

Implicaciones de la edad avanzada de los progenitores en el fenotipo de la descendencia de la rata

Implications of advanced parental age on the phenotype of rat offspring

LUIS A. REYES-CASTRO^{1*}, HUMBERTO MARTÍNEZ-OROZCO², GUADALUPE L. RODRÍGUEZ-GONZÁLEZ¹, DIANA CASTRO-RODRÍGUEZ¹, GIMENA JUÁREZ-PILARES¹, ROBERTO CHAVIRA¹ Y ELENA ZAMBRANO¹

¹Biología de la Reproducción, Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Ciudad de México; ²Laboratorio de Neuromorfometría y Desarrollo, Instituto de Neurobiología, UNAM, Querétaro, Qro. México

RESUMEN

Antecedentes: La edad materna y paterna son factores externos que pueden determinar el fenotipo del individuo en desarrollo. **Objetivo:** Evaluar las implicaciones de la edad avanzada de los padres sobre los cambios metabólicos, oxidativos y endócrinos en la descendencia. **Materiales y métodos:** Se emplearon ratas Wistar distribuidas en: a) hembras jóvenes de 120 dPN (días posnatales) apareadas con machos de 120 dPN (edad materna y paterna óptima [EMPO]); b) hembras de edad avanzada de 360 dPN apareadas con machos de 120 dPN (edad materna avanzada [EMA]), y c) machos de 360 dPN apareados con hembras de 120 dPN (edad paterna avanzada [EPA]). **Resultados:** Al final de la lactancia, las madres EMA presentaron mayor índice de adiposidad (IA), leptina, glucosa, insulina, HOMA-IR, triglicéridos, malondialdehído (MDA) y progesterona en comparación con las madres EMPO y EPA. A los 110 dPN, las crías macho EMA y EPA tuvieron mayor IA, leptina, triglicéridos, MDA y testosterona, y solamente insulina y HOMA-IR en EMA con respecto a EMPO; sin alteraciones en las hembras. **Conclusión:** La edad avanzada de los padres impactó negativamente en el metabolismo de lípidos y glucosa por la vía materna y solo de lípidos por la vía paterna, de manera específica para cada sexo en la descendencia.

Palabras clave: Edad materna. Edad paterna. Envejecimiento. Etapas del desarrollo. Programación. Respuestas adaptativas.

ABSTRACT

Background: Maternal and paternal ages are external factors that can influence the developing individual's phenotype. **Objective:** To evaluate the effects of parental age on metabolic, oxidative, and endocrine alterations in the offspring. **Materials and methods:** Wistar rats were distributed in: a) young females of 120 PNd (postnatal days) mated with males of 120 PNd (optimal maternal and paternal age [EMPO]); b) elderly females of 360 PNd mated with males of 120 PNd (advanced maternal age [EMA]), and c) males of 360 PNd mated with females of 120 PNd (advanced paternal age [EPA]). **Results:** At the end of lactation, EMA mothers exhibited greater adiposity index (AI), leptin, glucose, insulin, HOMA, triglycerides, malondialdehyde (MDA) and progesterone than EMPO and EPA mothers. At 110 PNd, the EMA and EPA male offspring had higher AI, leptin, triglycerides, MDA and testosterone, and only insulin and HOMA in EMA with respect to EMPO; no alterations were observed in females. **Conclusions:** The advanced age of the parents had a sex-specific effect on the offspring's metabolism of lipids and glucose through the maternal line and solely lipids through the paternal line.

Keywords: Maternal age. Paternal age. Aging. Development stages. Programming. Adaptive responses.

*Correspondencia:

Luis A. Reyes-Castro
E-mail: luis.reyesca@incmnsz.mx

Fecha de recepción: 22-12-2022
Fecha de aceptación: 27-02-2023
DOI: 10.24875/RME.22000071

Disponible en internet: 30-08-2023
Rev Mex Endocrinol Metab Nutr. 2023;10:109-117

2462-4144 / © 2023 Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología, AC. Publicado por Permalyer. Este es un artículo *open access* bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

INTRODUCCIÓN

El crecimiento y desarrollo fetal y neonatal constituyen periodos de más plasticidad celular¹, y son influenciados por los genes y la exposición a factores ambientales en que se desarrolla el individuo². De estas evidencias surge el término «programación del desarrollo» o actualmente «los orígenes del desarrollo de la salud y la enfermedad» (DOHaD, por sus siglas en inglés), que propone que la fisiología y el metabolismo fetal y neonatal pueden ser alterados durante periodos críticos del desarrollo como son el embarazo y la lactancia, incrementando en la descendencia la probabilidad de desarrollar enfermedades crónicas no transmisibles en la vida adulta³. Dentro de los factores principales que afectan la programación del desarrollo tenemos: la exposición fetal a glucocorticoides, malnutrición o sobrealimentación materna, restricción del flujo útero-placentario y diabetes gestacional, entre otras⁴; siendo el estrés oxidante, aumento de las especies reactivas de oxígeno (ERO), uno de los mecanismos moduladores de dichas alteraciones⁵.

