

**Esta investigación fue realizada con apoyo del Consejo de Ciencia y Tecnología
del Estado de Puebla**

Agradecimiento

A mi director de tesis el M. en. C. Ubaldo Quiróz López por todo su apoyo y guía en el desarrollo de este proyecto, por sus consejos, su paciencia y disponibilidad, por enseñarme que todo es posible y porque nunca nos dejamos vencer a pesar de todas las dificultades.

A la Dra. Rosalina Reyes Luna por su asesoramiento, por siempre tener un espacio para enseñarme muchas de las técnicas utilizadas en este proyecto y permitirme aprender de su amabilidad.

Al Dr. Juan Carlos Flores Alonso por sus consejos y aportación de información, para la culminación de esta tesis.

Al Dr. Gonzalo Flores Álvarez y a la M. en C. María Elena Bringas Tobón por permitirme realizar parte de los protocolos de esta tesis en el laboratorio de Neuropsiquiatría del Instituto de Fisiología de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y proporcionarme los elementos necesarios para la elaboración de esta tesis.

A mis padres que lo dieron todo porque lograra culminar este sueño, porque de ellos es este triunfo, porque para ello es este sueño... los amo.

A mis hermanos por siempre darme apoyo aún en las malas y ser una fuente de fortaleza.

A mi niña Fernanda, a todos mis amigos del laboratorio de histofisiología: Abrahán, Alex, Martha, Fer, Max, Martín M, Quica, Agus, Germán, Betty, Dulce, Clau. Porque me regalaron mucha alegría y motivos para siempre continuar.

A Carlos B. porque siempre tuviste confianza en mí, porque nunca dejaste que me rindiera aún cuando todo estaba oscuro, por tu sonrisa de siempre... Gracias mi amor.



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

ESCUELA DE BIOLOGIA

**PARTICIPACIÓN DE LA INERVACIÓN SENSORIAL SOBRE LA
ESPERMATOGÉNESIS DE LA RATA**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BÍOLOGO

PRESENTA:

GITSEL IRAIS HERNÁNDEZ LÓPEZ

DIRECTOR DE TESIS:

M. en. C. UBALDO QUIRÓZ LÓPEZ



ÍNDICE

Resumen	6
1. Introducción	7
1.1 Estructura de los testículos.....	7
1.2 Epidídimo y conductos deferentes.....	9
1.3 Espermatogénesis.....	10
1.4 Inervación.....	12
1.5 Fibras sensoriales.....	14
1.6 Amígdala.....	16
1.7 Denervación sensorial.....	18
2. Antecedentes	21
3. Justificación	25
4. Hipótesis	26
5. Objetivos	27
5.1 Objetivo general.....	27
5.2 Objetivo particular.....	27
6. Material y métodos	29
6.1 Obtención de las muestras.....	29
6.2 Análisis microscópico de los espermatozoides.....	30
6.3 Análisis histológico.....	30
6.4 Análisis morfométrico de túbulos seminíferos.....	32
6.5 Impregnación con solución Golgi-Cox.....	32
6.6 Dibujo y análisis de las neuronas.....	34
6.7 Análisis estadístico.....	34
7. Resultados	35
7.1 Análisis espermáticos.....	35
7.2 Análisis de peso corporal y estructuras del tracto genital.....	36
7.3 Análisis morfométrico.....	40
7.4 Análisis dendrítico (Sholl).....	44
8. Discusión	46

9. Conclusiones.....	50
10. Bibliografía.....	51
11. Anexo.....	58

RESUMEN

Las funciones del testículo, secreción de hormonas y la espermatogénesis, son reguladas por el eje hipotálamo-hipófisis-testículo. Cada vez se suman más evidencias que muestran que, aunado al control endócrino, la comunicación neural directa entre el sistema nervioso central y las gónadas contribuyen a la regulación de las funciones de la gónada. El testículo recibe inervación de tipo simpático, parasimpático y sensorial a través de los nervios espermático superior e inferior. La información sensorial proveniente del testículo viaja junto a los nervios espermáticos, ascendiendo hacia la medula espinal. La administración de capsaicina al nacimiento provoca la destrucción irreversible de las fibras sensoriales que presentan el receptor TRPV1.

El presente trabajo tuvo como objetivo analizar los efectos de la destrucción de las fibras sensoriales, mediante la administración de capsaicina al nacimiento en la rata macho, sobre la concentración de espermatozoides, la motilidad y vitalidad de espermatozoides obtenidos del epidídimo, el área de los túbulos seminíferos y la morfología dendrítica de neuronas piramidales del núcleo basolateral de la amígdala.

La denervación sensorial resultó en una disminución de la respuesta testicular, mostrando una baja significativa del número total de espermatozoides, un menor porcentaje de motilidad rápida y de espermatozoides vivos, comparado con el grupo control. La destrucción de las fibras sensoriales por capsaicina provocó la disminución del área del epitelio seminífero y un aumento del área del lumen, presente en los túbulos seminíferos, comparado con los animales del grupo control. Esto se ve acompañado de una respuesta asimétrica del testículo, siendo el testículo derecho el que mostró los valores más elevados en el grupo control y los más bajos en los tratados con capsaicina. La denervación sensorial no modificó la longitud dendrítica total, arborización dendrítica ni longitud dendrítica por número de orden de las neuronas de amígdala.

Los resultados obtenidos en este trabajo, sugieren que en la rata la información sensorial participa de manera estimuladora en la espermatogénesis y en la adquisición de la motilidad y la viabilidad del espermatozoide.

1. INTRODUCCIÓN

La reproducción en el macho es una función integrada, dependiente de la interacción de señales hormonales y nerviosas entre el sistema nervioso central, hipotálamo, hipófisis y testículo. Los testículos, al igual que los ovarios, producen y liberan células germinales y sintetizan hormonas esteroideas y peptídicas. El tracto reproductivo masculino en mamíferos consiste de testículos, epidídimos, ductos deferentes, glándulas sexuales accesorias y el pene. Las células de Leydig secretan andrógenos que inducen la diferenciación del conducto mesonéfrico (o de Wolff) del epidídimo y conducto deferente y algunas de las glándulas sexuales accesorias y de los genitales externos en pene y en algunos grupos un escroto (Setchell *et al.*, 2006). Las células de Sertoli son células somáticas de los testículos, esenciales para la formación de los testículos y la espermatogénesis en el adulto, además de ejercer un papel regulatorio en la liberación de la Hormona Folículo Estimulante y Testosterona (Griswold M., 1998).

La determinación sexual en mamíferos se basa en el control de la cascada génica que se presenta en las gónadas; éstas participan directamente para establecer el fenotipo sexual, a través de la producción de hormonas. Uno de los mecanismos de control de la función gonadal normal se da a través de las fibras nerviosas testiculares y junto con la acción del eje hipotálamo- hipófisis- gónada, regulan por completo la función reproductiva (De la Chica, 2006; Durán, 2009).

1.1 Estructura de los Testículos

Los testículos de los mamíferos son órganos ovoides que aparecen envueltos en una gruesa cápsula fibrosa, la túnica albugínea, que envía dentro del testículo, tejido conectivo a la pared interlobular llamados septos o septula cuando son muy pequeños, también cubre el conducto del epidídimo y cuyo interior contiene un gran número de túbulos seminíferos contorneados, productores de espermatozoides a través del proceso de espermatogénesis, además produce testosterona (T) y otras hormonas (Constantinescu, 2007).

Estas hormonas masculinas determinan el estado fisiológico de los conductos y glándulas accesorias y generalmente condiciona la aparición de los caracteres sexuales secundarios (Ruíz, 1988). En el testículo de la rata está presente un estroma de tejido conectivo que contiene las células intersticiales o de Leydig que rodean a los túbulos seminíferos que están revestidos por un epitelio estratificado altamente especializado, denominado epitelio germinativo o seminífero (Habert *et. al.*, 2001). En el adulto este epitelio está compuesto por dos poblaciones celulares: una población no proliferativa de células de sostén, las células de Sertoli, que forman la membrana basal de los túbulos y una población proliferativa de células germinativas, que migran continuamente desde la periferia del túbulo hacia la superficie luminal libre. Los elementos germinativos consisten en sucesivas generaciones de células dispuestas en el epitelio formando capas concéntricas bien definidas y comprenden desde la periferia hacia el lumen, las espermatogonias, los espermatocitos y las espermátidas. El desarrollo de las células germinales está inmediatamente asociado con las células de Sertoli (Wschebor, 2003).

La forma en la que se organizan las células de Sertoli y las células espermáticas en los túbulos seminíferos de los testículos es de vital importancia para la función testicular normal (Orth, 1993). Las células de Sertoli proporcionan nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes vitales a las células germinales. Producen una unión estrecha entre sí formando lo que se conoce como “barrera hematotesticular”. Intervienen en la liberación de las espermátidas en el proceso de espermiación, así como en la producción de proteínas que regulan y/o responden a la liberación y controlan los niveles de las hormonas hipofisarias importantes como la hormona Luteinizante (LH) y la hormona folículo estimulante (FSH), importantes en el control de la diferenciación y proliferación de las células germinales e influyen en la actividad mitótica de las espermatogonias (McKee, 2007; Fernández, 2012).

1.2 Epidídimo y Conductos deferentes

Los epidídimos son el principal órgano secretor del sistema genital masculino. Los epidídimos están unidos al testículo y consisten de conductos eferentes y conductos epididimales rodeados por la túnica albugínea testicular, desarrollados del conducto mesonéfrico. Los conductos epididimales están extraordinariamente compactados dentro de la túnica y son extremadamente largos en todas las especies. En muchos mamíferos, las distintas regiones del epidídimo, han sido clasificadas basados en la estructura del epitelio y en la morfología macroscópica, se diferencia la cabeza, el cuerpo y la cola. Siendo el cuerpo el segmento más delgado de los tres. La cabeza contiene los conductos eferentes del testículo y el origen de los conductos epididimales, aquí se reciben los espermatozoides y fluidos de los vasos eferentes. El cuerpo, la región más estrecha, encierra la espiral del conducto del epidídimo, que conecta la cabeza con la cola. Tanto los ductos eferentes como los conductos epididimales se encuentran dentro de los lóbulos del epidídimo. El conducto del epidídimo continúa en el interior de la cola del epidídimo con el conducto deferente. La cola del epidídimo se ancla al testículo por el ligamento propio del testículo y se encarga de almacenar el esperma hasta la eyaculación. (Figura 1) (Constantinescu, 2007).

Las contribuciones de epitelio epididimal son esenciales para la adquisición del poder fertilizante del espermatozoide, aunque aún no son claros los factores responsables de este proceso. Así, el epidídimo es, al principio, vía de paso de los espermatozoides que salen del testículo y su parte final (la cola) se convierte en la principal zona de almacenamiento de los espermatozoides maduros, además, el epidídimo aporta tanto las secreciones como el tiempo necesario para que el espermatozoide inmaduro que abandona el testículo se convierta en una célula madura con capacidad de fertilización del oocito (Regalado, 1992).

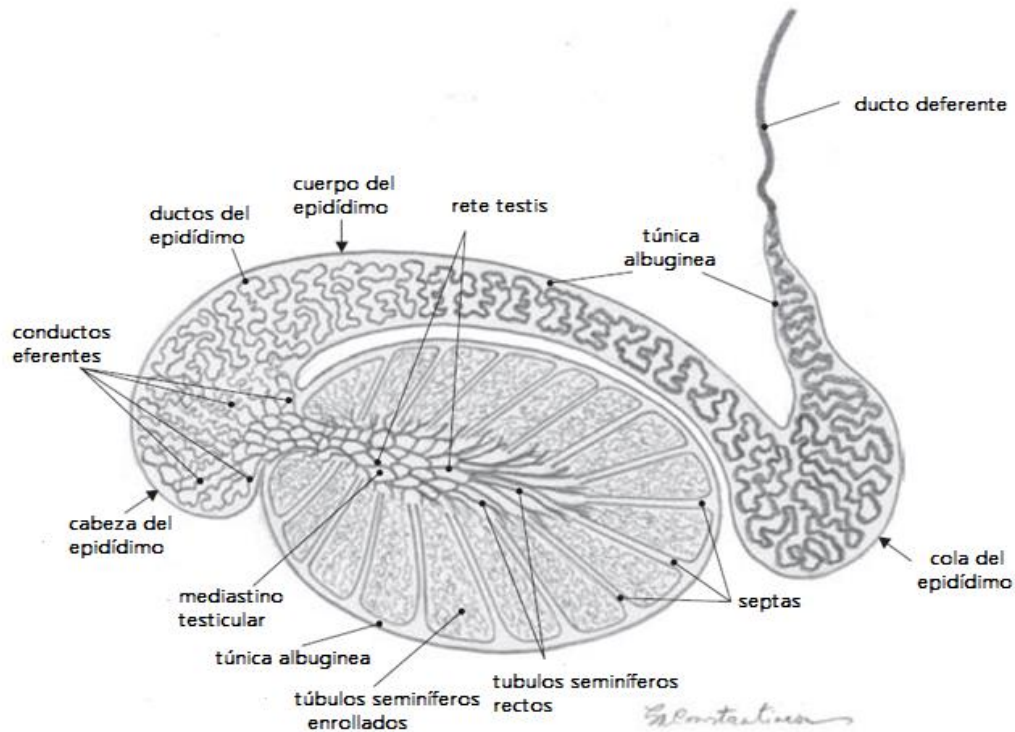


Figura 1. Organización interna del testículo y el epidídimo. Tomado de Constantinescu, 2007.

1.3 Espermatogénesis

La espermatogénesis (Figura 2) es un proceso complejo de diferenciación celular y proliferación esencial para todas las especies con reproducción sexual, cuyo resultado es la formación de los gametos masculinos, los espermatozoides. Comienza con la división mitótica de células diploides, las espermatogonias, situadas en la base de los túbulos seminíferos para ingresar en la primera división meiótica y transformarse en espermatocitos primarios. Al término de esta primera división, en la interfase, no se lleva a cabo la duplicación del material genético (fase S) y estos se convierten en espermatocitos secundarios, los cuales inician la segunda división meiótica, como células diploides. Como resultado de ambas divisiones se obtienen cuatro células haploides, las espermatídas redondas, que ingresan en la fase de diferenciación haploide conocida como espermiogénesis. Durante la misma, las espermatídas van sufriendo elongación nuclear (espermátidas elongadas) y el surgimiento de un flagelo, a la vez que desarrollan especializaciones únicas del

aparato de Golgi que forma el acrosoma, y de las mitocondrias, que envuelven la porción anterior del flagelo. La espermiogénesis culmina con la eliminación del citoplasma como cuerpo residual y la liberación de los espermatozoides hacia el lumen del túbulo seminífero (Wschebor, 2009).

