P. incarnata*). Sin embargo, no hay suficientes estudios sobre la seguridad del uso de esta droga durante la gestación, ni sobre los efectos a largo plazo por ejemplo: sobre aspectos reproductivos de crías expuestas a ella en la edad adulta (Bacchi y cols., 2013).

En el caso de los animales, para que pueda llevarse a cabo la reproducción es necesario que ambos sujetos posean características hormonales y neuroquímicas adecuadas, lo cual, determinará la capacidad de producir gametos fértiles y llevar a cabo la cópula. Dichas características están determinadas desde el desarrollo embrionario temprano, tanto por la carga genética del individuo, como por el medio neuroquímico y hormonal adecuado (Agmo, 2007).

Cualquier modificación hormonal y neuroquímica en la madre, es un factor de riesgo para el producto. Por ello, se han realizado una gran cantidad de investigaciones para conocer la seguridad de los fármacos que pueden ser utilizados durante la gestación (Mc. Elhatton, 1994). De particular interés para los investigadores, son los fármacos que pueden modificar las concentraciones de testosterona (T) y estradiol (E₂) (Schulster, y cols., 2016), así como, aquellos que actúan sobre el sistema nervioso, modificando las concentraciones del ácido γ -aminobutírico (GABA) o serotonina (5-HT) (Rodríguez y Canseco 2017; Lychkova y Potapova, 2006).

I.1. GABA y 5-HT en el neurodesarrollo.

El GABA es un aminoácido no proteico que se encuentra presente en el sistema nervioso central (SNC) de mamíferos, en donde funciona como neurotransmisor inhibitorio del SNC en la edad adulta; sin embargo, antes del nacimiento, GABA funciona como neurotransmisor excitatorio pues estimula y guía la migración de neuronas, en las cuales, también induce la formación de proyecciones y sinapsis durante el desarrollo neuronal (Cortés y cols., 2011; Rodríguez y Canseco 2017).

La 5-HT es un neurotransmisor que se produce por la transformación del aminoácido triptófano en 5-hidroxitriptófano por acción de la enzima triptófano hidroxilasa. Este neurotransmisor está estrechamente vinculado con el estado de ánimo aunque los estudios lo han relacionado también con el neurodesarrollo (Shi y cols., 2018).

Kepser y Homberg (2015), han revisado la función de la 5-HT durante el desarrollo. En la rata, la 5-HT comienza a sintetizarse localmente en el rombencéfalo durante el día embrionario (E) 10.5. Al igual que GABA, la 5-HT está relacionada con el neurodesarrollo ya que sus funciones incluyen la neurogénesis, sinaptogénesis y el crecimiento de neuritas.

Con base en lo anterior, los medicamentos que producen modificaciones en las concentraciones de GABA y 5-HT, si se administran durante la gestación, pueden influir de manera significativa sobre el neurodesarrollo del feto, y en consecuencia, sobre aspectos como la conducta sexual cuando alcance la edad adulta (Aragón y cols., 2005; Rodríguez y Canseco (2017).

Existe otro evento conocido como diferenciación sexual, el cual, también se lleva a cabo durante la etapa gestacional (Agmo, 2007). De forma similar al neurodesarrollo, la correcta diferenciación sexual requiere de concentraciones adecuadas de GABA y 5-HT, de la correcta expresión genética, así como, de concentraciones adecuadas tanto de T como de E₂ (Hull y cols., 2006).

I.2. Diferenciación Sexual.

La diferenciación sexual puede ser dividida en 3 etapas:

I.2.1. Primera etapa.

Ocurre con la fertilización y se conoce como determinación cromosómica, ya que las hembras poseen cromosomas XX y los machos XY. Es importante considerar que, con la determinación cromosómica, se da origen a la expresión genética (Piprek, 2010).

I.2.2. Segunda etapa.

Esta etapa es conocida como diferenciación gonadal, ya que, en el cromosoma Y, está presente la región SRY (Sex-determining Region Y), misma que producirá el factor de transcripción SOX9 para la producción del Factor de Crecimiento Fibroblástico 9 (FGF9), que en asociación con el receptor nuclear Dax1, inducirán la formación y proliferación de las células de Sertoli, las cuales darán origen a los cordones testiculares durante el día 12 (Nel-Themaat y cols., 2011), además de producir la Hormona Antimülleriana (AMH), que inhibe el desarrollo de los conductos de Müller en el embrión masculino y mantiene los conductos de Wolff, los cuales, darán origen al epidídimo, al conducto deferente y a las vesículas seminales (Nel-Themaat y cols., 2011).

Otro tipo celular que se diferencia durante la gestación son las células de Leydig, mismas que se ubican en el espacio intersticial testicular y una de sus funciones es la producción de T durante la etapa fetal y adulta. El origen de las células de

Leydig no es muy claro pero se especula que derivan del primordio adrenogenital, mismo que da origen a las glándulas suprarrenales pues también poseen la capacidad de sintetizar T (Barsoum y Yao, 2010).

Aunque prácticamente toda la producción de esteroides ocurre en el compartimento intersticial del testículo, pequeñas cantidades de pregnenolona pueden ser sintetizadas por las células de Sertoli dentro de los túbulos seminíferos. Las células esteroideogénicas, pueden obtener colesterol *de novo* dentro de la célula, de las lipoproteínas circulantes en suero o a partir de la hidrólisis de ésteres de colesterol almacenados dentro de gotas lipídicas para producir las hormonas esteroideas (Figura 1) (Stocco y McPhaul, 2001).

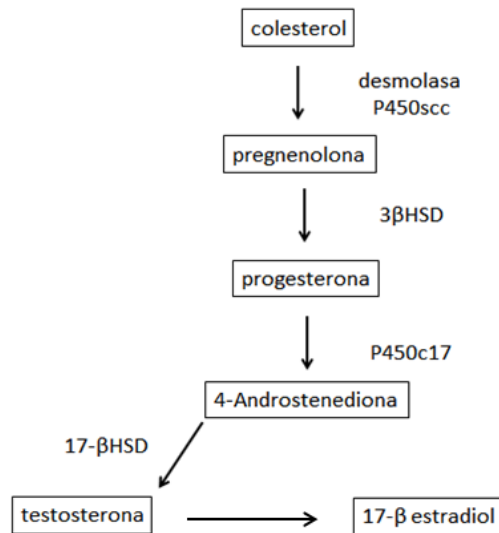


Figura 1. Síntesis de testosterona y estradiol a partir de colesterol.

1.2.3. Tercera etapa.

En la tercera etapa se desarrolla el sexo fenotípico como consecuencia de la producción de esteroides sexuales por parte de la gónada diferenciada. Los esteroides sexuales producidos en las gónadas confieren al SNC una organización sexualmente dimórfica (Manoli y cols., 2013). Esto ocurre durante un período conocido como etapa crítica, que en la rata de laboratorio ocurre durante el día 18 E y hasta el día 10 postnatal (P), después del período crítico, el SNC ya se ha vuelto sexualmente dimórfico y la exposición a esteroides sexuales ya no es capaz de modificarlo, aunque hay estudios que señalan que este período puede abarcar hasta el día 30 P (Sakamoto, 2012).

La masculinización del SNC en la rata, según la teoría de la aromatización, es dependiente de estrógenos, los cuales ejercen un efecto organizacional de áreas del SNC como el Núcleo Sexualmente Dimórfico del Área Preóptica Medial (APOm), cuyo volumen está relacionado con el sexo, pues se ha encontrado que es mayor en machos que en hembras y que está implicado en la conducta sexual masculina (CSM) (Nel-Themaat y cols., 2011; Page, 2006).

El impacto del efecto organizacional persiste durante toda la vida pues las hormonas influyen en la supervivencia celular, conectividad neuroanatómica así como especificación neuroquímica (Hines, 2011). Gracias al efecto organizacional del E₂ sobre el SNC, la T será capaz de estimular el APOm en el macho adulto, y así, dar paso al segundo efecto de los esteroides sexuales, conocido como activacional, ya que activa la CSM (Hines, 2011; Scerbo, 2015).

De forma similar al desequilibrio de los neurotransmisores GABA y 5-HT, la modificación de las concentraciones de T y E₂ por la administración de inhibidores de la enzima aromatasa, también puede alterar la función organizacional del E₂ sobre el SNC, motivo por el cual, se puede impedir que se active de forma apropiada la CSM durante la edad adulta. Además, se ha reportado que el bloqueo de los receptores androgénicos durante la gestación, resulta en una disminución en la producción de T durante la edad adulta (Leonelli y cols., 2011), de tal forma que, se sugiere que el funcionamiento del eje hipotálamo-hipofisario-gonadal (HHG) puede verse alterado por estos medicamentos, influyendo negativamente sobre la capacidad de un individuo para su reproducción (Leonelli y cols., 2011).

I.3. Eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (HHG).

Las neuronas productoras de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) se localizan principalmente en el área preóptica y el núcleo arcuato. Estas producen de forma constante GnRH y la liberan de forma pulsátil en la eminencia media a través de prolongaciones axónicas para inducir la liberación de hormona luteinizante (LH) y hormona folículo estimulante (FSH), también secretada de forma pulsátil por los gonadotropos ubicados en la hipófisis (Jia y Wan, 2014). La LH alcanza el testículo a través del torrente sanguíneo e interactúa con receptores específicos de LH en la membrana de las células de Leydig (Barsoum y Yao,

2010). Cuando la LH actúa sobre las células de Leydig se produce T, que junto con FSH, promueven el desarrollo de las células de Sertoli (Carreau y cols., 2007).

La enzima aromatasa presente en las células de Leydig y en las células de Sertoli, transforma T a E₂. Las células de Leydig y Sertoli, junto con T y E₂, dirigen la producción de los espermatozoides (Jia y Wan, 2014). Las hormonas gonadales son capaces de regular el eje HHG por un proceso de retroalimentación negativa y positiva (Carreau y cols., 2007). El hipotálamo y la hipófisis poseen receptores para las hormonas gonadales, lo que les permite identificar si existe suficiente cantidad de estas hormonas. Cuando la T es aromatizada, su concentración disminuye y se eleva la cantidad de E₂, lo que estimula la secreción de LH en la hipófisis y la producción de T en las células de Leydig. Cuando la T alcanza su concentración fisiológica, se inhibe la secreción de LH, y se estimula la síntesis y secreción de FSH en los gonadotropos (Jia y Wan, 2014).

En la rata macho adulto, los valores normales de T son de 0.2 a 8 ng / mL (Bonilla y cols., 2006), y los de E₂ de 10 a 27 pg / mL (Kobayashi y cols., 2013). La retroalimentación positiva y negativa del eje HHG mantiene las concentraciones fisiológicas de T y E₂ para que la CSM pueda ser desplegada (Morales, 2017; Marciag 2006).

I.4. Conducta Sexual Masculina.

Las ratas son capaces de realizar conductas específicas para demostrar su potencial reproductivo y su aptitud como pareja cuando son adultas. A esto se le conoce como conducta sexual, la cual incluye tres componentes denominados motivacional, precopulatorio y ejecutorio (Eelke y cols., 2014).

El componente motivacional está formado por los comportamientos de búsqueda del contacto sexual, el cual, refleja un estado de motivación subyacente. En él, se observan conductas de acicalamiento, activación motora, conductas de orientación a la hembra, inspección olfativa y gustativa, marcaje, persecución y latencia de monta; este componente inicia cuando el macho recibe las señales olfatorias de la hembra (Agmo, 2007). En ella participan la mucosa olfatoria y el órgano vomeronasal, que se comunica con el tracto olfatorio para transformar las señales químicas en un impulso nervioso que viaja a través del núcleo anterior medial y el núcleo cama de la estría terminal, ubicados en el sistema límbico, cuya activación puede ser evaluada mediante la expresión de C-Fos, un gen de expresión temprana que indica la activación neuronal en este caso producida por la presencia de una hembra (Caquineau, 2012).

El componente precopulatorio implica la búsqueda de la hembra, durante este período se observa que el macho realiza la persecución de la hembra y se produce la erección del pene con el objetivo de dar paso al siguiente componente, conocido como ejecutorio o consumatorio. Durante esta fase se produce la cópula

propriadamente, la cual, se evalúa mediante los indicadores de conducta de monta, conducta de intromisión y conducta de eyaculación (Hull y cols., 2006).

La monta consiste en que el macho toma con los miembros torácicos los flancos de la hembra e inicia una serie de compresiones poco profundas con la pelvis mientras el pene se encuentra parcialmente erecto. La hembra asume una postura rígida de lordosis, con la espalda plana o cóncava y su cola desviada hacia un lado, dejando al descubierto la vagina (Agmo, 2007). La intromisión se define si el macho detecta la vagina y realiza un empuje más profundo, seguido de un salto, este patrón está asociado con la intromisión del pene y es usado para conocer el número de intromisiones en ratas. La eyaculación se identifica mediante el cierre ajustado con los miembros torácicos del macho, lo que normalmente sugiere que es una intromisión eyaculatoria (Hull y cols., 2006).