El suministro de nutrientes al feto es la principal influencia que regula su crecimiento y depende en gran medida del estado de salud de la madre, estado endócrino y alimentación durante el embarazo, sin embargo, la edad materna también es un factor que modifica el fenotipo en la descendencia⁶. En las últimas décadas se ha observado que debido a diferentes causas las mujeres han postergado el embarazo, lo cual ha llevado a tener mayor número de madres gestantes en edad materna avanzada⁷. Las complicaciones asociadas a la edad materna avanzada pueden dividirse en maternas y fetales⁸, dentro de las cuales tenemos mortalidad materna, hipertensión, diabetes gestacional, aborto espontáneo y parto pretérmino, entre otras⁷⁻⁹. Un estudio realizado en placenta de mujeres demostró que la edad avanzada es un factor que incrementa el daño oxidativo en la placenta, en comparación con madres de edad óptima, siendo este un factor que pudiese afectar el adecuado desarrollo del producto¹⁰. Estudios con animales de experimentación han demostrado que la edad materna

avanzada modifica el crecimiento fetal e induce cambios específicos para cada sexo en el fenotipo de la placenta, debido al incremento en la producción de las ERO¹¹.

Recientemente hemos evaluado los efectos de la edad materna (etapa de concepción) sobre el metabolismo y producción de hormonas esteroideas circulantes en las crías a edad avanzada, ~850 días posnatales (dPN). En dicho estudio se abordaron los efectos de la edad materna y el envejecimiento *per se* en la descendencia; interesantemente, observamos que en las crías de madres de edad avanzada se potenciaron las alteraciones metabólicas y endócrinas de manera específica para cada sexo¹². Las evidencias anteriormente descritas demuestran que la edad materna avanzada tiene implicaciones en la descendencia, sin embargo, deben de ser explorados más a profundidad, y a su vez es de suma importancia contemplar la edad paterna como un factor adicional.

Estudios epidemiológicos han demostrado que la edad paterna avanzada induce anomalías genéticas, complicaciones perinatales y desórdenes del neurodesarrollo en la descendencia tales como: autismo, esquizofrenia, desorden bipolar y habilidades cognitivas¹³. Por otro lado, en animales de experimentación se ha reportado que la edad paterna avanzada afecta adversamente la salud metabólica e induce déficits de aprendizaje y conducta exploratoria en la descendencia¹⁴. El presente estudio nos permitió elucidar si la edad materna o paterna tienen una importante implicación sobre los cambios endócrinos, metabólicos y oxidativos en la descendencia de la rata a una edad adulta joven.

MATERIALES Y MÉTODOS

Todos los procedimientos involucrados fueron aprobados por el Comité Interno para el Cuidado y Uso de los Animales de Laboratorio (CICUAL) del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ) con clave institucional BRE-2016-20-23-1. Se emplearon ratas de la

cepa Wistar, las cuales se mantuvieron en el bioterio del INCMNSZ bajo temperatura (22-23°C) e iluminación controlada (luces encendidas de 07:00 a 19:00 horas) y fueron alimentadas durante todo el experimento con dieta Purina 5001, que tiene un aporte energético de 3.4 kcal g⁻¹. Para evaluar el efecto de la edad materna y paterna las ratas fueron apareadas a diferentes edades: a) ratas hembra jóvenes de 120 dPN apareadas con machos de 120 dPN (edad materna y paterna óptima [EMPO]); b) ratas hembra de edad avanzada de 360 dPN apareadas con machos de 120 dPN (edad materna avanzada [EMA]), y c) machos de 360 dPN apareados con hembras de 120 dPN (edad paterna avanzada [EPA]). Se realizaron frotis vaginales y el día que se observaron espermatozoides se designó como el inicio de la gestación. Las crías (F1) se destetaron a los 21 dPN y se alojaron cuatro animales por caja y se alimentaron con Purina 5001. Tras seis horas de ayuno, las madres (21 días lactancia) y las crías macho y hembra F1 (adulto joven, 110 dPN) de cada camada fueron anestesiados con isoflurano y posteriormente sangrados por punción aórtica para la recolección de sangre total para la obtención del suero (almacenado a -70°C). Se diseccionaron y pesaron individualmente los depósitos de tejido adiposo para calcular el índice de adiposidad (IA), el cual se obtuvo mediante la siguiente fórmula: tejido adiposo total (g) / peso corporal (g) × 100.

Las concentraciones de glucosa, triglicéridos y colesterol fueron analizadas mediante método enzimático, empleando el analizador automático Synchron CX (Beckman Coulter). Las concentraciones de insulina y leptina en suero se determinaron mediante ensayo inmunoenzimático (ELISA), utilizando estuches comerciales para ratas de Sigma-Aldrich (EZRMI-13K) e Invitrogen (KRC2281), respectivamente. El modelo homeostático (HOMA-IR) se calculó como: [glucosa (mmol/l) × insulina (μU/ml)] / 22.5. Para la lipoperoxidación, el malondialdehído (MDA) en suero se determinó mediante el ensayo de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico. Las concentraciones hormonales de estradiol (pg/ml) se cuantificaron utilizando el estuche comercial de ELISA de DRG International, Inc. (EIA-4399) y las de progesterona (ng/ml) y testosterona (ng/ml) se

cuantificaron utilizando los estuches de Siemens Immulite/Immolute 1000 Systems (LKPW1 y LKTW1, respectivamente). El número de madres y crías empleado fue de: EMPO n = 11, EMA n = 10, EPA n = 12. Se utilizó una cría por sexo de cada camada. Todas las determinaciones se realizaron por duplicado y los resultados se promediaron para el análisis estadístico.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La prueba de normalidad se realizó mediante Kolmogorov-Smirnov. Los datos están expresados como media ± error estándar (EE). Los resultados metabólicos, oxidativos y hormonales tanto en la madre como en las crías macho y hembras F1 fueron analizados usando un análisis de varianza múltiple de una vía (ANOVA) seguida de una prueba de Tukey, un valor de p < 0.05 fue considerado estadísticamente significativo. Dado que el peso, insulina, HOMA-IR y triglicéridos fueron diferentes en el grupo EMPO entre sexos (p < 0.05, por t-test), decidimos únicamente comparar las respuestas según la edad materna.

