



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
ESCUELA DE BIOLOGÍA

EFFECTO DE CONSUMO DE CHILE HABANERO
(*Capsicumchinese*) SOBRE LA CALIDAD ESPERMÁTICA
EN UNA POBLACIÓN UNIVERSITARIA

T E S I S

Presentada como requisito para obtener el título de:

LICENCIATURA EN BIOLOGÍA

PRESENTA:
GERMÁN LEÓN LÓPEZ

DIRECTOR DE TESIS :
M. en C. UBALDO QUIROZ LÓPEZ



DICIEMBRE, 2015

INDICE

Resumen.....	
1. Introducción.....	
1.1 Anatomía del testículo.....	
1.2 Espermatogénesis.....	
1.3 Factores que afectan la espermatogénesis.....	
1.4 Eje Hipotálamo-hipófisis-testículo.....	
1.5 Inervación del testículo.....	
1.6 Fibras sensoriales.....	
1.7 Denervación sensorial.....	
1.8 Antecedentes.....	
2. Hipótesis.....	
3. Objetivo general.....	
3.1 Objetivos particulares.....	
4. Material y métodos.....	
5. Resultados.....	
6. Discusión.....	
7. Conclusión.....	
8. Bibliografía.....	
9. Anexos.....	

Resumen

En mamíferos la reproducción de los machos depende principalmente del proceso de espermatogénesis, el cual está regulado por diferentes mecanismos neuroendocrinos que involucran al eje hipotálamo-hipófisis-testículo, así como por información de una vía neural que involucra tanto fibras aferentes como eferentes.

Esta regulación neural de la espermatogénesis ha sido poco estudiada en comparación con la vía hormonal, sin embargo durante los últimos años las evidencias sobre la importancia que tienen en el tracto reproductivo y la espermatogénesis ha ido en aumento.

Algunos estudios han mostrado que la eliminación de las fibras aferentes o sensoriales mediante la administración de capsaicina (ingrediente activo de los frutos del género *Capsicum*) afectan la espermatogénesis. La capsaicina activa al receptor vanilloide de potencial transitorio tipo 1 (TRPV1) presente en las fibras sensoriales y en algunos otros tipos celulares involucrados en la reproducción como son las células de Sertoli, las espermatogonias e incluso en el espermatozoide. Se ha demostrado que el efecto de la capsaicina sobre la vía aferente depende de la dosis administrada, cuando se administra en dosis altas provoca un efecto inhibitorio, mientras que a dosis bajas podría estar estimulando.

En la actualidad se han incrementado los porcentajes de infertilidad masculina, se sabe que el estilo de vida afecta la espermatogénesis. Hábitos como el consumo de alcohol, fumar, la dieta, el estrés, el tipo de ropa, etc. serían causantes de una disminución en la calidad espermática. En nuestro país se tiene la costumbre de consumir chile que data de tiempos prehispánicos, no se tiene reportado si este hábito puede afectar la fertilidad de los hombres que consumen frecuentemente picante. Por lo tanto el objetivo del siguiente trabajo fue evaluar los efectos del consumo de dos diferentes dosis (3mg y 300mg) de chile habanero (*Capsicum chinese*, variedad americana que mayor contenido de capsaicina tiene) sobre la calidad espermática de una población universitaria.

En este estudio participaron 30 voluntarios en un rango de edad entre 18-27 años de edad. Los cuales mediante encuesta se dividieron en 3 grupos de 10 personas, aquellos que no han consumido picante en algún momento de su vida, se usaron como control, y quienes consumían poco o mucho picante se les administro un tratamiento de 3mg (poco picante) y 300mg (mucho picante) de chile habanero (fruto fresco) respectivamente, durante 5 días a la semana en un periodo de 90 días. Para los 3 grupos se realizaron dos análisis seminales con base al manual de la OMS. El primer análisis se realizó al inicio del tratamiento y el segundo después de los 90 días de tratamiento. Se aplicaron pruebas de Wilcoxon y Kruskal Wallis con un intervalo de confianza del 95 %, utilizando el programa IBM SPSS Statistic.

Nuestros resultados mostraron que la administración de las dos diferentes dosis de chile habanero no modificó la motilidad y la concentración espermática de forma significativa. Sin embargo se observó una disminución en el tiempo de licuefacción del eyaculado después del tratamiento con 3mg y 300mg de habanero ($p < 0.05$). De igual forma el porcentaje de espermatozoides vivos mostró una disminución significativa después del tratamiento con 300mg ($p < 0.05$).

Nuestro trabajo apoya la idea de que la información sensorial participa en la regulación de los mecanismos que controlan la espermatogénesis. Sin embargo aún hace falta estudios que permitan determinar si la vía que activa la capsaicina es diferencial dependiendo de la dosis utilizada.

Introducción

El tracto reproductor masculino consta generalmente de testículos, epidídimos, conductos deferentes, glándulas sexuales accesorias y el pene. Los testículos en su interior están formados por lobulillos que contienen paquetes de conductos llamados túbulos seminíferos, los cuales se encuentran rodeados en su exterior por células encargadas de la producción de testosterona llamadas células de Leydig y en su interior por células de Sertoli que contienen a las células germinales en desarrollo y en conjunto forman el epitelio germinal del túbulo (Setchell y Breed, 2006; Gartner, 1997).

En el interior de los túbulos seminíferos se lleva a cabo el proceso de espermatogénesis que consiste en una serie de transformaciones de las espermatogonias para convertirse finalmente en espermatozoides. Estos procesos son regulados por diferentes mecanismos que involucra al eje hipotálamo-hipófisis-gónada así como información del sistema nervioso simpático, parasimpático y sensorial (Kaleczyc, 1998; Gerendai *et al*, 2005).

La GnRH es liberada por el hipotálamo y actúa sobre la hipófisis produciendo la Hormona Folículo Estimulante (FSH) y Hormona Luteinizante (LH). Estas hormonas actúan sobre las células de Sertoli y las células de Leydig activando o inhibiendo la maduración gonadal y la esteroidogénesis (Prieto y Velazquez, 2002).

En humanos la duración de la formación del espermatozoide desde espermatogonia es de alrededor de 74 días más 12 días que aproximadamente requiere el espermatozoide para su tránsito por el epidídimo y su completa maduración (Lerner *et al*, 2008).

Anatomía del testículo

El testículo está cubierto por una densa cápsula de tejido conectivo blanco, denso y elástico, llamada túnica albugínea, que extiende tabiques de tejido conectivo hacia la región del testículo denominada mediastino, formando septos que cubren a los lobulillos testiculares. Dentro de estos lobulillos testiculares se encuentran los túbulos seminíferos en los cuales se lleva a cabo la espermatogénesis.

Los túbulos se extienden como bucles del mediastino testicular, ambos extremos de cada bucle se comunican con la *rete testis* a través de túbulos denominados túbulos rectos. La organización del tejido intertubular contiene por lo general vasos sanguíneos, vasos linfáticos, fibras nerviosas y células de Leydig. Las células Leydig se encuentran dispersas formando grupos en relación con la vasculatura y la lámina propia de los túbulos seminíferos y son productoras de testosterona (Neill *et al*, 2006).

A partir de la pubertad los túbulos seminíferos desarrollan una pared gruesa y compleja llamada epitelio germinal, formada principalmente por dos tipos de células, las células germinales y las células de Sertoli y está separada por una lámina basal del intersticio gonadal.

Las células germinales se desarrollan para diferenciarse en espermatozoides y este grado de diferenciación dependerá de la zona del epitelio germinal donde se encuentren, siendo espermatogonias y espermatoцитos primarios los que se encuentran en la zona basal y espermatoцитos secundarios y espermátides las que se encuentran en la zona proximal al lumen (López *et al*, 2012) .

Las células de Sertoli tienen la función de proporcionar nutrientes y las condiciones fisiológicas necesarias para el desarrollo de las células germinales, así como eliminar células espermáticas degeneradas y formar la barrera hematotesticular.

En cuanto a la vascularización los testículos están irrigados por las arterias espermáticas (arteria deferencial y la arteria funicular). Las arterias por lo general se distribuyen alrededor del polo distal del testículo y en ocasiones se distribuyen a través de la cara lateral a margen libre, de donde ramas centrípetas se proyectan hacia el

mediastino. Las venas que drenan el tejido intersticial del testículo no acompañan a las arterias, las vénulas vacían en las venas intralobulillares que se encuentran en la periferia de los lóbulos y estas desembocan en venas presentes en los septos que se proyectan principalmente a la rete testis. Las venas superficiales corren hacia el polo proximal del testículo, donde se unen al extremo distal del cordón espermático (Neill *et al*, 2006).