Después de la eyaculación, la rata entra en un periodo de quiescencia sexual, este periodo puede durar de 5 a 10 minutos. Después de realizar 7 a 8 eyaculaciones, la rata experimenta saciedad sexual, que consiste en la ausencia de conducta sexual durante 1 a 3 días (Hull y cols., 2006).

Morales (2017) y Marciag (2006), señalan que la regulación de la CSM comienza durante la etapa gestacional. Diversos estudios muestran que la influencia de la T, E₂, GABA y 5-HT sobre la regulación de la CSM, ocurre desde el desarrollo gestacional hasta la edad adulta en la rata (Graham y Desjadins, 1980).

1.4.1. Evaluación de conducta sexual masculina.

La evaluación de la CSM de la rata puede indicar si un fármaco produce efectos sobre la reproducción (Agmo, 2007). Así, los modelos de estudios de CSM en rata son ampliamente utilizados (Morales, 2017). Dentro de la evaluación de la CSM se observan varias conductas que pueden indicar si la afectación de la CSM es producida a nivel del componente motivacional, precopulatorio o ejecutorio, y así, inferir el mecanismo que se ha alterado, ya sea hormonal y/o neuroquímico (Morales, 2017). Según Agmo (1997), si un macho no realiza la intromisión del pene en 30 minutos, se considera sexualmente inactivo. Si un macho intromite, pero no eyacula dentro de 30 min, se le da 30 minutos después de la primera intromisión, si no eyacula, entonces se considera inactivo. La inactividad sexual de un macho puede darse, como se mencionó previamente, por la desregulación hormonal de T y E₂ y por cambios neuroquímicos, principalmente en GABA y 5-HT durante el período crítico del desarrollo.

1.4.2. Efecto de la Testosterona y Estradiol sobre la Conducta Sexual Masculina.

Agmo y cols. (1997), señalan que tanto la T como el E₂, obtenido mediante aromatización, tienen un papel fundamental sobre la CSM. Las ratas macho *knock out* para aromatasa, y por lo tanto, carentes de E₂, presentan una conducta sexual severamente afectada, lo que pone de manifiesto la importancia del E₂ durante el período crítico y el efecto negativo sobre la CSM durante la edad adulta. De

acuerdo con ellos, Hull y cols. (2006), señalan que, los receptores alfa estrogénicos ($RE\alpha$) están relacionados con la masculinización los circuitos cerebrales, mientras que las acciones a través de los receptores beta estrogénicos ($RE\beta$) están vinculadas con la defeminización de los circuitos. Otro estudio muestra que, en ratas *knock out* para $RE\alpha$, despliegan una conducta sexual deficiente durante la edad adulta. En contraste, las ratas *knock out* $RE\beta$, no muestran estas deficiencias por lo que se piensa que los $RE\alpha$ masculinizan mientras que los $RE\beta$ defeminizan el SNC (Schulster, y cols., 2016).

La importancia de T y E_2 sobre la CSM también ha sido estudiada en ratas macho después de la castración, en las que se observa un incremento en la latencia de intromisión y disminución en el número de intromisiones y de eyaculaciones. La importancia de la T se hace evidente, pues la castración, priva a las ratas del estímulo androgénico y la CSM desaparece en el poco tiempo, mientras que el reemplazo con T exógena, es capaz de restablecerla (Schulster, y cols., 2016). Previamente, Agmo (2007) señala que, la administración conjunta de T y E_2 , mostró ser más eficiente para restablecer la CSM que únicamente la administración de T, lo que muestra que el E_2 también participa en la CSM.

Además de la T y el E_2 , otros factores, como los neurotransmisores GABA y 5-HT, se han asociado con el desarrollo y la regulación de la CSM en la rata.

I.4.3. GABA y 5-HT sobre la Conducta Sexual Masculina.

Diferentes estudios señalan que GABA y 5-HT pueden modificar los parámetros de la CSM cuando sus concentraciones son modificadas farmacológicamente y mediante el bloqueo de sus receptores, ya sea en etapa gestacional o durante la edad adulta (Hull y Domínguez, 2015; Rayen y cols., 2013).

En el caso del GABA, su acción es principalmente inhibitoria durante la edad adulta, siendo este, el neurotransmisor inhibitorio más común en el cerebro. Por ello, en la rata macho, los efectos que produce GABA en el SNC, son principalmente inhibitorios de la CSM (Cortés y cols., 2011).

Al respecto, Hull y Domínguez (2015), comentan que la estimulación de los receptores GABAA y GABAB mediante la administración de agonistas, puede alterar solamente la cópula sin producir efectos sobre la actividad motora. De acuerdo con ellos, Rodríguez y Canseco (2017), proponen que, el bloqueo de los receptores GABAA dentro del APOm, reduce la latencia de eyaculación en ratas sexualmente expertas. Mediante el bloqueo de la función de los receptores GABAA en el área tegmental ventral, se produce la liberación de dopamina por el núcleo accumbens, facilitando la expresión de la CSM en la rata. Aunado a esto, el bloqueo en la síntesis de GABA provoca una reducción del período refractario y el aumento del número de eyaculaciones durante la prueba de CSM, lo que pone de manifiesto que el GABA y la estimulación de su receptor GABAA inhiben la CSM (Rodríguez y Canseco, 2017).

Como ocurre con el GABA, la modificación del sistema serotoninérgico también tiene influencia negativa sobre la CSM. Se ha reportado por varios autores que, la exposición a fármacos antidepresivos de hembras gestantes, puede alterar la CSM de la descendencia masculina. De acuerdo con Rayen y cols. (2013), el tratamiento fluoxetina, un ISRS provoca comportamientos sexuales alterados en la rata. De forma similar, citalopram y fluoxetina, ambos ISRS, administrados en la etapa posnatal temprana (P 8 al P 21), provoca una disminución en el número de montas y un aumento en las latencias de monta, intromisión y eyaculación durante la edad adulta en la rata (Maciag y cols., 2006).

La evidencia que ha surgido mediante el estudio de T, E₂, GABA y 5-HT, sus funciones en el desarrollo temprano y en la regulación de la CSM, ha mostrado que los fármacos antidepresivos, ansiolíticos e inhibidores de la enzima aromatasa, representan un riesgo para el producto en formación, que puede mostrar alteraciones de la CSM. Además de la CSM, también se han reportado alteraciones en la producción espermática en ratas expuestas a estos fármacos, lo que influye negativamente en la reproducción.

I.5. Calidad espermática.

La calidad espermática se refiere a la capacidad del espermatozoide para lograr la fertilización (Almeida y cols., 2000). Por ello, la disminución de la calidad espermática por cualquier factor, puede producir infertilidad, impactando así, sobre la capacidad reproductiva del individuo (Aragón y cols., 2005).

Al igual que otros aspectos de la reproducción, la formación de los espermatozoides (espermatogénesis), es un proceso finamente regulado que implica una serie coordinada de divisiones mitóticas y meióticas, etapas de diferenciación celular e interacciones intercelulares reguladas de manera autócrina, parácrina y endócrina que, en la rata, requiere de 60 días para completarse (Almeida y cols., 2000).

Los espermatozoides para su estudio pueden ser obtenidos del epidídimo, órgano reproductor en donde los espermatozoides son madurados y dotados con características específicas para su posterior fertilización. Los espermatozoides poseen diferentes características dependiendo del sitio del que se obtengan siendo la *cauda* del epidídimo, el sitio de obtención más reportado en el caso de la rata (Carreau y Hess, 2010). La capacidad de los espermatozoides para fertilizar el óvulo, depende de un estado hormonal y neuroquímico adecuado durante el período de diferenciación sexual y durante la edad adulta (Seed y cols., 1996).

I.5.1. Evaluación Espermática.

Dentro de la calidad espermática pueden ser evaluados aspectos tanto físicos y químicos, como macroscópicos y microscópicos, que pueden ser afectados por diversos tratamientos. Los aspectos microscópicos incluyen:

- *Concentración espermática.* Es el número de espermatozoides, expresado en millones por mililitro, para conocer la concentración, se utiliza una cámara de conteo celular (Neubauer) (Seed y cols., 1996).

- *Movilidad.* Este parámetro se divide en A) progresiva rápida y lenta, B) in situ y C) inmóvil. Cuando los espermatozoides salen del testículo al epidídimo presentan movilidad limitada o nula, la movilidad se adquiere gradualmente durante su paso por el epidídimo (Brahem y cols., 2011).
- *Vitalidad.* Para conocer la vitalidad el método más utilizado es la tinción con colorante vital. El fundamento de esta técnica es que la membrana de los espermatozoides muertos se vuelve permeable a la tinción. Así, se pueden diferenciar las células vivas de las muertas (OMS, 2015)
- *Morfología.* Una vez que se ha realizado la evaluación de la vitalidad, se pueden contar las anomalías morfológicas, dividiéndolas en anomalías de cabeza, cuerpo y *cauda* (Lucio y cols., 2017; Aksoy y cols., 2012; OMS, 2015).

Diferentes factores pueden producir que los parámetros de la calidad espermática se vean afectados. Estos incluyen alteraciones en las concentraciones de T, E₂, GABA y 5-HT. Como se describe a continuación, la alteración de estos factores durante el desarrollo y la edad adulta, puede ser perjudicial para la espermatogénesis, impactando directamente en la fertilidad (Aksoy y cols., 2012).

I.5.2. Participación de la Testosterona y Estradiol sobre espermatogénesis y fertilidad.

Las acciones de la T son indispensables para la espermatogénesis. A diferencia de la CSM, el efecto sobre la espermatogénesis no se puede evaluar mediante

castración, para ello, se utilizan fármacos anti-androgénicos. Como lo señalan Leonelli y cols. (2011), el tratamiento de ratas macho adultas con un bloqueador de receptores para andrógenos, flutamida, disminuye el conteo espermático y la fertilidad. Como ya se ha mencionado, la T se puede metabolizar a estrógenos, por lo que la alteración de T, también afecta a la producción de E₂, lo que también produce consecuencias negativas para la espermatogénesis (Gerardin y Pereira, 2002). Posiblemente esto ocurre porque, de acuerdo con Lombardi y cols. (2013), el E₂ está involucrado en la proliferación y la homeostasis de las células de Sertoli (Carreau y Hess, 2010).

Por lo anterior, al igual que la CSM, la regulación de la espermatogénesis comienza desde el desarrollo temprano, cuando se lleva a cabo la diferenciación gonadal, momento en el que se diferencian las células de Leydig, Sertoli y se produce la formación de los cordones espermáticos (Carreau y cols., 2007).

Estudios enfocados en la importancia que tiene la enzima aromatasa para la espermatogénesis han demostrado que, la ausencia de esta enzima en la rata macho, impide a los espermátocitos realizar una diferenciación adecuada, las espermátides redondas degeneran y se reduce el diámetro de los túbulos seminíferos, generando esterilidad en individuos de 3 meses de edad (Gerardin y Pereira, 2002).

La correcta función del epidídimo, en donde se lleva a cabo la maduración espermática, también está regulada por los estrógenos desde el periodo prenatal, y existen receptores RE α y RE β en las células epiteliales de todas las regiones del

epidídimo (Martínez-Traverso y Pearl, 2015). Una vez liberados los espermatozoides del testículo, aún no han adquirido la capacidad para fertilizar al ovocito, esta capacidad la adquieren cuando transitan por el epidídimo, proceso conocido como: maduración espermática epididimaria (Carreau y Hess, 2010).

Adicionalmente, ratas *knock out* para el RE α , presentan alteración de la organización epitelial y la osmolaridad del fluido luminal en el epidídimo. Los espermatozoides exhiben un flagelo enrollado, una mayor incidencia de reacción acrosomal espontánea, reducción severa de la motilidad e incapacidad para fertilizar un óvulo *in vitro* (Pereira y cols., 2014).

Por otro lado, el tratamiento con fulvestrant, un fármaco antagonista de los receptores E α , induce cambios morfológicos en el epidídimo, aumenta el número de vesículas en el citoplasma de las células estrechas, de gránulos lisosomales en las células claras del corpus y de la *cauda*; disminuye la concentración de espermatozoides en la *cauda* del epidídimo y causa la disminución en la motilidad progresiva, impactando negativamente en la fertilidad (Pereira y cols., 2014).

Lo anterior muestra que la alteración en las concentraciones de T y E $_2$, ya sea durante la gestación o durante la edad adulta, afecta la espermatogénesis y la fertilidad de los sujetos machos, por lo que, la exposición a productos con acción anti-estrogénica o anti-androgénica durante el desarrollo temprano, puede representar un riesgo para el producto en formación (Martínez-Traverso y Pearl, 2015).

I.5.3. GABA y 5-HT sobre la espermatogénesis y fertilidad.