RESULTADOS

Tasa de fertilidad

La tasa de fertilidad de las hembras EMA fue del 50%, mientras que para EMPO y EPA fue del 100%.

Madres al destete

Las madres EMA presentaron mayor ganancia de peso (Fig. 1A), mayor IA (Fig. 1B), incremento en las concentraciones séricas de leptina (Fig. 1C), glucosa (Fig. 1D) e insulina (Fig. 1E), así como aumento en el índice HOMA-IR (Fig. 1F), triglicéridos (Fig. 2A), sin cambios en colesterol (Fig. 2B) e incremento de MDA (Fig. 2C) en comparación con las madres EMPO y EPA; con respecto a las hormonas esteroideas, las

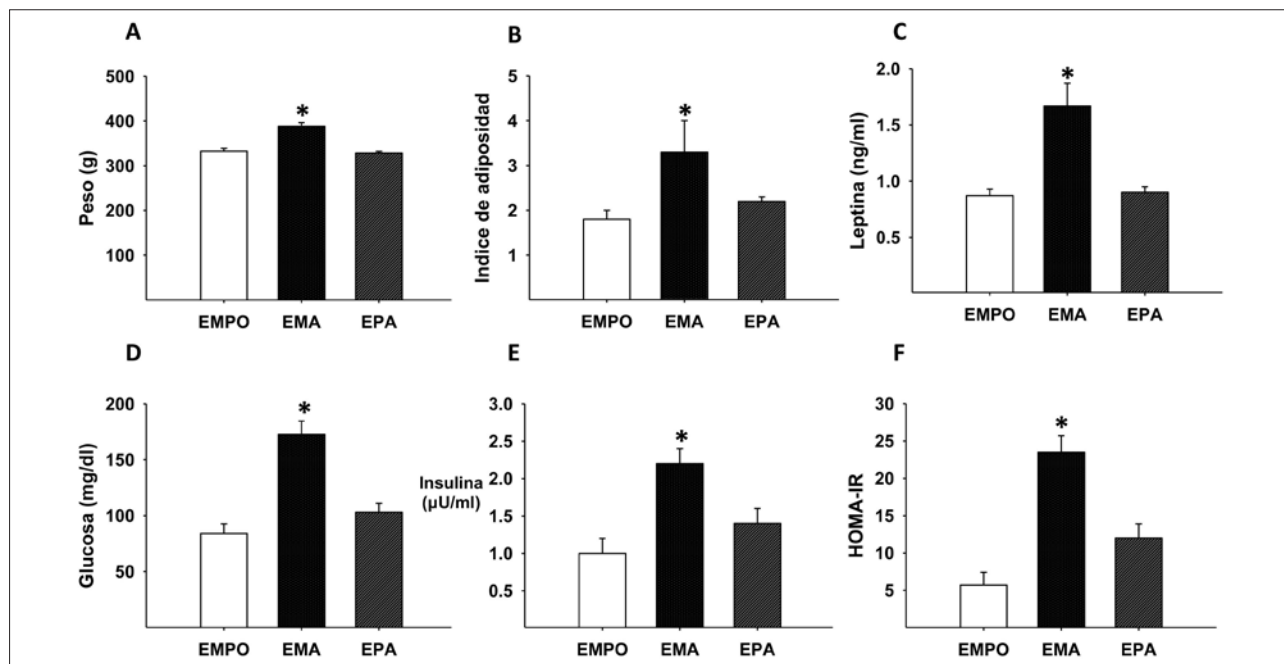


Figura 1. Parámetros maternos al día del destete. **A:** peso (g). **B:** índice de adiposidad. **C:** leptina (ng/ml). **D:** glucosa (mg/dl). **E:** insulina (μU/ml). **F:** HOMA-IR. Media ± EE; n = 10-12 madres. *vs. EMPO. EMPO: edad materna y paterna óptima; EMA: edad materna avanzada; EPA: edad paterna avanzada; EE: error estándar; HOMA-IR: modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina.