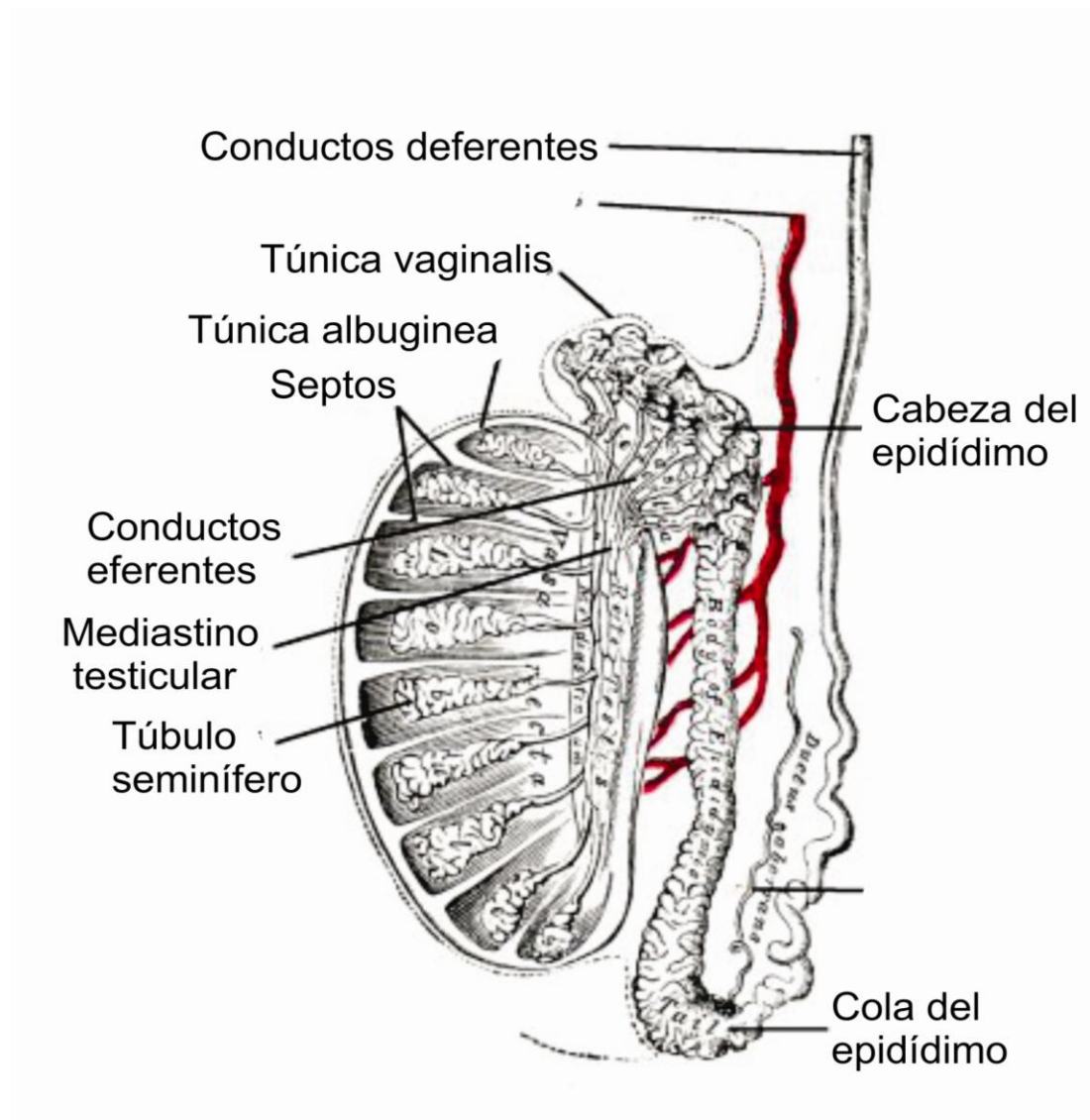


Fig.1. Estructura interna y externa del testiculo y del epididimo (Imagen modificada de Benninghoff, 1993)

Espermatogénesis

La secuencia de eventos citológicos que resultan en la formación de espermatozoides maduros a partir de células precursoras se conoce como espermatogénesis. En muchos mamíferos este proceso se lleva a cabo dentro del túbulo seminífero durante toda la vida reproductiva del macho.

Las células germinales primordiales (espermatogonia AO) entran a la gónada durante el desarrollo y replican por mitosis para formar la espermatogonia A. estas células son encontradas en los cordones sexuales y se comienzan a dividir mitóticamente en la pubertad, lo que marca el inicio de la espermatogénesis (Lerner *et al*, 2008).

La espermatogonia tipo A es una célula madre muy especializada porque replica para formar una espermatogonia hija idéntica tipo A o un nuevo tipo morfológico de célula que a través de replicaciones mitóticas se convierte en espermatogonia A grande, A oscura o A pálida. Luego son formadas espermatogonias intermedias y tipo B que se localizan en el compartimento basal del túbulo seminífero. Las células tipo B son células germinales que inician el ciclo meiótico y se dividen mitóticamente para producir espermatoцитos primarios en reposo.

Los espermatoцитos primarios en reposo duplican su contenido de ADN durante la interfase y se trasladan hacia el compartimento luminal del citoplasma de la célula de Sertoli. En este nuevo ambiente las células entran en una prolongada profase de meiosis con los siguientes pasos: profase I leptoteno, profase I Zigoteno, profase I paquiteno, profase I diploteno (en este paso, hay transcripción genética activa y formación de RNA utilizado luego para producción de proteínas como histonas por las espermatidas) y finalmente diaquinesis con fragmentación en la membrana nuclear y migración de los cromosomas al ecuador (Lerner *et al*, 2008).

Posteriormente, durante la anafase I, los cromosomas homólogos son separados el uno del otro y en la telofase I se forman dos células hijas. Cada una de ellas denominadas espermatoцитos secundarios ($2n$) contiene un compañero de un cromosoma homólogo, estas células entran rápidamente a la segunda división

meiótica, en la cual las cromátidas se separan en el centromero y dan origen a las espermatidas redondas tempranas haploides (n) (Fig. 2).

Las espermatidas están interconectadas por puentes citoplasmicos que ayudan a mantener sincronizado su crecimiento. Además, el ARN mensajero y ribosómico continua siendo transcrito desde los autosomas haploides, dentro de la espermatida y los cromosomas sexuales son inactivados durante la profase meiotica y no se involucran en la transcripción (Lerner *et al*, 2008).

A medida que la espermatida se desarrolla, la síntesis proteica continua y están relacionadas estrechamente con la tercera fase o fase de empaquetamiento de la espermatogénesis.

Posteriormente entran al proceso de espermiogénesis, en el cual las espermatidas se transforman en espermatozoides maduros; puede tomar de 1 a 3 semanas, dependiendo de la especie. Requiere además de la síntesis de cientos de nuevas proteínas y el ensamblaje de organelos únicos. Dentro de la célula de Sertoli durante la diferenciación de espermatida a espermatozoide, se forma el acrosoma, se desarrolla el flagelo, las mitocondrias se reorganizan alrededor de la pieza media, el núcleo se compacta al 10% del tamaño previo y el cuerpo residual del citoplasma es eliminado.

El acrosoma del espermatozoide maduro es formado a partir del aparato de Golgi, mientras que gránulos proacrosómicos, ricos en glicoproteínas y portadores de enzimas que digieren proteínas y carbohidratos complejos, son formados dentro de vesículas derivadas del cuerpo de Golgi en el futuro polo anterior del espermatozoide (Lerner *et al*, 2008).

Directamente detrás de esta vesícula acrosómica, aparecen los filamentos de actina encargados de posicionar el acrosoma sobre el núcleo y darle forma adecuada a esta estructura. En la unión del acrosoma y el núcleo, la membrana de este pierde su porosidad. El acrosoma para la adecuada penetración de la zona pelucida durante el proceso de fecundación. Uno de los dos centriolos localizado en el polo posterior de la espermatida va a dar origen al flagelo, mientras que el otro centriolo se va a convertir en el cuello del espermatozoide.

El flagelo es una estructura axonémica compuesta de un microtúbulo central unido y rodeado por 9 pares conectados de microtúbulos, los cuales van a convertir la energía del adenosintrifosfato (ATP) en movimiento. Una densa cubierta de células fibrosas se desarrolla alrededor del axonéma, lo cual le da rigidez al flagelo y limita la movilidad espermática.

Mientras la cola se va formando en la espermátida en elongación, las mitocondrias, localizadas periféricamente, se van organizando en forma helicoidal alrededor de la base del flagelo para constituir la pieza intermedia del espermatozoide. Entonces las mitocondrias forman una cubierta continua que se envuelve alrededor de la pieza intermedia; constituyen una estructura piramidal que proporcionará energía para la movilidad espermática.

Importantes transformaciones en la forma del núcleo acompañan a estos cambios estructurales en el desarrollo del espermatozoide; finalmente así se obtiene una forma de cabeza espermática, característica de cada especie.

Es importante referir que muchos elementos celulares pueden contribuir a los procesos de remodelación de la forma espermática, entre ellos se puede citar: la estructura cromosómica, proteínas cromosómicas asociadas, el citoesqueleto perinuclear, los microtúbulos en el núcleo caudal, la actina cromosómica y las interacciones con la célula de Sertoli. A medida que la espermiogénesis continúa, la espermátida se va desplazando hacia la luz tubular y al completarse la elongación de la espermátida, el citoplasma de la célula de Sertoli se retrae alrededor del espermatozoide, retirándole el citoplasma, no indispensable, el cual se desplaza hacia la luz tubular, así se observa que el espermatozoide maduro tiene una mínima cantidad de citoplasma. (Lerner *et al*, 2008).

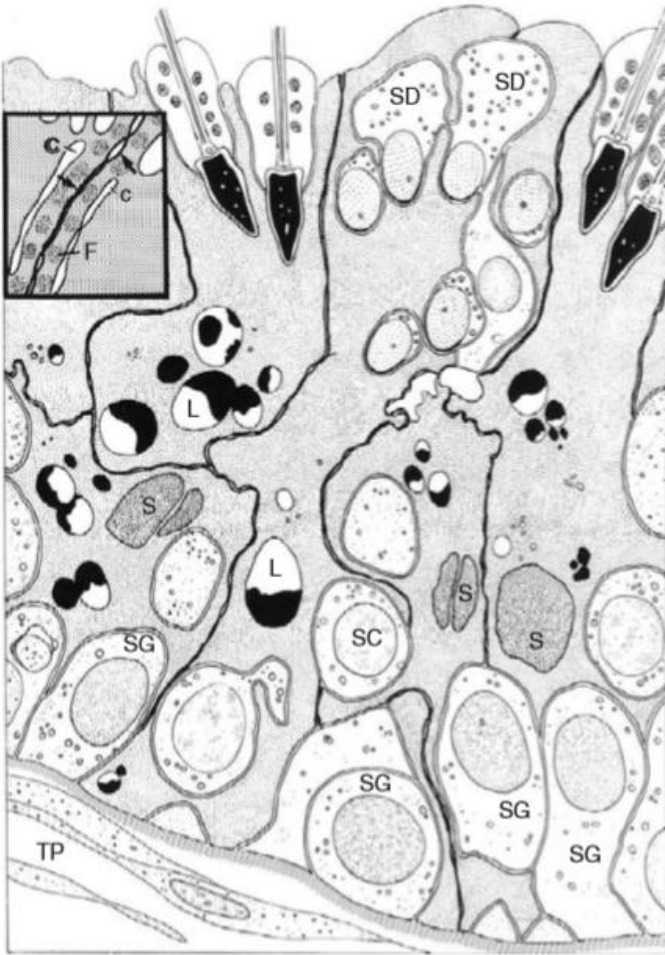


Fig. 2. Epitelio germinal donde se muestra los diferentes grados de diferenciación de las células germinales. Espermatogonias(SG), espermatocitos primarios(SC), espermátidas(SD), Células de Sertoli(S), lípidos citoplasmáticos(L). (Modificado de Neill, 2006).