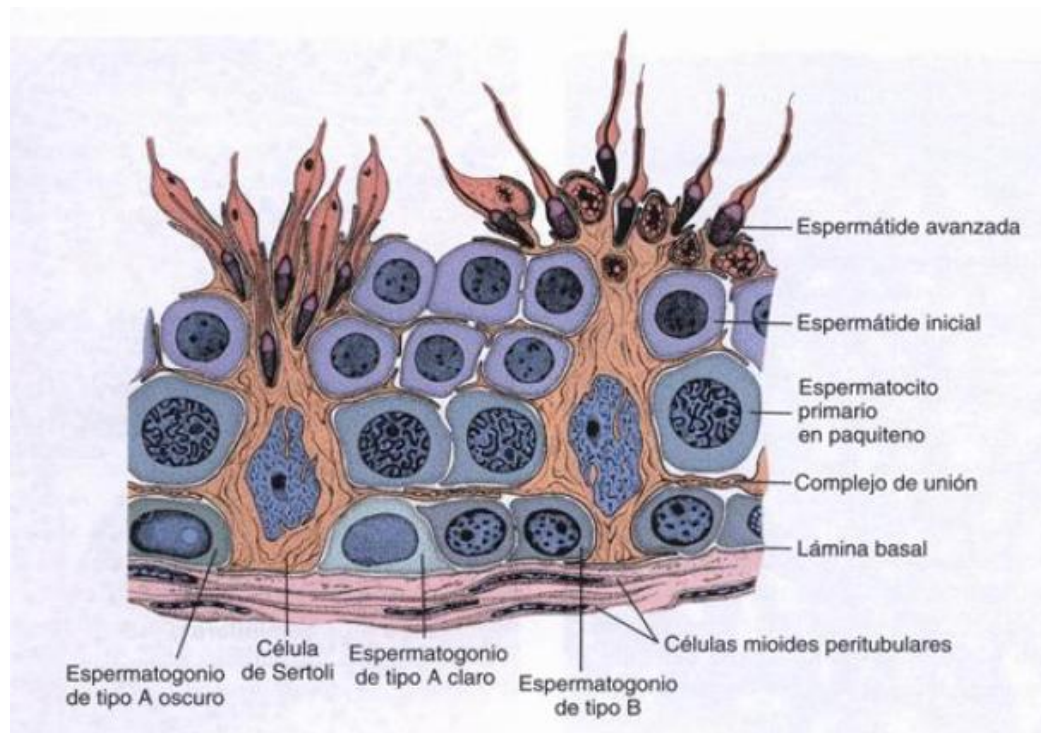


Figura 2. Estructura de túbulo seminífero, donde se muestran los tipos celulares principales durante la espermatogénesis. Tomado de Ross, 2008.

La espermatogénesis ocurre dentro de los túbulos seminíferos en estrecha asociación con las células somáticas del epitelio seminífero, las células de Sertoli. La regulación endocrina de la espermatogénesis se logra a través de un bucle de retroalimentación negativo clásico (Figura 3), que implica interacciones entre el hipotálamo, pituitaria y los testículos (el eje Hipotálamo-Hipófisis-Testículos). La producción de espermatozoides depende de la estimulación de las gonadotropinas pituitarias LH y FSH, las cuales son secretadas en respuesta a la hormona hipotalámica liberadora de gonadotropina (GnRH). La LH estimula la síntesis de andrógenos por las células de Leydig de los testículos, que actúa localmente para regular la producción de espermatozoides y retroalimenta de nuevo al hipotálamo y la pituitaria.

para afectar la producción de GnRH y LH produciendo un bucle auto-limitante. La FSH estimula las células de Sertoli para secretar Inhibina B que tiene un efecto de retroalimentación negativa sobre la hipófisis para limitar la secreción de FSH (O'Donnell *et al.*, 2006).

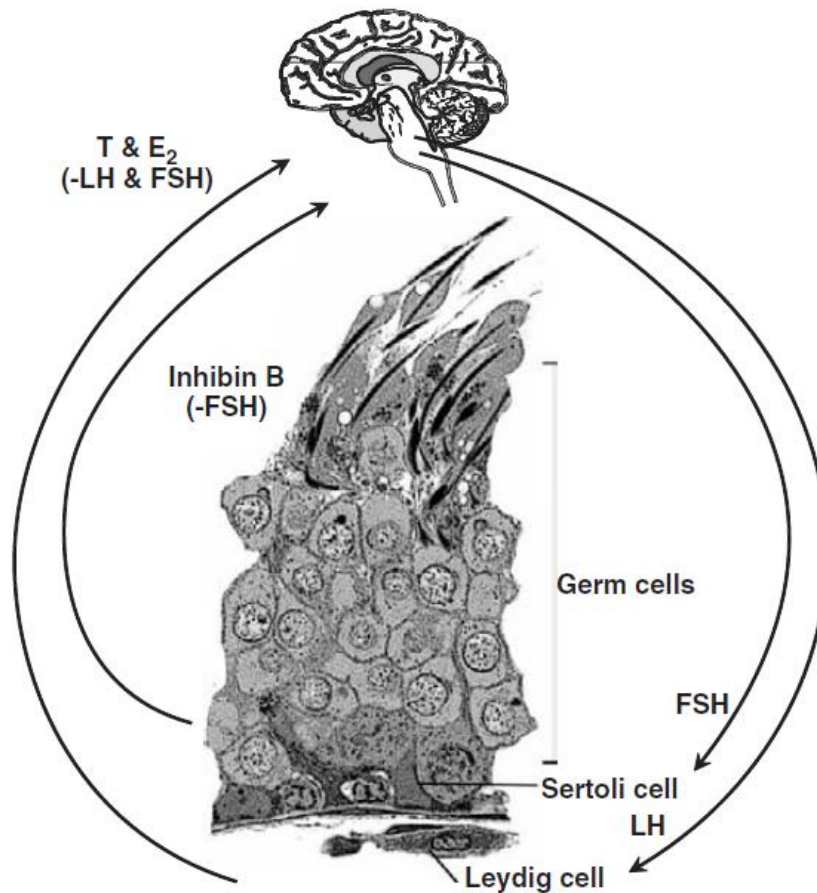


Figura 3. Bucle de retroalimentación en el control endocrino de la espermatogénesis. Tomado de O'Donnell, 2006.

1.4 Inervación

Los órganos reproductivos de los mamíferos reciben inervación extrínseca proveniente de fibras nerviosas post-ganglionares simpáticas y parasimpáticas, a través de las células del ganglio pélvico, pero también, para algunos órganos, de los axones originarios desde el ganglio mesentérico caudal y los ganglios de la cadena simpática (Kaleczyc, *et al.*, 1995). Estos nervios van acompañados por fibras

sensoriales aferentes, que llevan la información al sistema nervioso central (SNC). Las neuronas simpáticas pre-ganglionares se encuentran en el área intermedio lateral de la columna de la médula espinal torácica inferior y en los segmentos lumbares superiores de la medula espinal. Las fibras pre-ganglionares parasimpáticas proceden del núcleo dorsal vago y del núcleo sacral parasimpático (en la rata: segmentos L6-S1 de la medula espinal). Las fibras pos-ganglionares que inervan los órganos reproductivos se originan del ganglio paraventral o pélvico. Las fibras nerviosas y de los órganos, además de los neurotransmisores clásicos del sistema nervioso autónomo como noradrenalina, adrenalina y acetilcolina, contiene varios otros neurotransmisores y neuropéptidos incluyendo serotonina, polipéptido intestinal vasoactivo, sustancia P, péptido generador de calcitonina, galacina, etc. (Gerendal, 2004).

Las fibras simpáticas que recibe el testículo proyectan sus axones a través del nervio espermático superior (SSN) y del inferior (ISN). El SSN se origina de los plexos mesentérico y renal e ingresa junto a la arteria testicular, mientras que el ISN se deriva del plexo pélvico y mesentérico inferior y corre a lo largo del conducto deferente inervando primero al epidídimo y luego al testículo (Kuntz *et. al* 1946, Rauchenwald *et al.*, 1995).

La inervación del epidídimo y del conducto deferente se derivan en gran parte del ganglio mesentérico inferior y el plexo pélvico a través del hipogástrico inferior y los nervios espermáticos medios, aunque algunas fibras de la cabeza proviene del nervio espermático superior (Setchell, 2006). El nervio espermático inferior, que acompaña el conducto deferente, que continua, se desplaza dentro del epidídimo, llega a los testículos en su polo inferior. Las fibras sensoriales están presentes en todos los tractos nerviosos descritos anteriormente. Estas fibras viajan con el nervio pélvico a la raíz dorsal de la medula espinal al segmento 10T, con los nervios sacros al tronco simpático y suben a través de este hacia medula espinal (Kamazawa, 1986).

1.5 Fibras sensoriales

Los nervios periféricos están compuestos por distintos tipos de axones que se clasifican de acuerdo con su tamaño, función o características fisiológicas. Las fibras aferentes (sensoriales) se dirigen hacia el sistema nervioso central. El término sensorial se refiere a los axones que transmiten la información al SNC sobre hechos que se producen en la periferia. Los axones se clasifican según su velocidad de conducción que a su vez es proporcional a su tamaño. Si un nervio periférico es estimulado eléctricamente y se registra la actividad evocada a cierta distancia a lo largo del nervio, se registra una onda de actividad eléctrica. La onda es generada por la suma de la actividad eléctrica de cada uno de los axones del nervio. Estas ondas reciben la clasificación de ondas A, B y C. La velocidad de conducción de las fibras nerviosas guarda una correlación con su morfología, por lo que pueden ser mielínicas o amielínicas. Por tanto, la clasificación de las fibras A y B son axones mielinizados de distintos diámetros y velocidades de conducción, mientras que las fibras C son axones amielínicos con diámetro pequeño y velocidades de conducción lenta. Estas fibras C son en gran medida fibras sensoriales amielínicas del cuerpo y transmiten las sensaciones de dolor, térmicas y de presión que reciben el nombre de fibras aferentes de diámetro pequeño, nociceptivas (Palastanga *et. al.*, 2000).

Dichos nociceptores son terminaciones nerviosas libres con cuerpos celulares 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 neurotransmisores del dolor: glutamato, sustancia P, Péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP). A nivel molecular los nociceptores poseen en sus terminales un conjunto de receptores proteicos preparados para reconocer y transducir los estímulos nocivo. El canal TRPV-1 (receptor vanilloide de potencial transitorio tipo 1) se expresa principalmente en neuronas del sistema nervioso periférico, como las neuronas del ganglio de la raíz dorsal, de los ganglios trigeminal y torácico vagal y en fibras sensoriales C, también puede encontrarse en el

sistema nervioso central y en múltiples tejidos neuronales (Piérola, 2007; Salazar *et al.*, 2009).

En el testículo, las fibras sensoriales son importantes en el control del flujo sanguíneo y para la regulación en la secreción de testosterona (Gerendai, 2004). La inervación tiene un papel regulador sobre el comportamiento endócrino del órgano. Existen estructuras conectadas transneuronalmente con las gónadas las cuales se encargan de controlar las funciones gonadales independientes de la hipófisis, este control neural directo es considerado un mecanismo de control de ajuste, estas estructuras fueron descritas por técnicas de rastreo viral, donde marcan las células nerviosas vinculadas, en las diferentes regiones del tronco cerebral, diencefalo y el telencéfalo, involucradas en la respuesta fisiológica del testículo (Gerendai *et al.*, 2005).



Figura 4. Esquema simplificado de las conexiones descendentes entre las estructuras del SNC hacia el testículo. A5: grupo de células noradrenergicas; AMY: amígdala; B: núcleo de Barrington; BNTS: base del núcleo de estría terminalis; CR: núcleo de raphe caudal; IC: corteza insular; LC: locus coeruleus; LH: hipotálamo lateral; PAG: Sustancia gris periacueductal; POA: área preóptica; PVN: núcleo paraventricular; VLM: médula ventrolateral; X: núcleo vagal. Modificado de Gerendai *et al.* 2005

En la figura 4 se muestran algunas de las estructuras que participan en la comunicación neural entre el sistema nervioso central y el testículo. La interrupción de la comunicación en alguno de estos componentes repercute en la respuesta endócrina del testículo. Así, podemos observar su papel en la función testicular y la regulación neural independiente al control que ejerce la hipófisis sobre las funciones del testículo. De entre estas estructuras se reconoce a la amígdala que no solo es parte del sistema límbico, donde participa en la respuesta a las emociones, sino que también se ha demostrado que ejerce un papel importante en la conducta sexual (Lehman *et. al.*, 1980; Gerendai *et. al.*, 2005).

1.6 Amígdala

La amígdala es una estructura en forma de almendra, situada en la porción medio-dorsal del lóbulo temporal, fue identificada por primera vez por Burdach en 1819, quien la describe como un grupo de células conocido como complejo basolateral, poco después un gran número de estructuras alrededor del complejo basolateral fueron identificadas en varias especies y constituyeron lo que hoy conocemos como complejo amigdalino. El complejo nuclear amigdalino es una masa de sustancia gris. Se divide en dos masas nucleares principales: un grupo nuclear corticomédial y un grupo nuclear basolateral. El concepto actual del complejo amigdalino divide a este en una amígdala principal o temporal ubicada en el lóbulo temporal; y una amígdala extratemporal, que incluye porciones de los núcleos amigdalinos central y medial (Figura 5). Dichos núcleos, con idénticas características citoarquitectónicas e histoquímicas, se continúan a través de la sustancia innominada, donde están representadas por columnas subpálidas hacia regiones del núcleo del lecho de la estría terminal (Sah *et. al.*, 2003; Carpenter, 1998).

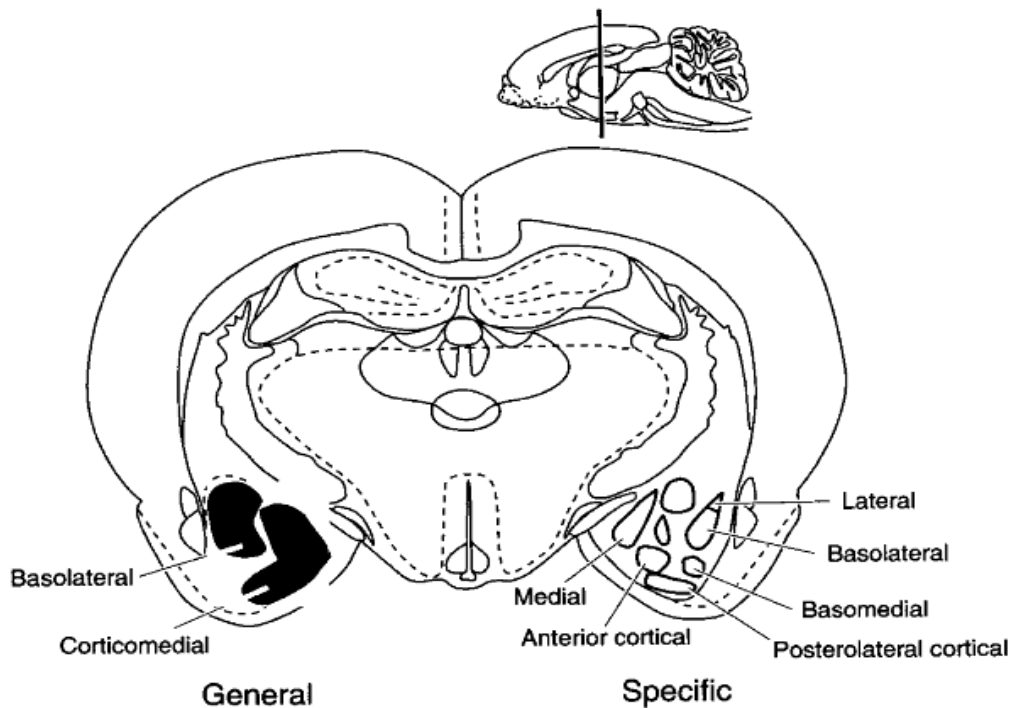


Figura 5. La amígdala, con una estructura en forma de almendra, localizada en cada lóbulo temporal. Se observa un dibujo esquemático de una sección coronal del cerebro de ratona. Tomado de Hull *et. al.*, 2002.

Las respuestas endócrinas a la estimulación del complejo nuclear amigdalino comprende la liberación de ACTH y hormona GnRH. La amígdala recibe aferentes noradrenérgicos del locus coeruleus y aferentes dopaminérgicos de la región del sustancia nigra del mesencéfalo. Las terminaciones que contienen dopamina y varicosidades noradrenérgicas están distribuidas de una manera similar, con las mayores densidades en el núcleo central. Los axones que utilizan cada uno de estos neurotransmisores llegan a los núcleos amígdalinos mediales y centrales, por la base de la estría terminal (BNST) y por vías ventrales (Hull *et. al.*, 2002; Carpenter, 1998). La información contenida de las aferencias a la amígdala se puede separar en los que surgen de estructuras corticales y talámicas y los derivados del tallo cerebral o el hipotálamo. La amígdala recibe entradas de todas las modalidades: olfativa, somatosensorial, gustativa, visceral, auditiva y visual (Sah *et al.*, 2003).

