

Trabajo Original

Efecto del zumo de sandía (*Citrullus lanatus*) en el estrés oxidativo en espermatozoides humanos

Effect of watermelon juice (*Citrullus lanatus*) on oxidative stress in human sperm

Leidy Jhulliana Saldarriaga Monsalve¹, Walter Darío Cardona Maya¹.

¹ Grupo Reproducción, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Correspondencia

Nombre: Walter Darío Cardona maya

Email: wdario.cardona@udea.edu.co

RESUMEN

Introducción: Las alteraciones reproductivas de causa masculina relacionadas con el estrés oxidativo son cada día más estudiadas y dan cuenta de causas de infertilidad diagnosticada como idiopáticas. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto del zumo de sandía sobre los parámetros seminales convencionales y funcionales *in vitro* e *in vivo*.

Materiales y métodos: Cinco muestras de espermatozoides puros fueron incubados con peróxido de hidrógeno (H_2O_2 , 5mM) y 0,45% de extracto de sandía, se determinó la movilidad espermática al tiempo 0, 30 y 60 minutos. En los ensayos *in vivo* se incluyeron 20 individuos a los cuales se les determinaron los parámetros espermáticos convencionales, funcionales y la capacidad antioxidante del plasma seminal por microscopía, citometría y espectrofotometría en los días 0, 7 y 15 después de iniciar el consumo diario de 16 onzas de zumo de sandía.

Resultados: El extracto de sandía protege a los espermatozoides del efecto deletéreo del H_2O_2 sobre la movilidad espermática. Además, el consumo regular de jugo de sandía disminuye la lipoperoxidación de la membrana espermática, la producción intracelular de especies reactivas del oxígeno, el índice de fragmentación del ADN el día 15 y la capacidad antioxidante el día 7 y 15.

Conclusiones: El extracto de sandía genera un efecto protector sobre los espermatozoides humanos *in vitro*, protegiendo su movilidad del efecto negativo del H_2O_2 . Además, si bien el consumo regular de zumo de sandía no mejora los parámetros seminales convencionales, si mejora algunos parámetros funcionales relacionados con el estrés oxidativo.

Palabras claves: Licopeno; especies reactivas del oxígeno; estrés oxidativo; infertilidad idiopática; fertilidad; *citrullus lanatus*.

ABSTRACT

Objetivo: Male reproductive alterations related to oxidative stress are increasingly studied and account for causes of infertility diagnosed as idiopathic. The aim of this work was to evaluate the effect of watermelon juice on conventional and functional seminal parameters *in vitro* and *in vivo*.

Materials and methods: Five samples of pure sperm were incubated with hydrogen peroxide (H₂O₂, 5mM) and 0.45% watermelon extract, sperm motility was determined at time 0, 30 and 60 minutes.

***In vivo* assays,** 20 individuals were included. Conventional and functional sperm parameters, and antioxidant capacity of seminal plasma using microscopy, cytometry and spectrophotometry were determined on days 0, 7 and 15 after starting daily consumption of 16 ounces of watermelon juice.

Results: Watermelon extract protects sperm cells from the deleterious effect of H₂O₂ on sperm motility. In addition, regular consumption of watermelon juice decreases sperm membrane lipoperoxidation, intracellular production of reactive oxygen species, DNA fragmentation index on day 15 and antioxidant capacity on day 7 and 15.

Conclusion: Watermelon extract generates a protective effect on human sperm *in vitro*, protecting sperm motility from the negative effect of H₂O₂. In addition, although regular consumption of watermelon juice does not improve conventional seminal parameters, it does improve some functional parameters related to oxidative stress.

Keywords: Lycopene; reactive oxygen species; oxidative stress; idiopathic infertility; fertility; *Citrullus lanatus*.

INTRODUCCIÓN

El factor masculino esta presente en al menos el 50% de las parejas que consultan por infertilidad¹⁻³. Después de estudiar las etiologías de infertilidad masculina en el 32% a 50% no se logra identificar una posible causa y son catalogadas como idiopáticas^{1,4,5}. Al realizar un estudio funcional y molecular de los espermatozoides de los pacientes infértiles, un alto porcentaje presenta niveles elevados de estrés oxidativo^{2,6}.

El estrés oxidativo se produce por el desbalance entre la generación de moléculas altamente inestables conocidas como especies reactivas de oxígeno (ROS)^{2,6}, entre las que se incluyen el radical hidroxilo, el peróxido de hidrógeno (H₂O₂) y el anión superóxido⁷ y la capacidad antioxidante del plasma seminal; Las ROS son responsables de regular procesos celulares como la secreción y acción de la insulina, la producción de hormonas de crecimiento y citosinas, y específicamente en los espermatozoides están implicados en la transducción de señales durante la capacitación, la hiperactivación y la reacción acrosomal^{8,9}. Sin embargo, cuando las concentraciones de ROS son excesivas alteran constituyentes celulares e inducen la muerte celular¹⁰. Los espermatozoides son particularmente

susceptibles a los efectos oxidativos de las ROS, debido a las grandes cantidades de ácidos grasos insaturados en la membrana celular (peroxidación de lípidos)¹¹.