Así como T y E₂ juegan un papel fundamental en la espermatogénesis, también lo hacen GABA y 5-HT. Se ha reportado que la 5-HT es necesaria para el desarrollo de la espermatogénesis normal en ratas, pues la 5-HT ha sido identificada en los conductos deferentes, en donde facilita la contracción muscular. Además, la 5-HT también estimula la producción de LH, lo que activa maduración de las espermatídes hacia espermatozoides (Lychkova y Potapova, 2006).

Aragón y cols. (2005), han estudiado el efecto del tratamiento con p-cloroamfetamina (pCA), un inhibidor químico de la síntesis del 5-HT, observando que reduce la concentración de 5-HT en el hipotálamo, aunque no se disminuye la concentración de esteroides sexuales ni de LH, la concentración de FSH incrementa, lo que sugiere que puede producir alteraciones en el epitelio seminífero. Maciag y cols. (2014), publicaron que las ratas macho prepúberes (entre 45 y 65 días de edad), expuestas a pCA, muestran un incremento en la apoptosis de células germinales, afectando la espermatogénesis y la fertilidad.

Otros estudios señalan la importancia que tiene la 5-HT en la espermatogénesis mediante el estudio de fármacos antidepresivos que actúan mediante la inhibición de la recaptura de 5-HT. Por ejemplo, las ratas macho expuestas a fluoxetina durante la gestación y lactancia (día E 0 al P 21), muestran reducción de la concentración espermática, disminuye la altura del epitelio seminífero y el diámetro de los túbulos seminíferos durante la edad adulta. (Revisado en: Kepser y Homberg, 2015). La administración de fluoxetina durante la gestación (desde E

13 hasta el E 21), reduce la longitud del epitelio seminífero en un 17%, el volumen total de células de Leydig se reduce en un 30%, la producción diaria de espermatozoides baja 18% y la T plasmática aumenta 49% en los animales expuestos (Monteiro y cols., 2014). De igual manera, la fluoxetina administrada a hembras gestantes desde el día E 0 hasta el P 21, produce disminución del número de células de Sertoli en la descendencia masculina (Ramos y cols., 2015).

Algunos autores han sugerido que el GABA produce un efecto modulador en la adquisición de la capacidad esteroidogénica durante el desarrollo del testículo (Frungieri y cols., 1996). Por su parte, Geigerseder y cols. (2003), mencionan que GABA participa como regulador autócrino o parácrino de la función testicular, así como, en la maduración y diferenciación de las espermatogonias. En estas últimas, la estimulación de los receptores GABA, inhibe su proliferación *in vitro*, por lo que una de las funciones de GABA podría ser la inhibición de la espermatogénesis interfiriendo en la diferenciación de las espermatogonias (Du y cols., 2013).

Hasta el momento, se ha remarcado la importancia de los factores hormonales y neuroquímicos (T, E₂, GABA y 5-HT) para un individuo en desarrollo y durante la edad adulta. Además, cómo la exposición a sustancias que modifican las concentraciones de estos factores durante el desarrollo provoca alteraciones en el largo plazo (Singh y cols., 2017), las cuales, se pueden manifestar como deficiencias de la CSM, cambios en el funcionamiento del eje HHG, disminución de la calidad espermática y por lo tanto afectando la fertilidad (Mingoti y cols., 2003; Leonelli y cols., 2011).

Como se mencionó al principio, la etapa perinatal es en la que se observa mayor incidencia de ansiedad y depresión en una mujer (Monteiro y cols., 2014). Además de que el consumo de antidepresivos y ansiolíticos pueden ser un riesgo para el producto en formación, por lo cual, las mujeres utilizan drogas vegetales que consideran inocuas, como *Passiflora incarnata*, cuyas propiedades ansiolíticas han sido ya documentadas por varios autores (Nassiri y cols., 2007; Singh y cols., 2011; Elsas y cols., 2010; Patel y cols., 2012; Dhawan y cols., 2002). Sin embargo, también se ha reportado que contiene compuestos que podrían ser un factor de riesgo para el correcto desarrollo de un individuo (Bacchi y cols., 2013).

1.6. Passiflora incarnata.

P. incarnata es un arbusto de la familia Passifloraceae, la cual comprende más de 500 especies distribuidas por Australia, Asia y América. El extracto hidroalcohólico contiene compuestos que exhiben efectos bioquímicos, psicofarmacológicos y de comportamiento en el organismo (Nassiri y cols., 2007; Singh y cols., 2011; Ghedira y Goetz, 2013). Debido a que contiene GABA, su acción ansiolítica ha mostrado ser comparable con oxazepam (un fármaco ansiolítico), aunque no muestra tantos efectos secundarios (Akhondzadeh y cols., 2001). Además de contener GABA entre un 2 a 3.8 %, los alcaloides harmala (harman, harmol, harmina, harmalol y harmalina) presentes en *P. incarnata*, se piensa que inducen un efecto ansiolítico mediante la unión a receptores GABA (Elsas y cols., 2010; Patel y cols., 2012). También se ha reportado que estos alcaloides pueden

producir acciones antidepresivas debido a que son inhibidores reversibles de la enzima monoamino-oxidasa A (MAO-A), y la inhibición de esta enzima, reduce la degradación de noradrenalina y 5-HT incrementando su concentración en el SNC. Además de la inhibición de la MAO-A, se sabe que estos alcaloides son capaces de actuar sobre el receptor serotoninérgico 2A (5HT2A), lo que podría incrementar su efecto antidepresivo (Jafarpoor y cols., 2014). También se ha reportado que, el extracto hidroalcohólico de *P. incarnata*, contiene los flavonoides: apigenina, luteolina, quercetina, kaempferol, vitexina, isovitexina, orientina y crisina hasta en un 2.5%, los cuales se han relacionado con la inhibición de la enzima aromatasa (Elsas y cols., 2010).

Dhawan y Sharma (2002), aislaron de *P. incarnata* una fracción de benzoflavonas (BZF), la cual, señalan que es capaz de restablecer la falta de libido y azoospermia, así como la CSM alterada por alcohol, nicotina y tetrahidrocanabinol en ratas adultas. Por ello, proponen que tiene la capacidad de inhibir a la enzima aromatasa y de elevar la disponibilidad de T. Se ha reportado que la enzima aromatasa posee mayor afinidad por los compuestos flavonoides que por la androstenediona y la T, por lo que su funcionamiento podría estar relacionado con la competencia por el sitio activo de la enzima (Kellis, 1986).

Debido a que *P. incarnata* posee componentes con actividad comparable a los ansiolíticos, antidepresivos e inhibidores de la enzima aromatasa (Nassiri y cols., 2007; Singh y cols., 2011), se propone, analizar el efecto de la exposición perinatal al extracto hidroalcohólico de *P. incarnata* sobre las concentraciones de

testosterona y estradiol, conducta sexual masculina y calidad de los espermatozoides.

II. ANTECEDENTES.

A pesar de que la psicoterapia es recomendada como tratamiento para la ansiedad durante la gestación, las mujeres que no responden a ella buscan alternativas como la fitoterapia para evitar que empeoren los síntomas (Epstein y cols., 2014). Sin embargo, los posibles efectos sobre el crecimiento y el desarrollo fetal, y en particular sobre el desarrollo postnatal, son poco conocidos (Bacchi y cols., 2013). Se ha reportado que la exposición a antidepresivos durante la gestación, puede alterar el desarrollo de aspectos reproductivos en la descendencia masculina (Bacchi, 2013). De modo similar, las ratas que no producen E_2 porque carecen de enzima aromatasa, presentan problemas reproductivos que se manifiestan con deficiencias en la conducta sexual, calidad espermática y fertilidad (Nel-Themaat y cols., 2011; Page, 2006).

Uno de los problemas para estudiar los efectos de la exposición de fármacos antidepresivos, ansiolíticos en útero a largo plazo en humanos, es la falta de continuidad del estudio en diferentes etapas del desarrollo del individuo como la niñez, adolescencia y en la vida adulta, por lo que es posible que tal exposición pueda generar anomalías neuroconductuales y funcionales tardías (Llorente y cols., 2011). Esta hipótesis se sustenta por el hecho de que el desarrollo del SNC es susceptible a diferentes tratamientos, generando cambios organizacionales

permanentes. Por lo que los modelos animales como la rata son de gran importancia para estudios longitudinales, como es el efecto del tratamiento con *P. incarnata* durante la gestación o postnatal a largo plazo (Fragoso y cols., 2017).

Los estudios del efecto de *P. incarnata* sobre los aspectos reproductivos son escasos y los pocos que se han realizado frecuentemente muestran resultados contradictorios. Por ejemplo, se ha señalado que el extracto hidroalcohólico de *P. incarnata* puede producir contracciones en útero de rata aislado (Ruggy y Smith, 1946), por lo que está presente la sugerencia de que debe usarse con precaución durante el embarazo (Sadraei y cols., 2003). Sin embargo, Boll y cols. (2014), sostienen que no encontraron influencia sobre el tiempo normal de gestación ni encontraron signos clínicos de toxicidad materna en el perfil hepático y reproductivo cuando se administra por sonda a ratas gestantes.

En ratas adultas se ha administrado la fracción de benzoflavonas obtenida de extracto hidroalcohólico de la *P. incarnata* como un modelo para evaluar su utilidad como tratamiento para la disminución de la libido y azoospermia inducidos por alcohol, nicotina y tetrahidrocanabinol (Dhawan y Sharma, 2002). La fracción de benzoflavonas administrada vía oral incrementa la concentración espermática, aumenta la motivación sexual, así como la ejecución sexual (Dhawan y Sharma, 2003). Esto puede ser producido porque las benzoflavonas contenidas en el extracto hidroalcohólico inhiben la enzima aromatasa (Dhawan y Sharma, 2002), lo que podría significar un riesgo para el producto en desarrollo.

Bacchi y cols. (2013), sostienen que la administración del extracto hidroalcohólico de *P. incarnata* en ratas gestantes desde el día cero de gestación hasta el día 21 postnatal no induce abortos, alteraciones en el tamaño de la camada, en el peso de la camada, la ganancia de peso corporal, día de apertura vaginal o separación del prepucio. Tampoco afecta el peso de los testículos, epidídimo, próstata, niveles de T, producción diaria de espermatozoides ni el conteo espermático de cabeza, cuerpo y *cauda* del epidídimo. Sin embargo, las crías macho de las madres expuestas a 300 mg/kg de *P. incarnata*, fueron sexualmente inactivos en la edad adulta, pues únicamente el 55 % de ellas pudo realizar la intromisión y solo el 33 % pudo concretar la eyaculación durante la interacción con una hembra receptiva. Esta reducción en la conducta sexual sugiere que la administración de *P. incarnata* durante la gestación puede ser la responsable (Bacchi y cols., 2013).

III. JUSTIFICACIÓN.

El consumo de *P. incarnata* es ampliamente difundido debido a que su venta no requiere receta médica, a que se tiene la creencia de que no produce daño por ser un producto naturista y a que sirve para aliviar la ansiedad y depresión que son frecuentes durante el embarazo, momento en el que se presenta la mayor incidencia de depresión y ansiedad (18-19 %) (Monteiro y cols., 2014).

Uno de los problemas para estudiar en humanos los efectos de la exposición a fitofármacos en el largo plazo, durante la gestación, es la falta de continuidad del estudio en diferentes etapas del desarrollo del individuo como la niñez,

adolescencia y en la vida adulta (Agmo, 2007). Por lo que es posible que tal exposición pueda generar anomalías neuroconductuales y reproductivas. Esto tiene sustento porque el desarrollo del SNC es susceptible a diferentes tratamientos, generando cambios funcionales. Por lo que los modelos animales como la rata son de gran importancia para estudios longitudinales, como es el efecto del tratamiento con *P. incarnata* durante el período perinatal en largo plazo (Agmo y cols., 1997).

Se ha reportado que el consumo de *P. incarnata* durante la gestación afecta la CSM en la rata (Bacchi y cols., 2013). Por lo que es necesario hacer una evaluación de más parámetros involucrados en aspectos reproductivos y endócrinos, como la evaluación de la concentración de E₂ cuya importancia para el desarrollo de la CSM, la calidad espermática y la fertilidad ha sido descrita en párrafos anteriores. De acuerdo con los antecedentes, *P. incarnata* parece no afectar el peso de los órganos sexuales secundarios, sin embargo podría modificar la calidad espermática y fertilidad, parámetros que no han sido evaluados. Por lo tanto, la realización de esta investigación aportaría más información sobre alteraciones que pudiera producir el consumo de este producto sobre la reproducción.

IV. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Cómo la administración perinatal de *P. incarnata* podría alterar las concentraciones de T y E₂, reflejándose en cambios en la CSM y la calidad espermática de la rata macho adulta?

V. HIPÓTESIS.

Si el extracto hidroalcohólico de *P. incarnata* administrado en la etapa perinatal, modifica las concentraciones de T y E₂, entonces se alterarán los parámetros de CSM, calidad espermática y la fertilidad.