La continuidad funcional dentro de estos circuitos, considera a la amígdala, en un marco más amplio, como una red interconectada, de las áreas límbicas que

regulan colectivamente todos los comportamientos sociales. En la rata macho, aferencias de las regiones anterior y posterior de la amígdala medial tienen claramente diferentes patrones de distribución en BNST. Estos circuitos contienen numerosas neuronas que producen una variedad de neurotransmisores y neuromoduladores, entre las cuales destacan numerosas neuronas para sustancia P, también encontramos receptores a esteroides gonadales (andrógenos y estrógenos) distribuidos principalmente en la porción caudal de la parte posterodorsal del núcleo de la amígdala media (Newman, 1999).

1.7 Denervación sensorial

La destrucción selectiva de las fibras simpáticas y sensoriales se ha utilizado como una herramienta para estudiar la importancia relativa de la inervación en la función de la reproducción masculina (Kempinas *et.al.*, 1998). La capsaicina (Figura 6) es uno de los fármacos más utilizados para provocar una denervación sensorial, pertenece al grupo de los alcaloides y es obtenido de los chiles del género *Capsicum*. Es un agonista muy selectivo que actúa a través del canal iónico ó el Receptor Vanilloide-1 de Potencial Transitorio (TRPV1), que son exclusivamente expresados por neuronas aferentes nociceptivas (Zvara, *et. al.*, 2005). En la rata, el receptor TRPV1 es una proteína politópica que consiste de 838 aminoácidos y contiene seis dominios transmembranales.

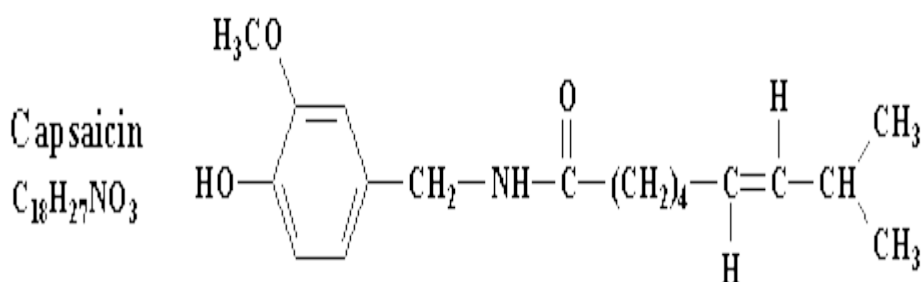


Figura 6. Estructura química de la Capsaicina. Modificado de Alvis, 1995.

Funcionalmente, el TRPV1 es un canal catiónico no selectivo con una alta permeabilidad a los iones de calcio. La activación del receptor TRPV1 resulta en una corriente de entrada de los iones de calcio que despolariza la membrana y resulta en la generación continua de potenciales de acción que se propagan a lo largo de la neurona y que puede ser percibido por el sistema nervioso central como comezón o dolor. La entrada de iones de calcio provoca la exocitosis de las vesículas que contienen al péptido (sustancia P o CGRP) y por lo tanto su liberación de las terminales sensoriales (Holzer, 1998).

La administración sistémica de capsaicina ejerce una acción neurotóxica sobre la neurona sensorial (Hiura, 2000) al permitir el paso de Ca^{2+} por la activación de los canales TRPV1 al interior activando proteasas sensibles a Ca^{2+} y otros mecanismos, también inhibe el canal de traducción neuronal anormal por sobreexposición de fibras eferentes que a su vez inhiben el transporte axoplásmico retrógrado del factor de crecimiento nervioso (NGF), esto tiene como resultado una desfuncionalización de los nociceptores y una degeneración axonal de los mismos (Figura 7). Los receptores polimodales pueden ser activados por estímulos mecánicos, térmicos y químicos. Las neuronas que reciben aferencias por las fibras C tienen una prolongación central que se proyecta al sistema nervioso central y hace sinapsis para continuar la vía analgésica. Tanto la prolongación periférica como la central acumulan en sus terminaciones péptidos neurotransmisores, mayoritariamente sustancia P, además de neuroquinina A (NKA) y CGRP. La disminución en las concentraciones de péptidos y otros constituyentes de las neuronas sensoriales es probablemente una consecuencia de la acción neurotóxica de la capsaicina (Holzer, 1991; Alvis, 1995).

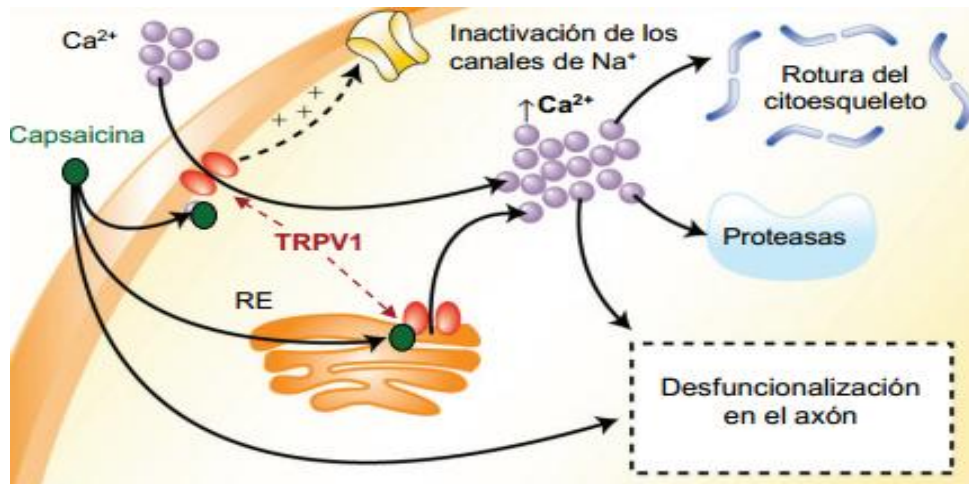


Figura 7. Mecanismo de acción de Capsaicina a través del receptor TRPV1. Modificado de Campbell *et. al.*, 2006.

2. ANTECEDENTES

Poco se ha estudiado la participación de la inervación sensorial en la espermatogénesis. El desarrollo y función de los testículos de mamíferos es regulado por factores endócrinos y el suministro nervioso. Existe amplia evidencia sobre el control del eje neuroendócrino en el desarrollo de los testículos, sin embargo, hay pocos estudios sobre el control neural en la función testicular.

En la rata adulta, la sección bilateral de los nervios espermáticos no modifica las concentraciones plasmáticas de testosterona, la espermatogénesis ni la conducta sexual, cuando los animales son sacrificados a las 1, 2 y 4 semanas pos-operatorias. Es posible que la falta de efectos se deba a un tiempo de evaluación muy corto, dado que la espermatogénesis en la rata es de 56 días (Frankel *et al.*, 1981).

En la cobaya, la destrucción de las neuronas pos-ganglionares sensoriales y autonómicas, mediante la sección de los nervios pélvico e hipogástrico, provoca en las vías deferentes y cola del epidídimo, una disminución ipsilateral de las fibras inmunoreactivas a SP, CGRP y VIP, cuando se hace una sección unilateral del nervio pélvico. Mientras que la sección bilateral de los nervios hipogástricos provoca una disminución de las fibras inmunoreactivas a SP y NPY en las vías deferentes y de VIP en vesículas seminales. La simpatectomía farmacológica en la rata adulta, provocada por la administración de Guanetidina, resulta una disminución significativa de las fibras inmunoreactivas a Dopamina β -Hidroxilasa y NPY en las vías deferentes y glándulas accesorias, en tanto se observa un aumento significativo de las fibras inmunoreactivas a SP y CGRP en las vías deferentes (Carvalho *et. al*, 1986). Estos resultados muestran que a través de los nervios hipogástrico y pélvico viajan fibras simpáticas y sensoriales que inervan el tracto genital en los roedores y que existe una relación bidireccional entre la inervación simpática y sensorial.

En la rata adulta, la disección del nervio espermático superior (SSN), resultó en la disminución del peso de los testículos, defectos en la espermatogénesis como la fagocitosis de espermátides maduras, vacuolización del núcleo de espermátides y retraso de la espermiación, además de una regresión parcial de los túbulos

seminíferos, regresión que se vuelve total cuando también se disecciona el nervio espermático inferior (ISN), lo que sugiere una regulación neural, más que mecanismos no-endócrinos, en la función testicular y la espermatogénesis (Chow, *et al.* 2000).

Se ha mostrados que la inervación no solo regula de manera estimulatoria la espermatogénesis, sino también la supervivencia y viabilidad de las células de Leydig. En apoyo a lo anterior, la denervación testicular mediante la sección de los SSN y el ISN induce mecanismos apoptóticos en las células de Leydig como condensación de cromatina, atrofia y formación de cuerpo apoptóticos (Gong *et al.*, 2009).

La disección del SSN y ISN, de rata en etapa prepúber, disminuye el peso del testículo, provoca atrofia de los túbulos seminíferos y disminuye el número de espermatozoides obtenidos de la cola del epidídimo, también inhibe el desarrollo de espermocitos primarios a espermátides, al impedir el desarrollo de la meiosis de espermocitos primarios y afecta la secreción de testosterona, posiblemente provocada por la apoptosis de las células de Leydig, a demás todos estos defectos se mantienen en la etapa adulta, lo que sugiere que la inervación modula el desarrollo testicular y espermatogénesis de la rata (Huo *et al.*, 2010).

También se ha demostrado el papel de la inervación sobre el epidídimo, cuando se realiza una denervación quirúrgica del SSN del epidídimo de la rata adulta, provoca un aumento en la acumulación de espermatozoides en la cola del epidídimo. Los autores sugieren que la inervación estimula el paso de los espermatozoides a través del epidídimo (Ricker *et al.*, 1996).

La denervación sensorial realizada en la rata neonata mediante la administración de capsaicina provoca una ausencia de las fibras inmunoreactivas a CGRP y SP del epidídimo (marcadores clásicos de las fibras sensoriales), dicha ausencia de fibras sensoriales se mantiene aún en la etapa adulta (Yamamoto *et al.*, 1988).

Se ha demostrado que no solo las neuronas sensoriales expresan el receptor TRPV1, sino también otras células no neuronales como en células epiteliales de la

vejiga, del estómago, de la lengua y el paladar, en cardiomiocitos y en células de la línea germinal como espermatogonias (Mizrack *et. al.*, 2008a).

El grupo de Mizrack (2008a) evaluó los efectos de la adición de capsaicina al cultivo de espermatogonias de rata y mostró que la capsaicina provocó la apoptosis de células germinales, mediante la activación de la caspasa-3 y fragmentación de DNA.

Se ha mostrado que una de las funciones de las fibras sensoriales sensibles a la capsaicina presentes en el testículo, es la de enviar información térmica hacia el hipotálamo para participar en los mecanismos termorreguladores. En apoyo a lo anterior, cuando al ratón Knockout del receptor TRPV1, se expone su escroto en agua en condiciones hipertérmicas (43°C) durante 15 min, provoca a la semana de iniciado el experimento una disminución del peso de los testículos y una regresión total de los túbulos seminíferos, así como una morfología parecida al síndrome de sólo células de Sertoli, esto posiblemente por el papel que tiene el receptor TRPV1 en la respuesta al estrés por calor nocivo. Por lo que se puede considerar la activación del receptor TRPV1 como un mecanismo de protección ante condiciones elevadas de temperatura, que pueden afectar la supervivencia de las células germinales (Mizrack *et. al.*, 2008b).

Está bien establecido el papel del sistema nervioso central sobre la función gonadal a través del eje Hipotálamo-Hipófisis- Gónadas, así como la participación de los nervios autónomos en el control de los vasos sanguíneos y vasomotores. Además existe evidencia creciente de datos que indican que la información neural directa entre el sistema nervioso central y las gónadas también participan en el control de la secreción de hormonas gonadales, como una vía independiente de la hipófisis. Estas hormonas esteroideas estimulan la expresión de receptores a GnRH en neuronas del hipocampo. La activación de esta estructura favorecería la respuesta y el comportamiento sexual (Jennes *et. al.*, 1995).

Entre otras estructuras que tiene una posible participación en la regulación extrahipotalámica de la función testicular, se describe a la amígdala, que posee una

estrecha relación con otros núcleos y su papel en la modulación de la secreción de GnRH, así como sus conexiones neurales con el hipotálamo. En apoyo a lo anterior, se demostró que en la rata, las lesiones unilaterales de la amígdala, resultan en una disminución significativa de la secreción de testosterona basal, mientras que solo la lesión del lado izquierdo provoca una disminución en la secreción de LH. Estas evidencias indican que este grupo de células de la amígdala están involucradas en el control neural dependiente del hipotálamo para la secreción de testosterona y se propone un mecanismo por el cual la amígdala izquierda participa en el eje hipotálamo-hipófisis- gónada y la amígdala derecha está involucrada en la respuesta directa del eje neural, en la secreción de testosterona (Banczerowsky *et. al.*, 2003).

La respuesta de las regiones extrahipotalámicas a estímulos sensoriales puede estar regulada por la presencia de receptores como el TRPV1, pues se sabe mediante técnicas histoquímicas, la expresión de receptores TRPV1 en regiones del cerebro de rata, como hipocampo, corteza, cerebelo, bulbos olfatorios, amígdala, mesencéfalo y romboencéfalo (Tóth *et. al.*, 2005). En la amígdala de la rata adulta existen neuronas que presentan el receptor TRPV1. La administración de capsaicina, provoca en estas neuronas, una disminución de su potencial de acción, el cual es esencial en la potenciación sináptica entre neuronas del núcleo central de la amígdala y el núcleo basolateral. Esta comunicación en la amígdala regula las respuestas nociceptivas y emocionales (Zschenderlein *et. al.*, 2011; Nakao *et. al.*, 2012).

3. JUSTIFICACIÓN

Está bien documentada la regulación neuroendocrina de la espermatogénesis, sin embargo poco se sabe acerca del papel que tiene la información neural en la regulación de la producción de andrógenos y la espermatogénesis.

Resulta de gran importancia el comprender cómo participa la inervación en la fisiología reproductiva y las señales nerviosas que se ven alteradas cuando hay interrupción en la comunicación de las vías sensoriales por alteraciones congénitas, quirúrgicas o farmacológicas. De esta manera se podría brindar alternativas para solucionar problemas en el área de la salud reproductiva.

Esto solo se puede lograr realizando estudios que permitan explorar este sistema neural independiente de la hipófisis, en procesos reproductivos como la producción de espermatozoides, maduración, motilidad, vitalidad, así como la liberación de hormonas.

4. HIPÓTESIS

La destrucción de las fibras sensoriales, mediante la administración de la capsaicina, provocará una disminución en el desarrollo de los túbulos seminíferos y la calidad espermática en la rata, como resultado de una alteración en la comunicación neural entre el testículo y áreas del SNC, lo que podría corroborarse con cambios morfológicos en neuronas de los núcleos que participan en la función reproductiva.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Analizar el papel de la inervación sensorial en la espermatogénesis de la rata.