El proceso de oxidación de lípidos conduce a la pérdida de la integridad de la membrana, al aumento en su permeabilidad, a la inactivación de enzimas celulares, al daño estructural del ADN y a la apoptosis celular induciendo a consecuencias como la reducción de la concentración, la movilidad y la morfología normal espermática¹¹ lo cual repercute negativamente sobre el potencial fértil masculino. Con el fin de contrarrestar los efectos nocivos de las ROS, los espermatozoides y el plasma seminal poseen sistemas antioxidantes (catalasa superóxido dismutasa y glutatión peroxidasa) que capturan las ROS evitando el daño celular⁷.

Con el propósito de evitar los efectos negativos del estrés oxidativo, se ha propuesto que el consumo de una dieta rica y balanceada de frutas y verduras podrían proveer un efecto protector antioxidante¹², incluso se ha correlacionado epidemiológicamente que el consumo de antioxidantes ofrece una serie de beneficios para la salud¹³.

Entre los compuestos provenientes de frutas y verduras con potente capacidad antioxidante que ha

tomado importancia en los últimos años se encuentra el licopeno, un pigmento lipofílico que confiere el color rojo característico a algunas frutas y verduras incluyendo tomates, sandías, pomelos rosados y papayas ¹⁴. Además, el licopeno está implicado en algunas reacciones inmunitarias, señales de unión de hendidura, regulación del crecimiento celular y la expresión génica ¹⁵ en diferentes tejidos como el hígado, el riñón, las glándulas renales, los testículos y la próstata ⁸.

Las propiedades del licopeno del tomate han sido ampliamente estudiadas ^{16,17}, sin embargo su disponibilidad en la sandía (*Citrullus lanatus*) ha tomado fuerza debido a que a diferencia del tomate, en el cual el licopeno está disponible en cantidades relativamente mayores después de un tratamiento térmico por la descomposición del complejo de proteína-carotenoide, el licopeno de la sandía está disponible para su absorción al momento del consumo ¹⁷. Adicionalmente en la sandía el porcentaje de licopeno comprende entre un 70-90% del total de carotenoides y excede al tomate en el contenido promedio de licopeno con una concentración media de 4868 $\mu\text{g}/100\text{ g}$, un 40% más alta que la media para el tomate crudo (3025 $\mu\text{g}/100\text{ g}$) ¹⁸.

Se han realizado varios estudios ^{3,6,19-21} con el fin de determinar el efecto de los antioxidantes sobre la calidad seminal evaluando el efecto de la ingesta del antioxidante licopeno. En general, se reporta que el alto consumo del antioxidante se asocia con niveles reducidos de la fragmentación del ADN espermático y la peroxidación lipídica a través de su efecto antioxidante, también de mejorar la movilidad espermática en los pacientes infértiles. Además, otro estudio ²⁰ determinó que los antioxidantes mantienen la movilidad de los espermatozoides *in vitro* neutralizando la acción de los oxidantes.

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto *in vitro* e *in vivo* del zumo de sandía (*Citrullus lanatus*) sobre los parámetros seminales convencionales y funcionales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras de semen

Se incluyeron 65 muestras de semen donadas por 20 voluntarios aparentemente sanos, ninguno fumaba o consumía alguna droga recreativa. Las

muestras de semen fueron obtenidas por masturbación en un recipiente estéril, después de 2 a 5 días de abstinencia sexual y analizadas máximo 2 horas después de su recolección.

Cinco muestras seminales fueron usadas para los ensayos *in vitro* y 20 individuos donaron cada uno tres muestras de semen durante los estudios *in vivo* (Figura 1).

Los voluntarios tenían un promedio de edad de 23 \pm 3,6 años, 1,74 \pm 0,07 metros de estatura y 72,5 \pm 10,21 kilogramos de peso.

Cada individuo firmó un consentimiento informado aprobado por el Comité de Bioética, Facultad de Medicina, de la Universidad de Antioquia, después de leer y entender el propósito de la investigación.

Zumo/extracto de sandía

Las preparaciones de sandía (*Citrullus lanatus*, Universidad Nacional de Colombia, Voucher COL000257511) fueron obtenidos licuando 424,9 \pm 33,5 g de fruta libre de azúcar, agua y semillas propias de la fruta. Para los ensayos *in vitro* se procedió a centrifugar dos veces el producto del licuado de sandía a 1500rpm/10 min con el fin de eliminar los residuos propios del extracto, mientras que para los ensayos *in vivo* se entregaba a los voluntarios aproximadamente 424 mL (16 onzas) de zumo de sandía sin centrifugar.