VI. OBJETIVO GENERAL.

Analizar el efecto de la exposición perinatal al extracto hidroalcohólico de *P. incarnata* sobre las concentraciones séricas de testosterona y estradiol, conducta sexual y calidad de los espermatozoides.

VII. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- VII.1. Analizar el efecto del tratamiento perinatal del extracto hidroalcohólico de *P. incarnata* sobre las concentraciones séricas T y E₂ en ratas macho adulta.
- VII.2. Determinar el efecto de la exposición perinatal del extracto hidroalcohólico de *P. incarnata* sobre la conducta sexual de la rata macho adulta.
- VII.3. Evaluar el efecto de la administración perinatal del extracto hidroalcohólico de *P. incarnata* sobre la calidad espermática en rata.
- VII.4. Determinar el efecto de la administración del extracto hidroalcohólico de *P. incarnata* perinatal sobre la fertilidad de la rata adulta.

VIII. MATERIAL Y MÉTODOS.

- VIII.1. Obtención del extracto.

El extracto fue adquirido de un distribuidor comercial estandarizado con el objetivo de evitar variaciones en la composición del mismo. Es un extracto hidroalcohólico que contiene 300 mg/mL de las partes aéreas de *P. incarnata* hecha por Hawaii Pharm LLC ®.

VIII.2. Obtención de las ratas de estudio.

La investigación se realizó de acuerdo a la NOM-062-ZOO-1999, especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales de laboratorio (Aluja, 2002).

Se utilizaron 20 ratas hembra adultas de la cepa Wistar con un peso promedio de 300 g y de tres meses de edad del Bioterio de la Universidad Autónoma Metropolitana campus Iztapalapa. Mediante citología vaginal, se detectó a las hembras en proestro, las cuales fueron colocadas en presencia de machos sexualmente expertos (2 hembras por cada macho), permitiéndoles la cópula hasta que los machos alcanzaron dos eyaculaciones como mínimo y verificando la presencia del tapón vaginal. A este día se le tomó como el día 0 de gestación (Singh, 2017).

Las hembras fueron separadas en dos grupos, Pasiflora (PI) o Control (Con). A cada grupo se le administró vía intragástrica, los siguientes tratamientos: grupo Control (0.5 mL de solución salina; Con) y grupo experimental (300 mg / kg de *P. incarnata*; PI). La administración se realizó cada 24 horas, a las 8 de la mañana desde el día 0 de gestación hasta el día 21 posnatal (destete). Cada hembra fue alojada en una caja individual y mantenida en ciclos invertidos de 12: 12 horas de luz-oscuridad (luz de 8:00 a 20:00) a una temperatura constante (24 °C) y libre acceso a comida y agua.

Al finalizar el tratamiento (el día 21 posnatal), las crías hembra fueron descartadas, y 12 crías macho de cada grupo fueron seleccionadas y alojadas en

cajas con 4 individuos cada una hasta que alcanzaron los 3 meses de edad (Bacchi y cols., 2013).

VIII.3. Evaluación de la conducta sexual.

A los 3 meses de edad, 12 machos de cada grupo fueron sometidos a 3 CSM con un intervalo de 2 días de separación y con duración de 30 minutos cada una. Para ellos se administró a 12 hembras con 10 µg de benzoato de estradiol (SC, 0,1 mL de aceite de maíz), 48 h antes de la prueba y 1 mg de progesterona 4 h antes de la prueba (Bonilla y cols., 2006). Durante la tercera prueba se registraron los parámetros que se describen a continuación (Agmo, 1997):

- **Frecuencia de eyaculación (FE).** Número de eyaculaciones realizadas durante el período de prueba, usualmente 2 a 3 eyaculaciones en una prueba de 30 minutos.
- **Latencia de monta (LM).** Tiempo desde la introducción de la hembra hasta la primera monta.
- **Latencia de intromisión (LI).** Tiempo desde la introducción de la hembra hasta la primera intromisión. Regularmente se produce al poco tiempo de la latencia de monta e incluso puede ser igual que esta.
- **Tiempo de eyaculación (TE).** Tiempo desde la introducción de la hembra hasta la primera eyaculación.
- **Latencia de la eyaculación (LE).** Tiempo desde la primera intromisión hasta la eyaculación.

- **Número de montas (NM).** Número de montas realizadas hasta la primera intromisión.
- **Número de intromisiones (NI).** Número de intromisiones desde la introducción de la hembra hasta la eyaculación.
- **Hit rate (HR).** Parámetro obtenido de dividir el número de intromisiones entre el número de montas, más el número de intromisiones.
- **Intervalo Inter-Intromisión (III).** Se obtiene de dividir la latencia de eyaculación entre el número de intromisiones.
- **Periodo refractario (PR).** Tiempo desde la eyaculación hasta la siguiente intromisión.

VIII.4. Fertilidad.

Después de analizar la CSM, se permitió que los machos tuvieran un período de descanso de 2 días. Posteriormente, las ratas macho se aparearon con ratas hembra en proestro fértiles (1: 3). El tapón vaginal se tomó como un parámetro para el apareamiento y al día 8 postcópula, para diagnosticar la gestación, se realizó la palpación abdominal de las hembras y, el número de ratas gestantes se consideró como un parámetro de fertilidad (Leonelli y cols., 2011) y se permitió que la gestación llegara a término con el fin de contabilizar el número de crías por grupo.

VIII.5. Medición hormonal.

Posterior a la evaluación de la fertilidad, 5 machos de cada grupo se sacrificaron por decapitación para la obtención 5 mL de sangre, la cual fue recolectada en tubos BD Vacutainer® SST™ para Suero con Gel Separador para obtener el suero sanguíneo, las muestras fueron centrifugadas a 3500 rpm durante 10 minutos (Frungeri y cols., 1996). Una vez centrifugados, se separó el suero y se colocó en tubos Eppendorf y fue enviado a un laboratorio externo para su realizar la medición de T y E₂ mediante radioinmunoensayo (Sallam y cols., 2009).

VIII.6. Calidad espermática.

Para realizar la evaluación espermática, se utilizaron 5 machos de cada grupo. Para ello se realizó eutanasia de los machos con pentobarbital sódico (Pisabental ® Pisa Agropecuaria S.A de C.V) a una dosis de 0.126 mg vía intraperitoneal para inducir la anestesia y posteriormente otra dosis de 0.126 mg vía intracardiaca (Méndez y cols., 2016). Inmediatamente después de la eutanasia, se realizó la disección del epidídimo tomando la región caudal, la cual se identificó tomando el comienzo del conducto deferente como referencia anatómica (Mohammad, 2000).

Una vez separada la *cauda*, fue colocada en una caja de Petri con 1 mL de solución PBS a 37 ° (Seed, 1996). Con la ayuda de unas tijeras, la *cauda* fue cortada en pedazos pequeños hasta obtener una apariencia homogénea. Después de esto, el picado fue filtrado por una malla de lycra de trama de 20 micras de diámetro (98% nylon / poliamida, 2% Lycra / elastano) para obtener los

espermatozoides y poder realizar la evaluación como se detalla a continuación (Rodríguez y cols., 2016).

VIII.6.1. Concentración espermática.

Se realizó una dilución: 1:100, 5 μ l de espermatozoides y 495 μ l de agua destilada. Se agitó la muestra en un tubo Eppendorf. Se agregaron 15 μ l en cada lado de la cámara de Neubauer y se dejó reposar durante 1 minuto para que las células sedimenten y se contarán al microscopio óptico con un aumento de 400x (OMS, 2015).

Si los espermatozoides se encuentran entre las líneas, solo se cuentan los que se encuentran en el cuadro superior izquierdo como lo muestran las flechas (Figura 2).

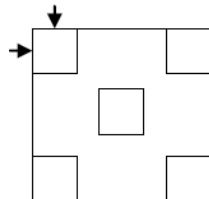


Figura 2. Sitios de la reglilla de la cámara de Neubauer, que indican los lugares donde deben ser contados los espermatozoides.

Para determinar la concentración de espermatozoides en millones por mL, se cuantificaron 5 cuadros por reglilla (2 reglillas, 10 cuadros en total), se obtuvo el promedio y este se dividió entre el factor de 0.4 (correspondiente a la dilución 1:100) y el resultado se expresó en millones de espermatozoides por mL ($\times 10^6/\text{mL}$) (WHO, 2015).

VIII.6.2. Vitalidad espermática.

Se tomó una alícuota de 10 μ l de semen y se añadieron 10 μ l de Espermavit® en un portaobjetos, se realizaron frotis y se observó al microscopio óptico a 400x contando 100 espermatozoides con ayuda de un contador diferenciando entre vivos (no teñidos) y muertos (teñidos) (WHO, 2015).

VIII.6.3. Morfología espermática.

Se realizó con la tinción de Espermavit ® para espermatozoides. Se tomó una alícuota de 10 μ l de espermatozoides y 10 μ l de Espermavit ®, se colocó en un portaobjetos con un cubreobjetos y se observó con aumento 100 X con aceite de inmersión.

Categorías de Morfología espermática:

A) Normales.

B) Defectos de cabeza.

C) Defectos de cuello y pieza media.

D) Defectos del flagelo.

Se registraron los promedios de los valores de los parámetros correspondientes al análisis espermatozoides.

VIII.7. Análisis Estadístico.

Para cada uno de los parámetros analizados se utilizó el paquete estadístico IBM SPSS Statistics 24.0 para obtener la media, mediana, desviación estándar y error estándar. Los resultados de conducta sexual se analizaron mediante una U de Mann-Whitney. Los parámetros de calidad espermática, la fertilidad y concentración sérica de T y E₂ se analizaron mediante la prueba t de Student para comparar las medias, tomando como significativa una $p < 0.05$.

IX. RESULTADOS.

IX.1. *Efecto de la administración pre y posnatal de Passiflora incarnata sobre la conducta sexual masculina.*

Durante la tercera prueba de CSM, los individuos del grupo Con mostraron una FE de 1.8 ± 0.7 , un poco más baja que el grupo PI, que fue de 2.2 ± 0.7 . Las LM, LI y LE del grupo Con fueron 79.9 ± 152.1 , 90.3 ± 149.15 y 680.1 ± 208.9 , respectivamente. Estas latencias fueron mayores que en el grupo PI, en el que se observaron latencias de 52.1 ± 109.5 , 75.5 ± 114.77 y 430.2 ± 414.7 , respectivamente. El NM obtenido en el grupo Con fue 9.05 ± 3.9 , fue mayor que en el grupo PI, que fue 6.09 ± 3 . Respecto al NI, en el grupo Con fue menor que en el PI, cuyos valores fueron 8.7 ± 2.7 y 8.9 ± 2.4 , respectivamente. En el grupo Con, se observó un Hit Rate de 0.4 ± 0.1 , este fue más bajo comparado con el grupo PI, en el que fue de 0.5. El III del grupo Con fue 78 ± 31.8 , este intervalo

fue mayor que en el grupo PI, en el que fue de 48.1 ± 31.4 . Finalmente, el PR en el grupo Con fue de 322.5 ± 96.4 , menor que en el grupo PI, en el que fue de 327.1 ± 38.3 (Tabla 1).

Tabla 1. Parámetros copulatorios obtenidos después del tratamiento con *P. incarnata*. No se encontraron cambios en la conducta sexual masculina. U de Mann-Whitney, se expresa la Media \pm E.E.M. (n=12). FE (Frecuencia de eyaculación), LM (latencia de monta), LI (latencia de intromisión), TE (tiempo de eyaculación), LE (latencia de eyaculación), NM (número de montas), NI (número de intromisiones), HR (Hit Rate), III (intervalo inter intromisión) y PR (período refractario).

	FE	LM	LI	LE	NM	NI	HR	III	PR
Control	$1.8 \pm$	$79.9 \pm$	$90.3 \pm$	$680.1 \pm$	$9.05 \pm$	$8.7 \pm$	$0.4 \pm$	$78 \pm$	$322.5 \pm$
	0.7	152.1	149.15	208.9	3.9	2.7	0.1	31.8	96.4
Pasiflora	$2.2 \pm$	$52.1 \pm$	$75.5 \pm$	$430.2 \pm$	$6.09 \pm$	$8.9 \pm$	$0.5 \pm$	$48.1 \pm$	$327.1 \pm$
	0.7	109.4	114.77	414.7	3.8	2.4	0.0	31.4	38.3

IX.2. Efecto de la administración pre y posnatal de Passiflora incarnata sobre la calidad espermática.

El análisis estadístico indicó que no hubo diferencia significativa entre grupos. El porcentaje de vitalidad espermática fue mayor en el grupo PI (81 ± 7.56) en comparación con el grupo Con (74 ± 3.69). Del mismo modo, el promedio de la concentración espermática del grupo Pasiflora fue mayor (121 ± 20.49) que el grupo Control (114 ± 13.83). Así mismo, el promedio de normalidad en el grupo PI muestra ser mayor (73 ± 5.48) que el grupo Con (67 ± 12.44).