Factores que afectan la espermatogénesis

Se han realizado investigaciones que demuestran cambios en la espermatogénesis inducidos por factores independientes de la vía neuroendocrina. Los cambios en muestras seminales son recientes, y pueden estar en relación con los contaminantes ambientales como: compuestos orgánicos volátiles, compuestos halogenados, varios metales pesados y plaguicidas, así como factores ocupacionales, el estilo de vida o los hábitos alimenticios. (Mendiola *et al*, 2009).

El tipo de alimentación es importante para un adecuado funcionamiento de la espermatogénesis, por ejemplo se ha reportado efectos en la espermatogénesis en cuanto al tipo de alimentación, el consumo de alimentos lipofílicos como productos de carne o leche puede afectar negativamente la calidad del semen en humanos, mientras que algunas frutas o verduras pueden mantener o mejorar la calidad del semen (Mendiola *et al*, 2009).

De igual forma trastornos alimenticios como la obesidad puede estar influenciando en la reproducción, puesto que se ha demostrado que hombres obesos y con sobrepeso muestran una alta incidencia de infertilidad presentando alteraciones metabólicas y la desregulación hormonal (Mortazavi *et al*, 2014). La obesidad en hombres se asocia con niveles de testosterona en sangre reducidos, siendo esta reducción proporcional al grado de la obesidad. Además puede haber un aumento en los niveles circulantes de estradiol, que conduce a una testosterona alterada (Tchemof *et al*, 1995; Gould *et al*, 2007; Nielsen *et al*, 2007).

Otro de los factores importantes en la regulación de la espermatogénesis es la temperatura, por lo que los testículos deben estar más o menos 3.4 °C por debajo de la temperatura corporal. Cualquier alteración que impida la pérdida de calor escrotal afectara la temperatura testicular y, a su vez cualquier elevación de la temperatura testicular tendrá un efecto perjudicial sobre la espermatogénesis (Mieusset y Bujan, 1995; Setchell 1998).

Paul *et al*, (2009) demostró que la exposición al calor provoca respuestas de hipoxia y estrés oxidativo en las células germinales, que se manifiesta como un aumento de la expresión del factor inducible por hipoxia 1 α , hemo oxigenasa 1, glutatión peroxidasa y glutatión S 1 transferasa- α que empujan a las células germinales a la apoptosis. De igual forma se ha demostrado que ocurre en primates y humanos (Leu *et al*, 2002).

Las cosas más obvias que pueden afectar a la pérdida de calor del escroto son: una enfermedad febril como la gripe, la exposición a una fuente de calor exógeno, como ocupacional (panaderos, soldadores, trabajadores en la fundición) o por medio de

tomar un baño caliente, que tendrían un efecto dependiendo del tiempo de exposición (Mieusset y Bujan 1995; Thonneau *et al*, 1998).

Sin embargo algunos otros hábitos no tan obvios y que también parecen estar alterando a la espermatogénesis son el sedentarismo y el tipo de ropa interior utilizada. Estudios en hombres en los que se midió la temperatura escrotal continuamente en relación a la posición y la actividad, se observó un incremento progresivo con la duración del sedentarismo y esto se asoció con una disminución de los espermatozoides (Hjollund *et al*, 2000, 2002). Los estudios realizados en los conductores de camiones y taxis, que pasan mucho tiempo sentados, también han producido evidencia de efectos perjudiciales sobre la calidad del semen (Figa-Talamanca *et al*, 1996; Bujan *et al*, 2000). Sin embargo en general, la relación entre el tiempo que las personas permanecen sentadas y la calidad del semen no es sugestiva de un gran impacto en la fertilidad (Hjollund *et al*, 2000). En cuanto a los estudios realizados sobre el impacto de usar ropa apretada contra la ropa interior suelta se han llegado a conclusiones similares a las del sedentarismo (Mieusset y Bujan, 1995).

Hay poca evidencia de que el tabaco, las drogas y el alcohol, tengan un impacto importante en la espermatogénesis. Sin embargo lo que se induce en hijos de madres fumadoras durante el embarazo la disminución es bastante dramática (hasta un 40%) en el número de espermatozoides, en comparación con la reducción (10-17%) en el número de espermatozoides en los hombres adultos que fuman mucho es modesto (Ramlau-Hansen *et al*, 2007), y en muchos estudios individuales no se encontraron efectos significativos (Vine 1996; Martini *et al*, 2004).

La mayoría de los estudios que incluyeron al alcohol como un punto de la investigación no han demostrado un impacto significativo en el número de espermatozoides, por lo menos entre las personas con un consumo moderado de alcohol (Marinelli *et al*, 2004; Martini *et al*, 2004). Sin embargo en los alcohólicos crónicos, hay buena evidencia de deterioro de la espermatogénesis y la reducción del número de espermatozoides y los

niveles de testosterona (Villalta *et al*, 1997; Muthusami y Chinnaswamy, 2005). Los mecanismos para estos efectos no han sido estudiados en detalle.

Existen muy pocos estudios sobre los efectos de esteroides y anabólicos sobre la espermatogénesis en los hombres. Los estudios en animales han demostrado efectos adversos de los cannabinoides, tales como la marihuana, en la esteroidogénesis testicular (Brown y Dobs, 2002), la maduración del espermatozoide y la motilidad (Ricci *et al*, 2007) y en algunos estudios sobre la producción de espermatozoides (Abel, 1981; Patra y Wadsworth, 1991). Estos efectos funcionan a través de receptores tipo endocannabinoides (CB1 y CB2) que se expresan en los seres humanos incluyendo el espermatozoide (Brown y Dobs, 2002; Rossato *et al*, 2005), sin embargo aun no existe evidencia convincente de los efectos del consumo de cannabis en la espermatogénesis en los seres humanos. Del mismo modo el uso crónico de cocaína puede estar asociada con un recuento bajo de espermatozoides (Bracken *et al*, 1990).

Eje Hipotálamo-hipófisis-testículo

En tanto hombres como mujeres, la gametogénesis es regulada por el eje hipotálamo-hipófisis-gónada que corresponde al eje hormonal. La hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) que se produce en el hipotálamo, actúa sobre las células gonadotropas ubicadas en la adenohipófisis. Esto a su vez libera dos hormonas gonadotropas, la hormona folículo estimulante (FSH) y la hormona luteinizante (LH), que a través de la circulación llegan a las gónadas para regular la gametogénesis a través de la síntesis de hormonas esteroides (Meccariello *et al*, 2014).

En los seres humanos, las neuronas de GnRH se encuentran principalmente en el núcleo arqueado del hipotálamo medio basal y el área preóptica del hipotálamo anterior. La GnRH se transporta a lo largo de los axones y luego se libera en el sistema portal hipotálamo-hipófisis en la eminencia media. Es secretada de una forma pulsátil, que es necesario para su acción sobre las células gonadotropas de la hipófisis anterior. La aparición de la secreción pulsátil de GnRH después de la activación fetal y

perinatal sigue un periodo de latencia y marca el comienzo de la pubertad (Plant *et al*, 2006).

La LH y FSH son sintetizadas por las células gonadotropas que constituyen el 15-20% de todas las células de la hipófisis anterior. Las gonadotropinas se almacenan en forma dimérica o subunidades libres en gránulos de secreción. En los seres humanos el receptor de LH se encuentra en las células de Leydig y el receptor de FSH en las células de Sertoli.

La LH se une a su receptor en la célula de Leydig que controla la síntesis de la testosterona a partir de colesterol. Mientras que la FSH actúa directamente sobre el epitelio seminífero en la célula de Sertoli, que produce inhibina y activina. Tanto la testosterona intratesticular y FSH, vinculado a ABP (proteína de unión de andrógenos), es necesaria para la espermatogénesis normal. Las células de Sertoli son el sitio de síntesis de muchos factores de crecimiento implicados en diferentes etapas de la espermatogénesis (El Ansari *et al*, 2014).

La producción de GnRH en el hipotálamo es controlado por el voto negativo de los esteroides sexuales que ralentiza la frecuencia de los pulsos. La frecuencia de los pulsos de la GnRH es un factor clave que determina si se sintetiza FSH o LH. Una rápida frecuencia de pulsos favorece la síntesis de mRNA de la LH y subunidades. Una frecuencia lenta favorece la síntesis de ARNm de la subunidad FSH (El Ansari *et al*, 2014).

La retroalimentación también es proporcionada por la testosterona y la dihidrotestosterona (DHT), ya sea por acción directa sobre los receptores de esteroides en el hipotálamo o por medio de un sistema neural. Actualmente se acepta que otros factores no esteroides apoyan la progresión de células germinales a través de la acción intragonadal (Meccariello *et al*, 2014).

Inervación

Los órganos del tracto reproductor masculino reciben información aferente y eferente del nervio visceral, que se deriva de un grupo de ganglios cerca de la medula espinal, el celiaco, aórtico, mesentérico caudal, hipogástrico y de los ganglios de la pelvis.

El testículo recibe información de los nervios espermáticos superior e inferior. El nervio espermático superior se deriva del ganglio celiaco y de los plexos aórticos y asplánicos lumbares, forma un plexo alrededor de la arteria testicular (en el humano es un nervio separado) y las fibras del nervio entran en el testículo, ya sea con los vasos sanguíneos o en todo el mesorchium (Neill *et al*, 2006; Motoc *et al*, 2010).

El nervio espermático inferior deriva del plexo pélvico y puede contener fibras simpáticas o parasimpáticas. Se extiende a lo largo del conducto deferente a la cola del epidídimo y alcanzan al testículo a través de la conexión ligamentosa entre la cola del epidídimo y la extremidad caudal del testículo.

Dentro de los testículos, los nervios se concentran en los compartimentos del estroma de la gónada, la túnica albugínea, el mediastino y el tejido perivascular, donde también están presentes células similares a neuronas (Neill *et al*, 2006).

La información simpática que recibe el testículo se distribuye dentro del intersticio y la pared de los vasos sanguíneos sin embargo no se encuentra dentro de los túbulos seminíferos. En el epidídimo son relativamente abundantes en la capa muscular y en el intersticio mostrando tortuosidad a lo largo de la membrana externa del conducto y en la parte que forma varicosidades. En los conductos deferentes se encuentra una alta densidad de terminales nerviosas en la capa muscular y dentro del tejido submucoso. En la próstata se encuentran menos fibras nerviosas en relación con el epidídimo y los conductos deferentes y se distribuyen dentro de la capa intersticial y el musculo. También se han encontrado fibras adrenérgicas en la pared de los vasos sanguíneos y adyacentes a las células de Leydig.