5.2 Objetivos Particulares

- Evaluar la motilidad progresiva rápida, progresiva lenta, in situ e inmóvil de los espermatozoides de ratas sacrificadas a los tres meses de edad que fueron tratadas con capsaicina al nacimiento.
- Cuantificar el número total de espermatozoides de ratas sacrificadas a los tres meses de edad y que fueron inyectadas con capsaicina al nacimiento.
- Analizar la viabilidad de los espermatozoides de ratas sacrificadas a los tres meses de edad y que fueron in tratadas al nacimiento con capsaicina y sacrificadas a los tres meses de edad.
- Comparar los pesos de los testículos, próstata, vesículas seminales y glándulas suprarrenales e hipófisis, de las ratas tratadas con capsaicina al nacimiento y sacrificadas a los tres meses de edad.
- Realizar el análisis morfométrico de los túbulos seminíferos (área del epitelio germinal) de las ratas tratadas al nacimiento con capsaicina y sacrificadas a los tres meses de edad.
- Realizar el análisis morfométrico de las neuronas del núcleo basolateral de amígdala, para determinar arborización dendrítica, longitud total dendrítica y

longitud por número de orden de ratas recién nacidas, tratadas con capsaicina o su vehículo y sacrificadas a los 90 días.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

Para realizar el presente proyecto se utilizaron ratas hembras de la cepa CIIZ-V del bioterio central "Claude Bernard" de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Las hembras separadas en dos grupos, fueron sometidas a cruce, una vez confirmada la gestación se calculó y monitoreo el día del posible parto, estimado entre 21 – 23 días. Después del parto se realizó el sexado por camada y se procedió a seleccionar a todos los machos hasta completar las camadas de 40 ratas divididas en dos grupos: el grupo control (n=20) fue inyectado con solución de vehículo al momento del nacimiento y el grupo experimental (n=20) se preparó una solución de 50mg/Kg de Capsaicina (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) que también fue inyectado al nacimiento de las ratas. Los animales se mantuvieron en condiciones convencionales de bioterio: libre acceso al alimento y agua, en un ciclo constante de luz-oscuridad 14/10 hrs. conforme la NOM-060-ZOO1999, que establece el uso y cuidado de animales de laboratorio.

6.1 Obtención de muestras

Los animales fueron destetados a los 21 días del nacimiento, transcurridos 90 días de vida, un grupo de 10 animales control y 10 experimentales fueron transportados al Laboratorio de Histofisiología de la Escuela de Biología de la BUAP, donde se pesaron y sacrificaron por decapitación. Una vez sacrificados se disecaron de cada animal: testículo izquierdo y derecho, glándulas suprarrenales izquierda y derecha, vesícula seminal izquierda y derecha, próstata e hipófisis. Los órganos fueron pesados en balanza analítica (Explorer Pro, EP64C) y fijados en Bouin para tratamiento histológico.

El segundo grupo de animales (10 control y 10 experimental) se anestesió con ketamina/xelacina en dosis de 0.20 ml/kg ip, se realizó una incisión torácica, exponiendo el corazón para realizar la perfusión cardiaca con solución Hartmann (250 ml), por el ventrículo izquierdo del corazón, realizando un corte a la vena cava, con la finalidad de retirar los eritrocitos de cerebro y testículos, se extrajeron los

cerebros y testículos y se pusieron en 20ml de solución de Golgi-Cox obtenida del Laboratorio de Neuropsiquiatría del Instituto de Fisiología de la BUAP.

6.2 Análisis microscópico de los espermatozoides

Comprende la valoración de la motilidad, vitalidad y concentración espermática. Se procedió a obtener los espermatozoides de la cola del epidídimo y del conducto deferente, mediante perfusión de 3ml con solución TALP (solución Tyrode's Albumin, Lactate and Pyruvate). Se evaluó la motilidad del espermatozoide en progresiva rápida, lenta, *in situ* o inmóvil tomando 20 µl de alícuota obtenida y observando en un microscopio óptico (Zeiss, Primo Star) a 10x se contabilizó un aproximado de 200 células por epidídimo (izquierdo y derecho) para obtener los porcentajes de acuerdo a lo visto en cada una de las muestras. Se determinó la viabilidad espermática (número de espermatozoides vivos, expresado en porcentaje) por medio de una tinción fluorescente de una mezcla de diacetato de fluoresceína más ioduro de propidio y se observaron en un microscopio de fluorescencia utilizando un objetivo de 20x (Nikon, Eclipse E400). Para determinar la viabilidad se contó el número de espermatozoides con fluorescencia verde (células vivas) y fluorescencia roja (células muertas) a partir del conteo de 200 células observadas en el campo. Posteriormente con la ayuda de una cámara de Neubauer se calculó el número total de espermatozoides en un microscopio óptico (Zeiss, Primo Star) a 40x.

6.3 Análisis histológico

Una vez sacrificados los animales de cada grupo se fijaron los testículos en solución Bouin. Transcurridas 12 hrs. en solución Bouin cada testículo se cortó por la mitad y se dejó otras 12 hrs. en el fijador. Pasadas las 12 horas se realizó un cambio de Bouin por alcohol al 70%, con respectivos lavados sucesivos de alcohol 70% hasta disminuir el color amarillo que deja el Bouin al órgano, para posteriormente realizar los siguientes cambios crecientes de alcohol y cloroformo:

- 3 hrs de Alcohol 96%.
- 3 hrs. de Alcohol 100%
- 24 hrs. de Cloroformo.

- 2 hrs. de Cloroformo.

Deshidratado el tejido se procedió a la inclusión en parafina durante 3 hrs. Listos los cubos de parafina se realizaron cortes de 10 μ m en micrótomos manual (modelo: erma Tokyo). Se utilizó la técnica de tinción Hematoxilina-Eosina (H-E) por lo que se procedió a desparafinar los cortes en una cámara de formol durante 24 hrs. para después pasarlos al tren de tinción H-E de la siguiente manera:

- 1.5 min. Xilol
- 1.5 min. Xilol
- 1.5 min -OH 100%
- 1.5 min. -OH 96%
- 1.5 min. Agua destilada
- 1.5 min. Hematoxilina de Meyer
- 5 min. Agua
- 5 min. Agua
- 5 min. Agua
- 15 seg. Eosina
- 1.5 min -OH 96%
- 1.5 min. -OH100%
- 1.5 min Carbol-Xilol
- 1.5 min Xilol

Terminado el proceso los cortes histológicos fueron cubiertos con resina sintética para su análisis por microscopía. El análisis morfométrico se hizo en un microscopio óptico (Zeiss) equipado con un sistema de captura de imágenes y el software Motic versión 9.1

6.4 Análisis morfométrico de Túbulos Seminíferos

Una vez teñidos y montados los cortes, se eligieron a cuatro individuos del grupo con Vehículo y cuatro de Capsaicina, cada uno con sus respectivas laminillas de testículo izquierdo y derecho. Se seleccionaron de 30 a 50 cortes de cada testículo. El procedimiento para el análisis morfométrico se realizó de la siguiente manera:

- Solo se utilizaron cortes de testículo completos de la parte media del testículo.
- De cada corte seleccionado se tomó una microfotografía mediante un microscopio óptico con un analizador de imagen conectado a una computadora.
- Cada corte de testículo se dividió en cuatro hemisferios, se tomo una foto de cada hemisferio, alternando los cortes para evitar repetir túbulos, quedando de la siguiente manera:
 - o Hemisferio superior izquierdo, corte 1; hemisferio superior derecho, corte 3; hemisferio inferior izquierdo, corte 5; hemisferio inferior derecho, corte 7; se repite el mismo procedimiento, hasta lograr las micrografías necesarias para el análisis.
- Cada microfotografía presentaba de 5 a 10 túbulos seminíferos, solo se utilizaron aquellos que estaban completos dentro de la micrografía.
- Se midió el área del túbulo seminífero y el área del lumen del túbulo, de 100 túbulos de testículo izquierdo y 100 túbulos de testículo derecho de los cuatro individuos de vehículo y capsaicina, mediante el programa Motic, dibujando un círculo para cada parámetro; para el área del epitelio, se realizo la resta del área del lumen al área del túbulo seminífero.

6.5 Impregnación con solución Golgi-Cox

Para el protocolo de impregnación los cerebros y testículos se mantuvieron durante 14 días en solución de Golgi-Cox en total oscuridad, después de ese tiempo

la solución de Golgi-Cox fue remplazada por una solución de sacarosa al 30% y se almacenaron nuevamente en total oscuridad durante 5 días más antes de ser cortados (este último paso por sacarosa confiere al tejido flexibilidad, por lo que es menos propenso a que la resequedad y a la fractura cuando se corta).

El cerebro fue montado en la platina del vibratomo motorizado (Camden, MA750) utilizando cianoacrílico como pegamento para posteriormente ser cubierto con solución de sacarosa al 6%, se realizaron cortes coronales de 200µm y se fijo en laminillas previamente gelatinizadas al 2% presionándolas uniformemente con papel filtro. Dichas láminas se mantuvieron en una cámara húmeda y se procedió a realizar el protocolo de revelado de la tinción en total oscuridad, de la siguiente manera (Gibb et al., 1998):

- Se realizó un previo lavado en agua destilada durante un min.
- Se sumergieron en solución de hidróxido de amonio por 30 min.
- Un lavado con agua destilada durante un minuto.
- Posteriormente se sumergieron en fijador rápido de Kodak para película fotográfica (en una dilución 1:1) durante 30 min.
- Una lavado con agua destilada.
- Deshidratación del tejido mediante el uso de concentraciones crecientes de alcohol:
 - o 1 minuto en alcohol al 50%
 - o 1 minuto en alcohol al 70%
 - o 1 minuto en alcohol al 95%
 - o 5 minutos en alcohol al 100%
 - o 5 minutos en alcohol al 100% (nuevo)
- Finalmente fueron sumergidas las laminillas durante 15 minutos en xileno con la intención de aclarar el tejido.
- Se montan los cortes revelados con resina sintética.

6.6 Dibujo y análisis de las neuronas

Se dibujaron 10 neuronas por cerebro, las características que debían presentar las neuronas a dibujar fueron: las neuronas seleccionadas tenían que estar completamente teñidas y completas; no debían estar sobrepuestas con otras neuronas o estructuras (para facilitar el trazado); debe contar con al menos tres ramificaciones en la región basal. Estos dibujos se realizaron con la ayuda de un microscopio óptico (Leica, MD2000) el cual tiene acoplada una cámara lúcida. Las neuronas fueron dibujadas con el objetivo de 40x, mediante el método de Sholl, en el que se sobrepone una plantilla transparente con series de círculos concéntricos con una separación equivalente de 10 μm el dibujo de la neurona y se contabilizaba el número de ramificaciones de 1°, 2°, 3°, 4°, etc. de órdenes de las dendritas en cada círculo.

6.7 Análisis estadístico

Los datos sobre el número total de espermatozoides fueron analizados mediante la prueba de Kruskal-Wallis, seguida de una “U” de Mann-Whitney, con el paquete estadístico Statgraphics *Centurion XV*®. Para los dibujos de neuronas se realizó el análisis de Sholl (Sholl, 1953) que evalúa: arborización dendrítica, longitud dendrítica total y longitud dendrítica por número de orden de la célula, mediante un análisis de varianza (ANOVA). Se utilizó el programa Graph Pad Prism 6.0. El análisis morfométrico de los túbulos seminíferos se realizó a través del analizador de imagen Motic, a los datos se les realizó un análisis de varianza (ANOVA), con el paquete estadístico StatView. Se aceptaron aquellas diferencias en las que la probabilidad fue de ≤ 0.05 .

7. RESULTADOS

7.1 Análisis espermático

La denervación sensorial inducida por la administración única de capsaicina al nacimiento provocó en la rata de tres meses de edad una disminución significativa del número total de espermatozoides de los animales tratados con capsaicina ($26.2 \times 10^6 \pm 1.8 \times 10^6$), con respecto a su vehículo ($103 \times 10^6 \pm 13.6 \times 10^6$) (Figura 8). En la figura 9 se observa que en el grupo tratado con capsaicina, los animales presentaron una disminución significativa de la motilidad progresiva rápida ($0.27\% \pm 4.2$) y lenta, mientras que la motilidad *in situ* y el número de espermatozoides inmóviles (Tabla 1) aumentaron significativamente en los animales con denervación sensorial con respecto a los animales tratados con vehículo ($61.11\% \pm 4.2$).

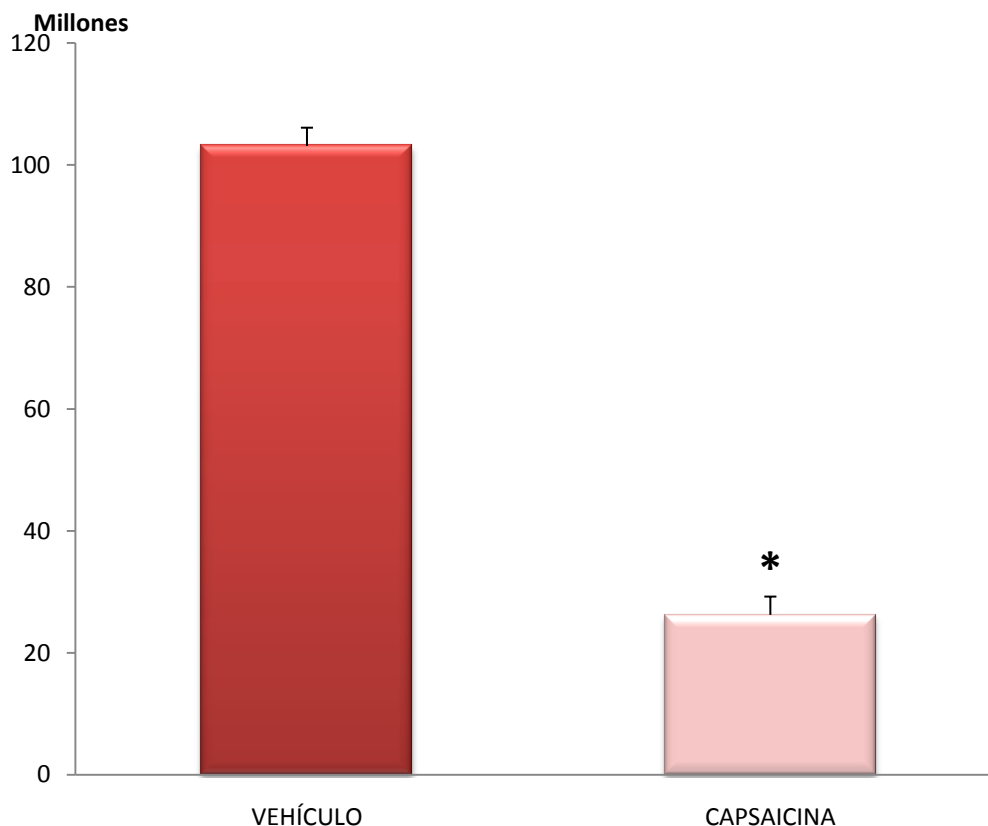


Figura 8. Media \pm e.e.m. del número total de espermatozoides en ratas macho tratadas con capsaicina o vehículo y sacrificadas a los 3 meses de edad. * ($p < 0.0005$; prueba de U de Mann-Whitney).