Tabla 2. Parámetros espermáticos de ratas tratadas con *P. incarnata* en etapa gestacional y lactancia. No se observó diferencia significativa entre los grupos. t de Student, se expresa el promedio \pm DS. (n=5).

	VITALIDAD	CONCENTRACIÓN	NORMALIDAD
Control	74 ± 3.69	114 ± 13.83	67 ± 12.44
Pasiflora	81 ± 7.56	121 ± 20.49	73 ± 5.48

IX.3. Efecto de la administración pre y posnatal de *Passiflora incarnata* sobre la fertilidad de las crías macho adultas.

No se encontró diferencia estadística para el promedio de crías entre grupos.

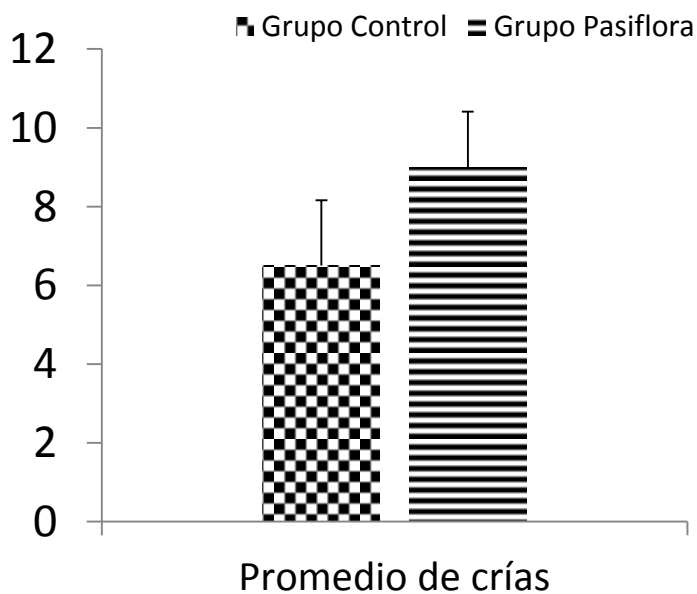


Figura 3. Las barras indican el promedio de crías nacidas de machos tratados con 300 mg/kg de *Passiflora incarnata* y Control, t de Student. Se expresa el promedio \pm D.S. (n= 5).

IX.4. Efecto de la administración pre y posnatal de Passiflora incarnata sobre los valores séricos de testosterona y estradiol de las crías macho adultas.

El análisis estadístico indicó que no hubo diferencia significativa entre grupos ($p > 0.05$), la tabla 3 muestra que el grupo PI y el grupo Con no difieren significativamente en la concentración sérica de T (Con 6.808 ± 1.96 ; PI 6.452 ± 2.28) ni de E₂ (Con 1.658 ± 0.083 ; PI 1.753 ± 0.1024).

Tabla 3. Valores séricos de testosterona y estradiol de ratas tratadas con *P. incarnata* en etapa gestacional y lactancia. No se observó diferencia significativa entre los grupos. t de Student. Se presenta la media \pm error estándar de la media. (n=5).

	17-β estradiol pg/mL	testosterona ng/mL
Control n=5	6.808 \pm 1.96	1.658 \pm 0.083
Pasiflora n=5	6.452 \pm 2.28	1.753 \pm 0.1024

X. DISCUSIÓN.

Los fármacos ansiolíticos como las benzodiazepinas, en particular el diazepam, son prescritos en el embarazo, con un 30 a 40 % de todas las mujeres embarazadas que padecen ansiedad (Mc. Elhatton, 1994). El diazepam y su metabolito (N-desmetildiazepam) atraviesan la barrera placentaria y se acumulan en el feto, en el que la vida media es significativamente más alta debido a la disminución de la tasa de eliminación, generando que se acumule de una a tres veces más en el feto que en la madre (Mc. Elhatton, 1994). El diazepam, a diferencia del alprazolam, tiene efectos adversos en todas las etapas del embarazo, como el paladar hendido y labio leporino, además de que los neonatos presentan síndrome de abstinencia (Revisado en: (Mc.Elhatton, 1994).

Debido a lo anterior, las mujeres pueden utilizar drogas vegetales para aliviar la ansiedad y depresión que padecen durante el embarazo, aunque contengan gran cantidad de compuestos cuyo efecto aun es desconocido. Por ejemplo, se ha reportado que se pueden encontrar, en una amplia variedad de plantas, alcaloides como nicotina (*Nicotiana tabaco*) (Benowitz, 2017); atropina (*Atropa Belladona*) (Castro, 1990); efedrina (*Ephedra sp*) (Tulgar y cols., 2018) y ergotamina (*Claviceps purpurea*) (Haarmann y cols., 2008). Además de los alcaloides, también se ha reportado que en los extractos de origen vegetal pueden ser encontrados compuestos conocidos como flavonoides, entre los que se encuentran los flavonoles (quercetina, presente en la cebolla), flavanonas (naringenina, en frutas cítricas), flavanoles (catequinas en el vino tinto), flavonas (apigenina y luteolina en pimiento rojo y apio) e, isoflavonoides (isoflavonas como genisteína y daidzeína en

la soya) (Marchesino y cols., 2017). Por ello, estos compuestos han sido estudiados para conocer sus posibles propiedades terapéuticas. Los alcaloides han sido asociados con efectos de sedación o moduladores del estado de ánimo, por lo que se sabe que actúan sobre el SNC; mientras que los flavonoides han sido relacionados con efectos sobre aspectos reproductivos, por lo que se ha sugerido que pueden actuar sobre el sistema endócrino.

Estudios en animales adultos sugieren que la conducta sexual puede mejorarse con el consumo de los extractos de algunas plantas, como *Panax quinquefolius*, *Eurycoma longifolia*, *Corynanthe yohimbe*, *Maca*, *Ginkgo biloba*, *Turnera diffusa*, *Terminalia catappa*, *Tribulus terrestris*, *Euphorbia hirta*, *Ptychopetalum olacoides*, *Cnidium monnier*, incluyendo *Passiflora incarnata* (Saini y cols., 2010). De acuerdo con Gerardin y Pereira (2002) y con Kepser y Homberg (2015), los efectos producidos por los extractos de algunas drogas vegetales puede producir un aumento en la motivación y en la frecuencia de la actividad sexual o, en su caso, en el incrementar la producción de T (extracto alcohólico de *E. longifolia*) (Saini y cols., 2010).

Se han realizado varias investigaciones que evalúan los efectos que producen los fármacos sintéticos, como los inhibidores de la enzima aromatasa, ISRS e IMAO durante el período de gestación. Estos efectos pueden incluir la alteración la CSM, la calidad espermática y la fertilidad de la rata macho en etapa adulta. Aun así, pocos estudios evalúan el impacto que producen las drogas vegetales sobre la diferenciación sexual de un organismo en desarrollo y sobre los sistemas de neurotransmisión que regulan la expresión de la CSM.

La teoría de la aromatización señala que, gracias a la conversión de los andrógenos a estrógenos por la enzima aromatasa, la CSM se desarrolla durante la etapa perinatal en la rata (Hines, 2011). Se ha sugerido que el E₂ formado en el SNC, puede actuar a nivel sináptico, ya que se ha demostrado la presencia de aromatasa en axones y botones sinápticos (Schulster, y cols., 2016). El E₂ actúa a través del receptor E α para masculinizar los circuitos cerebrales, mientras que las acciones a través del receptor E β los defeminiza (Hull y cols., 2006).

Las ratas *knock out* para E α presentan una conducta sexual severamente afectada (Hull y cols., 2006), por lo que los estrógenos son necesarios para la formación de los circuitos neuronales necesarios para la activación de la CSM (Agmo y cols., 2007).

Se ha reportado que los extractos de *P. incarnata* utilizados para tratar los síntomas de ansiedad, incluso durante la gestación, contienen flavonoides como: apigenina, luteolina, quercetina, kaempferol, vitexina, isovitexina, orientina y crisina (Dhawan y Sharma, 2003; Dhawan y cols., 2001 y Sampath y cols., 2011). Se ha propuesto que los flavonoides presentes en *P. incarnata* son capaces de inhibir, mediante el bloqueo de su sitio activo, la función de la enzima aromatasa, encargada de transformar la T a E₂, lo que eleva la concentración sérica de T, por lo que se ha investigado su capacidad para aumentar la actividad sexual en los machos. Dhawan y cols. (2002), aislaron una fracción de benzoflavonas a partir del extracto hidroalcohólico de la *P. incarnata* que han utilizado con éxito como tratamiento para la azoospermia, falta de libido y baja concentración de T causadas por la administración de drogas, debido a que indujo un incremento en

el la calidad espermática y la CSM, sugiriendo que las benzoflavonas contenidas en la fracción inhiben la acción de la enzima aromatasa (Dhawan y Sharma, 2002).

Debido a que la T y E₂ son hormonas importantes para el proceso de diferenciación sexual (Carreau y cols., 2007), un estudio publicado señala que las ratas expuestas a *P. incarnata* durante la etapa perinatal presentan alteraciones de la CSM en la etapa adulta, ya que contiene benzoflavonas (Bacchi y cols., 2013).

En este estudio, la CSM fue evaluada durante un lapso de 10 minutos en los que los machos debían mostrar CSM para que pudieran completar los 30 minutos de prueba. Los machos que no mostraban cópula antes de 10 minutos, eran separados de la hembra y, al día siguiente eran sometidos nuevamente. Si durante la segunda prueba no presentaban cópula antes de 10 minutos, entonces eran catalogados como sexualmente inactivos.

En contraste, en el presente trabajo la administración de *P. incarnata* durante la gestación y la lactancia, no mostró efecto sobre la CSM de las ratas macho. Esta discrepancia podría deberse a la diferencia en la manera que fueron sometidos a las pruebas de CSM. En nuestro estudio, la CSM se evaluó durante 30 minutos aunque no realizaran la cópula, como lo sugieren Agmo y cols., (2007). Además, los machos de ambos grupos (Con y PI) fueron sometidos a 2 sesiones previas de CSM con una duración 30 minutos cada una. Nuestros resultados indican que las

alteraciones de la CSM por el tratamiento con *P. incaranta* no son apreciables cuando los machos han adquirido experiencia sexual.

Debido a que el objetivo del presente trabajo era aportar datos de otros aspectos que influyen en la capacidad reproductiva de la rata, los parámetros copulatorios de la primera y la tercera prueba no fueron comparados entre sí. Por lo tanto, si la experiencia sexual es capaz de restituir la CSM alterada en ratas con CSM deficiente por la exposición a *P. incarnata* durante su desarrollo, no está al alcance de los datos con los que se cuenta y solo es una especulación. Sin embargo, existe evidencia de que eficacia de la conducta sexual mejora conforme los animales adquieren experiencia sexual (Bialy y cols., 2010).

Respecto a la experiencia sexual, Bonilla y cols. (2006), observaron que, a diferencia de los machos inexpertos, quienes no muestran modificaciones en las concentraciones séricas de T, en los machos con experiencia sexual, esta se incrementa de 2.3 a 7 ng/mL durante la saciedad sexual, regresando a la concentración basal 24 horas después, lo que puede explicar que esta elevación no haya sido observada en el presente trabajo ya que la obtención de la muestra sanguínea para medir T y E₂ fue tomada 48 horas después de la prueba de CSM.

Debido a que la T produce efectos en los aspectos cognitivo-motivacionales del comportamiento sexual aumentando la atención a estímulos relevantes como una hembra receptiva (Matuszczyk y Larsson, 1994) la experiencia sexual puede mejorar la CSM mediada por T (Hull y Domínguez, 2006). Además de que la saciedad sexual produce la elevación de T, se ha reportado que también puede

ocurrir previo a la actividad sexual, gracias a los estímulos ambientales asociados, como el olor de una hembra en estro (Graham y Desjadins, 1980; Matuszczyk y Larsson, 1994). Los sujetos con experiencia sexual también muestran mayor cantidad de c-Fos en el núcleo accumbens, el núcleo preóptico medial y el núcleo del lecho de la estría terminal, estructuras cerebrales implicadas en el apareamiento y en la generación de motivación sexual, lo que indica mayor actividad en ratas expertas en comparación con las inexpertas (López y Ettenberg, 2002; Veening y Coolen, 1998; Hull y cols., 1999).

Así, la experiencia sexual puede influir sobre el funcionamiento del eje HHG de la rata, lo que le permite responder con mayor eficiencia al estímulo sexual. Por lo tanto, es posible que los resultados mostrados por Bacchi y cols. (2013), pudieran haber sido influidos por la falta de experiencia sexual, más que por el efecto de la *P. incarnata*.