Las fibras nerviosas colinérgicas se encuentran en menos proporción en el testículo, presentándose en la pared vascular del intersticio. También están ausentes dentro de

los túbulos seminíferos y la túnica albugínea del testículo. En el epidídimo estas fibras son abundantes en la capa muscular y el intersticio pero están ausentes dentro de la capa de las células epiteliales del conducto. En la próstata las fibras positivas a colinesterasa son más abundantes que las fibras catecolaminérgicas encontrándose en la capa del intersticio, el musculo y a lo largo de la membrana externa del conducto prostático. En el conducto deferentes se observaron fibras nerviosas en la capa muscular y la capa submucosa (Shirai *et al*, 1973).

Fibras sensoriales

Se ha descrito una vía aferente en el testículo formada por fibras sensoriales que transmiten información de estímulos nociceptivos de la periferia hacia el sistema nerviosos central. Estas fibras se clasifican como fibras de tipo C, que son axones amielínicos de diámetro pequeño, velocidades de conducción lenta y cuerpos celulares presentes en los ganglios de las raíces dorsales con terminación en el asta dorsal de la medula espinal. En la medula espinal los nociceptores envían mensajes a través de la liberación de diferentes neurotransmisores como el glutamato, la sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP).

En las terminales de las fibras nociceptivas se encuentran receptores vanilloides de potencial transitorio tipo 1 (TRPV1) que reconocen y transducen los estímulos nocivos. Las fibras sensoriales son importantes en el control del flujo sanguíneo testicular y la respuesta de la testosterona a la tensión. También pueden estar involucrados en la respuesta diferente a la hemicastración del lado derecho o izquierdo (Gerendai, 2004).

Denervación sensorial

Para estudiar el papel que desempeña la inervación en el testículo se han utilizado diferentes modelos de denervación, los cuales pueden ser quirúrgicos o químicos. En el caso de la denervación quirúrgica se realizan incisiones principalmente del nervio espermático superior o inferior. En cuanto a la denervación química se han utilizado diferentes fármacos como son la guanetidina y la capsaicina. La guanetidina se utiliza principalmente para estudiar la importancia de la inervación simpática, que está involucrada con la información neural eferente que recibe el testículo. Mientras que la capsaicina se ha utilizado para estudiar el efecto de la falta de información aferente entre el testículo y el sistema nervioso central.

La capsaicina (trans-8-metil-N-vanillil-6 nonenamida) es el principal componente que le da el sabor picante a los frutos del género *Capsicum*, aproximadamente se encuentran en un 90% en los frutos y se sintetiza de forma natural en la placenta adyacente a las semillas. Es un sólido cristalino, lipófilo, alcaloide incoloro e inodoro con peso molecular de 305.40 g/mol.

La capsaicina se puede unir al receptor Receptor Vanilloide de Potencial Transitorio tipo 1 (TRPV1), expresado principalmente en las neuronas sensoriales. Este receptor es un canal catiónico no selectivo ampliamente distribuido en los tejidos del cerebro, la vejiga, los riñones, los intestinos, los queratinocitos de la epidermis, células gliales, el hígado, los granulocitos polimorfonucleares, mastocitos y macrófagos. Se acopla con un canal de cationes no específico permeable a los iones de sodio y calcio que se encuentran en la membrana plasmática y el retículo endoplásmico, donde regula los niveles de calcio intracelular. El aumento de calcio intracelular, provoca la liberación de neuropeptidos tales como la sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina.

El contacto entre la capsaicina y las neuronas sensoriales produce dolor, inflamación y una sensación de calor localizado. Sin embargo cuando se aplica localmente en la piel, provoca una respuesta analgésica debido a la desensibilización de las neuronas sensoriales causadas por el agotamiento de la sustancia P. También se ha demostrado

que la capsaicina participa en la liberación de somatostatina, CGRP y endotelina (Saria *et al*, 1983; Reyes *et al*, 2011).

La capsaicina se absorbe rápidamente por vía cutánea mientras que cuando se administra por vía oral se absorbe casi el 94% y la concentración máxima en sangre se logra en 1 hora después de la administración y disminuye notablemente hasta no ser detectada después de 4 días. La capsaicina se elimina principalmente por vía renal con una pequeña proporción no transformada excretada en las heces y la orina (Reyes *et al*, 2011).

Antecedentes

Se ha reportado que la capsaicina produce apoptosis en células germinales. El estudio que lo demuestra fue realizado *in vitro* y se utilizaron líneas de células madre de espermatogonias de ratas Gc 5spg y Gc 6spg, que fueron tratadas con diferentes dosis de capsaicina (150 μ M a 250 μ M) durante 24 y 48 horas. La cuantificación de la respuesta apoptótica fue significativa en ambas líneas después de las 24 horas encontrándose también fragmentación del ADN y activación de la caspasa 3. Adicionalmente se encontró la expresión del receptor TRPV1 en las espermatogonias *in vitro* y en las células germinales *in situ* (Mizrak *et al*, 2008).

Sin embargo en ratones macho donde se administro por vía intraperitoneal dosis de 0.4, 0.8, 0 1,6 mg/kg de peso corporal por día en cinco días consecutivos no induce signos clínicos de toxicidad en la reproducción, ni alteraciones significativas en el peso del epidídimo, el número de espermatozoides caudales, pesos testiculares o histología testicular. Así como también la capsaicina no produjo mutaciones dominantes letales durante un horario de acoplamiento secuencial de 8 semanas en los machos tratados con la dosis más alta (Muralidhara y Narasimhamurth, 1988).

En el trabajo realizado por Hernández (2014), donde se provocó denervación sensorial por la administración de 50mg/kg de capsaicina al nacimiento en ratas macho, también se observó una disminución en la respuesta testicular, mostrando una baja

significancia en el número total de espermatozoides, menor porcentaje de motilidad rápida y de espermatozoides vivos, cuando se compararon con el grupo control. Además de lo anterior, se mostró asimetría testicular, disminución del área del epitelio seminífero y aumento en el área del lumen en los túbulos seminíferos, demostrando la importancia que presenta la inervación aferente en la reproducción de la rata macho.

Estudios recientes enfocados al uso de anandamina (lípidos similares a capsaicina), han demostrado resultados positivos en la capacitación del espermatozoide en toros, jabalís, ratones y humano, a través de la activación del receptor TRPV1. Esta interacción de la anandamina con el receptor TRPV1, parece jugar un papel importante en la estabilización de las membranas plasmáticas, previniendo la reacción acrosómica espontánea (Gervasi *et al*, 2011; Lewis *et al*, 2012; Grimaldi *et al*, 2013).

Hipótesis

Dado que el receptor TRPV1 está presente en el testículo tanto en la línea germinal como en algunas terminales nerviosas sensoriales que participan en la regulación de la espermatogénesis; el a bajas dosis tendrá un efecto estimulador en la calidad espermática mientras que a altas dosis provocará una disminución de la calidad espermática.

Objetivo general

Evaluar los efectos del consumo de dos diferentes dosis de chile habanero sobre la calidad espermática en un grupo de estudiantes universitarios.

Objetivos particulares

Evaluar la calidad espermática en universitarios con ingesta de chile habanero de 300 mg ó 3 mg 5 días / semana durante 12 semanas o en universitarios que no consumen picante.

Analizar la motilidad, la viabilidad y la concentración espermática en universitarios con ingesta de chile habanero de 3 mg ó 300 mg 5 días / semana durante 12 semanas.

Material y métodos

El estudio se realizó en las instalaciones de la escuela de biología de la BUAP. Se solicitó el voluntariado de hombres que se encuentren en un rango de edad entre 18-27 años, para formar 3 grupos integrados por 10 personas como mínimo, dos para tratamientos (que estén acostumbrados a consumir picante) y 1 para el grupo control (que no acostumbren consumir picante).

Como tratamiento se administró una dosis de habanero (*Capsicumchinense*) de la variedad naranja, durante 5 días a la semana por 12 semanas. Las dosis de habanero fuerón de 300 mg para un tratamiento de mucha capsaicina y de 3mg para tratamiento de poca capsaicina.

Se realizaron dos análisis de la calidad espermática para los tres grupos, una antes de iniciar el tratamiento y la otra cumpliendo las 12 semanas. La muestra de eyaculado será obtenida por masturbación y a los donadores se les pedirá un tiempo de abstinencia de 5 días como mínimo.

El análisis de la calidad espermática de las muestras se realizó tomando como referencia los parámetros proporcionados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) 2010, que se divide en análisis macroscópico (licuefacción, pH, viscosidad, volumen y aspecto) y análisis microscópico (motilidad, viabilidad, morfología, aglutinación, agregación y concentración de espermatozoides).

Los parámetros macroscópicos como aspecto y volumen se registraron a los pocos minutos de haberse obtenido la muestra. Mientras que pH y viscosidad se tomaron después de haberse licuado la muestra.

El análisis microscópico se inicio una vez licuada la muestra y se realizo de la siguiente manera: para la motilidad se tomaran 10 μ l del eyaculado y se observaron al microscopio utilizando el objetivo de 40x. Se contaron los espermatozoides con motilidad progresiva rápida, con motilidad in situ y los espermatozoides inmóviles de los cuales se anotaron los porcentajes de cada rubro.

Para la viabilidad se realizó una preparación de 10 µl de negrosina-eosina y 10 µl de muestra del eyaculado de los cuales se tomaran 10 µl del preparado para observarse al microscopio en el objetivo de 40x. Se contaron y se obtuvieron los porcentajes de espermatozoides vivos y muertos y estos últimos se identificarán por presentar un color violeta o rosado por la penetración del colorante en la célula.

La morfología se observó con el mismo preparado para la viabilidad pero se utilizó el objetivo de 100x. Se observó la morfología de la cabeza, de la parte media y de la cola del espermatozoide tomando las referencias de normalidad otorgados por el manual de la OMS. Se contaron y se obtuvieron los porcentajes totales de aquellos espermatozoides que se consideraron normales.

Para la aglutinación y agregación se colocara 20 µl de eyaculado en el portaobjetos y se observara al microscopio con el objetivo de 40x. Se contaran y obtendrán los porcentajes de las aglutinaciones y agregaciones presentes en 100 campos, tomando como aglutinación aquellas agrupaciones que solo contengan espermatozoides y como agregaciones aquellas agrupaciones de espermatozoides con algún otro tipo celular.