Ensayos *in vitro*

Se seleccionaron los espermatozoides móviles de 5 muestras mediante un gradiente de selección (PureSperm® 40/80, Nidacon International AB, Goteborg, Suecia). Brevemente, en un tubo se depositaron 600 μL de cada gradiente y 1mL de la muestra seminal, se centrifugó a 300g/20 min, el botón recuperado fue lavado con 1mL de medio HAM F10 (Sigma Chemical Company, St Louis, MO, EE.UU.) a 300g/5min y resuspendido en 1,5mL de medio HAM F10. Finalmente, los espermatozoides puros se dividieron en tres alícuotas y fueron incubados en tres diferentes condiciones: i) medio HAM F10 solo; ii) medio HAM F10 más H₂O₂ (5mM), y medio HAM F10 más H₂O₂ (5mM); y iii) 0,45% de extracto de zumo de sandía. A cada muestra se le cuantificó la movilidad espermática al tiempo cero, a los 30 y 60 minutos (Figura 1).

Ensayos in vivo

Cada uno de los 20 individuos donó tres muestras de semen: la primera antes de iniciar el consumo diario del zumo, las otras a los 7 y 15 días de la ingesta de 424mL (16 onzas) del zumo. A cada muestra seminal se le valoraron los parámetros seminales convencionales, funcionales y la capacidad antioxidante del plasma seminal (*Figura 2*).

Pruebas convencionales

Se determinaron los parámetros seminales macroscópicos (viscosidad, volumen, pH y licuefacción) y microscópicos (concentración, movilidad, viabilidad y morfología celular) siguiendo los lineamientos previamente establecidos por la OMS²². Además, la concentración espermática se determinará mediante la cámara de Makler²³.

Pruebas funcionales

Se tomaron alícuotas de 1×10^6 de espermatozoides para evaluar cada uno de los siguientes parámetros funcionales: potencial de membrana mitocondrial, lipoperoxidación de la membrana espermática, integridad de la membrana de los espermatozoides y niveles de ROS intracelulares espermáticas mediante citometría de flujo (CoulterEpics XL -BeckmanCoulter, CA, EE.UU.) analizando al menos 10.000 espermatozoides, los resultados de las citometrías de flujo de cada parámetro funcional fueron graficadas y procesados utilizando el programa Flow Jo 7.6 (Tree Star, Inc. Oregon, EE.UU.).

Detección del potencial de membrana mitocondrial

Los espermatozoides se incubaron con yoduro de propidio (IP, 0,25 mg/mL, Molecular Probes®Inc, OR, EE.UU.) y 3,3'dihexi-ioxacarbocianina (DIOC6 10nM, Molecular Probes®) a 37°C/30 minutos, los espermatozoides se lavaron centrifugando a 300g/5 minutos. El botón se resuspendió en PBS (Gibco®, NY, EE.UU.) y se realizó la lectura en el citómetro de flujo^{1,2,24-26}.

Análisis de la lipoperoxidación de la membrana espermática

Se incubaron los espermatozoides con 4,4-difluoro-4-bora-3a-4a-diaza-s-indaceno (BODIPY C11, Molecular Probes®Inc, OR, EE.UU.) a 37°C/30 minutos, los espermatozoides se lavaron una vez, se resuspendieron en PBS y se realizó la lectura en el citómetro de flujo^{1,2,24-26}.

Detección de la integridad de la cromatina espermática

Se diluyeron los espermatozoides en buffer TNE (TRIS-HCl, NaCl, EDTA - disódica, pH: 7,4). Justo antes de leer la muestra en el citómetro de flujo, se adicionaron 200 μ L de solución detergente ácida (HCl, NaCl, Tritón X-100, pH: 1,2) y 30 segundos después se adiciono a la solución colorante naranja de acridina (0,006 mg/mL, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EE.UU.), finalmente se realizó la lectura en el citómetro de flujo^{1,2,24-26}.

Determinación de la integridad de la membrana de los espermatozoides

Los espermatozoides se incubaron en una mezcla de IP y Sybr 14 (LIVE/DEAD® Sperm-Viability Kit, Molecular Probes®) a 37°C/30 minutos, se realizó un lavado con PBS y posteriormente se resuspendió el botón antes de realizar la lectura en el citómetro de flujo^{1,2,24-26}.

Evaluación de los niveles de especies reactivas de oxígeno intracelulares espermáticas.

Se realizó una incubación de los espermatozoides con di-acetato de 2',7' diclorofluoresceína (DCFH-DA, Sigma-Aldrich, St Louis, MO, EE.UU.) más IP a 37°C/5 minutos, posteriormente se realizaron 3 lavados. Finalmente, el botón obtenido se resuspendió en PBS y se realizó la lectura en el citómetro de flujo^{1,2,24-26}.