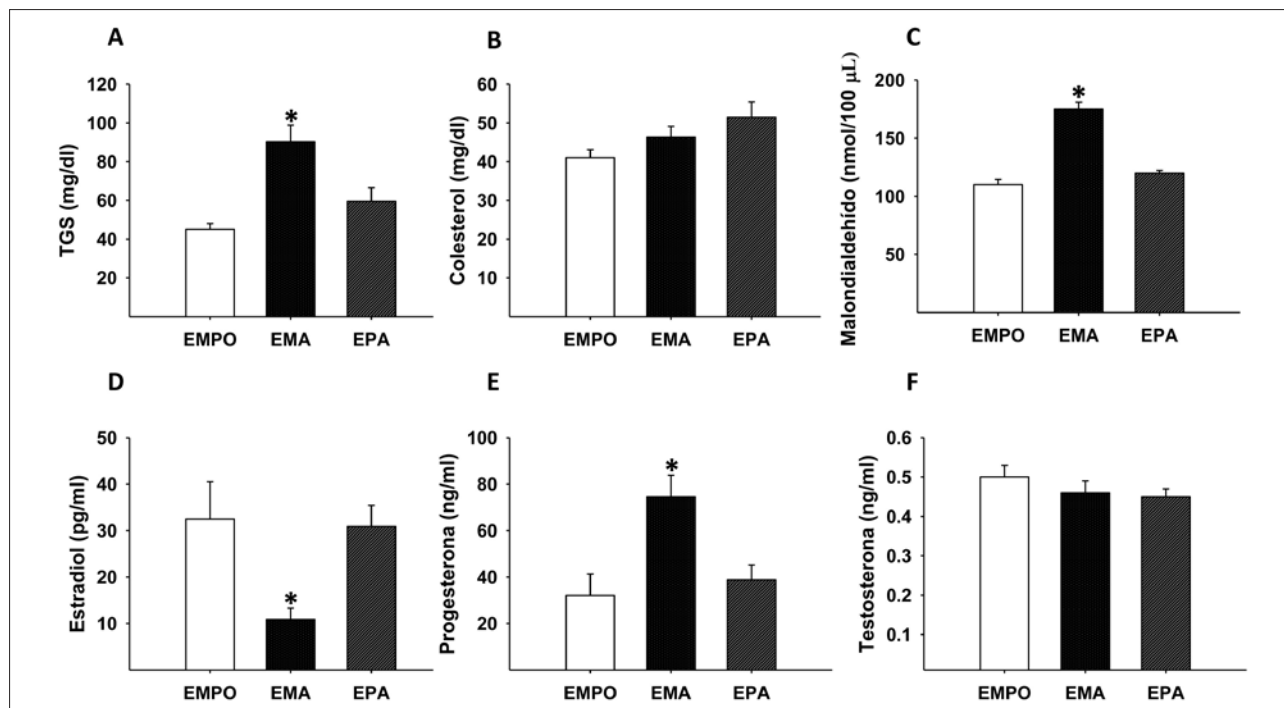


Figura 2. Parámetros metabólicos, oxidativos y hormonales maternos al día del destete. **A:** TGS (mg/dl). **B:** colesterol (mg/dl). **C:** malondialdehído (nmol/100 μL). **D:** estradiol (pg/ml). **E:** progesterona (ng/ml). **F:** testosterona (ng/ml). Media ± EE; n = 10-12 madres. *vs. EMPO. EMPO: edad materna y paterna óptima; EMA: edad materna avanzada; EPA: edad paterna avanzada; EE: error estándar; TGS: triglicéridos.

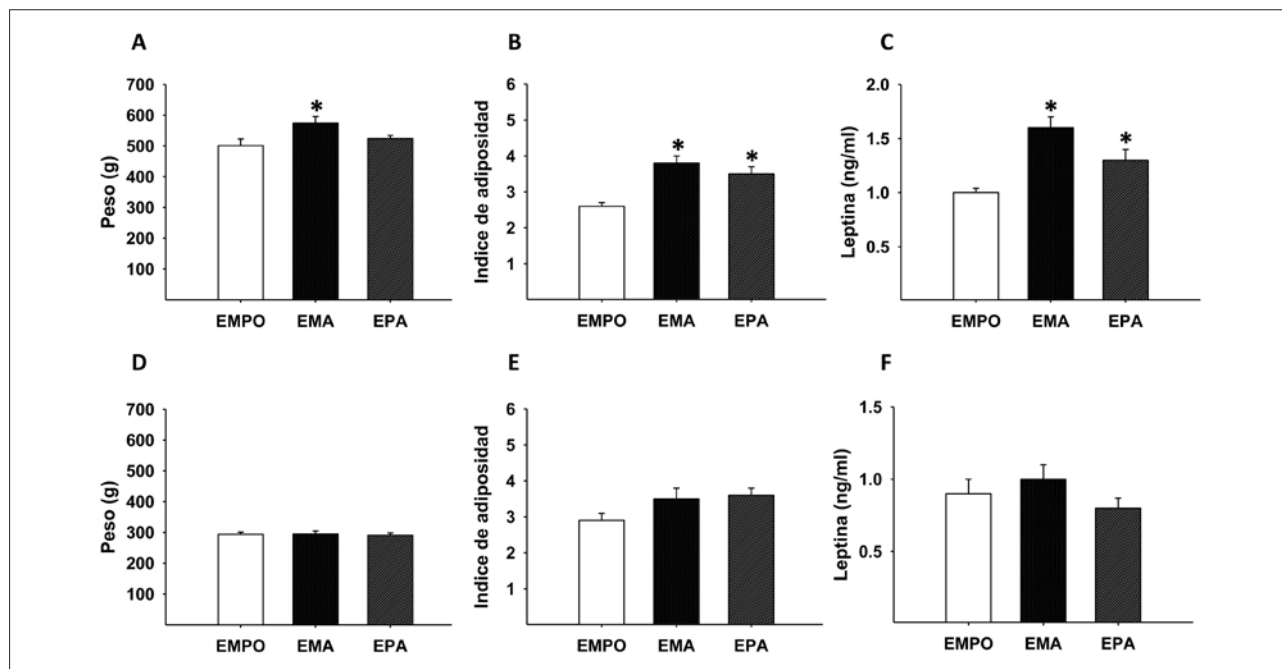


Figura 3. Características y parámetros metabólicos de las crías F1 a los 110 dPN. Machos y hembras. **A y D:** peso (g). **B y E:** índice de adiposidad. **C y F:** leptina (ng/ml). Media $\pm$ EE; n = 10-12 crías de diferente camada. *vs. EMPO. EMPO: edad materna y paterna óptima; EMA: edad materna avanzada; EPA: edad paterna avanzada; EE: error estándar.

concentraciones de estradiol se encontraron disminuidas (Fig. 2D) y la progesterona aumentada (Fig. 2E) en EMA vs. EMPO y EPA respectivamente. No se observaron diferencias en testosterona (Fig. 2F).