Para la concentración espermática, se realizó una disolución de 1:20 de eyaculado con solución para conteo y posteriormente se colocaron 10 µl de la disolución en la cámara de Neubauer donde se contaron de 5 a 25 cuadros y se obtuvieron el total de espermatozoides por ml y por eyaculado.

Una vez iniciado el tratamiento se realizaran encuestas a los participantes para ampliar la información sobre los hábitos alimenticios y algunos otros factores que podrían estar influenciando en los resultados obtenidos en los análisis.

Por último los datos obtenidos de motilidad, viabilidad, morfología, aglutinación, agregación y concentración de espermatozoides serán expresados en medias y se aplicara un análisis de varianza (ANOVA) para comparar los datos obtenidos entre grupos y un análisis de muestras pareadas para evaluar si hay diferencias antes y después de la aplicación del tratamiento. El valor de significancia utilizado fue de $p < 0.05$.

Resultados

Los resultados del análisis macroscópico de los dos tratamientos y el grupo control se muestran en la tabla 1. El volumen, la licuefacción, el pH, la viscosidad y el aspecto se observaron dentro de los rangos normales establecidos por la OMS. No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los 3 grupos. Sin embargo se observó una tendencia a disminuir el tiempo de licuefacción en los grupos tratados con 3mg y 300mg de habanero, que fue estadísticamente significativo cuando se compararon las medianas antes y después de los 90 días de tratamiento (Fig. 3).

		Grupos			Valor de referencia
		Control	3mg de habanero	300 mg de habanero	
Parámetros	Volumen (0 días)	2.74±.28	2.7±.36	3.5±.49	>1.5
	Volumen (90 días)	2.51±.46	2.7±.28	3.1±.41	>1.5
	Licuefacción (0 días)	9.4±1.27	14±3.1	17.5±3.1	15-60
	Licuefacción (90 días)	12.7±3.01	6.3±.59	10.9±1.91	15-60
	pH (0 días)	7.2±.11	7.3±.13	7.5±.16	7.2-8
	pH (90 días)	7.4±.11	7.5±.11	7.6±.12	7.2-8
	Viscosidad (0 días)	Normal 30% Disminuida 20% Aumentada 60%	Normal 50% Disminuida 20% Aumentada 30%	Normal 30% Disminuida 30% Aumentada 40%	
	Viscosidad (90 días)	Normal 40% Aumentada 60%	Normal 70% Aumentada 30%	Normal 60% Aumentada 40%	
Aspecto (0 días)	Normal	Normal	Normal		
Aspecto (90 días)	Normal	Normal	Normal		

Tabla 1. Media ± e.e.m. del volumen(ml), licuefacción (minutos), pH, porcentajes de viscosidad y aspecto de grupo tratado con 3mg de chile habanero, 300mg de chile habanero y el grupo control, antes del tratamiento (0 días) y después del tratamiento (90 días) con una n=10 por cada grupo.

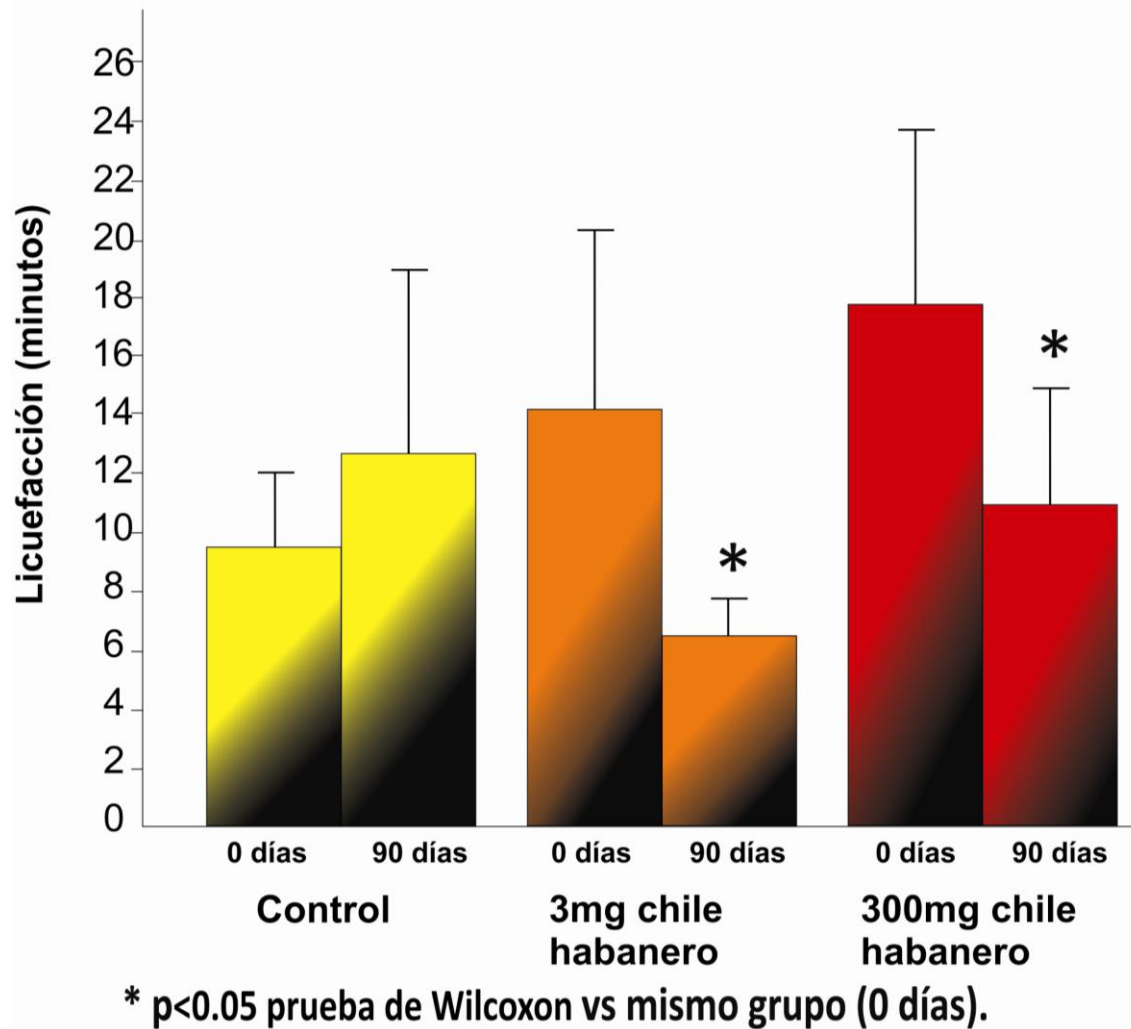
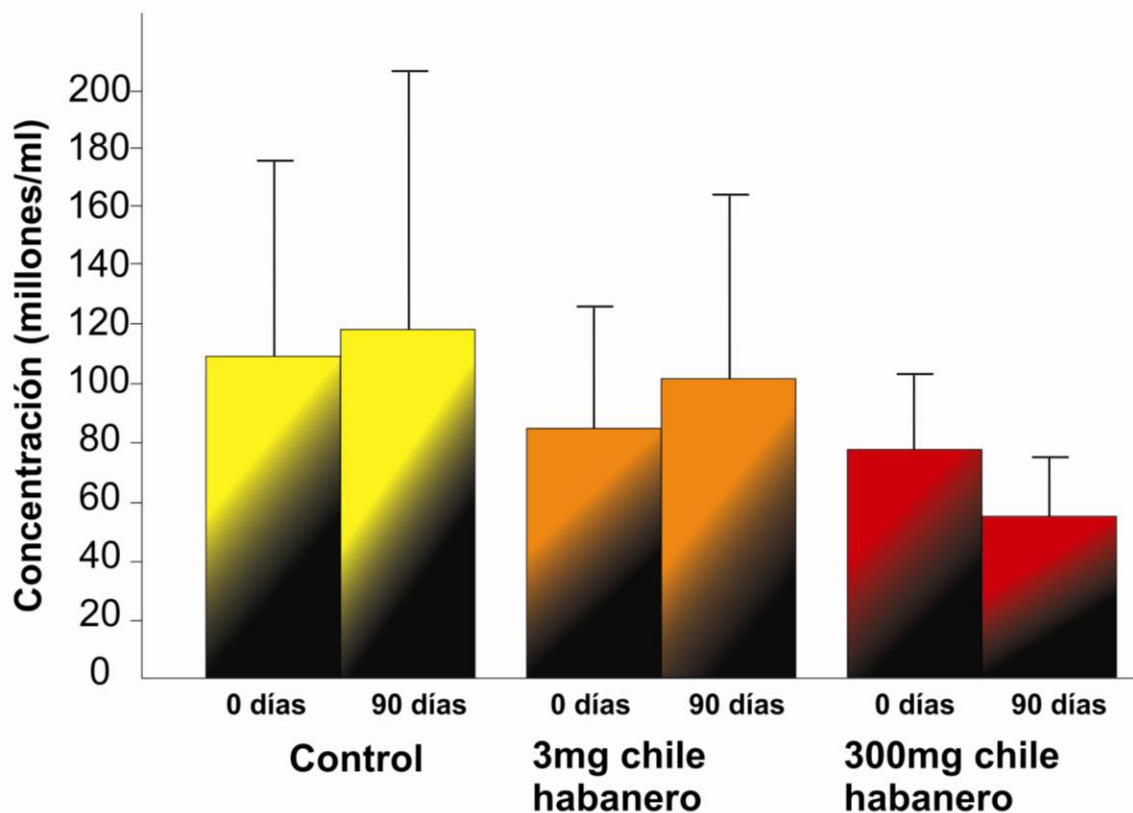


Fig. 3. Media \pm e.e.m. del tiempo de licuefacción en el semen de universitarios que no consumen picante (control), que consumen poco picante (3 mg de habanero) o mucho picante (300 mg de habanero). El análisis se realizó antes de iniciar el estudio (0 días) y al terminar (90 días).