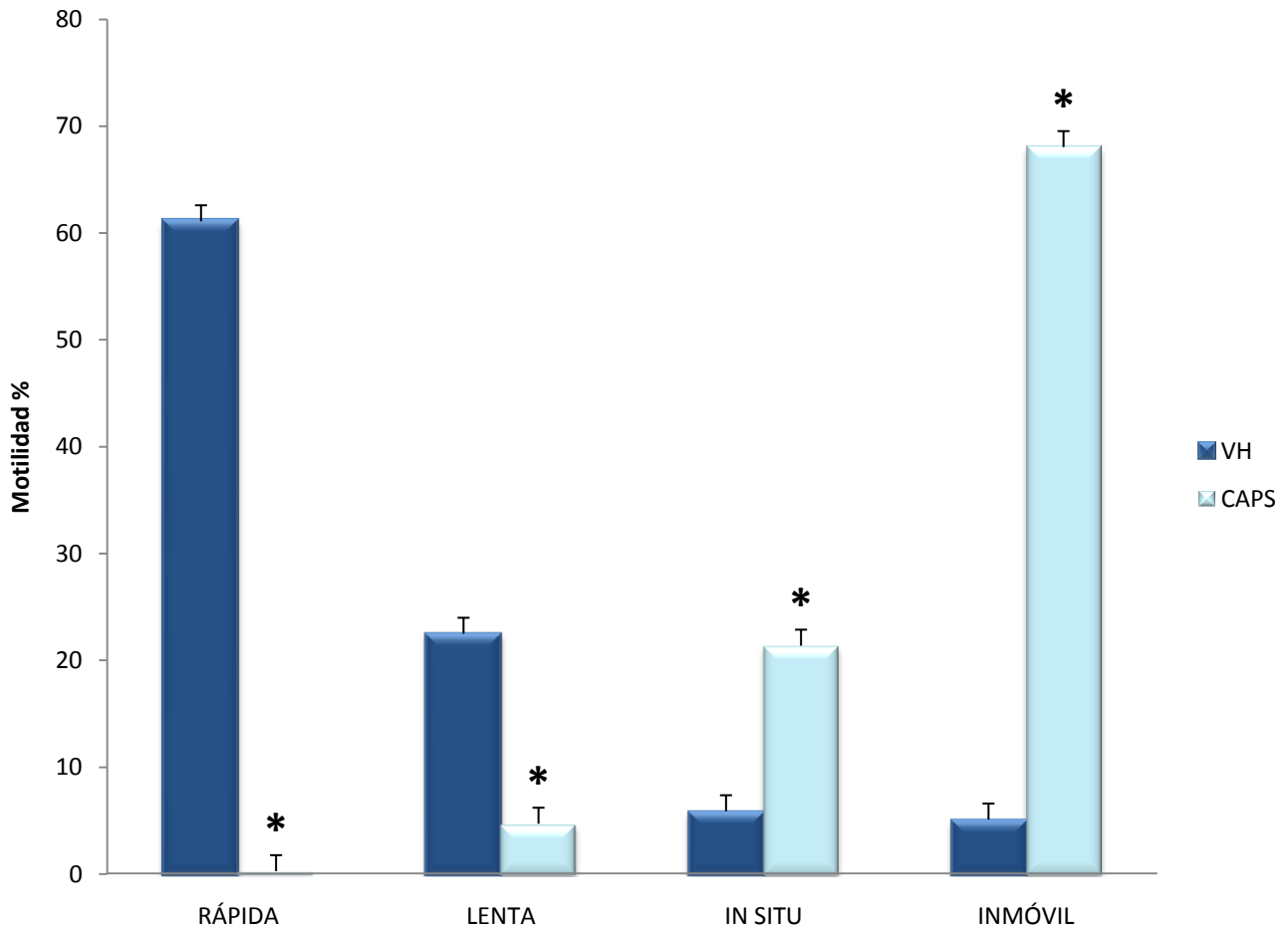


Figura 9. Media \pm e.e.m. del porcentaje de espermatozoides obtenidos del epidídimo, donde se observó motilidad rápida, motilidad lenta, motilidad *in situ* y motilidad inmóvil, de ratas macho tratadas con capsaicina o vehículo y sacrificadas a los 3 meses de edad. (* $p < 0.005$; prueba de U de Mann-Whitney).

Motilidad Total			
	Tratamiento	\bar{X}	e.e.m.
Progresiva Rápida	Vehículo	61.111	± 4.2
	Capsaicina	0.2777	± 4.2
Progresiva Lenta	Vehículo	22.5	± 3.9
	Capsaicina	4.72	± 3.9
<i>In situ</i>	Vehículo	5.888	± 2.9
	Capsaicina	21.388	± 2.9
Inmóvil	Vehículo	5.111	± 5.23
	Capsaicina	68.055	± 5.23

Tabla 1. Media \pm e.e.m. del porcentaje de espermatozoides obtenidos del epidídimo, donde se observó motilidad rápida, motilidad lenta, motilidad *in situ* y motilidad inmóvil, de ratas macho tratadas con capsaicina o vehículo y sacrificadas a los 3 meses de edad

En el análisis de viabilidad (Figura 10) también hubo una disminución significativa del porcentaje de espermatozoides vivos de ratas tratadas con capsaicina ($37.22\% \pm 7.91$) comparadas con las de vehículo ($70.28\% \pm 4.53$).

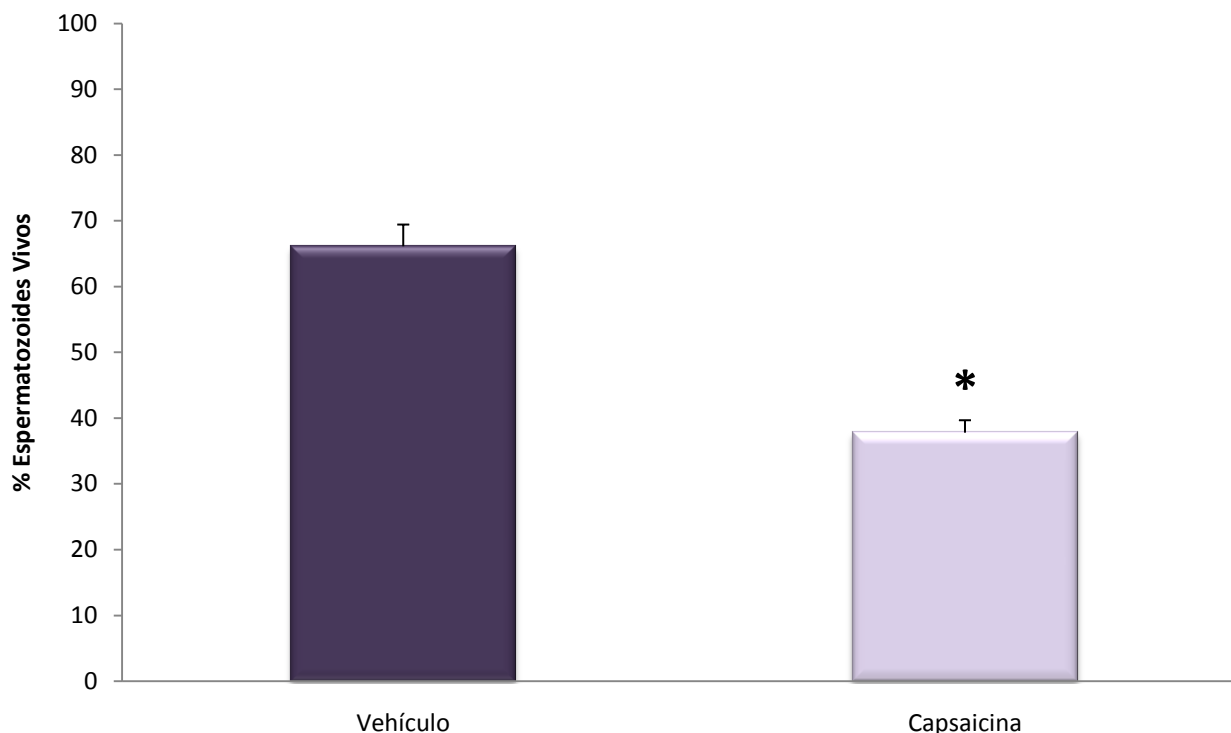


Figura 10. Media \pm e.e.m. del porcentaje de espermatozoides vivos obtenidos del epidídimo, de ratas macho tratadas con capsaicina o vehículo y sacrificadas a los 3 meses de edad. (* $p < 0.005$; prueba de U de Mann-Whitney).

7.2 Análisis de peso corporal y estructuras del tracto genital

Respecto al análisis de pesos, se realizó una comparación en el peso corporal (Figura 11) de los animales de cada grupo, donde se observa una disminución significativa en los animales tratados con capsaicina (290.56 ± 9.33) respecto a su vehículo (348.9 ± 16.8). Esta disminución también se observó en el peso de los testículos (1.48 ± 0.058 vs 1.73 ± 0.048 ; Figura 12), próstata (0.192 ± 0.023 vs

0.349 ± 0.043; Figura 13) e hipófisis (0.010 ± 0.0005 vs 0.020 ± 0.0004; Fig. 14). Para el peso de vesículas y glándulas suprarrenales no se observaron diferencias significativas (Tabla 2).

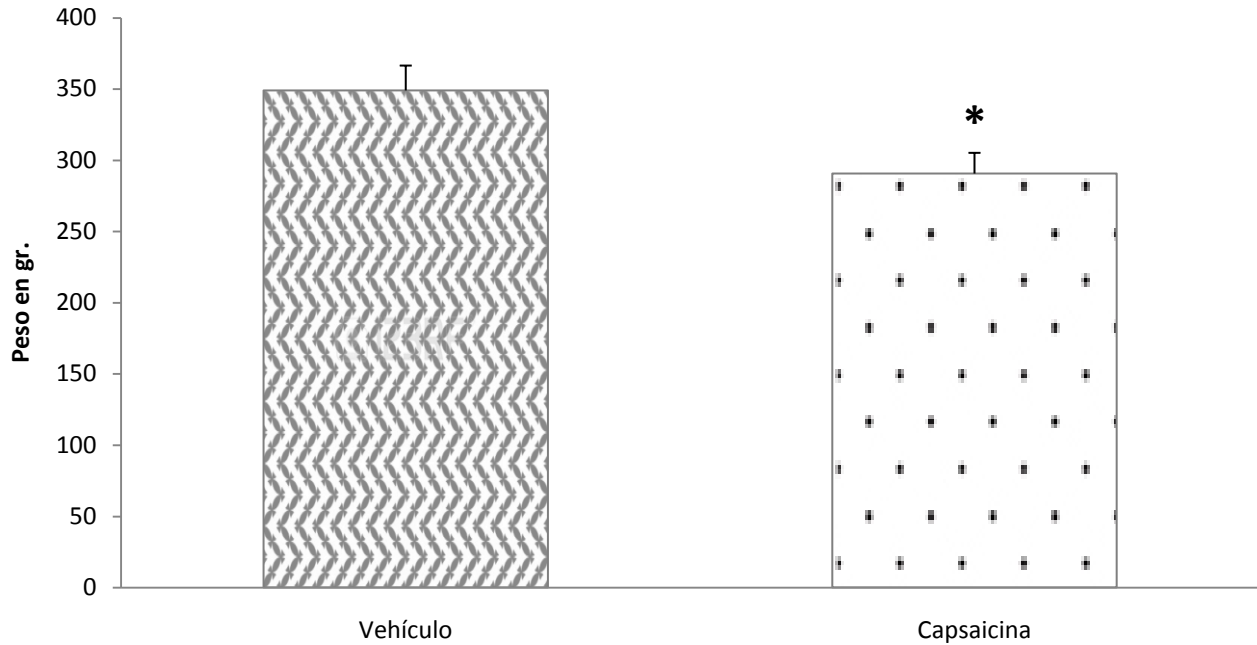


Figura 11. Media ± e.e.m. del peso corporal total, de ratas macho tratadas con capsaicina o vehículo y sacrificadas a los 3 meses de edad. (* p<0.005; prueba ANOVA).

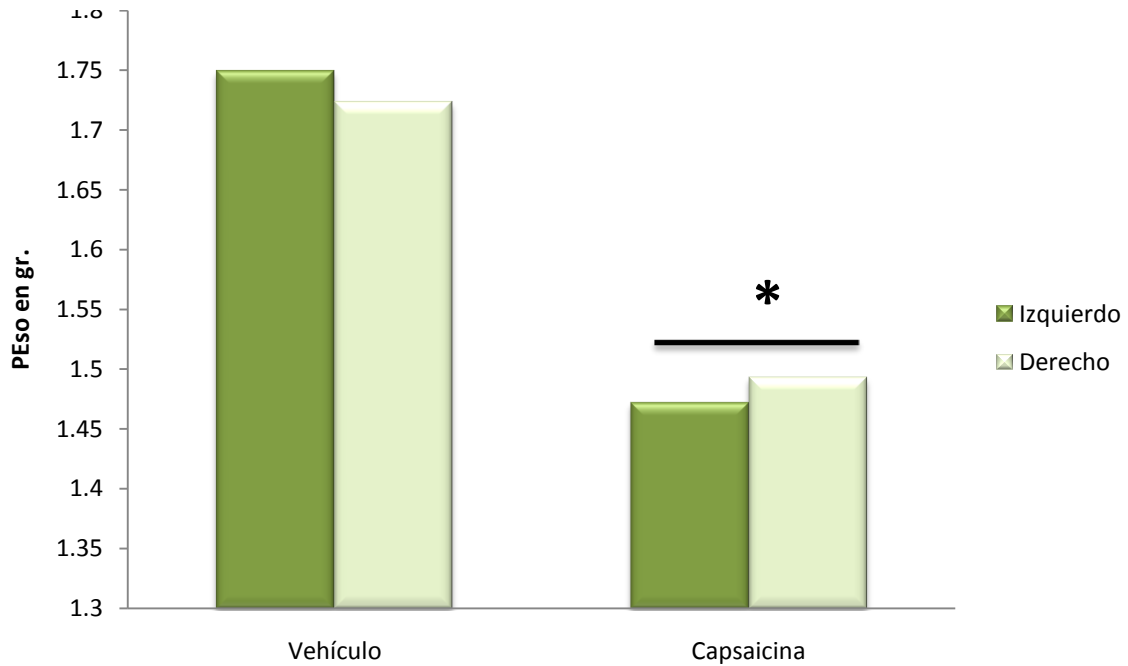


Figura 12. Media ± e.e.m. del peso de testículo izquierdo y derecho, de ratas macho tratadas con capsaicina o vehículo y sacrificadas a los 3 meses de edad. (* p<0.005; prueba ANOVA).

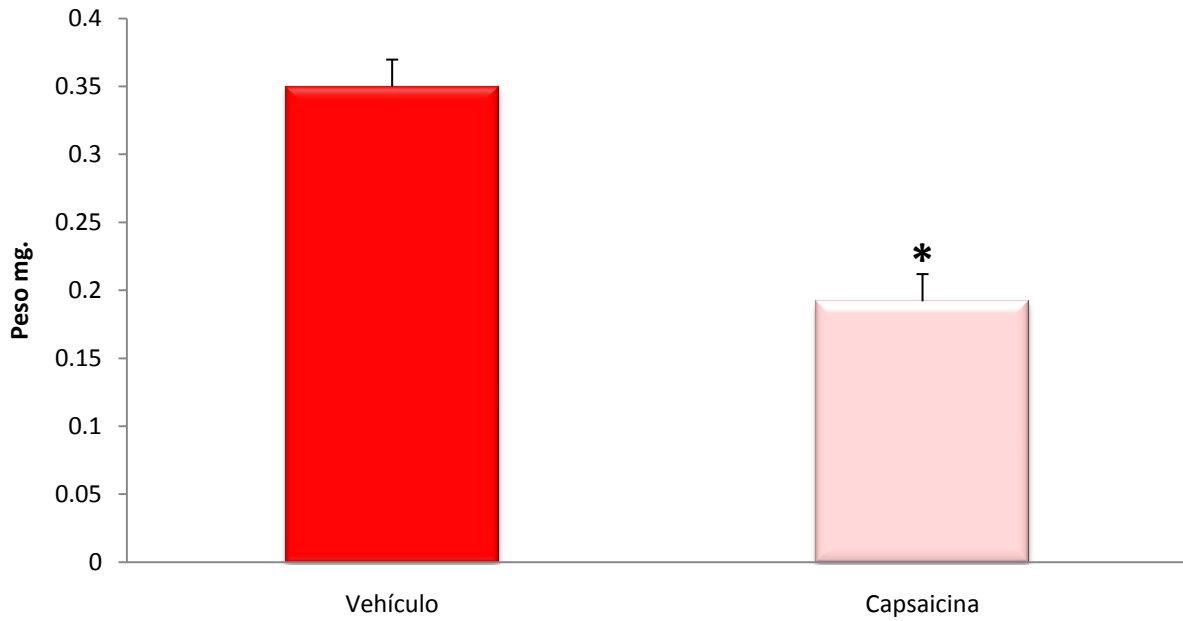


Figura 13. Media \pm e.e.m. del peso de próstata, de ratas macho tratadas con capsaicina o vehículo y sacrificadas a los 3 meses de edad. (* $p < 0.005$; prueba ANOVA).