Descendencia

Al nacimiento, el número de crías por camada de las hembras EMA fue de 5-6 y 10-12 crías en las EMPO y EPA. A los 110 dPN el peso corporal se incrementó únicamente en los machos EMA (Fig. 3A), el IA (Fig. 3B) y la leptina se encontraron incrementados en EMA y EPA con respecto a EMPO (Fig. 3C), sin cambios en las hembras (Fig. 3 D-F). En los machos EMA no hubo cambios en glucosa (Fig. 4A), pero se incrementó la insulina (Fig. 4B) y el HOMA-IR (Fig. 4C) con respecto a EMPO y EPA; no se encontraron diferencias en las hembras (Fig. 4 D-F). Los triglicéridos se observaron incrementados (Fig. 5A), sin cambio en colesterol (Fig. 5B), y mayor concentración de MDA (Fig. 5C) en EMA y EPA con respecto a EMPO; en las hembras se observaron concentraciones similares entre grupos (Fig. 5 D-F). En los machos las

concentraciones de testosterona estuvieron disminuidas en EMA y EPA vs. EMPO (Fig. 6A); sin cambios en estradiol (Fig. 6B) y progesterona en hembras (Fig. 6C).

DISCUSIÓN

La mayoría de los estudios relacionados en el área de la programación se han enfocado en la exposición materna a diferentes desafíos durante etapas tempranas como la gestación y/o lactancia en la salud y enfermedad de la progenie en la vida adulta. Sin embargo, pocos estudios han demostrado que la edad de los progenitores al momento de la concepción es un factor que debe ser contemplado en los estudios de programación^{11,12}, ya que el envejecimiento *per se* implica una serie de cambios morfológicos, endócrinos y reproductivos^{15,16}. El presente estudio nos permitió evaluar si la edad materna o paterna tiene una implicación importante sobre los cambios metabólicos, oxidativos y endócrinos en la descendencia.

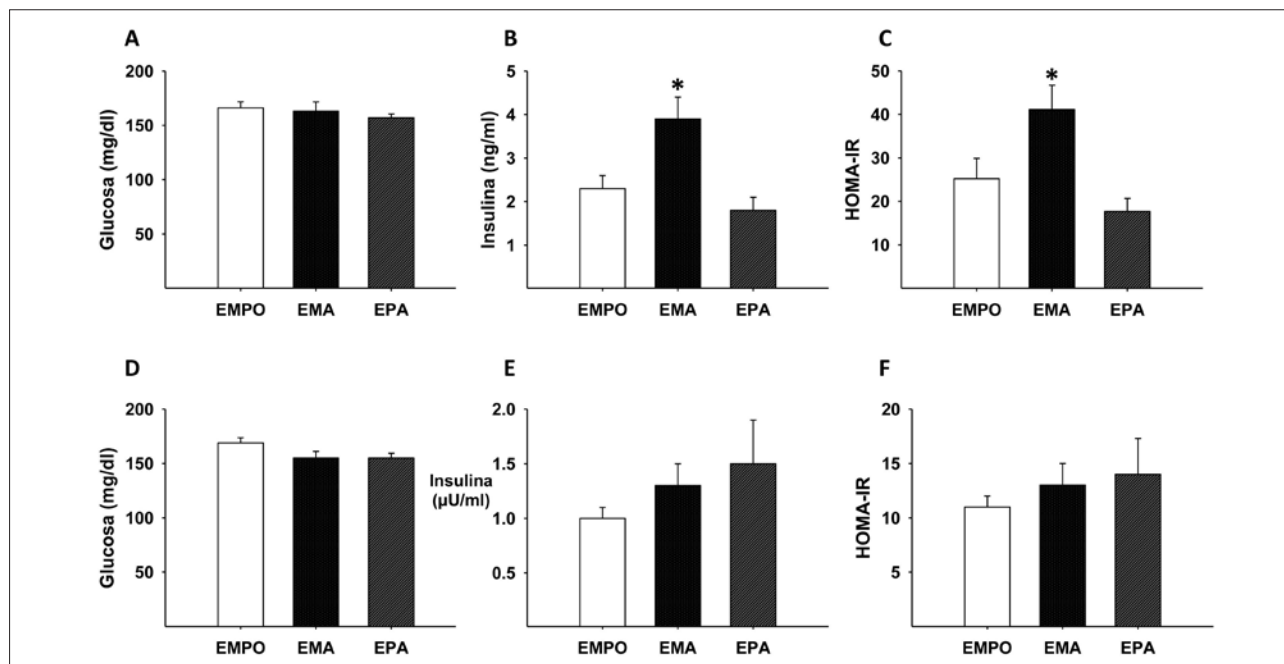


Figura 4. Metabolismo de carbohidratos en las crías F1 a los 110 dPN. Machos y hembras. **A y D:** glucosa (mg/dl). **B y E:** insulina (μU/ml). **C y F:** HOMA-IR. Media ± EE; n = 10-12 crías de diferente camada. *vs. EMPO. EMPO: edad materna y paterna óptima; EMA: edad materna avanzada; EPA: edad paterna avanzada; EE: error estándar; HOMA-IR: modelo homeostático para evaluar la resistencia a la insulina.