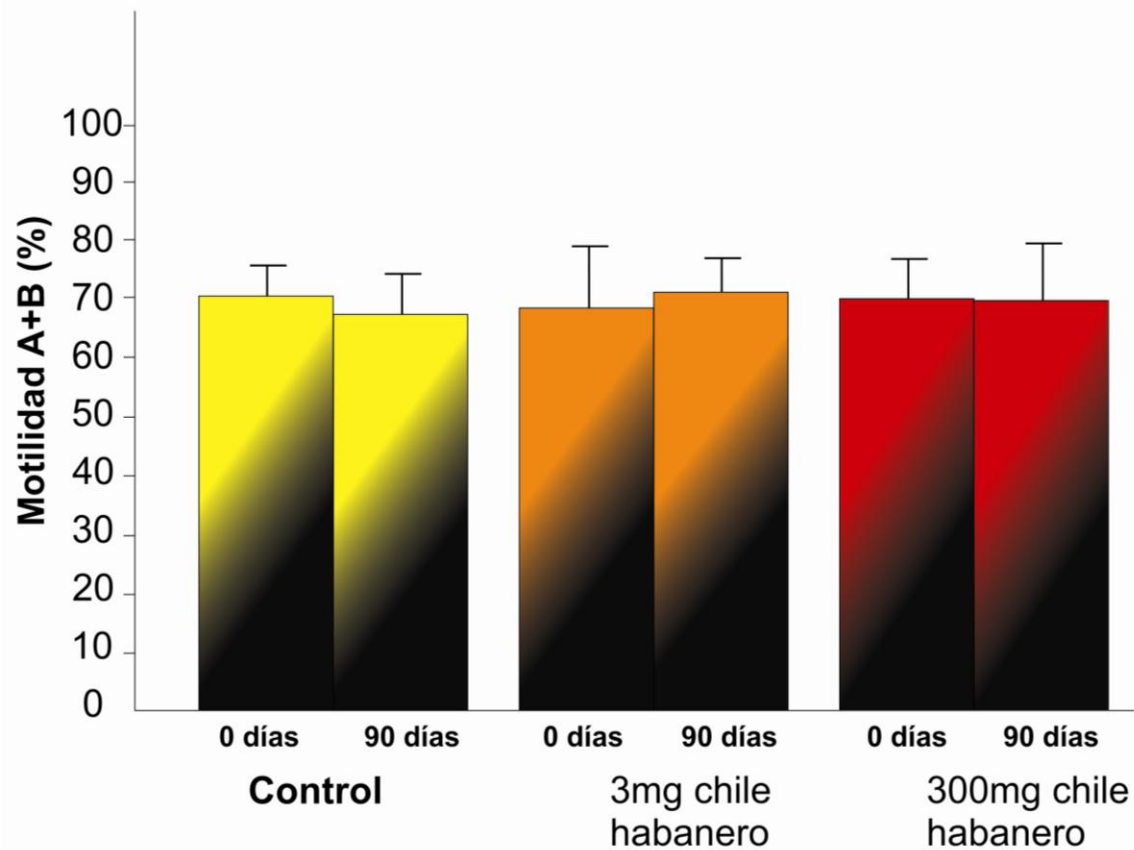
Los resultados del análisis microscópico se encontraron dentro de los rangos normales según lo establecido por OMS. La concentración total, la concentración por ml (Fig. 4), la motilidad A+B (Fig. 5), la motilidad progresiva (A), la morfología (Fig. 6) y la aglutinación, no mostraron diferencias estadísticamente significativas cuando se compararon antes y después de los 90 días de tratamiento con 3mg y 300 mg de chile habanero. De igual manera no se mostraron diferencias estadísticamente significativas

en los parámetros anteriormente mencionados cuando se hicieron comparaciones entre los tres grupos con la prueba de Kruskal wallis. Sin embargo el porcentaje de agregación mostro una tendencia a disminuir después de los 90 días en el grupo control y fue estadísticamente significativa con la prueba de Wilcoxon con un valor de $p < 0.05$ (Fig. 8). De igual forma el porcentaje de viabilidad de los espermatozoides mostro una tendencia a disminuir, después de 90 días de tratamiento con 300mg de chile habanero y fue estadísticamente significativa con un valor de $p < 0.05$ en la prueba de Wilcoxon (Fig. 7). Sin embargo en la prueba de Kruskal wallis cuando se hicieron comparaciones entre los 3 grupos no hubo diferencias estadísticamente significativas.



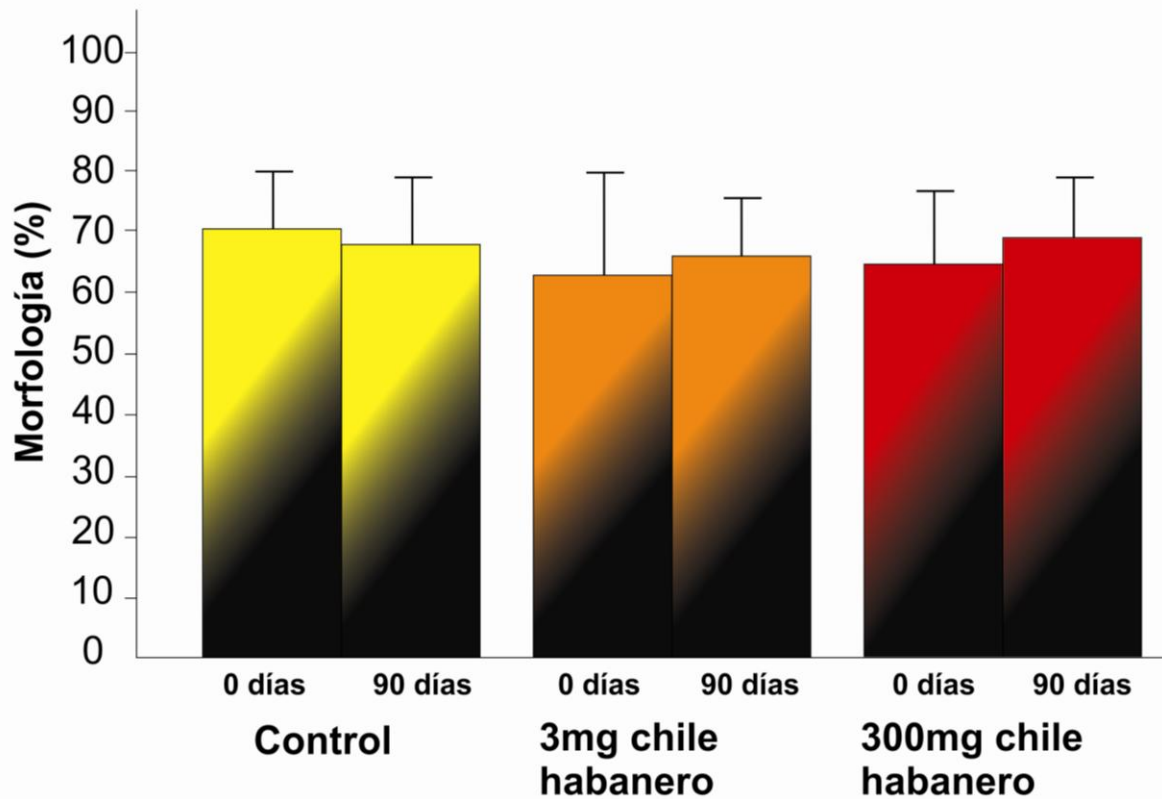
* $p < 0.05$ prueba de Wilcoxon vs mismo grupo (0 días).

Fig. 4. Media \pm e.e.m. de la concentración/ml de espermatozoides en el semen de universitarios que no consumen picante (control), que consumen poco picante (3 mg de habanero) o mucho picante (300 mg de habanero). El análisis se realizó antes de iniciar el estudio (0 días) y al terminar (90 días).



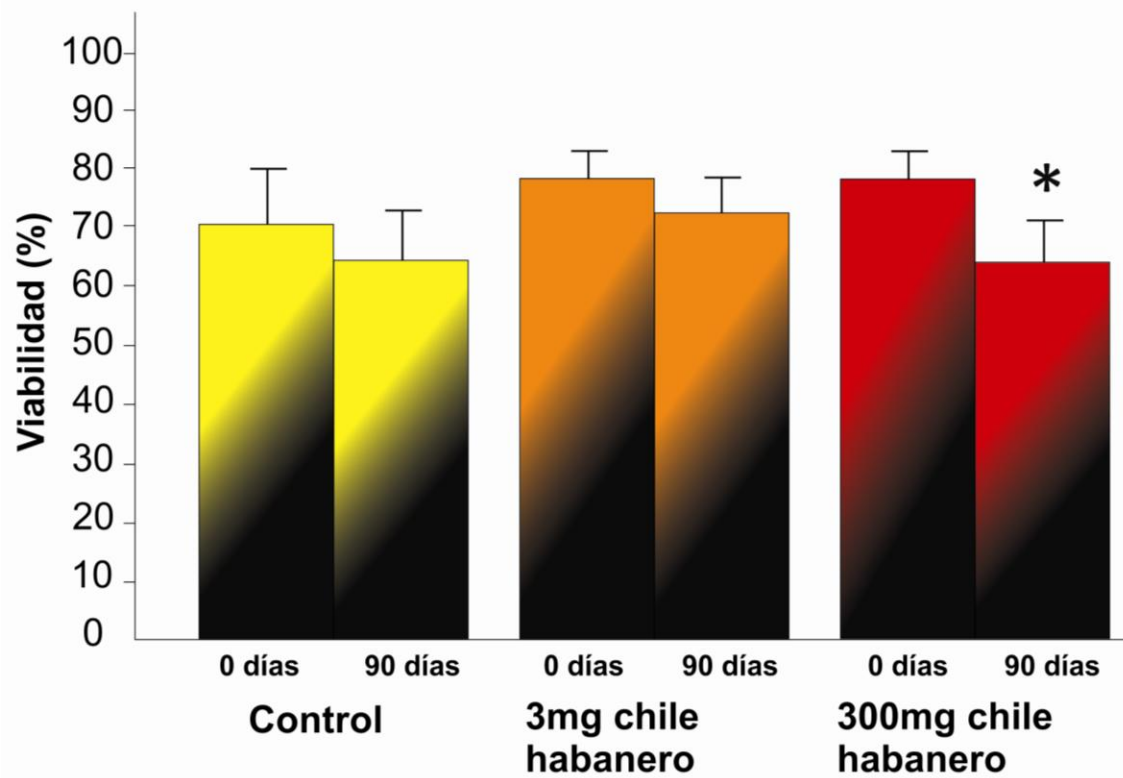
* $p < 0.05$ prueba de Wilcoxon vs mismo grupo (0 días).

Fig. 5. Media \pm e.e.m. del porcentaje de motilidad A+B en el semen de universitarios que no consumen picante (control), que consumen poco picante (3 mg de habanero) o mucho picante (300 mg de habanero). El análisis se realizó antes de iniciar el estudio (0 días) y al terminar (90 días).