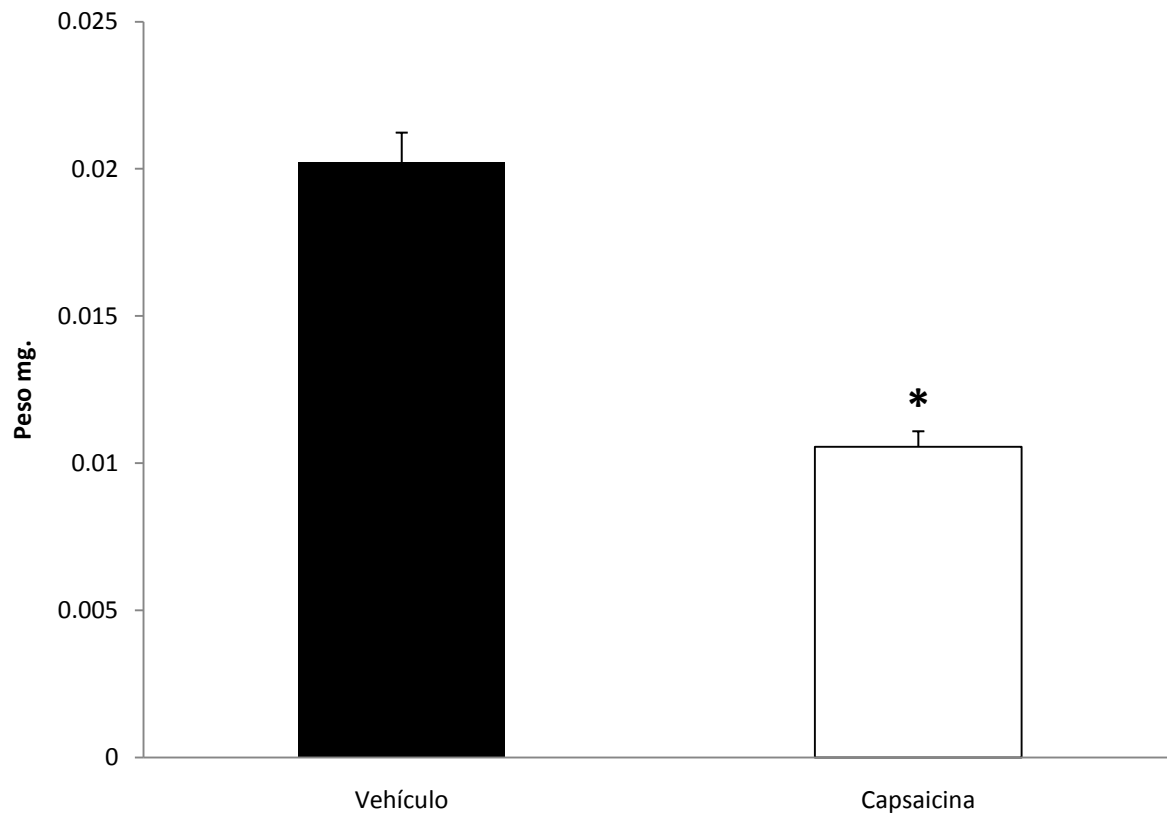


Figura 14. Media \pm e.e.m. del peso de hipófisis, de ratas macho tratadas con capsaicina o vehículo y sacrificadas a los 3 meses de edad. (* $p < 0.05$; prueba ANOVA).

	Tratamiento	\bar{X}	e.e.m.
Suprarrenales	Vehículo	0.02772	± 0.00150
	Capsaicina	0.02456	± 0.00116
Vesículas Seminales	Vehículo	0.2489	± 0.0131
	Capsaicina	0.2354	± 0.0179

Tabla 2. Media ± e.e.m. del peso de suprarrenales y vesículas seminales, de ratas macho tratadas con capsaicina o vehículo y sacrificadas a los 3 meses de edad, valores no significativos.

7.3 Análisis morfométrico

En los cortes histológicos de los testículos de las ratas tratadas con capsaicina y vehículo, se evaluó el área de túbulo seminíferos, área del espacio luminal y área del epitelio germinativo. El análisis mostró una disminución en el área de los túbulos seminíferos (Figura 15) de los animales tratados con capsaicina (41951.13 ± 338.55) en comparación con el grupo tratado con vehículo (42682.22 ± 428.65).

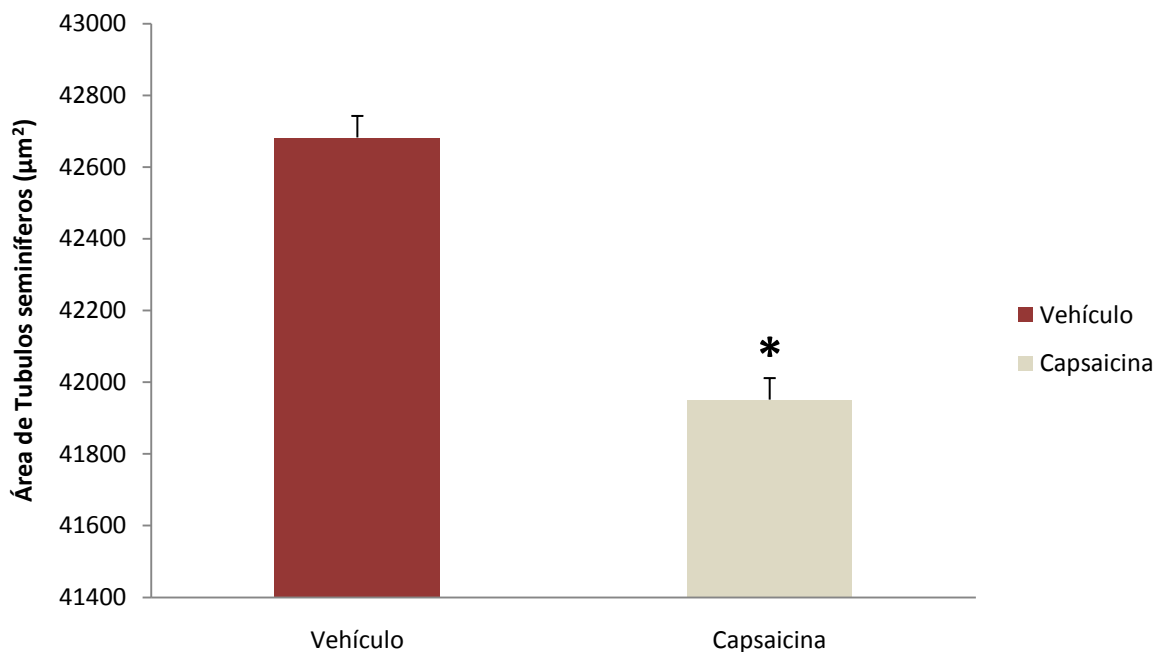


Figura 15. Media ± e.e.m. del área de túbulos seminíferos, de ratas macho tratadas con capsaicina o vehículo y sacrificadas a los 3 meses de edad (* $p < 0.05$; prueba ANOVA).

Con respecto a la comparación entre testículo izquierdo y derecho, se encontró que el testículo derecho presentó la mayor área tanto en vehículo, como en capsaicina, con diferencias estadísticamente significativas (Figura 16). Dichas diferencias se mantienen al comparar el área del testículo derecho de vehículo y capsaicina (43330 ± 521 vs 42033 ± 892) y de testículo izquierdo de vehículo y capsaicina (42459 ± 416 vs 41443 ± 260).

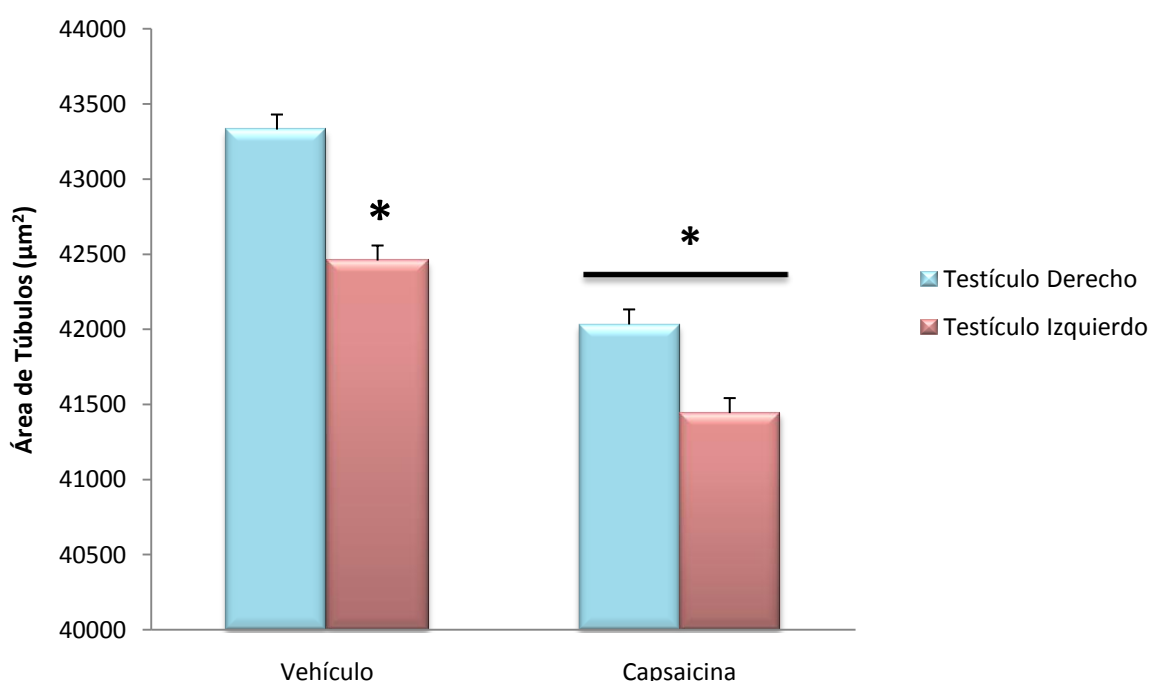


Figura 16. Media \pm e.e.m. del área de túbulos seminíferos de testículo derecho e izquierdo, de ratas macho tratadas con capsaicina o vehículo y sacrificadas a los 3 meses de edad (* $p < 0.05$, prueba ANOVA).

En lo que se refiere al área del lumen, también se observaron diferencias significativas entre los grupos (Figura 17), mostrando un aumento significativo en el área del lumen del grupo tratado con capsaicina (8003 ± 22) respecto a su vehículo (3111 ± 136), así como diferencias significativas entre testículo derecho e izquierdo de vehículo y capsaicina (Figura 18), siendo el testículo derecho en animales tratados con capsaicina, el que mostró mayor aumento del área del lumen.

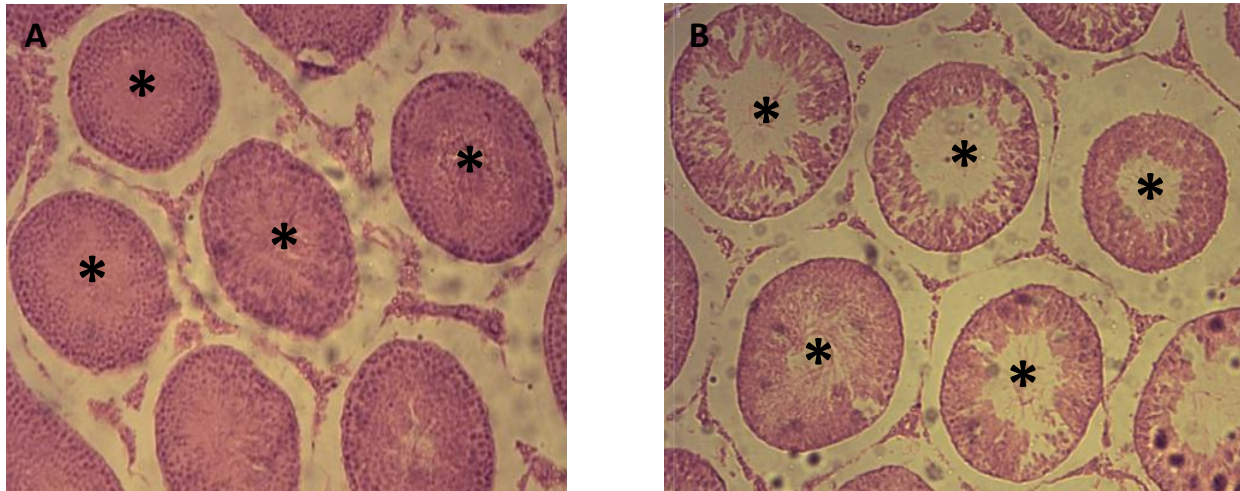


Figura 17. Micrografía de túbulos seminíferos de ratas tratadas con vehículo (A) y capsaicina (B), donde se observa el área del espacio luminal (asterisco) más amplia en los animales con denervación sensorial.

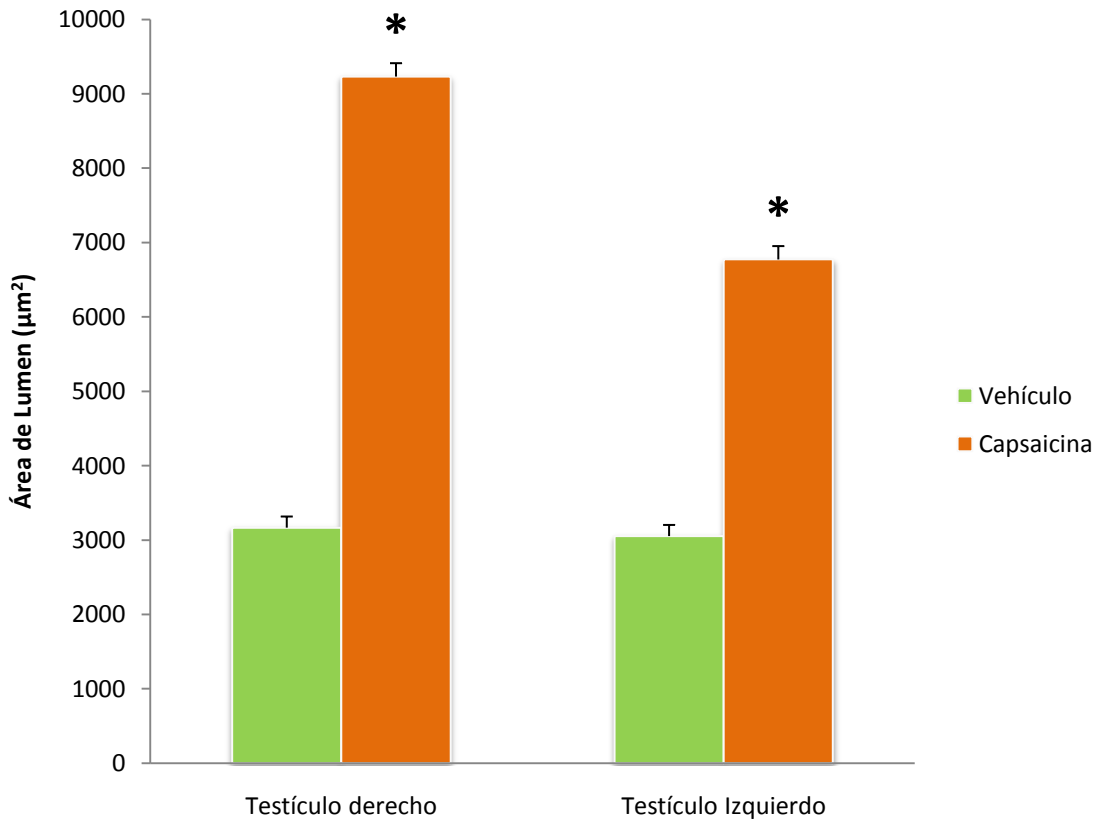


Figura 18. Media \pm e.e.m. del área de lumen de túbulos seminíferos de testículo derecho e izquierdo, de ratas macho tratadas con capsaicina o vehículo y sacrificadas a los 3 meses de edad (* $p < 0.0005$, prueba ANOVA).