Entre los compuestos que contiene el extracto hidroalcohólico de *P. incarnata* se encuentra el ácido γ -aminobutírico (GABA), por lo que se ha sugerido que el efecto ansiolítico que produce el extracto está mediado por este (Singh y cols., 2011; Ghedira y Goetz, 2013). Como se mencionó anteriormente, el GABA se ha vinculado con actividad estimuladora del SNC durante el desarrollo (Rodríguez y Canseco, 2017) y, en la etapa adulta con diversas conductas, entre ellas el control de la CSM, ya que el bloqueo de los receptores GABA-A en el APOm, disminuye la latencia de eyaculación y el período refractario en ratas sexualmente expertas (Rodríguez y Canseco, 2017).

Los extractos de *P. incarnata* también se consumen por sus efectos antidepresivos, los cuales son relacionados con los alcaloides harmala que contiene, los cuales son capaces de inhibir la enzima monoaminoxidasa y de estimular el receptor 5HT2A (Jafarpoor y cols., 2014). Como se ha descrito en párrafos anteriores, la 5-HT promueve el crecimiento de neuritas, la sinaptogénesis, la diferenciación y la organización dependiente de receptores de 5-HT durante el neurodesarrollo (Kepser y Homberg, 2015).

Lo anterior resulta importante debido a que hay evidencia que sostiene que la mayoría de los fármacos antidepresivos ISRS en adultos inducen disfunción sexual. Estos actúan inhibiendo la recaptura de 5-HT por la neurona presináptica en el SNC y algunos de los más utilizados son: citalopram, escitalopram, fluvoxamina, paroxetina, sertralina y fluoxetina, quien tiene el mayor nivel de prevalencia de disfunción sexual (75%) (Marciag y cols., 2006).

Estudios en animales muestran que ratas macho expuestas a fluoxetina en etapa perinatal presentan una menor actividad sexual (Maciag y cols., 2006; Rodríguez-Porcel y cols., 2011) con menor número de intromisiones, una mayor latencia a la primera intromisión y un incremento en la latencia a la primera eyaculación, por lo que el componente ejecutorio está alterado en estos animales (Rayen y cols., 2013). Otro estudio indica que la exposición a fluoxetina durante la gestación y la lactancia, promueve un retraso de la pubertad (Pohland y cols., 1989). Estos datos en conjunto nos hablan de una alteración a nivel reproductivo causado por la exposición temprana a ISRS, sobre todo en periodos críticos del desarrollo.

La exposición a citalopram, fluoxetina y clomipramina durante los días P 8 al P 21, produce afectaciones en el comportamiento sexual de los machos expuestos, los cuales muestran una disminución en el número de montas y aumento de las latencias de monta, intromisión y eyaculación (Maciag 2006).

Además de las alteraciones de la CSM, también se han reportado efectos negativos sobre la calidad espermática y la fertilidad cuando se altera el medio hormonal durante el período crítico. Esto se debe a que el testículo diferenciado es capaz de producir estrógenos y andrógenos que dirigen la formación de los conductos eferentes, el conducto de Wolf, el epidídimo, el conducto deferente, las vesículas seminales, el descenso inguinoescrotal, formación de la uretra, próstata, pene, escroto y el meato urinario (Kerr y cols., 2006).

Un estudio realizado en ratas hembra gestantes tratadas con un bloqueador de receptores de andrógenos, la flutamida, muestra que el conteo espermático y el porcentaje de espermatozoides normales de las crías macho adultos es menor comparado con el grupo control (Leonelli y cols., 2011). En otro estudio, se reporta el efecto negativo de letrozol, un inhibidor de la enzima aromatasa, también sobre el conteo espermático (Gerardin y Pereira, 2002), lo cual puede deberse a que se producen alteraciones en la diferenciación de los espermatocitos, degeneración de espermátides redondas y reducción del diámetro de los túbulos seminíferos pues se ha publicado que estas alteraciones se observan en ratones que carecen de la enzima aromatasa y son incapaces de producir E_2 y por lo tanto son infértiles (Carreau y cols., 2007). Estos estudios señalan en que las alteraciones de la calidad espermática son provocadas por las alteraciones de la función de T y E_2

durante la gestación, lo cual, se ve reflejado en la reducción del porcentaje de machos capaces de preñar a una hembra, así como, el tamaño de camada.

Los efectos negativos del desequilibrio hormonal durante el período crítico sobre la calidad espermática y la fertilidad de la rata que han sido observados con el uso de inhibidores de la aromatasa, ansiolíticos y antidepresivos sintéticos, no fue observado con el uso de *P. incarnata*, posiblemente debido a que las benzoflavonas contenidas en el extracto hidroalcohólico no inhiben a la enzima aromatasa de una manera significativa. De acuerdo con nuestros datos, Bacchi y cols. (2013), publicaron que la administración de *P. incarnata* durante la gestación no altera la ganancia diaria de peso, el tiempo de la apertura vagina, ni en el descenso testicular.

Se debe considerar que la inhibición de la enzima aromatasa producida por la fracción de benzoflavonas aisladas por Dawan y cols. (2003), se basa en la restitución de la CSM en ratas expuestas a diversas drogas. Sin embargo, hasta donde tenemos conocimiento, el incremento de los valores séricos de T producidos por *P. incarnata* no ha sido demostrado en ratas adultas ni en ratas gestantes. Por ello, si la exposición a *P. incarnata* es capaz de alterar las concentraciones hormonales en el producto que se encuentra en desarrollo, es algo que aún se desconoce.

Respecto a lo que se sabe sobre los flavonoides, otra posible explicación de la ausencia de efecto observada en el presente estudio, puede estar relacionada con su metabolismo. Serra y cols. (2012), sostienen que la biodisponibilidad después

de la ingesta oral es baja, lo que probablemente se debe a su limitada absorción e intenso metabolismo en el colon de la rata. Por ello, se metabolizan principalmente por la microbiota intestinal dando lugar al ácido fenilacético y sus formas hidroxiladas. En el caso de la administración oral, la biodisponibilidad de los fármacos puede verse alterada debido a la capacidad de absorción por el intestino y al metabolismo hepático que estos sufren durante su camino para llegar a la circulación sistémica. Por ejemplo, los fármacos con baja tasa de metabolismo hepática, la biodisponibilidad no se ve afectada por la actividad enzimática, el flujo sanguíneo hepático o por la unión a proteínas (Serra y cols., 2012). En el caso contrario, los fármacos con alta extracción hepática, la biodisponibilidad disminuye por un aumento en la actividad enzimática, disminución del flujo sanguíneo hepático y por una disminución en la unión a proteínas plasmáticas. Así, el incremento o decremento de la biodisponibilidad puede afectar la exposición al fármaco (Hebert, 2013). Acorde a lo anterior, los flavonoides contenidos en el extracto hidroalcohólico de *P. incarnata* podrían tener limitada absorción por la madre, careciendo de efecto alguno sobre los fetos.

La alteración de la calidad espermática y la fertilidad producida por el desequilibrio hormonal puede ocurrir también por la administración de ansiolíticos y antidepresivos, ya que estos pueden modificar el equilibrio de los neurotransmisores 5-HT y GABA (Revisado en: Kepser y Homberg, 2015).

Al respecto se ha publicado que las crías macho de ratas expuestas a ISRS (fluoxetina) durante la gestación, mostraron una reducción en el peso de las vesículas seminales, menor altura del epitelio seminífero, un diámetro reducido de

los túbulos seminíferos y, una reducción en la concentración espermática en la edad adulta, lo que se tradujo en la disminución de la calidad espermática y la fertilidad (Revisado en: Kepser y Homberg, 2015).

Por su parte, los inhibidores de la monoamina oxidasa (IMAO) incrementan la disponibilidad de 5-HT, por lo que también han sido asociados con una alta tasa de alteraciones sexuales (Montejo-González y cols., 2001; Masand y Gupta, 1999; Kennedy y Rizvi, 2009), que van desde la deficiencia de piridoxina (por el uso de fenelzina), disminución de la libido (Frayne y cols., 2014), e incluso, la inhibición de la ovulación (Yamamoto y cols., 1974). También se ha asociado el tratamiento con tranilcloprina (un IMAO) en ratas gestantes, a la disminución de la tasa de supervivencia y la ganancia de peso de la camada (Blazevic y cols., 2010). Durante la gestación de la rata, la actividad de la enzima monoaminooxidasa uterina disminuye durante el día 10 de gestación y permanece constante hasta el parto. Por el contrario, la actividad de la MAO placentaria, debe aumentar el día 17 de gestación y continúa así hasta el parto (Satoh y cols., 1972). Por ello, se sugiere que la pérdida de la homeostasis de 5-HT periférica y central en neonatos, induce estas alteraciones reproductivas (Blazevic y cols., 2010). Sin embargo, estos efectos no fueron observados en el presente trabajo. Aunque se ha informado que los alcaloides de harmala contenidos en *Passiflora incarnata* son capaces de inhibir a la enzima monoaminooxidasa, también se ha reportado que estos alcaloides se encuentran solo en pequeñas cantidades la *Passiflora incarnata* y, por lo tanto, el efecto de estos alcaloides puede ser demasiado bajos para ser clínicamente relevante. Por lo tanto, la dosificación puede haber tenido

relación con los resultados, ello se infiere porque, en relación con la dosificación, la participación de otros factores como el metabolismo y la biodisponibilidad que tienen los componentes de *Passiflora incarnata*, ha sido reportado que son bajos después de la ingesta oral, lo que probablemente se debe a su limitada absorción (Ulbricht, 2008).

Las concentraciones séricas de T y E₂ de la descendencia masculina durante la etapa perinatal son desconocidas debido a que la medición se realizó a la edad de 3 meses. Debido a ello, no se observaron alteraciones en la concentración de estas hormonas, lo cual, en el caso de la T, tampoco fue observado en el estudio realizado por Bacchi y cols. (2013). Con base en los resultados obtenidos, se puede inferir que los valores plasmáticos de T y E₂ no se modificaron durante la gestación, pues de haberlo hecho, los procesos de diferenciación hipotalámica se habrían alterado y por lo tanto la CSM sería deficiente, lo cual no fue observado. Adicionalmente, tanto la concentración, morfología y vitalidad espermática, así como, la fertilidad no mostraron efecto del tratamiento con *P. incarnata* durante la gestación.

La función antiaromatasa de *P. incarnata* se ha sugerido por el efecto que produce sobre la CSM de ratas adultas. Por lo tanto, si el extracto hidroalcohólico es capaz de inhibir a la enzima aromatasa durante la gestación y lactancia es algo que se desconoce. Si bien la exposición a inhibidores de la aromatasa, ansiolíticos y antidepresivos durante el período crítico de diferenciación sexual afecta aspectos reproductivos de la descendencia masculina en la rata está ampliamente

documentado, la exposición a 300 mg/kg de *P. incarnata* durante la gestación parece ser una opción segura, aunque se necesita más investigación al respecto.

XI. CONCLUSIÓN.

El tratamiento con 300 mg/kg del extracto hidroalcohólico de *P. incarnata*, administrado durante la gestación y lactancia no produce alteraciones en la conducta sexual, la calidad espermática ni la fertilidad de la descendencia masculina de la rata. Por lo que se requiere de más investigación para evaluar la seguridad de su consumo durante la gestación.

XII. BIBLIOGRAFÍA.

1. Monteiro Filho, W. O., de Torres, S. M., Amorim, M. L., Andrade, A. M., de Moraes, R. N., Tenorio, B. M., & da Silva Junior, V. A. Fluoxetine induces changes in the testicle and testosterone in adult male rats exposed via placenta and lactation. *Systems Biology In Reproductive Medicine*, 2014, 60(5), 274-281. doi:10.3109/19396368.2014.933984
2. Bacchi A.D., y cols. Developmental exposure to *Passiflora incarnata* induces behavioural alterations in the male progeny. *Reproduction, Fertility and Development*, 2013, 25, 782–789
3. Agmo, A. Functional and dysfunctional sexual behavior: a synthesis of neuroscience and comparative psychology. Amsterdam: Academic Press, 2007.
4. McElhatton PR. The effects of benzodiazepine use during pregnancy and lactation. *Reprod Toxicol*. 1994 Nov-Dec; 8 (6):461-75.
5. Michael, S., Aaron M, B., & Ranjith, R. The role of estradiol in male reproductive function. *Asian Journal Of Andrology*, Vol 18, Iss 3, Pp 435-440 2016, (3), 435. doi:10.4103/1008-682X.173932
6. Rodríguez-Manzo, G., & Canseco-Alba, A. A new role for GABAergic transmission in the control of male rat sexual behavior expression. *Behavioural Brain Research*, 2017 32021-29. doi:10.1016/j.bbr.2016.11.041

A. E., L., & V. B., P (2006) Effect of Serotonin on Gonadal Function. *Bulletin Of Experimental Biology And Medicine*, (3), 378.