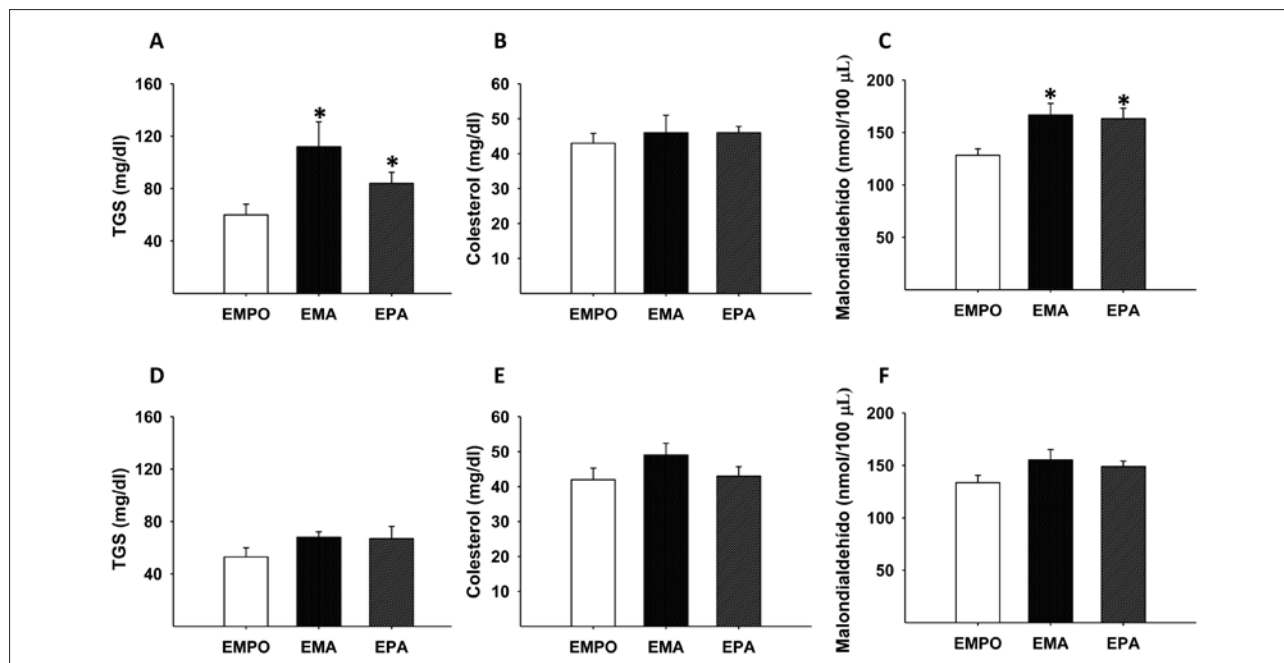


Figura 5. Parámetros metabólicos y oxidativos en las crías F1 a los 110 dPN. Machos y hembras. **A y D:** TGS (mg/dl). **B y E:** colesterol (mg/dl). **C y F:** malondialdehído (nmol/100μl). Media ± EE; n = 10-12 crías de diferente camada. *vs. EMPO. EMPO: edad materna y paterna óptima; EMA: edad materna avanzada; EPA: edad paterna avanzada; EE: error estándar; TGS: triglicéridos.

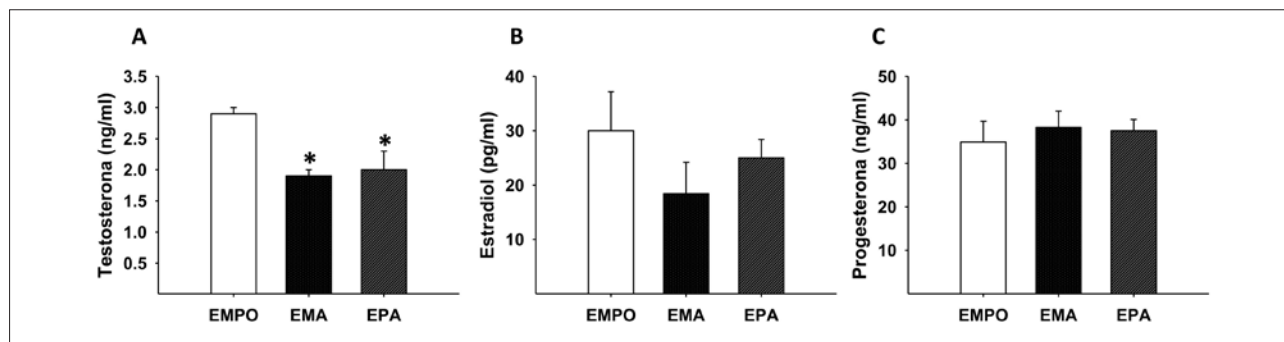


Figura 6. Parámetros hormonales en las crías F1 a los 110 dPN. Machos: **(A)** testosterona (ng/ml). Hembras: **(B)** estradiol (pg/ml) y **(C)** progesterona (ng/ml). Media $\pm$ EE; n = 10-12 crías de diferente camada. *vs. EMPO. EMPO: edad materna y paterna óptima; EMA: edad materna avanzada; EPA: edad paterna avanzada; EE: error estándar.