Capacidad antioxidante del plasma seminal

Las muestras de semen se centrifugaron a 175 rpm durante 20 minutos, 200 μ L de sobrenadante se le adicionaron a 3 mL de solución de radical 1,1-difenil-2-picril hidrazilo (DPPH, $6,09 \times 10^5$ mol/L de metanol Sigma-Aldrich Company, St. Louis, MO, EE.UU.). La reacción se incubó a temperatura ambiente durante una hora para estabilizar la reacción

de color y fue cuantificada en un espectrofotómetro (Nanodrop, ND1000 Spectrophotometer, Thermo-Scientific, EE. UU.) a 515 nm contra un blanco que contenía metanol ^{2,26}.

Análisis de datos

Los resultados fueron analizados mediante estadística descriptiva, usando media y desviación estándar. Los resultados *in vitro* fueron comparados usando una prueba de *t* pareada entre la muestra de espermatozoides con H₂O₂ con y sin sandía. Para las comparaciones entre las muestras iniciales y las muestras del día siete y el día quince después del consumo de sandía se usó la prueba de Wilcoxon (pareada no paramétrica) utilizando el programa estadístico GraphPad Prism 6.0.

RESULTADOS

La movilidad total espermática en los ensayos *in vitro* evidenció que la sandía (0,45%) protege a los espermatozoides del efecto negativo inducido por el H₂O₂ (5mM) a los 30 minutos ($p < 0,0001$) y 60 minutos ($p < 0,0003$). En las muestras incubadas con H₂O₂ (5mM) los espermatozoides fueron inmovilizados en su totalidad antes de los 30 minutos de incubación (*Figura 2*).

De otro lado, *in vivo* se observó que los parámetros seminales convencionales no variaron respecto a la muestra inicial (*Tabla 1*), sin embargo, algunos parámetros funcionales como la lipoperoxidación de la membrana espermática disminuyó en 72% a los días siete ($p < 0,05$) y en 45,5% a los días quince ($p < 0,05$) con respecto al día cero (*Tabla 1*). Adicionalmente, se redujo la producción intracelular de ROS a los 7 (16%, $p < 0,05$) y 15 días (27%, $p < 0,05$) con respecto al día cero (*Tabla 1*), el índice de fragmentación del ADN disminuyó alrededor de 30% en el día 15 (*Tabla 1*) y la capacidad antioxidante del plasma seminal para el día 7 y 15 aumentó cerca del 17% ($p < 0,05$) con respecto al día cero en los voluntarios evaluados (*Tabla 1*).

DISCUSIÓN

La responsabilidad de las alteraciones reproductivas generalmente era atribuida principalmente a las mujeres, sin embargo, en la actualidad se reconoce que los hombres son tan

responsables como las mujeres durante los procesos reproductivos ^{3,27}. Múltiples factores asociados a la infertilidad masculina continúan sin ser identificados, sin embargo se ha sugerido el estrés oxidativo como un factor clave, especialmente en casos de infertilidad idiopática ⁸. El estrés oxidativo induce generalmente daño del ADN e incremento en la lipoperoxidación de la membrana de los espermatozoides debido a que estas membranas son particularmente vulnerables por los altos niveles de ácidos grasos poliinsaturados en la bicapa lipídica los cuales pueden ser oxidados, además el estrés oxidativo se ha relacionado con parámetros espermáticos alterados ²⁸.

La sandía (*Citrullus lanatus*) contiene altas concentraciones de licopeno, un antioxidante natural reconocido por su papel preventivo en algunas enfermedades crónicas provocadas por el estrés oxidativo ²⁹. En el ensayo *in vitro* se indujo el estrés oxidativo con H₂O₂ y el extracto de sandía evitó el efecto negativo bloqueando el efecto oxidativo del peróxido. Esta capacidad protectora generada por el extracto de sandía se puede considerar clave durante la lucha contra las especies oxidantes en el semen debido a que los niveles supra fisiológicos de ROS pueden afectar la movilidad, la morfología y la concentración ³⁰. En concordancia con estos resultados, un estudio previo ³¹ demostró que la preincubación de espermatozoides humanos con licopeno los protege frente al daño en el ADN en muestras incubadas con H₂O₂. De hecho, en estudios *in vitro* ^{20,32} en los cuales los espermatozoides son expuestos a altas concentraciones de ROS, se evidenció un aumento significativo en el daño del ADN, una disminución de la movilidad progresiva y la inducción de procesos apoptóticos afectando las funciones espermáticas cruciales para la adecuada fecundación ^{20,33}.

Por su parte, el consumo de sandía no indujo ningún cambio sobre los parámetros seminales convencionales. Es importante recalcar que hasta la fecha, los parámetros seminales son la única herramienta que permite valorar el potencial fértil masculino aunque éste no proporciona una información sobre la capacidad de fecundante de un hombre ³⁴, incluso varios estudios han sugerido que el espermograma no deja de ser un análisis subjetivo e incapaz de diferenciar entre individuos infértiles y

fértiles como de describir las propiedades funcionales y biológicas del espermatozoide ^{35,36}, adicionalmente se han encontrado que hombres con parámetros seminales por debajo del límite inferior de referencia son fértiles ²².