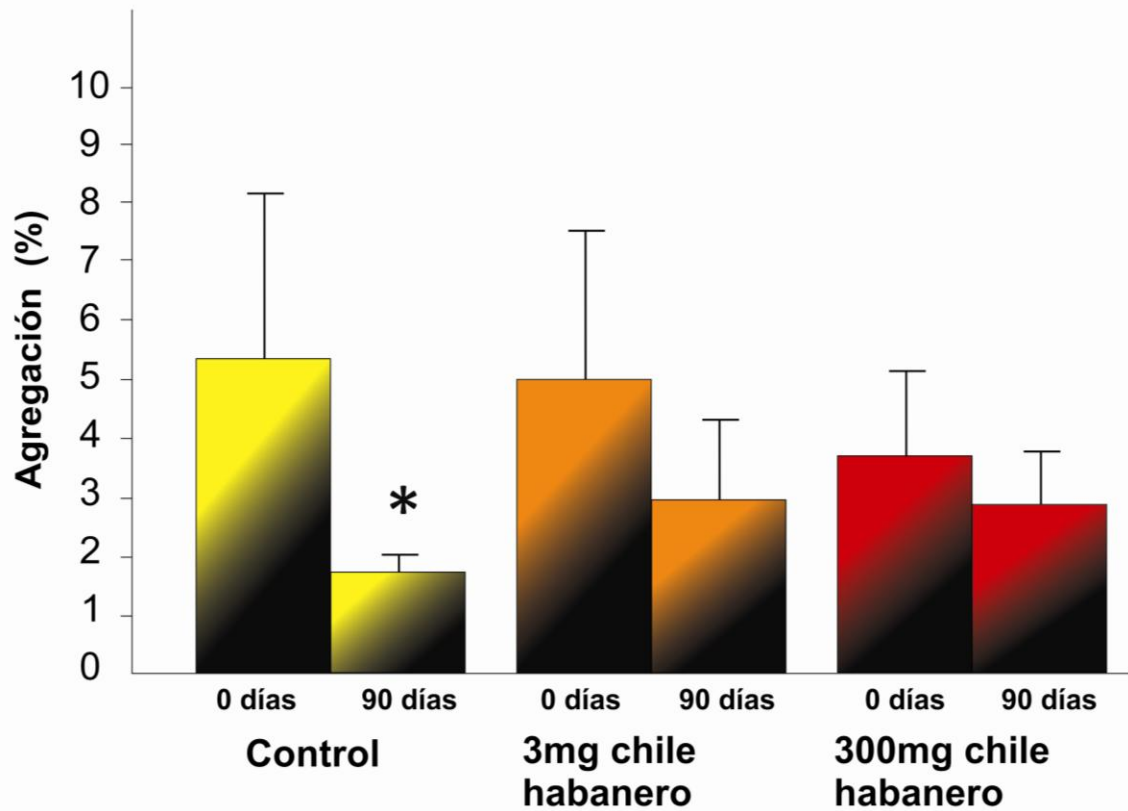
* $p < 0.05$ prueba de Wilcoxon vs mismo grupo (0 días).

Fig. 6. Media \pm e.e.m. del porcentaje de morfología en el semen de universitarios que no consumen picante (control), que consumen poco picante (3 mg de habanero) o mucho picante (300 mg de habanero). El análisis se realizó antes de iniciar el estudio (0 días) y al terminar (90 días).



* $p < 0.05$ prueba de Wilcoxon vs mismo grupo (0 días).

Fig. 7. Media \pm e.e.m. del porcentaje de viabilidad en el semen de universitarios que no consumen picante (control), que consumen poco picante (3 mg de habanero) o mucho picante (300 mg de habanero). El análisis se realizó antes de iniciar el estudio (0 días) y al terminar (90 días).



* $p < 0.05$ prueba de Wilcoxon vs mismo grupo (0 días).

Fig. 8. Media \pm e.e.m. del porcentaje de agregación en el semen de universitarios que no consumen picante (control), que consumen poco picante (3 mg de habanero) o mucho picante (300 mg de habanero). El análisis se realizó antes de iniciar el estudio (0 días) y al terminar (90 días).

Discusión

La fertilidad en hombres depende del buen funcionamiento del proceso de espermatogénesis, el cual puede estar regulado por diferentes vías tanto neuroendócrinas, como nerviosas. Pero también puede ser alterado por múltiples factores, tales como la temperatura, la altitud, el consumo de alcohol, tabaco, narcóticos, la exposición a sustancias tóxicas y la radiación entre otros.

En nuestros resultados obtuvimos diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de agregación para el grupo control. Lo que nos podría estar indicando la influencia de algún otro factor ajeno a la vía aferente que nosotros estimulamos con el consumo de habanero. Esta adherencia de los espermatozoides a células no espermáticas que son características de la agregación espermática, se consideran como adherencias no específicas, por lo que algunos autores consideran que este parámetro no podría tener alguna significancia clínica a diferencia de la aglutinación donde las adherencias son entre espermatozoides y podría estar indicando la presencia de anticuerpos antiespermatozoides o la presencia de clusterina en respuesta a estrés oxidativo (López *et al*, 2012; Han *et al*, 2012).

La administración de 3mg y de 300mg de habanero después de consumirse por 90 días, produjo una disminución en el tiempo de la licuefacción seminal. La licuefacción ocurre normalmente a temperatura ambiente en los primeros 15 minutos tras recoger la muestra y se considera anormal cuando ocurre pasados 60 minutos. Son varias las enzimas que se encargan de realizar la degradación proteolítica del coágulo seminal, entre las principales se encuentra la fibronolisina y varios miembros de peptidasas relacionadas con calicreina (KLKs) incluido el antígeno prostático específico (PSA), estas proteínas son secretadas por las glándulas sexuales accesorias, incluidas las vesículas seminales y la próstata.

La actividad PSA se dirige principalmente hacia las proteínas principales del coágulo, semenogelina I y II y la fibronectina lo que da lugar a la licuefacción del semen y a la liberación de los espermatozoides con una movilidad progresivamente mayor.

En este caso la licuefacción en el control no se vio afectada después de los 90 días de tratamiento, por lo tanto esto nos permite descartar de cierta manera la posibilidad de que algún factor externo sea el responsable de este efecto.

Probablemente existen fibras sensitivas inervando la próstata y glándulas sexuales accesorias, que se encarguen de enviar información al sistema nervioso central para regular la producción de enzimas que degraden el coagulo seminal y que al ser inhibida esta información no se logre algún tipo de retroalimentación con la vía eferente para detener la producción de antígeno prostático específico u otras enzimas que participen en la licuefacción.

Sin embargo el volumen del eyaculado no mostro alguna diferencia en ninguno de los grupos, por lo que estaría de cierta manera indicando que al menos la secreción de las glándulas seminales no se ha visto estimulada o afectada ya que ellas producen aproximadamente el 70 % de liquido seminal.

No obstante el tiempo de licuefacción registrada en todos los pacientes se encuentra dentro de los rangos normales establecidos por la OMS.

La administración de 300 mg de capsaicina también provocó una disminución en el porcentaje de viabilidad de los espermatozoides, después de consumirse por 90 días. Nuestros resultados apoyan lo reportado por Hernández (2014) donde muestra que en la rata neonata la administración de capsaicina provoca una disminución significativa de la viabilidad de los espermatozoides. Pero difieren en cuanto a la disminución de la concentración y la motilidad espermática por lo que en estos parámetros nuestros resultados apoyan lo reportado por Muralidhara y Narasimhamurth (1988).

Tal vez esta diferencia con los resultados de Hernández, se pueda explicar primero por la diferencia entre los modelos de rata y de humano utilizados, pero también por la edad en la que fue aplicado el tratamiento y la pureza del fármaco utilizado. Recordemos que en el trabajo de Hernández (2014) se aplica una sola dosis de capsaicina pura, pero en este caso se realizó al nacimiento, cuando el sistema nervioso aun no alcanza un grado de desarrollo óptimo y por otro lado la barrera hematotesticular de igual forma no se encuentra muy bien desarrollada. En nuestro

trabajo el tratamiento se aplicó en etapa adulta, tomando en cuenta que la invasión ya debe presentar un alto grado de desarrollo igual que la barrera hematotesticular.

Tanto en el trabajo de Muralidhara y Narasimhamurth, y nuestro trabajo se aplicó los diferentes tratamientos en etapa adulta, pero solo nuestros resultados muestran diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de viabilidad. En este caso podríamos pensar que la expresión de los receptores TRPV1 puede ser diferente en el ratón y en el Humano, por lo que la respuesta al estímulo de la vía aferente será diferente.

Es posible que la administración de altas dosis de capsaicina active mecanismos apoptóticos, tal y como ha sido mostrado en estudios *in vitro* (Mizrak *et al*, 2008), por la interacción directa con los receptores TRPV1 presentes en las células germinales.

Gerendai (2004) menciona que la invasión sensorial está implicada en la regulación del flujo sanguíneo así como en la regulación de la producción de testosterona, si esto se estuviera cumpliendo en nuestro modelo de estudio, entonces podría estarse alterando la barrera hematotesticular, pues se ha reportado que la testosterona juega un papel importante para mantener la adecuada distribución de Claudina-11 y JAM-A, permitiendo la entrada de la capsaicina hacia el interior del túbulo seminífero (McCabe *et al*, 2010).

Sin embargo como mencione anteriormente el volumen del eyaculado no se ve alterado en nuestro trabajo indicando que las vesículas seminales tal vez no se ven alteradas siendo estas glándulas órganos blanco de la actividad de la testosterona, lo que también estaría coincidiendo con el trabajo realizado por Hernández (2014), donde no se encontraron diferencias significativas en el peso de las vesículas seminales y de las glándulas suprarrenales, pero si en el peso de la próstata.

Es probable que los efectos de la capsaicina dependan de la dosis utilizada, es decir a altas dosis inhibe y a bajas dosis podría favorecer la espermatogénesis. En el grupo con “poca capsaicina” no se observaron diferencias significativas, sin embargo

proponemos que si se utiliza una dosis todavía aún más baja podría tener efectos estimulatorios en la viabilidad y la motilidad ya que estudios *in vitro* han mostrado que en el espermatozoide del jabalí la capsaicina induce cambios en la remodelación del citoesqueleto y la arquitectura de la membrana, que favorecen su capacitación (Bernabo *et al*, 2010).