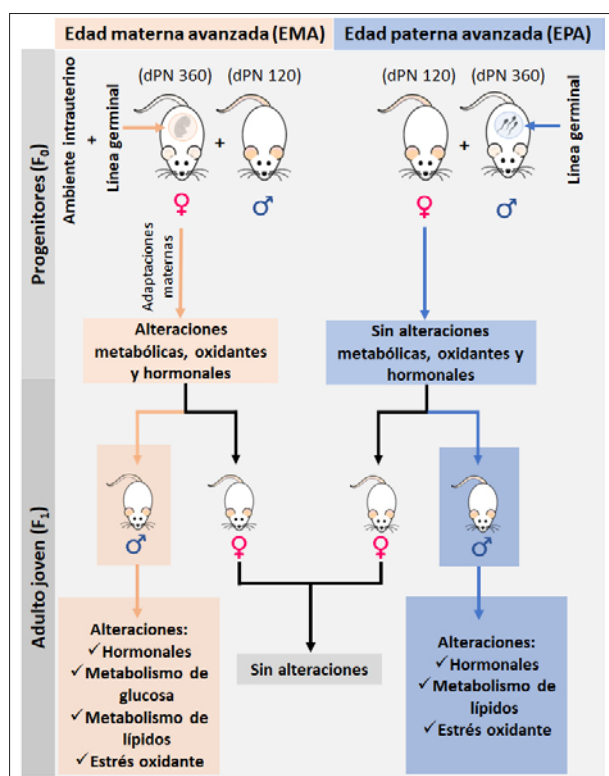


Figura 7. Resumen de resultados de las implicaciones de la edad materna y paterna avanzada sobre los cambios metabólicos, oxidativos y endócrinos en la descendencia de la rata. EMA: edad materna avanzada; EPA: edad paterna avanzada;

En México, la última encuesta nacional de salud (ENSANUT 2018) reportó que las mujeres postergan el momento del embarazo; dicha condición se considera de alto riesgo, tanto para la madre como para el neonato. Recientemente se ha demostrado en ratas que la edad materna avanzada tiene impacto

en el entorno intrauterino, compromete el crecimiento fetal e induce cambios en el fenotipo placentario de forma específica para cada sexo^{5,10,11}. Estos cambios divergentes según el sexo pueden desempeñar un papel importante en la determinación del estado de salud y/o enfermedad de la descendencia^{3,12,17}.

Durante la gestación y la lactancia la madre realiza adaptaciones neuroendócrinas que se encargan de regular la fisiología y homeostasis metabólica¹⁸. Al destete, las hembras EMA mostraron incremento en las concentraciones de progesterona, disminución en estradiol, sin cambio en testosterona. La disminución de estrógenos maternos antes del embarazo puede inducir consecuencias no deseadas para las funciones maternas y placentarias, por ejemplo, el flujo sanguíneo uterino, lo cual puede relacionarse con la reducción en la tasa de fertilidad y el número de crías observado. De manera importante, el estradiol puede influir en la regulación de la capacidad antioxidante del organismo¹⁹, ya que diversos estudios han sugerido que las hormonas sexuales pueden llegar a conferir cierta resistencia al estrés oxidante²⁰. Previamente se ha descrito que la menopausia naturalmente reduce el gasto energético en reposo, e incrementa la adiposidad y la insulina en ayuno, lo cual puede estar relacionado con una disminución en los niveles de estradiol²¹. En mujeres posmenopáusicas las concentraciones de leptina aumentan como consecuencia de la acumulación del tejido adiposo²². Con base en estas evidencias, es posible que la desregulación hormonal asociada a la edad avanzada, principalmente por la reducción de los niveles de estradiol,

contribuya junto con el envejecimiento al aumento de peso corporal, IA, las alteraciones metabólicas, así como mayor estrés oxidante observado en el grupo EMA. Haciendo la inspección de los resultados existentes se ha evaluado a nivel metabólico y endócrino, el envejecimiento *per se* de las crías de madres que procrearon durante la adolescencia o a una edad avanzada e interesantemente se encontró que existe un envejecimiento prematuro a nivel metabólico y endócrino de manera específica para cada sexo^{12,23,24}.

Si bien muchas de las alteraciones metabólicas manifestadas en la descendencia han sido atribuidas a la edad materna, la edad paterna avanzada en el humano ha sido asociada con la aparición de leucemia, esquizofrenia, epilepsia y recientemente se ha asociado con la aparición a largo plazo de diabetes, obesidad e hipertensión en su descendencia²⁵. El presente estudio demuestra que la EPA puede afectar el estado de salud de la descendencia, particularmente la de sexo masculino. Dicha programación específica de sexo sugiere que la edad avanzada es un factor que contribuye a una mayor predisposición de las crías macho a desarrollar un fenotipo de alteraciones que posiblemente conduzca a un envejecimiento prematuro del sistema metabólico y reproductivo. Por otra parte, resultó interesante que las hembras F1 EMA y EPA se vieron protegidas de presentar alteraciones metabólicas, oxidativas y endócrinas a la misma edad que sus hermanos; sin embargo, los mecanismos por los cuales se origina esta protección no han sido del todo explorados. Se ha reportado que las alteraciones en la calidad espermática debido a la excesiva producción de ERO y la alteración de la capacidad antioxidante en el espermatozoide puede ser uno de los mecanismos involucrados en la programación²⁶, sin embargo, se necesita explorar los cambios epigenéticos en la línea germinal que conducen a dichas alteraciones.

CONCLUSIÓN

Se puede concluir que el estado de salud y enfermedad de la descendencia a lo largo de su vida es influenciado por la edad de los progenitores, observándose que el metabolismo de lípidos y glucosa se

ve afectado por la vía materna y el de lípidos solo por la vía paterna, de manera específica para cada sexo (Fig. 7), por lo tanto, la edad avanzada de los padres es un factor que programa el fenotipo de la descendencia.

AGRADECIMIENTOS

MVZ Mariela Contreras Escamilla, jefa del Departamento de Investigación experimental y Bioterio por las facilidades del uso de las instalaciones del bioterio; MVZ Jovani Zamudio López y QFB Luz Elizabeth Guillén Pineda por su asistencia técnica.

FINANCIAMIENTO

El presente estudio de investigación fue financiado (SMNE P E003909) por la Sociedad Mexicana de Nutrición y Endocrinología AC.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

RESPONSABILIDADES ÉTICAS

Protección de personas y animales. Los autores declaran que los procedimientos seguidos se conformaron a las normas éticas del comité de experimentación humana responsable y de acuerdo con la Asociación Médica Mundial y la Declaración de Helsinki.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Uso de inteligencia artificial para generar textos.