Por lo tanto, otras pruebas diagnósticas conocidas como pruebas funcionales espermáticas complementan el espermograma y permiten valorar algunas características fisiológicas de las células. En el presente estudio se observó que en algunos parámetros funcionales como la lipoperoxidación de la membrana espermática, la producción intracelular de ROS y el índice de fragmentación del ADN disminuyeron con el consumo de sandía. Acorde a la literatura la disminución en la peroxidación de lípidos se asocia con el aumento de la defensa antioxidante y con la capacidad del antioxidante de reducir la producción de ROS protegiendo la membrana e impidiendo la alteración del ADN espermático ^{12,32,37} evitando algunos efectos negativos de los ROS como la apoptosis, la reducción de la concentración, de la movilidad y de la morfología normal espermática ¹¹ lo cual altera el potencial fértil masculino.

De otro lado, aumentos del daño en el ADN se han relacionado con parejas que presentan pérdida recurrente de la gestación, aunque no todos los estudios reportan correlaciones positivas con la alteración del ADN espermático ^{23,24} si se reporta incremento de la fragmentación del ADN en hombres con infertilidad de origen desconocido ¹. Por lo tanto el consumo de zumo de sandía (altas concentraciones de licopeno) al prevenir la lipoperoxidación de la membrana espermática, la producción intracelular de especies y el daño del ADN podría servir de tratamiento en estos hombres como terapia antioxidante contra las ROS que estarían induciendo la infertilidad.

El consumo diario del zumo de sandía generó un aumento en la concentración del agente antioxidante evidenciado por el aumento de la capacidad antioxidante (*Tabla 1*), seguramente debido a que la concentración plasmática de licopeno depende casi exclusivamente de su ingesta dietética, debido a que éste no se metaboliza en el organismo ¹⁶. Aunque se encontraron diferencias del 17% en la capacidad antioxidante en el día quince, el porcentaje no es mayor debido a que posiblemente se está generando

un equilibrio entre los oxidantes y los antioxidantes en ese periodo de tiempo por el previo consumo del zumo de sandía y para ejercer el efecto protector es necesario que el antioxidante se encuentre a mayores concentraciones que el agente oxidante, como se evidenció en el día siete. Además, el antioxidante tiene una vida media en plasma seminal entre 9 y 16 días ³⁸, lo cual podría repercutir en los aumentos encontrados.

Finalmente, después del consumo del zumo de sandía, el licopeno es incorporado dentro de las micelas de los lípidos dietarios y por difusión pasiva es absorbido en la mucosa intestinal, donde es incorporado a los quilomicrones y liberado al sistema linfático para ser transportado al hígado y distribuido a diferentes tejidos por medio de lipoproteínas dentro del plasma ²⁹, esta distribución del antioxidante en el organismo no se realiza de un manera uniforme, se cree que existen tejidos específicos en los cuales éstos realizan su acción ³⁹. Así, después de darse una distribución a diferentes tejidos como la próstata, el licopeno es almacenado en prostasomas en la próstata durante la eyaculación alcanza al semen ^{40,41}, una vez en semen el antioxidante empieza a hacer parte del sistema de defensa no enzimático logrando retrasar la producción y acción de los radicales libres ayudando a combatir los efectos perjudiciales de las especies de oxígeno reactivo, además se ha establecido una clara correlación con niveles más bajos de licopeno que se encuentran en el plasma seminal de los hombres infértiles respecto a los hombres fértiles ⁴². Goyal et al., en 2007 ⁴⁰ confirman la presencia de licopeno en el semen humano, cuyos niveles pueden aumentar significativamente después una suplementación en la dieta con una fuente natural de licopeno.

En conclusión, en el presente estudio se observó que el extracto de sandía induce un efecto protector sobre los espermatozoides humanos protegiendo su movilidad del efecto negativo del H₂O₂. Además, en los ensayos *in vivo* el consumo de sandía mejora los parámetros funcionales como la lipoperoxidación de la membrana espermática, la producción intracelular de especies y el daño del ADN.

Finalmente, este es el primer reporte en el que se evidencia tanto *in vitro* como *in vivo* que el zumo de sandía podría ser beneficioso para la infertilidad

masculina, y permiten pensar en un tratamiento natural, al alcance de todos. Sin embargo, se requieren más estudios con un mayor número de individuos, pacientes con alteraciones funcionales espermáticas y un periodo de tiempo más prolongado con la ingesta del antioxidante para dilucidar mejor el efecto.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Por el apoyo financiero: Convocatoria Programática 2017-2018 Área Ciencias de la Salud (2017-15642), Universidad de Antioquia.