7. Cortes-Romero C, Galindo F, Galicialsasmendi S, Flores A. GABA: ¿dualidad funcional? Transición durante el neurodesarrollo. *Rev Neurol* 2011; 52: 665-75.
8. Shi, H., Cui, Y., & Qin, Y. Discovery and characterization of a novel tryptophan hydroxylase 1 inhibitor as a prodrug. *Chemical Biology & Drug Design*, 2018 91(1), 202-212. doi:10.1111/cbdd.13071
9. Kepser. The neurodevelopmental effects of serotonin: a behavioural perspective. (2015). *Behavioural Brain Research*, 3.
10. Aragón, M., Ayala, M., Marín, M., Avilés, A., Domínguez, R., Damián-Matsumura. Serotonergic system blockage in the prepubertal rat inhibits spermatogenesis development. *Reproduction*, 2005. 129(6), 717-727. doi:10.1530/rep.1.00598
11. Elaine M. Hull, Ruth I. Wood, Kevin E. McKenna. *Neurobiology of Male Sexual Behavior*. Knobil and Neill's *Physiology of Reproduction*, Third Edition 2006.
12. Piprek, R. P. Molecular and cellular machinery of gonadal differentiation in mammals. *The International Journal of Developmental Biology*, 2010 54(5), 779–786. <https://doi.org/10.1387/ijdb.092939rp>
13. Nel-Themaat, L., Jang, C.-W., Stewart, M. D., Akiyama, H., Viger, R. S., & Behringer, R. R. Sertoli cell behaviors in developing testis cords and postnatal seminiferous tubules of the mouse. *Biology of Reproduction*, 2011 84(2), 342–350.

14. Barsoum I, Yao H. Fetal Leydig cells: progenitor cell maintenance and differentiation. *Journal Of Andrology* [serial online]. 2010;31(1):11-15. Available from: MEDLINE, Ipswich, MA. Accessed February 15, 2018.
15. Stocco, D. M. StAR protein and the regulation of steroid hormone biosynthesis. *Annu. Rev. Physiol.* 2001 63, 193–213.
16. Manoli, D. S., Fan, P., Fraser, E. J., & Shah, N. M. Neural control of sexually dimorphic behaviors. *Current Opinion In Neurobiology*, 2013, 23(3), 330-338. doi:10.1016/j.conb.2013.04.005
17. Sakamoto, H. Brain-spinal cord neural circuits controlling male sexual function and behavior. *Neuroscience Research*, 2012, 72(2), 103–116.
18. Nel-Themaat, L., Gonzalez, G., Behringer, R., & Akiyama, H. Illuminating testis morphogenesis in the mouse. *Journal Of Andrology*, 2010, 31(1), 5-10. doi:10.2164/jandrol.109.008235
19. Hines M. Prenatal endocrine influences on sexual orientation and on sexually differentiated childhood behavior. *Front Neuroendocrinol.* 2011 April; 32(2): 170–182.
20. Maria Julia, S., Alejandra, e., Carla Daniela, C., Mabel, e., Maria Angeles, e., Luis Miguel, G., & Maria Julia, C. Neurogenin 3 Mediates Sex Chromosome Effects on the Generation of Sex Differences in Hypothalamic Neuronal Development. *Frontiers In Cellular Neuroscience*, Vol 8 2014, doi:10.3389/fncel.2014.00188/full
21. Leonelli, C., Garcia, P. C., & Pereira, O. C. M. Copulatory efficiency and fertility in male rats exposed perinatally to flutamide. *Reproductive Toxicology*, 2011, 31(1), 10–16.

22. Jin, J., & Yang, W. Molecular regulation of hypothalamus-pituitary-gonads axis in males. *Gene*, 2014, 551(1), 15-25. doi:10.1016/j.gene.2014.08.048
23. Barsoum, I. B., y Yao, H. H.-C. Fetal Leydig Cells: Progenitor Cell Review Maintenance and Differentiation. *Journal of Andrology*, 2010, 31(1), 11–15.
24. Carreau S., Hess R.A., Oestrogens and spermatogenesis. *Phil. Trans. R. Soc. B.*, 2010, 365, 1517–1535
25. Bonilla-Jaime, H., Vázquez-Palacios, G., Arteaga-Silva, M., & Retana-Márquez, S. Hormonal responses to different sexually related conditions in male rats. *Hormones And Behavior*, 2006, 49(3), 376-382.
26. Kobayashi, H., Yoshida, S., Ying-Jie, S., Shirasawa, N., & Naito, A. Postnatal development of gastric aromatase and portal venous estradiol-17 β levels in male rats. *Journal Of Endocrinology*, 2013, 218(1), 117-124. doi:10.1530/JOE-13-0074
27. Morales-Otal, A., Ferreira-Nuño, A., Olayo-Lortia, J., Barrios-González, J., & Tarragó-Castellanos, R. Effects of neonatal treatment with two phytoestrogens on male rat sexual behavior and partner preference: *Behavioural Pharmacology*, 2016 27(7), 570–578. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000249>
28. Maciag, D., Coppinger, D., & Paul, I. A. Evidence that the deficit in sexual behavior in adult rats neonatally exposed to citalopram is a consequence of 5-HT₁ receptor stimulation during development. *Brain Research*, 2006, 1125(1), 171–175. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2006.10.009>

29. Eelke M.S., S., Jan G., V., Berend, O., & Ronald S., O. Serotonin 1A receptors and sexual behavior in male rats: A review. *Pharmacology Biochemistry And Behavior*, 102. doi:10.1016/j.pbb.2013.11.007
30. Caquineau, C., Leng, G., & Douglas, A. J. Sexual Behaviour and Neuronal Activation in the Vomeronasal Pathway and Hypothalamus of Food-Deprived Male Rats: Food deprivation compromises sexual behaviour in male rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 2014, 24(4), 712–723. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2012.02290.x>
31. Graham J. M., a., & Claude Desjardins, a. Classical Conditioning: Induction of Luteinizing Hormone and Testosterone Secretion in Anticipation of Sexual Activity. *Science*, 1980, (4473), 1039.
32. Agmo, A. Male rat sexual behavior. *Brain Research Protocols.*, 1997, 1(2), 203–209. [https://doi.org/10.1016/S1385-299X\(96\)00036-0](https://doi.org/10.1016/S1385-299X(96)00036-0)
33. Hull EM, Dominguez JM. Male sexual behavior. In: Plant TM, Zeleznik AJ, editors. *Knobil and Neill's physiology of reproduction*. Vol. 2. San Diego, CA: Academic Press; 2015. pp. 2211–2285.
34. Rayen, I., Steinbusch, H. M., Charlier, T. D., & Pawluski, J. L. Developmental fluoxetine exposure and prenatal stress alter sexual differentiation of the brain and reproductive behavior in male rat offspring. *Psychoneuroendocrinology*, 2013, 38(9), 1618-1629. doi:10.1016/j.psyneuen.2013.01.007
35. Almeida et. al. Sexual behavior and fertility of male rats submitted to prolonged immobilization-induced stress. *Stress, sexual behavior and male*

- fertility *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* (2000) 33: 1105-1109
36. Carreau S., Hess R.A., Oestrogens and spermatogenesis. *Phil. Trans. R. Soc. B* (2010) 365, 1517–1535
37. Seed, J., Chapin, R. E., Clegg, E. D., Dostal, L. A., Foote, R. H., Hurtt, M. E., y Wise, L. D. Methods for assessing sperm motility, morphology, and counts in the rat, rabbit, and dog: a consensus report. ILSI Risk Science Institute Expert Working Group on Sperm Evaluation. *Reproductive Toxicology* (Elmsford, N.Y.), 1996, 10(3), 237-244.
38. Brahem S, Mehdi M, Landolsi H, Mougou S, Elghezal H, Saad A. Semen parameters and sperm DNA fragmentation as causes of recurrent pregnancy loss. *Urology* 2011; 4: 792-796.
39. WHO | WHO laboratory manual for the examination and processing of human semen. (n.d.). Retrieved June 1, 2017, from <http://www.who.int/reproductivehealth/publications/infertility/9789241547789/en/>
40. Lucio R.A. y cols. Análisis de los parámetros del eyaculado en la rata Wistar de laboratorio: descripción de la técnica. *Vet. Méx* 2009, vol.40 no.4 México oct./dic.
41. Aksoy E., Murad A.T., Duman S., Cuce G., Assessment of Spermatozoa Morphology under Light Microscopy with Different Histologic Stains and Comparison of Morphometric Measurements. *Int. J. Morphol.*, 2012 30(4):1544-1550.

42. Gerardin, D., & Pereira, O. Reproductive changes in male rats treated perinatally with an aromatase inhibitor. *Pharmacology Biochemistry And Behavior*, 200271(1-2), 309-313.
43. Lombardi A.P. Physiopathological aspects of the Wnt/ β -catenin signaling pathway in the male reproductive system. *Spermatogenesis*. 2013 Jan 1; 3(1).
44. Carreau S, Silandre D., Bourguiba S., Hamden K., Said L., Lambard S., Galeraud-Denis I., and Delalande C. Estrogens and male reproduction: a new concept. *Brazilian Journal Of Medical And Biological Research*, Vol 40, Iss 6, Pp 761-768 (2007), (6), 761. doi:10.1590/S0100-879X2007000600003
45. Pereira, M. N., Fernández, S. F., Nascimento, A. R., Siu, E. R., Hess, R. A., Oliveira, C. A., & Lazari, M. M. (). Effects of the oestrogen receptor antagonist Fulvestrant on expression of genes that affect organization of the epididymal epithelium. *Andrology*, 2014 2(4), 559-571. doi:10.1111/j.2047-2927.2014.00219.x
46. Lychkova, A., & Potapova, V. Effect of serotonin on gonadal function. *Bulletin Of Experimental Biology And Medicine*, 2006 142(3), 376-381.
47. Monteiro Filho, W. O., de Torres, S. M. , Amorim, M. L., Andrade, A. M., de Moraes, R. N., Tenorio, B. M., & da Silva Junior, V. A. (2014). Fluoxetine induces changes in the testicle and testosterone in adult male rats exposed via placenta and lactation. *Systems Biology In Reroductive Medicine*, 60(5), 274-281. Doi:10.3109/19396368.2014.933984

48. Ramos, A. C., H Dos Santos, A., Silveira, K. M., Kiss, A. I., Mesquita, S. P., & Gerardin, D. C. Maternal treatment with fluoxetine promotes testicular alteration in male rat pups. *Reproduction, Fertility, And Development*, 2015 doi:10.1071/RD14199
49. Frungieri, M. B., Gonzalez-Calvar, S. I., Chandrashekar, V., Rao, J. N., Bartke, A., & Calandra, R. S. Testicular gamma-aminobutyric acid and circulating androgens in Syrian and Djungarian hamsters during sexual development. *International Journal Of Andrology*, 1996, 19(3), 164-170.
50. Geigerseder, C., Doepner, R., Thalhammer, A., Frungieri, M. B., Gamel-Didelon, K., Calandra, R. S., & Mayerhofer, A. Evidence for a GABAergic system in rodent and human testis: local GABA production and GABA receptors. *Neuroendocrinology*, 2003 77(5), 314-323.
51. Du, Y., Du, Z., Zheng, H., Wang, D., Li, S., Yan, Y., & Li, Y. GABA exists as a negative regulator of cell proliferation in spermatogonial stem cells. [corrected]. *Cellular & Molecular Biology Letters*, 2013 18(2), 149-162. doi:10.2478/s11658-013-0081-4
52. Singh, D., Bhagat, S., Raijiwala, P., Dighe, V., & Vanage, G. Perinatal exposure of pregnant rats to cypermethrin delays testicular descent, impairs fertility in F1 male progeny leading to developmental defects in F2 generation. *Chemosphere*, 2017 185376-385. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.06.138
53. Mingoti, G., Pereira, R., & Monteiro, C. Fertility of male adult rats submitted to forced swimming stress. *Brazilian Journal Of Medical And Biological Research*, 2003 36(5), 677-681.

54. Nassiri-Asl M, Shariati-Rad S, Zamansoltani F. Anticonvulsant effects of aerial parts of *Passiflora incarnata* extract in mice: involvement of benzodiazepine and opioid receptors. *Complement Altern Med.* 2007;7-26.
55. Singh, B., Mishra, A., & Goel, R. Anticonvulsant Activity of *Passiflora incarnata* - No Role of Chrysin. 2011 (Vol. 2). <https://doi.org/10.4103/0976-9234.90208>
56. Elsas y cols. *Passiflora incarnata* L (Passionflower) extracts elicit GABA currents in hippocampal neurons in vitro, and show anxiogenic and anticonvulsant effects in vivo, varying with extraction method. *Phytomedicine.* 2010 October; 17(12): 940–949.
57. Patel, K., Gadewar, M., Tripathi, R., Prasad, S., & Patel, D. A review on medicinal importance, pharmacological activity and bioanalytical aspects of beta-carboline alkaloid " Harmine". *Asian Pacific Journal Of Tropical Biomedicine*, 2012, 2(8), 660-664. doi:10.1016/S2221-1691(12)60116-6
58. Dhawan K, Kumar S and Sharma A. Reversal of cannabinoids (D 9-THC) by the benzoflavone moiety from methanol extract of *Passiflora incarnata* Linnaeus in mice: a possible therapy for cannabinoid addiction. *JPP* 2002, 54: 875–881
59. Ghedira K, Goetz P. *Passiflora incarnata* L.: la passiflore officinale (Passifloraceae). *Phytothérapie* (2013) 11:252-257
60. Akhondzadeh S, Naghavi HR, Vazirian M, Shayeganpour A, Rashidi H, Khani M. Passionflower in the treatment of generalized anxiety: a pilot double-blind randomized controlled trial with oxazepam. *J Clin Pharm Ther.* 2001 Oct;26(5):363-7.