Los autores declaran que no han utilizado ningún tipo de inteligencia artificial generativa en la redacción de este manuscrito ni para la creación de figuras, gráficos, tablas o sus correspondientes pies o leyendas.

BIBLIOGRAFÍA

- Ozanne SE, Fernandez-Twinn D, Hales CN. Fetal growth and adult diseases. *Semin Perinatol*. 2004;28(1):81-7.
- Godfrey KM. The role of the placenta in fetal programming-a review. *Placenta*. 2002;23(Suppl A):S20-7.
- Godfrey KM, Costello PM, Lillycrop KA. Development, epigenetics and metabolic programming. *Nestle Nutr Inst Workshop Ser*. 2016;85:71-80.
- Hoffman DJ, Powell TL, Barrett ES, Hardy DB. Developmental origins of metabolic diseases. *Physiol Rev*. 2021;101(3):739-95.
- Gutiérrez Maydata A. Estrés oxidativo en la gestación: ¿una nueva óptica en la atención a la embarazada? *Rev Cubana Obstet Ginecol*. 2005;31.
- Barker DJ. Developmental origins of adult health and disease. *J Epidemiol Community Health*. 2004;58(2):114-5.
- Crespo R, Alvir A. Impacto de la edad materna avanzada en las complicaciones obstétricas y perinatales de las gestaciones gemelares. *Clin Invest Gin Obst*. 2012;39(6):230-5.
- Chamy V, Cardemil F, Betancour P, Ríos M, Leighton L. Riesgo obstétrico y perinatal en embarazadas mayores de 35 años. *Rev Chil Obstet Ginecol*. 2009;74(6):331-8.
- Balestena Sánchez JM, Pereda Serrano Y, Milán Soler JR. La edad materna avanzada como elemento favorecedor de complicaciones obstétricas y del nacimiento. *Rev Cienc Med Pinar Río*. 2015;19(5):789-802.
- Suárez S, Cabrera S, Ramírez E, Janampa D. Marcadores de estrés oxidativo en placentas de gestantes añosas. *An Fac Med*. 2007;68:328-32.
- Napso T, Hung YP, Davidge ST, Care AS, Sferruzzi-Perri AN. Advanced maternal age compromises fetal growth and induces sex-specific changes in placental phenotype in rats. *Sci Rep*. 2019;9(1):16916.
- Zambrano E, Reyes-Castro LA, Rodríguez-González GL, Chavira R, Nathanielsz PW. Aging endocrine and metabolic phenotypes are programmed by mother's age at conception in a sex-dependent fashion in the rat. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2020;75(12):2304-7.
- Janeczko D, Hołowczuk M, Orzeł A, Klatka B, Semczuk A. Paternal age is affected by genetic abnormalities, perinatal complications and mental health of the offspring. *Biomed Rep*. 2020;12(3):83-8.
- Foldi CJ, Eyles DW, McGrath JJ, Burne THJ. Increasing paternal age alters anxiety-related behaviour in adult mice. *Genes Brain Behav*. 2019;18(2):e12522.
- Ishii M, Yamauchi T, Matsumoto K, Watanabe G, Taya K, Chatani F. Maternal age and reproductive function in female Sprague-Dawley rats. *J Toxicol Sci*. 2012;37(3):631-8.
- Mathews TJ, Hamilton BE. Mean age of mother, 1970-2000. *Natl Vital Stat Rep*. 2002;51(1):1-13.
- Golden TR, Hinerfeld DA, Melov S. Oxidative stress and aging: beyond correlation. *J Aging Cell*. 2002;1(2):117-23.
- Travers S, Martinerie L, Boileau P, Xue QY, Lombès M, Pussard E. Comparative profiling of adrenal steroids in maternal and umbilical cord blood. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2018;178:127-34.
- White RE, Gerrity R, Barman SA, Han G. Estrogen and oxidative stress: A novel mechanism that may increase the risk for cardiovascular disease in women. *Steroids*. 2010;75(11):788-93.
- Kander MC, Cui Y, Liu Z. Gender difference in oxidative stress: a new look at the mechanisms for cardiovascular diseases. *J Cell Mol Med*. 2017;21(5):1024-32.
- Ko SH, Jung Y. Energy Metabolism Changes and Dysregulated Lipid Metabolism in Postmenopausal Women. *Nutrients*. 2021;13(12).
- Di Carlo C, Tommaselli GA, Pisano G, Nasti A, Rossi V, Palomba S, et al. Serum leptin levels in postmenopausal women: effects of transdermal hormone replacement therapy. *Menopause*. 2000;7(1):36-41.
- Tarry-Adkins JL, Ozanne SE. Poor early growth and age-associated disease. *Subcell Biochem*. 2019;91:1-19.
- Zambrano E, Reyes-Castro LA, Nathanielsz PW. Aging, glucocorticoids and developmental programming. *Age (Dordr)*. 2015;37(3):9774.
- Halvaei I, Litzky J, Esfandiari N. Advanced paternal age: effects on sperm parameters, assisted reproduction outcomes and offspring health. *Reprod Biol Endocrinol*. 2020;18(1):110.
- Rodríguez-González GL, Reyes-Castro LA, Vega CC, Boeck L, Ibáñez C, Nathanielsz PW, et al. Accelerated aging of reproductive capacity in male rat offspring of protein-restricted mothers is associated with increased testicular and sperm oxidative stress. *Age (Dordr)*. 2014;36(6):9721.