Conclusión

Nuestros resultados sugieren que el consumo de 3 mg o 300mg de chile habanero durante 3 meses, no modifica de forma biológicamente significativa la calidad espermática en humanos.

Nuestros resultados sugieren que el consumo de 300 mg de chile durante tres meses activa mecanismos neuroendócrinos y posiblemente celulares que provocan una disminución de la viabilidad de los espermatozoides humanos.

Bibliografía

Abel E. L. (1981). Marihuana and sex: a critical survey. *Drug Alcohol Depend.* 8, 1–22.

Benninghoff, A. (1993). *Makroskopische anatomie, embryologie und histologie des menschen*. Baltimore, last update 15/4/2015.

Bujan L., Daudin M., Charlet J. P., Thonneau P., Mieusset R. (2000). Increase in scrotal temperature in car drivers. *Hum. Reprod.* 15, 1355–1357.

Bracken M. B., Eskenazi B., Sachse K., McSharry J. E., Hellenbrand K., Leo-Summers L. (1990). Association of cocaine use with sperm concentration, motility and morphology. *Fertil. Steril.* 53, 315–322.

Brown T. T., Dobs A. S. (2002). Endocrine effects of marijuana. *J. Clin. Pharmacol.* 42(Suppl. 11), 90S–96S.

EL Ansari, N., EL Mghari, G. (2014). Physiology of the Hypothalamic-Pituitary-Testicular Complex: A View by Stages in the Light of Recent Advances. *Journal of Endocrinology and Diabetes Mellitus*, 2, 33-38.

Figa-Talamanca I. (1996). Effects of prolonged autovehicle driving on male reproductive function: a study among taxi drivers. *Am. J. Ind. Med.* 30, 750–758.

Gartner, L., Hiatt, J. (1997). *Histologia: texto y atlas*. 3ra Ed. Mexico DF: Mc Graw Hill. pp. 506.

Gerendai, I. (2004). New data on the neural control of gonadal functions. Supraspinal innervations of the gonads. *TMJ.* 54:218-224.

Gervasi, M.G., Osycka-Salut, C., Caballero, J., Vazquez-Levin, M., Pereyra, E., Billi, S., Franchi, A., Perez-Martinez, S. (2011). Anandamide Capacitates Bull Spermatozoa through CB1 and TRPV1 Activation. *PLoS ONE*, 6(2), e16993.

Gould DC, Kirby RS, Amoroso P. (2007). Hypoandrogen-metabolic syndrome: a potentially common and underdiagnosed condition in men . Int. J. Clin. Pract. 61 , 341–344 .

Grimaldi, P., Di Giacomo, D., &Geremia, R. (2013). The Endocannabinoid System and Spermatogenesis. Frontiers in Endocrinology, 4, 192.

Hernandez, G. (2014). Participación de la inervación sensorial sobre la espermatogénesis de rata. Laboratorio de Histofisiología, Benemérita universidad Autonoma de puebla.

Hjollund, N. H., Bonde, J. P., Jensen, T. K. & Olsen, J. (2000). Diurnal scrotal skin temperature and semen quality. The Danish first pregnancy planner study team. Int. J. Androl. 23, 309–318.

Hjollund, N. H., Storgaard, L., Ernst, E., Bonde, J. P. & Olsen, J. (2002). The relations between daily activities and scrotal temperature. Reprod. Toxicol. 16, 209 –214.

Kaleczyc, J. (1998). Origin and neurochemical characteristics of nerve fibres supplying the mammalian vas deferens. Microscopy research and technique 42:409–422.

Lerner, J., Urbina, M.T. (2008). Fertilidad y reproducción asistida. Medica panamericana, Caracas. Pp 101-105.

Lewis, S.E.M., Rapino, C., Di Tommaso, M., Pucci, M., Battista, N., Paro, R., Simon, L., Lutton, D., Maccarrone, M. (2012). Differences in the Endocannabinoid System of Sperm from Fertile and Infertile Men. PLoS ONE, 7(10), e47704.

López, J.m., Urbano, A., Cardenas, M. (2012). Manual de laboratorio para el análisis del semen. 1era ed. Omnia science.

Lue YH, Lasley BL, Laughlin LS, Swerdloff RS, Hikim AP, Leung A., Overstreet JW, Wang C. (2002). Mild testicular hyperthermia induces profound transitional spermatogenic suppression through increased germ cell apoptosis in adult cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) . J. Androl. 23 , 799–805

McCabe, M.J., Tarulli, G.A., Meachem, S.J., Robertson, D.M., Smooker, P.M., Stanton, P.G. (2010). Gonadotropins regulate rat testicular tight junctions in vivo. *Endocrinology* 151:2911–2922.

Meccariello, R., Fasano, S., Pierantoni, R., Cobellis, G. (2014). Modulators of hypothalamic-pituitary-gonadal axis for the control of spermatogenesis and sperm quality in vertebrates. *Frontiers in endocrinology*.

Martini A. C., Molina R. I., Estofan D., Senestrari D., Fiol de Cuneo M., Ruiz R. D. (2004). Effects of alcohol and cigarette consumption on human seminal quality. *Fertil. Steril.* 82, 374–377 .

Marinelli D., Gaspari L., Pedotti P., Taioli E. (2004). Mini-review of studies on the effect of smoking and drinking habits on semen parameters. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 207, 185–192 .

Mendiola, J., Torres-Canteno, A. M., Moreno-Grau, J. M., Ten, J., Roca, M., Moreno-Grau, S., Bernabeu, R. (2009). Food intake and its relationship with semen quality: a case-control study. *American Society for Reproductive medicine*. Vol 90, no 3.

Mieusset R., Bujan L. (1995). Testicular heating and its possible contributions to male infertility: a review. *Int. J. Androl.* 18 , 169–184.

Mizrak, S. C., Gadella, B. M., Erdost, H., Ozer, A., Van pelt, A. M., van Dissel-emiliani, F. (2008). Spermatogonial stem cell sensitivity to capsaicin: An in vitro study. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 6,52.

Mortazavi, M., Salehi, I., Alizadeh, Z., Vahabian, M., Mohammadi, A. R. (2014). Protective effects of antioxidants on sperm parameters and seminiferous tubules epithelium in high fat-fed rats. *J Reprod Infertil.* 2014;15(1):22-28.

Motoc, A., Rusu, R., Jianu, A. M. (2010). The spermatic ganglion in humans: an anatomical update. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*. Shirai 51(4):719–723.

Muralidhara y Narasimhamurth, K. (1988). Non-mutagenicity of capsaicin in albino mice. Central Food Technological Research Institute, 26, 955-958.

Muthusami K. R., Chinnaswamy P. (2005). Effect of chronic alcoholism on male fertility hormones and semen quality. Fertil. Steril. 84, 919–924.

Neill, D. j., Plant, T.M., Pfaff, D. W., Challis, J.R., De Kretser, D. M., Richards, J.S., Wassarman, P.M. (2006). Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. Third edition. Pp 831-832.

Nielsen TL, Hagen C., Wraae K., Brixen K., Petersen PH, Haug E., Larsen R., Andersen M. (2007). Visceral and subcutaneous adipose tissue assessed by magnetic resonance imaging in relation to circulating androgens, sex hormone-binding globulin, and luteinizing hormone in young men . J. Clin. Endocrinol.Metab. 92 , 2696–2705

Patra P. B., Wadsworth R. M. (1991). Quantitative evaluation of spermatogenesis in mice following chronic exposure to cannabinoids. Andrologia 23, 151–156.

Paul C., Teng S., Saunders PTK .(2009). A single, mild transient scrotal heat stress causes hypoxia and oxidative stress in mouse testes, which induces germ cell death . Biol. Reprod. 80 , 913–919.

Prieto-Gómez, B.,Velázquez-Paniagua,M. (2002). Fisiología de la reproducción: hormona liberadora de gonadotrofinas. Rev Fac Med UNAM. 6:252-257.

Ramlau-Hansen C. H., Thulstrup A. M., Storgaard L., Toft G., Olsen J., Bonde J. P. (2007). Is prenatal exposure to tobacco smoking a cause of poor semen quality? Am. J. Epidemiol. 165, 1372–1379.

Reyes-Escogido, M. L., Gonzales, E. G., Vazques, E. (2011). Chemical and PharmacologicalAspects of Capsaicin.Journalmolecules, 16:1253-1270.

Ricci G., Cacciola G., Altucci L., Meccariello R., Pierantoni R., Fasano S., Cobellis G. (2007) Endocannabinoid control of sperm motility: the role of the epididymis. *Gen. Comp. Endocrinol.* 153, 320–322

Rossato M., Ion Popa F., Ferigo M., Clari G., Foresta C. (2005). Human sperm express cannabinoid receptor Cb1, the activation of which inhibits motility, acrosome reaction and mitochondrial function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90, 984–991

Saria, A.; Lundberg, J.M.; Hua, X.; Lembeck, F. (1983). Capsaicin-induced substance P release and sensory control of vascular permeability in the guinea-pig ureter. *Neurosci.Lett.*, 41, 167-172.

Setchell BP (1998). Heat and the testis . *J. Reprod. Fertil.* 114 , 179–184.

Setchell, B., Breed W. (2006). Anatomy, vasculature and innervations of the male reproductive tract. *Physiology of reproduction*. Eds. Knobil y Neill's. USA: Elseiver. 3raEd. pp. 771-785.

Shiirai, M., Asaki, K., Ikimar, A. (1973). A Histochemical Investigation of the Distribution of Adrenergic and Cholinergic Nerves in the Human Male Genital Organs. *J. exp. Med.*, 111, 281-291

Tchernof A., Despres JP, Belanger A., Dupont A., Prud'homme D., Moorjani S., Lupien PJ, Labrie F. 1995 Reduced testosterone and adrenal C19 steroid levels in obese men . *Metabolism* 44 , 513–519.

Thonneau P., Bujan L., Multigner L., Mieussset R. (1998). Occupational heat exposure and male infertility: a review . *Hum. Reprod.* 13 , 2122–2125.

Villalta J., Balleca J. L., Nicolas J. M., Martinez de Osaba M. J., Antunez E., Pimentel C. (1997). Testicular function in asymptomatic chronic alcoholics: relation to ethanol intake. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 21, 128–133.

Vine M. F. (1996). Smoking and male reproduction: a review. *Int. J. Androl.* 19, 323–337

.