REFERENCIAS

1. Mayorga-Torres BJ, Cardona-Maya W, Cadavid A, Camargo M. Evaluación de los parámetros funcionales espermáticos en individuos infértiles normozoospermicos. *Actas Urol Esp* 2013;37:221-7.
2. Mayorga-Torres JM, Agarwal A, Roychoudhury S, Cadavid A, Cardona-Maya WD. Can a Short Term of Repeated Ejaculations Affect Seminal Parameters? *J Reprod Infertil* 2016;17:177-83.
3. Yamamoto Y, Aizawa K, Mieno M, et al. The effects of tomato juice on male infertility. *Asia Pac J Clin Nutr* 2017;26:65-71.
4. Cardona Maya W. Límite inferior de referencia-nuevos valores de referencia en el análisis seminal. *Medicina & Laboratorio* 2014;20:93-4.
5. Ko EY, Siddiqi K, Brannigan RE, Sabanegh ES, Jr. Empirical medical therapy for idiopathic male infertility: a survey of the American Urological Association. *J Urol* 2012;187:973-8.
6. Ghyasvand T, Goodarzi MT, Amiri I, Karimi J, Ghorbani M. Serum levels of lycopene, beta-carotene, and retinol and their correlation with sperm DNA damage in normospermic and infertile men. *Int J Reprod Biomed (Yazd)* 2015;13:787-92.
7. Kolettis PN, Sharma RK, Pasqualotto FF, Nelson D, Thomas AJ, Jr., Agarwal A. Effect of seminal oxidative stress on fertility after vasectomy reversal. *Fertil Steril* 1999;71:249-55.
8. Agarwal S, Rao AV. Tomato lycopene and its role in human health and chronic diseases. *CMAJ* 2000;163:739-44.
9. Mayorga Torres B, Camargo M, Cadavid AP, Maya C, Walter D. Estrés oxidativo: ¿un estado celular defectuoso para la función espermática? *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología* 2015;80:486-92.
10. Macedo-Márquez A. La producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) en las mitocondrias de *Saccharomyces cerevisiae*. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 2012;15:97-103.
11. Zini A, San Gabriel M, Baazeem A. Antioxidants and sperm DNA damage: a clinical perspective. *J Assist Reprod Genet* 2009;26:427-32.
12. González-Torres MC, Betancourt-Rule M, Ortiz-Muñiz R. Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquímica* 2000;25:3-9.
13. Covarrubias DH, Pomares CF, Aranda GE. El licopeno y su papel en la prevención del cáncer de próstata. *eNeurobiología* 2013;4.
14. Tadmor Y, King S, Levi A, et al. Comparative fruit colouration in watermelon and tomato. *Food Research International* 2005;38:837-41.
15. Armstrong D, Stratton R. Oxidative stress and antioxidant protection. John Wiley and Sons 2016.
16. Messina D, Fontana CL, Elizalde RP, Uvilla A, Vanrell C, Laur JDL. Correlación entre la ingesta de licopeno y el poder antioxidante total. *Revista Argentina de Urología* 2010;75:38-46.
17. Naz A, Butt MS, Sultan MT, Qayyum MM, Niaz RS. Watermelon lycopene and allied health claims. *EXCLI J* 2014;13:650-60.
18. Edwards AJ, Vinyard BT, Wiley ER, et al. Consumption of watermelon juice increases plasma concentrations of lycopene and beta-carotene in humans. *J Nutr* 2003;133:1043-50.
19. Tvrdá E, Kovacik A, Tusimova E, et al. Antioxidant efficiency of lycopene on oxidative stress - induced damage in bovine spermatozoa. *J Anim Sci Biotechnol* 2016;7:50.
20. Twigg J, Fulton N, Gomez E, Irvine DS, Aitken RJ. Analysis of the impact of intracellular reactive oxygen species generation on the structural and functional integrity of human spermatozoa: lipid peroxidation, DNA fragmentation and