61. Jafarpour Nima, Saeid Abbasi-Maleki, Majid Asadi-Samani, Mir Hadi Khayatnouri. Evaluation of antidepressant-like effect of hydroalcoholic extract of *Passiflora incarnata* in animal models of depression in male mice. *J HerbMed Pharmacol*. 2014; 3(1): 41-45.
62. Kellis, J. T., Nesnow, S., & Vickery, L. E. Inhibition of aromatase cytochrome P-450 (estrogen synthetase) by derivatives of alpha-naphthoflavone. *Biochemical Pharmacology*, , 35(17), 2887–2891.
63. Epstein, R., Moore, K., & Bobo, W. Treatment of nonpsychotic major depression during pregnancy: patient safety and challenges. *Drug, Healthcare And Patient Safety*, Vol 2014, Iss Default, Pp 109-129 (2014), (default), 109.
64. Page Robert. *Anatomy of the Hypothalamo–Hypophysial Complex*. Knobil and Neill’s *Physiology of Reproduction*, 2006, Third Edition 2006
65. Llorente-Berzal, A., Mela, V., Borcel, E., Valero, M., Viveros, M., Marco, E., & López-Gallardo, M. Neurobehavioral and metabolic long-term consequences of neonatal maternal deprivation stress and adolescent olanzapine treatment in male and female rats. *Neuropharmacology*, 2012 62(3), 1332-1341. doi:10.1016/j.neuropharm.2011.07.031
66. Fragoso, J., Lira, A., Beserra, R., de Santana-Muniz, G., Leandro, C., Chagas, G., & Pirola, L. Maternal voluntary physical activity attenuates delayed neurodevelopment in malnourished rats. *Experimental Physiology*, 2017, 102(11), 1486-1499. doi:10.1113/EP086400

67. Ruggy G.H., Smith C.S. A Pharmacological Study of the Active Principle of *Passiflora Incarnata*. *Journal of the American Pharmaceutical Association* 1940 May. Volume 29 5 207–208.
68. Sadraei H, Ghannadi A., Takei-bavani M. Effects of *Zataria multiflora* and *Carum carvi* essential oils and hydroalcoholic extracts of *Passiflora incarnata*, *Berberis integerrima* and *Crocus sativus* on rat isolated uterus contractions. *International journal of aromatherapy* Volume 13, Issues 2–3, 2003, Pages 121–127
69. Boll, K. M., Bortolasci, C. C., Higachi, L., Barbosa, D. S., & Moreira, E. G. *Passiflora incarnata* treatment during gestation and lactation: toxicological and antioxidant evaluation in wistar dams. *Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 2014, 50(2), 353-359.
70. Dhawan K. Drug/substance reversal effects of a novel trisubstituted benzoflavone moiety (BZF) isolated from *Passiflora incarnata* Linn.—a brief perspective. *Addiction Biology* (December 2003) 8, 379 – 386
71. Sallam, K. M., & Mehany, N. L. Comparison study between direct and indirect labeling of estradiol for radioimmunoassay purpose. *Journal Of Radioanalytical & Nuclear Chemistry*, 2009, 281(3), 329-337. doi:10.1007/s10967-009-0013-y
72. Méndez Palacios, N., Escobar, M. A., Mendoza, M. M., Crispín, R. H., Andrade, O. G., Meléndez, J. H., & Martínez, A. A. Prepubertal male rats with high rates of germ-cell apoptosis present exacerbated rates of germ-cell apoptosis after serotonin depletion. *Reproduction, Fertility, And Development*, 2016, 28(6), 806-814. doi:10.1071/RD13382

73. Mohammad MA. Evaluation of Rat Sperm Motility by CASA - ProQuest.
Retrieved June 1, 2000
74. Rodríguez-Tobón, A., Fierro, R., Cortés-Barberena, E., León-Galván, M. Rosado, A., & Arenas-Ríos, E. Tyrosine phosphorylation as evidence of epididymal cauda participation in the sperm maturation process of *Corynorhinus mexicanus* bat. *Acta Zoologica*, 2016, 97(3), 310-318.
doi:10.1111/azo.12124
75. Benowitz, N. Comprehensive nicotine regulation to end the combustible tobacco epidemic. *Annals Of Internal Medicine*, 2017, 167(10), 736-737.
doi:10.7326/M17-2071
76. Castro Llamas, J., & Cruz Beltrán, M. E. Estudio de los mecanismos neuroendocrinos que explican el bloqueo de la ovulación inducido por el implante unilateral de atropina en el área preóptica-hipotalámica anterior.
1990
77. Tulgar, S., Selvi, O., & Alasehir, E. The antimicrobial activity of ephedrine and admixture of ephedrine and propofol: an in vitro study. *Brazilian Journal Of Anesthesiology*. 2018, 68(1), 69-74. doi:10.1016/j.bjan.2017.08.001
78. Haarmann, T., Lorenz, N., & Tudzynski, P. Use of a nonhomologous end joining deficient strain (Deltaku70) of the ergot fungus *Claviceps purpurea* for identification of a nonribosomal peptide synthetase gene involved in ergotamine biosynthesis. *Fungal Genetics And Biology: FG & B*, 2008, 45(1), 35-44.

79. Marchesino, M. A., Cortez, M. V., Albrecht, C., Aballay, L. R., & Soria, E. A. Modificaciones en el nivel de anión superóxido en leche materna, según la ingesta de flavonoides y carotenoides. *Salud Pública De México*, 2017, 59(5), 526-531. doi:10.21149/8403
80. Saini, N., Singhal, M., B, S., & Sharma, S. Natural plants effective in treatment of sexual dysfunction: A Review. *The Pharma Research*, 2010, 4.
81. Gerardin, D., & Pereira, O. Reproductive changes in male rats treated perinatally with an aromatase inhibitor. *Pharmacology Biochemistry And Behavior*, 2002, 71(1-2), 309-313.
82. Dhawan K., Kumar S., Sharma A. Anti-anxiety studies on extracts of *Passiflora incarnata* Linneaus. *Journal of Ethnopharmacology*, 2001, 78(2–3), 165–170. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(01\)00339-7](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(01)00339-7)
83. Sampath, C., Holbik, M., Krenn, L., & Butterweck, V. Anxiolytic effects of fractions obtained from *passiflora incarnata* L. in the elevated plus maze in mice. *Phytotherapy Research*, 2011, 25(6), 789-795. doi:10.1002/ptr.3332
84. Bialy, M., Kalata, U., Nikolaev-Diak, A., & Nikolaev, E. D1 receptors involved in the acquisition of sexual experience in male rats. *Behavioural Brain Research*, 2010, 206(2), 166-176. doi:10.1016/j.bbr.2009.09.008
85. Matuszczyk JV, Larsson K. Experience Modulates The Influence Of Gonadal-Hormones On Sexual Orientation Of Male-Rats. *Physiology & Behavior*. 1994;55(3):527–531.

86. Graham J.M, Desjardins C. Classical conditioning: Induction of luteinizing hormone and testosterone secretion in anticipation of sexual activity. *Science*. 1980;210:1039–1041
87. López, H., & Ettenberg, A. Sexually conditioned incentives: Attenuation of motivational impact during dopamine receptor antagonism. *Pharmacology Biochemistry And Behavior*, 2002, 72(1-2), 65-72. doi:10.1016/S0091-3057(01)00732-8
88. Veening, J., & Coolen, L. Neural activation following sexual behavior in the male and female rat brain. *Behavioural Brain Research*, 1998, 92(2), 181-193. doi:10.1016/S0166-4328(97)00190-3
89. Hull, E., Lorrain, D., Du, J., Matuszewich, L., Lumley, L., Putnam, S., & Moses, J. Hormone-neurotransmitter interactions in the control of sexual behavior. *Behavioural Brain Research*, 1999, 105(1), 105-116. doi:10.1016/S0166-4328(99)00086-8
90. Rodríguez-Porcel, F., Lin, R., Paul, I., Green, D., Khatri, N., Harris, S., & May, W. Neonatal exposure of rats to antidepressants affects behavioral reactions to novelty and social interactions in a manner analogous to autistic spectrum disorders. *Anatomical Record*, 2011, 294(10), 1726-1735. doi:10.1002/ar.21402
91. Rayen I., Steinbusch H. W., Charlier T. D., Pawluski J. L. Developmental fluoxetine exposure and prenatal stress alter sexual differentiation of the brain and reproductive behavior in male rat offspring. *Psychoneuroendocrinology*. 2013

92. Pohland RC, Byrd TK, Hamilton M, Koons JR., Placental transfer and fetal distribution of fluoxetine in the rat. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1989 Apr;98(2):198-205.
93. Montejo-González AL, Llorca G, Izquierdo JA. SSRI-induce sexual dysfunction: fluoxetine, paroxetine, sertraline, and fluvoxamine in a prospective, multicenter, and descriptive clinical study of 344 patients. *J Sex Marital Ther* 1997, 23:176-194
94. Masand, P. S., & Gupta, S. Selective serotonin-reuptake inhibitors: an update. *Harvard Review Of Psychiatry*, 1999, 7(2), 69-84.
95. Kennedy, S., & Rizvi, S. Sexual dysfunction, depression, and the impact of antidepressants. *Journal Of Clinical Psychopharmacology*, 2009, 29(2), 157-164. doi:10.1097/JCP.0b013e31819c76e9
96. Frayne, J., Nguyen, T., Kohan, R., De Felice, N., & Rampono, J. The comprehensive management of pregnant women with major mood disorders: A case study involving phenelzine, lithium, and quetiapine. *Archives of Women's Mental Health*, 2014, 17(1), 73–75.
97. Yamamoto C. Electrical activity recorded from thin sections of lateral geniculate body, and the effects of S-hydroxytryptamine. *Exp. Brain Res.* 1974, 271-281.
98. Blažević, S., Jurčić, Ž., & Hranilović, D. Perinatal treatment of rats with MAO inhibitor tranylcypromine. *Translational Neuroscience*, 2010, 1(1), 49-54. doi:10.2478/v10134-010-0006-y

- 99.Satoh Tetsuo. The metabolism and placental transfer of isocarboxazid in pregnant rats. *Japanese Journal Of Pharmacology*, 1972 (5),
- 100.Kerr, A., Syddall, H. E., Cooper, C., Turner, G. F., Briggs, R. S., & Sayer, A. A. Does admission grip strength predict length of stay in hospitalized older patients. *Age and Ageing*, 2006, 35, 82–84.
- 101.Serra, A., Maclà, A., Romero, M., Motilva, M., Reguant, J., & Ortega, N. Metabolic pathways of the colonic metabolism of flavonoids (flavonols, flavones and flavanones) and phenolic acids. *Food Chemistry*, 2012; 130(2), 383-393. doi:10.1016/j.foodchem.2011.07.055
- 102.Hebert, M. F. Impact of Pregnancy on Maternal Pharmacokinetics of Medications. *Clinical Pharmacology During Pregnancy*, 2013, 17-39. doi:10.1016/B978-0-12-386007-1.00003-9



EFFECTO DE LA EXPOSICIÓN PERINATAL A PASSIFLORA INCARNATA SOBRE LA CONDUCTA SEXUAL, TESTOSTERONA, ESTRADIOL, FERTILIDAD Y CALIDAD ESPERMÁTICA EN LA RATA MACHO ADULTA

En la Ciudad de México, se presentaron a las 15:00 horas del día 26 del mes de marzo del año 2018 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DRA. MARCELA ARTEAGA SILVA
DR. AHIEZER RODRIGUEZ TOBON
DRA- OFELIA LIMON MORALES
DRA. EDITH ARENAS RIOS

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: ARTURO AMARO ROMERO

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.



ARTURO AMARO ROMERO
ALUMNO

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

DIRECTORA DE LA DIVISION DE CBS

DRA. SARA LUCIA CAMARGO RICALDE

PRESIDENTA

DRA. MARCELA ARTEAGA SILVA

VOCAL

DR. AHIEZER RODRIGUEZ TOBON

VOCAL

DRA. OFELIA LIMON MORALES

SECRETARIA

DRA. EDITH ARENAS RIOS