Sobre el área calculada del epitelio germinativo de los túbulos seminíferos, también se encontró una disminución significativa del área del epitelio germinal

(Figura 19) de los animales tratados con capsaicina (34891 ± 340) con respecto al grupo tratado con vehículo (38627 ± 311), estas diferencias se mantiene al comparar los datos de testículo derecho e izquierdo entre vehículo y capsaicina, siendo el testículo derecho de las ratas tratadas con vehículo, el que presentó más área, mientras que, en la rata tratada con capsaicina, el testículo izquierdo presentó mas área del epitelio germinal (Tabla 3).

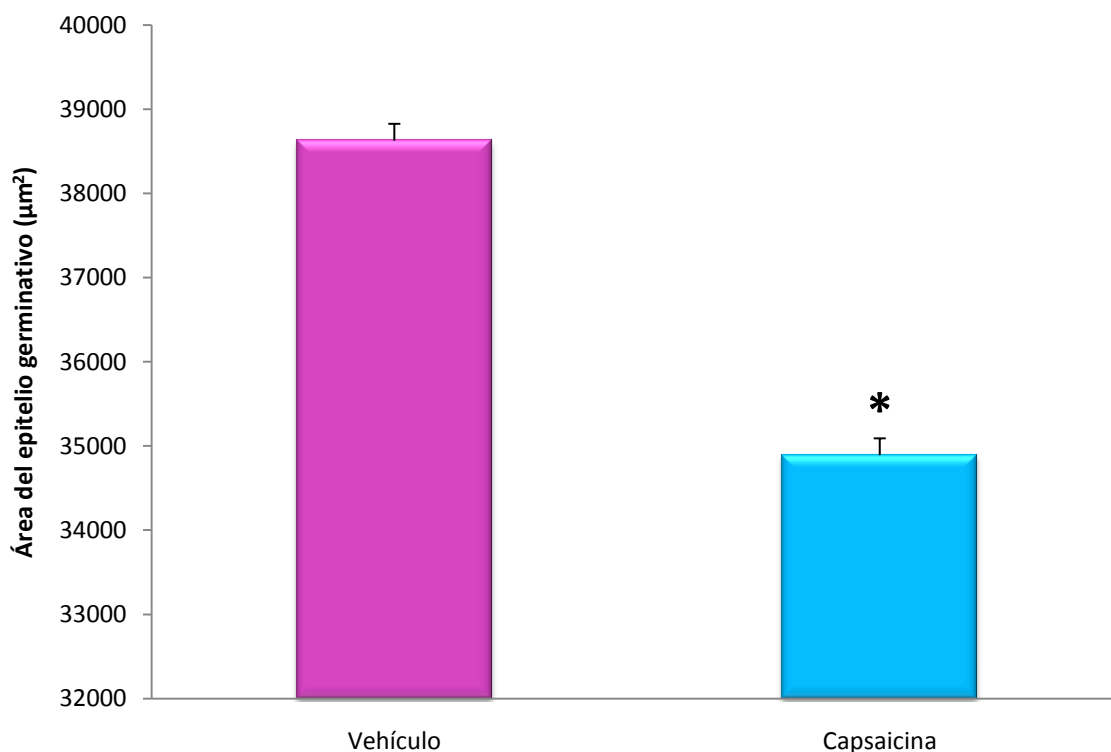


Figura 19. Media \pm e.e.m. del área dl epitelio germinativo, de túbulos seminíferos de testículo, de ratas macho tratadas con capsaicina o vehículo y sacrificadas a los 3 meses de edad (* $p < 0.0005$, prueba ANOVA).

Área de Epitelio Germinal			
	Tratamiento	\bar{X} (µm²)	e.e.m.
T. Derecho	Vehículo	40163.23	± 332.4
	Capsaicina	32801.02 ***	± 389.2
T. Izquierdo	Vehículo	39404.71	± 352.1
	Capsaicina	34669.71***	± 284.2

Tabla 3. Media \pm e.e.m. del área del epitelio germinativo de testículo derecho e izquierdo, de ratas macho tratadas con capsaicina o vehículo y sacrificadas a los 3 meses de edad (***) $p < 0.0005$, prueba ANOVA).

7.4 Análisis dendrítico (Sholl)

Los resultados que se obtuvieron de este análisis dendrítico (longitud dendrítica total (Figura 20), arborización dendrítica (Figura 21) y longitud dendrítica por número de orden (Figura 22)) pese a que muestran un ligero aumento las células nerviosas obtenidas del área de Amígdala, de ratas que sufrieron una denervación sensorial con capsaicina, estas no fueron significativas en ninguno de los parámetros respecto a su vehículo.

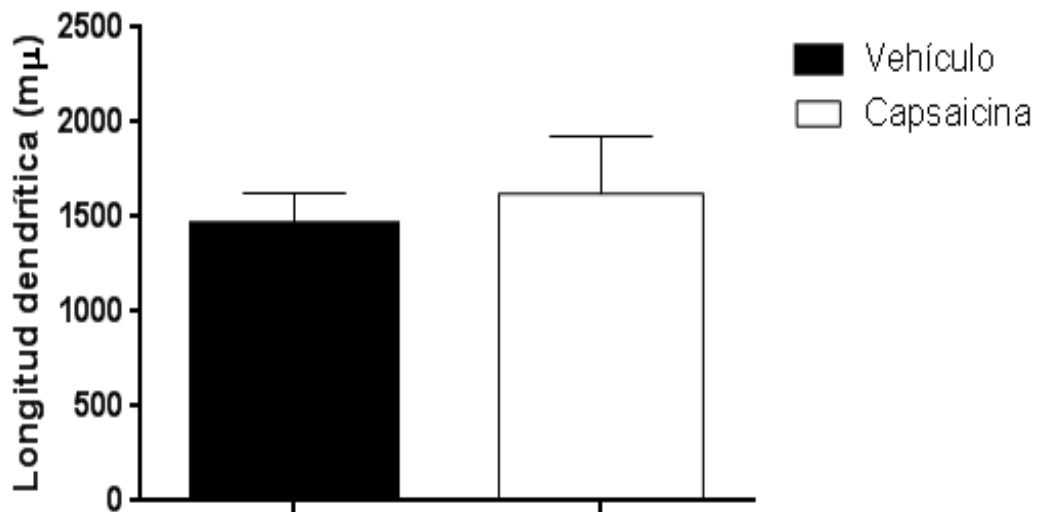


Fig. 20. Longitud dendrítica total. No se observaron diferencias significativas entre los grupos (Vehículo vs Capsaicina) de las neuronas de Amígdala.

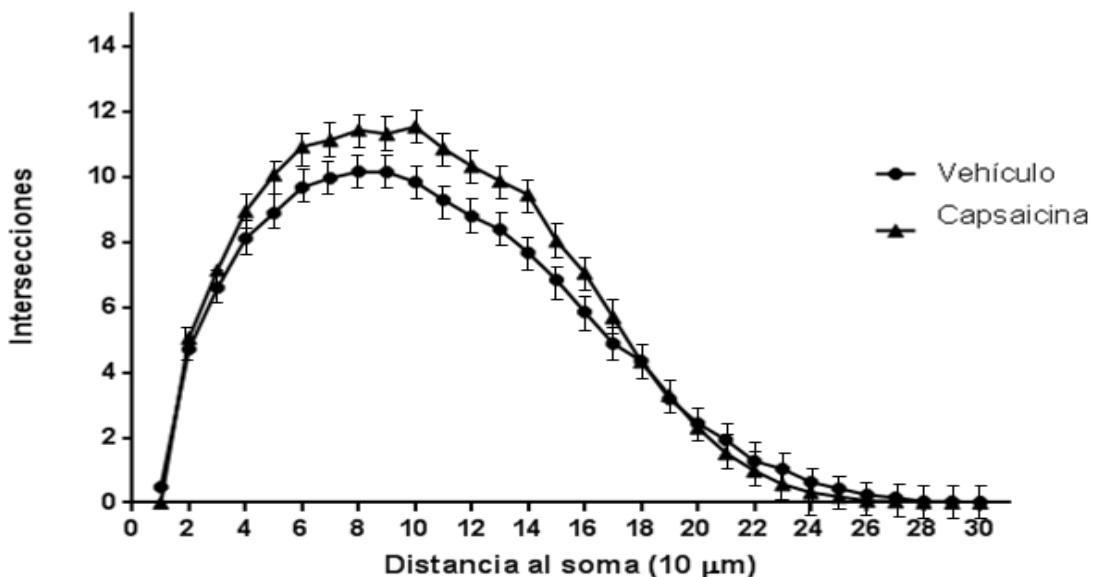


Fig. 21. Arborización dendrítica total. No se observaron diferencias significativas entre los grupos (Vehículo vs Capsaicina) en el grado de arborización de las neuronas de Amígdala.

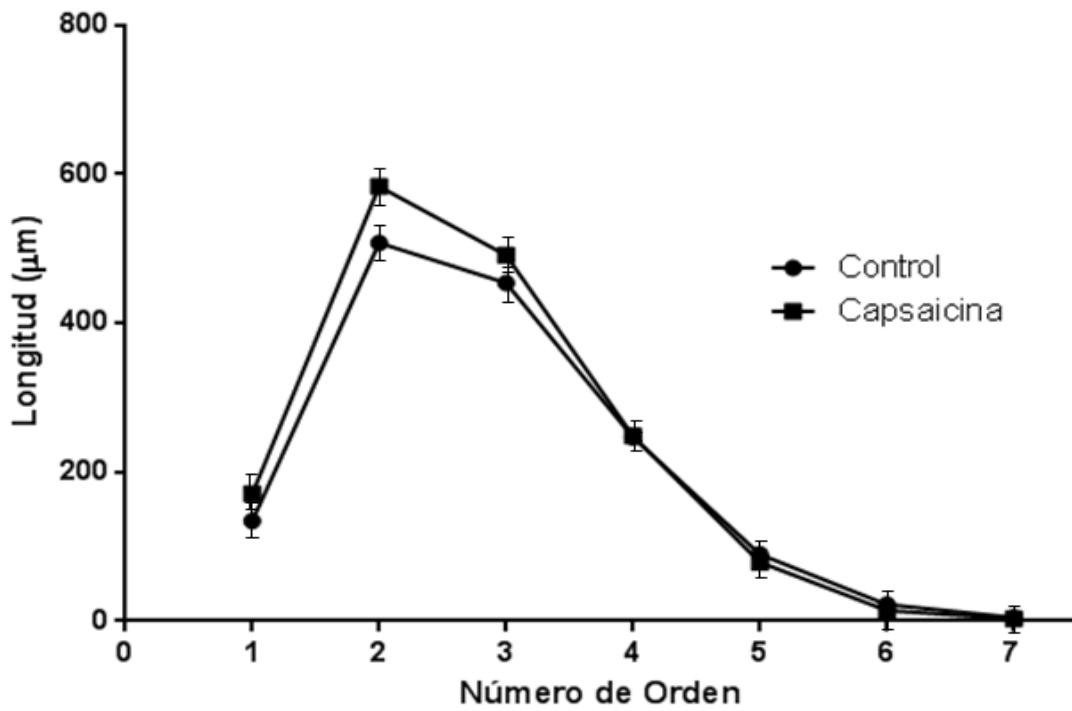


Fig. 22. Longitud dendrítica por número de orden. No se observaron diferencias significativas entre los grupos (Vehículo vs Capsaicina) en la longitud dendrítica de las neuronas de Amígdala.

8. DISCUSIÓN

La destrucción de las fibras sensoriales en rata neonata por capsaicina, se corroboró al observar lesiones en la piel de la región del cuello de los animales adultos, a demás de otras respuestas se observo una reducción en el peso corporal de las ratas, como se había reportado previamente por Carrillo *et. al.* (1994), al analizar los efectos producidos por el tratamiento de una sola dosis de capsaicina en ratas. Lo que sugiere que en este trabajo se logró la destrucción de las fibras sensoriales por capsaicina.

En este trabajo se demostró que parte de ese eje neural directo proviene de la información sensorial aferente ya que se observó una disminución en el número total de espermatozoides obtenidos de la cola del epidídimo, así como un menor número de espermatozoides vivos. Estas diferencias probablemente sean el resultado de la destrucción de las fibras sensoriales sensibles a la capsaicina y a espermatogonias, en apoyo a esto Mizrack *et al.* (2008a), demostró que la adición de capsaicina al cultivo de espermatogonias de rata provoca su apoptosis. Lo que sugiere un importante papel de la inervación sensorial, que regula de manera estimuladora la espermatogénesis y la viabilidad de las espermatogonias en los testículos.

Existen algunos estudios que muestran que la información neural que reciben los testículos y los epidídimos regula el paso de los espermatozoides y su adquisición de la motilidad en el epidídimo. En la rata adulta la sección a nivel del epidídimo del SSN, provoca un aumento en el número de espermatozoides en la cola del epidídimo (Ricker *et. al.*, 1996). Lo que sugiere que la inervación simpática y/o sensorial estimulan el paso de los espermatozoides a través del epidídimo. El grupo de Carvalho (1986) mostró que la eliminación de la información simpática mediante la administración de guanetidina no modifica el transporte de los espermatozoides ni la motilidad. Es posible que no se hayan afectado estos parámetros debido a un aumento de la información sensorial, ya que los mismos autores muestran un incremento significativo de las fibras inmunoreactivas a CGRP en las vías deferente de los animales simpatectomizados En nuestro estudio mostramos que la eliminación de la información sensorial, mediante la administración de capsaicina al nacimiento

provocó una disminución del número total de espermatozoides, así como una disminución de la motilidad rápida y un aumento en el porcentaje de espermatozoides inmóviles, presentes en la cola del epidídimo. Lo que apoyaría la idea de que la inervación sensorial, más que la simpática, sería la responsable de regular de manera estimuladora el paso de los espermatozoides por el epidídimo y la adquisición de la motilidad.

En la hembra se ha mostrado que la inervación sensorial participa de manera estimuladora en la fertilidad. Traurig *et. al.* (1988), demostraron que en las ratas hembras denervadas al segundo día de vida con capsaicina, disminuye el porcentaje de fertilidad. Nuestros resultados muestran que la capacidad reproductiva en las ratas macho tratadas con capsaicina, pudiera estar comprometida, es necesario realizar pruebas de fertilidad y conducta sexual, ya que no existe suficiente evidencia que muestre en el macho el papel de la inervación sensorial sobre la fertilidad.

La denervación sensorial con capsaicina provocó una disminución significativa en el peso de los testículos y próstata, órganos blanco de testosterona. Estos resultados apoyan lo reportado por Hou *et. al.*, (2010) quienes mostraron que la sección de los SSN e ISN en la rata prepúber, disminuye el peso de los testículos, que puede estar asociado a un aumento de la apoptosis de las células de Leydig, lo que conlleva a una disminución de la secreción de testosterona. Aunque en nuestro estudio no se realizaron cuantificaciones de testosterona podemos especular que los animales denervados con capsaicina presentaron una disminución de testosterona. En apoyo a lo anterior Zhu *et. al.* (1998) mostraron que la eliminación de fibras sensoriales y simpáticas mediante la sección del ISN o ISN-SSN de ratas adultas, provoca una disminución en la secreción de testosterona.

Con lo que podemos sugerir el papel regulador de la inervación sensorial sobre el desarrollo testículo y su papel modulador en la espermatogénesis.

La administración de capsaicina al nacimiento afectó también el desarrollo de los túbulos seminíferos el área luminal y disminuyendo el área del epitelio germinal, lo que nos indica que inhibió la espermatogénesis. Estos resultados muestran los

efectos de la eliminación de fibras sensoriales presentes en el testículo. Por otro lado, no podemos descartar que la capsaicina haya desencadenado procesos apoptóticos en células germinales y células de Sertoli, como lo demuestra Mizrack *et. al.* (2008a), lo que explicaría la reducción del área tubular. Por otra parte, se sabe que la inervación sensorial también participa en la regulación del flujo sanguíneo, sin esta inervación sensorial, el testículo no envía información térmica hacia el hipotálamo para termoregular el flujo sanguíneo en respuesta al estrés ambiental, por lo que los testículos son incapaces de adaptarse a los cambios en la temperatura del ambiente, lo que puede inhibir el desarrollo de los túbulos seminíferos (Paul, *et. al.*, 2009; Mizrack *et. al.*, 2008b).