- effectiveness of antioxidants. *Hum Reprod* 1998;13:1429-36.
21. Twigg J, Irvine DS, Houston P, Fulton N, Michael L, Aitken RJ. Iatrogenic DNA damage induced in human spermatozoa during sperm preparation: protective significance of seminal plasma. *Mol Hum Reprod* 1998;4:439-45.
 22. World Health Organization. World Health Organization laboratory manual for the examination and processing of human semen. World Health Organization: Geneva, Switzerland 2010.
 23. Cardona-Maya W, Berdugo J, Cadavid A. Comparacion de la concentracion espermatica usando la camara de Makler y la camara de Neubauer. *Actas Urol Esp* 2008;32:443-5.
 24. Gil-Villa AM, Cardona-Maya W, Agarwal A, Sharma R, Cadavid A. Assessment of sperm factors possibly involved in early recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 2010;94:1465-72.
 25. Mayorga-Torres BJ, Camargo M, Agarwal A, du Plessis SS, Cadavid AP, Cardona Maya WD. Influence of ejaculation frequency on seminal parameters. *Reprod Biol Endocrinol* 2015;13:47.
 26. Mayorga-Torres BJM, Camargo M, Cadavid AP, du Plessis SS, Cardona Maya WD. Are oxidative stress markers associated with unexplained male infertility? *Andrologia* 2017;49.
 27. Tamayo Hussein S, Cardona Maya WD. Evaluar el factor masculino mediante un espermograma durante la consulta de infertilidad. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología* 2017;43.
 28. Agarwal A, Majzoub A. Role of antioxidants in assisted reproductive techniques. *The world journal of men's health* 2017;35:77-93.
 29. Waliszewski KN, Blasco G. Propiedades nutraceuticas del licopeno. *salud pública de méxico* 2010;52:254-65.
 30. Agarwal A, Roychoudhury S, Bjugstad KB, Cho CL. Oxidation-reduction potential of semen: what is its role in the treatment of male infertility? *Ther Adv Urol* 2016;8:302-18.
 31. Zini A, San Gabriel M, Libman J. Lycopene supplementation in vitro can protect human sperm deoxyribonucleic acid from oxidative damage. *Fertil Steril* 2010;94:1033-6.
 32. Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril* 2003;79:829-43.
 33. Agarwal A, Said TM. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. *Hum Reprod Update* 2003;9:331-45.
 34. Montes J, Cantu L, Cánepa M, Alciaturi J, Machado M, Bruné M. ¿ Es posible obtener del estudio de semen mejores predictores de fertilidad. Séptimo Congreso de la Federación Latinoamericana de Sociedades de Esterilidad y Fertilidad, FLASEF; 2002. p. 15-24.
 35. de los Rios J, Cardona WD, Berdugo JA, et al. Los valores espermaticos de 113 individuos con fertilidad reciente no mostraron correlacion con los parametros establecidos por la OMS. *Arch Esp Urol* 2004;57:147-52.
 36. Cardona Maya WD, Berdugo Gutierrez JA, de los Rios J, Cadavid Jaramillo AP. Functional evaluation of sperm in Colombian fertile men. *Arch Esp Urol* 2007;60:827-31.
 37. Bennetts LE, Aitken RJ. A comparative study of oxidative DNA damage in mammalian spermatozoa. *Mol Reprod Dev* 2005;71:77-87.
 38. Britton G. Structure and properties of carotenoids in relation to function. *FASEB J* 1995;9:1551-8.
 39. Periago MJ, Martínez-Valverde I, Ros G, Martínez C, López G. Propiedades químicas, biológicas y valor nutritivo del licopeno. *Anales de Veterinaria de Murcia*; 2001. p. 51-66.
 40. Goyal A, Chopra M, Lwaleed BA, Birch B, Cooper AJ. The effects of dietary lycopene supplementation on human seminal plasma. *BJU Int* 2007;99:1456-60.
 41. Goyal A, Delves GH, Chopra M, Lwaleed BA, Cooper AJ. Prostate cells exposed to lycopene in vitro liberate lycopene-enriched exosomes. *BJU Int* 2006;98:907-11.
 42. Palan P, Naz R. Changes in various antioxidant levels in human seminal plasma related to immunoinfertility. *Arch Androl* 1996;36:139-43

TABLA Y FIGURAS.

Tabla 1. Parámetros seminales de los 20 individuos que participaron en el estudio *in vivo*.