En los animales tratados con vehículo el testículo derecho mostraron una mayor área del epitelio germinal, área de lumen de los túbulos seminíferos en comparación con su testículo izquierdo, esto apoya lo reportado por Frankel *et. al.* (1989) quién demostró que los testículos son diferentes, presentando el testículo derecho una mayor respuesta compensatoria en la secreción de testosterona a la falta del testículo izquierdo. Es posible que la respuesta diferencial de los testículos esté relacionada con la cantidad y el tipo de información neural que reciben ya que se ha mostrado que la hemicastración seguida por la vagotomía bloquea la respuesta compensatoria del testículo (Trkulja *et. al.*, 2001).

En los animales que sufrieron una denervación sensorial mediante la administración de capsaicina, el testículo izquierdo presentó una menor área del epitelio germinal y de lumen de los túbulos seminíferos en comparación a su testículo derecho. Probablemente esta respuesta asimétrica se deba a que el testículo y el epidídimo derechos reciban una mayor cantidad de fibras nerviosas, tal y como ya se ha mostrado en el ovario izquierdo tiene una mayor respuesta compensatoria que se correlaciona con una mayor inervación que el ovario derecho (Gerendai *et al.*, 2001). Por lo que el testículo derecho sea más dependiente de la información sensorial, lo que conlleva a una menor respuesta cuando sufre la denervación sensorial.

En lo que refiere al análisis morfométrico de las neuronas de la región basolateral de amígdala, pese a que hubo un ligero aumento en la arborización

dendrítica, longitud dendrítica total y longitud dendrítica por número de orden, en las neuronas de animales tratados con capsaicina, estas diferencias no fueron significativas, esto podría deberse a una mayor actividad de las fibras simpáticas presentes en amígdala, ya que se ha demostrado que las neuronas sensoriales y simpáticas compiten por la absorción del factor de crecimiento neuronal (NGF), factor de crecimiento importante en el mantenimiento y sobrevivencia de las células nerviosas, por lo que suponemos que la presencia de receptores β -adrenérgicos en el núcleo amigdalino importantes en la actividad simpática, en ausencia de las fibras sensoriales, presentaron mayor disponibilidad del NGF (Koepke *et. al.*, 1987; Korsching *et. al.*, 1985).

En este trabajo, sugerimos que la información sensorial que envía el testículo hacia el hipotálamo y centros extrahipotalámicos es esencial para la regulación de los mecanismos neuroendócrinos implicados en la espermatogénesis, la cantidad y tipo de información que envía el testículo derecho es diferente a la del izquierdo.

9. CONCLUSIONES

La inervación sensorial regula de manera estimuladora la espermatogénesis de la rata.

La información sensorial que recibe el epidídimo de la rata, participa de manera estimuladora en el mantenimiento de la producción de espermatozoides y su vitalidad.

La información sensorial que recibe el epidídimo de la rata, participa de manera estimuladora en el transporte de los espermatozoides a través del epidídimo y su adquisición de la motilidad.

La información sensorial permite el desarrollo de los túbulos seminíferos de la rata.

Los testículos de la rata, tienen una regulación neural asimétrica a los diferentes estímulos neuroendócrinos, siendo el testículo derecho el que presenta una mayor respuesta.

La eliminación de la información sensorial al nacimiento, no modifica significativamente la arborización dendrítica de neuronas del núcleo basolateral de la amígdala de la rata adulta.

La inervación sensorial directa entre el testículo y el sistema nervioso central participa en la regulación de los mecanismos involucrados en la espermatogénesis.

10. BIBLIOGRAFÍA

Alvis G., Melucci J., Quiroga P., Mandrile E. 1995. Capsaicina. Acta Farm. Bonaerense. 14(1): 63-70.

Banczerowski P., Csaba Z., Csernus V., Gerendai I. 2003. Lesion of the amygdala on the right and left side suppresses testosterone secretion but only left-side intervention decreases serum luteinizing hormone level. J. Endocrinol. Invest. 26: 429-434.

Carvalho L., Hodson N., Blank M., Watson P., Mulderry P., Bishop A., Gu J., Bloom S., Polak J. 1986. Occurrence, distribution and origin of peptide-containing nerves of ginea-pig and rat male genitalia and the effects of denervation on sperm characteristics. J. Anat. 149: 121-141.

Carrillo P., Manzo J., Martínez-Gómez M., Salas M., Pacheco P. 1994. Neonatal capsaicin administration: Effects on behavioral development of the rat. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 48(2): 447-452.

Carpenter M. 1998. Vías olfatorias, formación del hipocampo y la amígdala. En: Neuroanatomía Fundamentos. Eds. Editorial Medica Panamericana. Buenos Aires. 4ta Edición. pp. 344-369.

Constantinescu G. 2007. Anatomy of Reproductive Organs. En: Comparative Reproductive Biology. Eds. Schatten H, Constantinescu GM. USA: Blackwell Publishing Professional. pp. 5-60.

Chow S., Giglio W., Anesetti R., Ottenweller J., Pogach L., Huang H. 2000. The effects of testicular denervation on spermatogenesis in the Sprague-Dawley rat. Neuroendocrinology. 72(1): 37-45.

De la Chica R. 2006. Efecto del bloqueo de los receptores α_1 - adrenérgicos con doxazosina sobre la actividad específica de las aminopeptidasas reguladoras del sistema renina-angiotensina en el eje hipotálamo-hipófisis-ovarios. Memoria de

Investigación en el Área de fisiología del departamento de Ciencias de la Salud de la Universidad de Jaen.

Fernández S. 2012. Efecto de un inhibidor de la aromatasa sobre la espermatogénesis, la conducta sexual y la fertilidad de la rata macho adulta. Tesis para obtener el grado de Maestro en Biología Experimental. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa.

Frankel I., Ryan L. 1981. Testicular Innervation is necessary for the response of plasma testosterone levels to acute stress. *Biology of Reproduction*. 24: 491-495.

Gerendal I., Halász B. 2001. Asymmetry of the neuroendocrine system. *News Physiol. Sci.* 16(2): 92-95.

Gerendal I. 2004. New data on the neural control of gonadal functions. Supraspinal innervation of the gonads. *TMJ*. 54:218-224.

Gerendai I., Banczerowski P., Halasz B. 2005. Funtional significance of the Innervation of the gonads. *Endocrine*. 28(3): 209-318.

Gibb R., Kolb B. 1998. A method for vibratome sectioning of Golgi-Cox stained whole rat brain. *Juornal of Neuroscience methods*. 79:1-4.

Griswold M. 1998. The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. *Cell & Developmental Biology*. 9: 411-416.

Gong Y., Wang Y., Gu M., Feng M., Zhang W., Ge R. 2009. Deprival of testicular innervation induces apoptosis of Leydig cells via caspases-8-dependent signaling: A novel survival pathway revealed. *Biochem Biophys Res Commun*. 382(1): 165-170.

Habert R, Lejeune H, Saez J. (2001). Origin, differentiation and regulation of fetal and adult Leydig cells. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 179: 47–74

Hiura A. 2000. Neuroanatomical effects of Capsaicine on the primary afferent neurons. *Arch. Histol. Cytol.*, Vol 63, 3: 199-215.

Holzer P. 1991. Capsaicin: Cellular targets, mechanisms of action, and selectivity for thin sensory neurons. *Pharmacological Reviews* 43(2):143-201.

Holzer P. 1998. Neural injury, repair, and adaptation in the GI tract II. The elusive action of capsaicin on the vagus nerve. *American Journal Physiology* 275:G8-G13.

Hull M., Meisel L., Sachs D. 2002. Male sexual Behavior. En: Hormones, brain and Behavior. Eds. Pfafft WD, Arnold PA, Etge MA, Fahrbach ES, Rubin TR. USA: Elsevier Academic Press. pp. 4- 100.

Huo S., Xu Z., Zhang X., Zhang J., Sheng C. 2010. Testicular denervation in prepuberty rat inhibits seminiferous tubule development and spermatogenesis. *Journal of Reproduction and Development*. 56(4): 370-378.

Jennes L., Brame B., Centers A., Janovick J., Conn M. 1995. Regulation of hippocampal gonadotrophin releasing hormone (GnRH) receptor mRNA and GnRH-stimulated inositol phosphate production by gonadal steroid hormones. *Molecular Brain Research*. 33: 104-110.

Kaleczyc J., Timmermans J., Majewski M., Lakomy M., Scheuermann D. 1995. Distribution and immunohistochemical characteristics of neurons in the porcine caudal mesenteric ganglion projecting to the vas deferens and seminal vesicle. *Cell Tissue Res*. 282:59-68.

Kempinas W., Suarez J., Roberts N., Strader L., Ferrell J., Goldman J., Narotsky M., Perreault S., Evenson D., Ricker D., Klinefelter G. 1998. Fertility of rat epididymal sperm after chemically and surgically induced sympathectomy. *Biology of Reproduction*. 59: 897-904.

Koepke J., Jone S., DiBona G. 1987. α_2 -Adrenoceptors in amygdala control renal sympathetic nerve activity and renal function in conscious spontaneously hypertensive rats. *Brain Research*. 404(2): 80-88.

Kuntz A., Morris R. 1946. Components and distribution of the spermatic nerves and the nerves of the vas deferens. *J Comp Neurol.* 85:33-44.

Kumazawa T. 1986. Sensory innervation of reproductive organs. *Progress in Brain Research.* 67: 115-131.

Lehman M., Winans S., Powers J. 1980. Medial nucleus of the amygdale mediates chemosensory control of male hamster sexual behavior. *Science.* 210(4469): 557-560.

McKee C. 2007. The modulation of apoptosis in testicular germ cells following toxicant-induced cellular stress. Thesis of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy . The University of the Texas at Austin.

Mizark C., Gadella M., Erdost H., Ozer A., Pelt A., Dissel-Emiliani F. 2008a. Spermatogonial stem cell sensitivity to Capsaicine: An in vitro study. *Reprod Biol Endocrinol.* Nov 14;6:52.

Mizrack C., Dissel-Emiliani F. 2008b. Transient receptor potential vanilloid receptor-1 confers heat resistance to male germ cells. *Fertility and Sterility.* 90(4): 1290-1293.

Nakao A., Takahashi Y., Nagase M., Ikeda R., Kato F. 2012. Role of capsaicin-sensitive C-fiber afferents in neuropathic pain-induced synaptic potentiation in the nociceptive amygdala. *Molecular Pain.* 8:51.

Newman S. 1999. The medial extended amygdala in male reproductive behavior. A node in the mammalian social behavior network. *Ann N Y Acad Sci.* Jun 29;877: 242-257.

O'Donnell L., Meachem S., Stanton P., McLachlan R. 2006. Endocrine Regulation of Spermatogenesis. En: Physiology of Reproduction. Eds. Knobil y Neill's. USA: Elsevier Academic Press. 3ra Ed. pp. 1017-1069.

Orth J. 1993. Cell biology of testicular development in the fetus and Neonate. En: Cell and molecular biology of the testis. Eds. Desjardins C, Ewing LL. New York: Oxford University Press, Inc. pp. 5- 42.

Palastanga N., Field D., Soames R. 2000. Sistema Nervioso. En: Anatomía y movimiento humano. Estructura y funcionamiento. Eds. Paidotribo. Barcelona. pp. 553- 590.

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

Piérola Z. 2007. Bases fisiopatológicas del dolor. Acta Med Per. 24(2): 105-108

Rauchenwald M., Steers W., Desjardins C. 1995. Effetent innervation of the rat testis. Biology of Reproduccion. 52:1136-1143.

Regalado-Sánchez F. 1992. Proteínas de secreción del epidídimo de conejo: caracterización y regulación por andrógenos y temperatura. Tesis para obtener el grado de Doctor en Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Departamento de Biología Molecular.

Ricker D., Crone J., Chamness S., Klinefelter G. y Chang T. 1996. Partial sympathetic denervation of the rat epididymis permits fertilization but inhibits embryo development. Journal of Andrology, 17 (2): 117-126.

Ross M., Pawlina W. 2008. Aparato genital masculino. En: Histología: texto y atlas color con biología celular y molecular. 5ta Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires. pp. 782-815

Ruiz D. M^a. 1988. Ciclo reproductor de los vertebrados. En: Fundamentos de embriología y fisiología de la reproducción. 1ra. Ed. UNAM. México. pp. 45-89.

Sah P., Faber S., Lopez de Armentia L., Power J. 2003. The amygdaloid complex: Anatomy and physiology. Physiol Rev 83: 803-834.

Salazar H., Oseguera-Juara A., Rosenbaum T., 2009. El canal TRPV1 como diana para tratar el dolor. *Rev Neurol.* 48(7): 357-364.

Setchell B., Breed W. 2006. Anatomy, vasculature, and innervation of the male reproductive tract. En: Physiology of Reproduction. Eds. Knobil y Neill's. USA: Elsevier. 3ra Ed. pp. 771-825.

Sholl D. 1953. Dendritic organization in the neurons of the visual and motor cortices on the cat. *J. Anat.* 87:387-406.

Traurig H., Papka R., Rush M. 1988. Effects of capsaicin on reproductive function in the female rat: Role of peptide –containing primary afferent nerves innervating the uterine cervix in the neuroendocrine copulatory response. *Cell Tissue Res.* 253: 573-581.

Tóth A., Boczán J., Kedei N., Lizanecz E., Bagi Z., Papp Z., Édes I., Csiba L., Blumberg P. 2005. Expression and distribution of vanilloid receptor 1 (TRPV1) in the adult rat brain. *Molecular Brain Research.* 135: 162-168.

Trkulja V., Lackovic Z. 2001. Vagal influence on compensatory ovarian growth is important only briefly after hemicastration. *Exp. Biol. Med.* 226(8): 776-781.

Wschebor G. 2003. Expresión genética diferencial durante la espermatogénesis de la rata. Tesis para obtener el grado de Doctor en Biología Celular y Molecular. Universidad de la República.

Yamamoto M., Kondo H. 1988 Occurrence of a dense plexus of sensory nerve fibers immunoreactive to calcitonin-gene-related peptide in the cauda epididymidis of rats. *Acta Anat (BASEL).* 132(2):169-176.

Zvara A., Bencsik P., Fodor G., Csont T., Hackler L., Dux M., Fürst S., Jancsó G., Puskás L., Fedinandy P. 2005. Capsaicine-sensitive sensory neurons regulate

myocardial function and gene expression pattern of rat hearts: a DNA microarray study. The FASEB Journal. Nov. 8

Zhu B., Chiochio S., Han J., Cavicchia J. 2000. Neural control of the compensatory increase of testosterone in hemicastrated adult male rats. *Acta Physiologica Sinica*. 52(1): 10-16.

Zschenderlein C., Gebhardt C., Halbach B., Kulisch C., Albrecht D. 2011. Capsaicin-Induced Changes in LTP in the Lateral Amygdala Are Mediated by TRPV1. *PLoS ONE* 6(1): e16116.

11. ANEXO

Abreviaturas

ACTH	Hormona adenocorticotropa
BNST	Lecho de la estría terminal
cMePD	Porción caudal de la parte posterodorsal del núcleo de la amígdala media
FSH	Hormona folículo estimulante
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropinas
ISN	Nervio espermático inferior
LH	Hormona Luteinizante
NGF	Factor de crecimiento nervioso
NKA	Neuroquinina A
CGRP	Péptido relacionado con el gen de la calcitonina
SNC	Sistema nervioso central
SSN	Nervio espermático superior
T	Testosterona
TRPV-1	Receptor vanilloide de potencial transitorio tipo 1