Parámetro seminal	Día 0	Día 7	valor p	Día 15	valor p
	Media ± DS	Media ± DS		Media ± DS	
Volumen (mL)	3,23 ± 1,9	3,08 ± 1,4	0,87	2,64 ± 2,6	0,05
Concentración (10 ⁶ /mL)	72,12 ± 61,1	66,16 ± 47,4	0,86	59,1 ± 41,7	0,50
Concentración Total (10 ⁶ /eyaculado)	202,6 ± 150,1	208,8 ± 172,6	0,61	164,2 ± 140,7	0,14
Movilidad Total (%)	49,09 ± 40	46,26 ± 35,7	0,82	42,64 ± 33,7	0,61
Viabilidad (%)	78,48 ± 8,5	78,59 ± 9,7	0,72	79,42 ± 8,6	0,56
Recuento total de espermatozoides móviles (móviles totales/eyaculado)	140,9 ± 118,8	147,5 ± 130,3	0,54	117,7 ± 108,4	0,27
Morfología anormal cabeza (%)	97,64 ± 4,1	97,51 ± 3,2	0,82	93,81 ± 14,2	0,57
Morfología anormal pieza intermedia (%)	31,15 ± 16	28,12 ± 11,9	0,48	27,53 ± 9,0	0,71
Morfología anormal cola (%)	11,21 ± 6,9	11,27 ± 9,9	0,98	12,3 ± 11,1	0,70
Células con potencial de membrana mitocondrial alto (%)	47,65 ± 16,9	44,98 ± 17,0	0,26	45,79 ± 14,2	0,45
Células con potencial de membrana mitocondrial bajo (%)	8,08 ± 4,9	9,12 ± 5,3	0,31	7,46 ± 6,4	0,29
Células necróticas (%)	44,2 ± 16,2	45,91 ± 16,1	0,35	45,68 ± 13,3	0,42
Integridad y viabilidad de la membrana plasmática (Íntegra-Viable) (%)	50,16 ± 16,7	47,58 ± 17,7	0,42	47,99 ± 14,8	0,40
Integridad y viabilidad de la membrana plasmática (Desintegrada-Moribunda) (%)	2,35 ± 1,2	2,012 ± 1,2	0,52	2,06 ± 1,3	0,59
Integridad y viabilidad de la membrana plasmática (Necróticas) (%)	40,54 ± 15,5	43,2 ± 16,7	0,31	43,15 ± 13,3	0,33
Lipoperoxidación de la membrana plasmática (%)	17,96 ± 20,1	5,07 ± 5,2	0,002	9,79 ± 17,3	0,03
Producción intracelular de las especies reactivas del oxígeno (ROS, (%))	47,57 ± 18,1	40,05 ± 19,6	0,036	34,95 ± 23,2	0,03
Índice de fragmentación de ADN (%)	13,5 ± 6,4	14,22 ± 6,6	0,78	9,53 ± 3,3	0,01
Capacidad antioxidante del plasma seminal (%)	62,7 ± 9,7	71,96 ± 11,8	0,02	73,39 ± 10,9	0,01

Los datos son expresados como media ± desviación estándar (DS) y el valor p respecto al control (día cero).

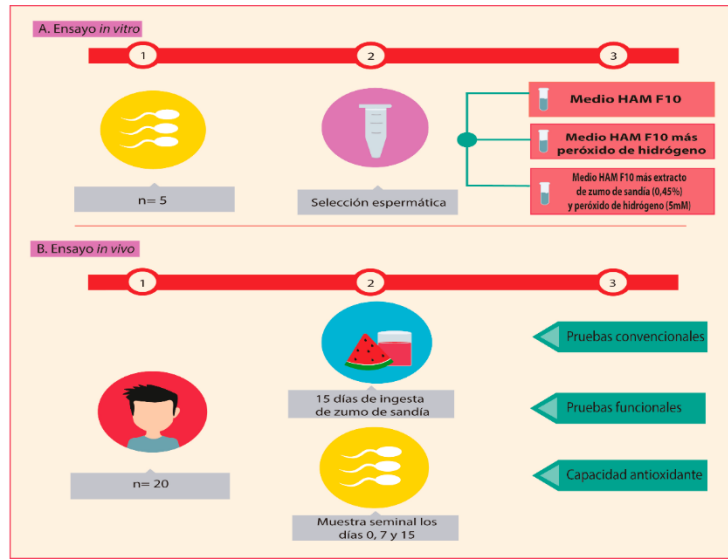


Figura 1. Resumen gráfico de la metodología desarrollada en este estudio. A. Ensayos *in vitro*. B. Ensayos *in vivo*.

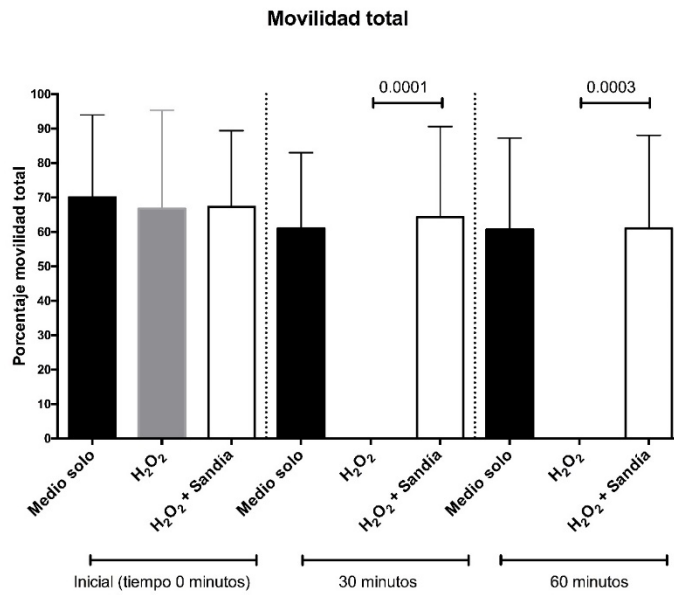


Figura 2. Efecto del extracto de sandía sobre la movilidad espermática total *in vitro* en función del tiempo. Porcentaje de movilidad espermática normalizado *versus* el control de la movilidad total de los ensayos *in vitro* evaluada a los 0, 30 y 60 minutos, n=5. ** p<0,001, *** p<0,003.