



Memoria del LII Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

Canales iónicos de comunicación del espermatozoide

Ion channels for sperm communication

Oliver, Enrique I.^{1,2} y Darszon, Alberto¹  

1. Departamento de Genética del Desarrollo y Fisiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, MO 62210, México.
2. Adscripción actual: Department of Physiology and Biophysics, Miller School of Medicine, University of Miami, Miami, FL 33136, USA.)

✉ Correspondencia. Av. Universidad 2001, Chamilpa, 62210 Cuernavaca, Mor. Tel: (+52) 777 32 91 650.
alberto.darszon@ibt.unam.mx

Editor responsable: Héctor Riveros-Rosas

DOI: <https://doi.org/10.22201/fm.0188137xp.2025.49.13>

Recibido: 27 de marzo de 2025

Revisado: 23 de junio de 2025

Aceptado: 24 de junio de 2025

Resumen

Los transportadores de iones en la membrana plasmática y en los organelos intracelulares controlan la homeostasis iónica de la célula que es esencial para la mayoría de las funciones celulares. Durante la fecundación, el espermatozoide sufre cambios fisiológicos, bioquímicos y moleculares, que le permiten alcanzar y fecundar al óvulo. Los flujos iónicos, por ejemplo, de Ca^{2+} , K^+ , H^+ , Na^+ , Cl^- y HCO_3^- , regulan muchos de estos cambios. Por consiguiente, alteraciones genéticas que conduzcan a la deficiencia o mal funcionamiento de los transportadores de iones, impide al espermatozoide fecundar al óvulo, comprometiendo la fertilidad masculina. Nuestro laboratorio ha estudiado como estos flujos iónicos le permiten al espermatozoide adquirir la capacidad de fecundar al óvulo. En este capítulo intentamos resaltar aquellas entidades que participan en tres de los cambios más importantes que lleva a cabo el espermatozoide de humano y de ratón durante su viaje en el tracto reproductor femenino. Estos son el batido flagelar, la capacitación y la reacción acrosomal. Todavía hay mucho por investigar para comprender la fecundación.

alabras claves: Fecundación, espermatozoide, batido flagelar, capacitación, reacción acrosomal, transportadores de iones

Summary

Ion transporters in the plasma membrane and intracellular organelles regulate the cell's ionic homeostasis, which is essential for most cellular functions. During fertilization, the sperm undergoes physiological, biochemical, and molecular changes that enable it to reach and fertilize the egg. Ionic flows, for example, of Ca^{2+} , K^+ , H^+ , Na^+ , Cl^- , and HCO_3^- , regulate many of these changes. Consequently, genetic alterations that lead to deficiency or malfunction of ion transporters prevent the sperm from fertilizing the egg, thus compromising male fertility. Our laboratory has studied how these ionic flows allow the sperm to acquire the capacity to fertilize the egg. In this chapter, we aim to highlight those entities involved in three of the most important changes that human and mouse sperm undergo during their journey in the female reproductive tract. These are the flagellar beating, capacitation, and the acrosomal reaction. Much remains to be researched to fully understand fertilization

Keywords: Fertilization, sperm, flagellar beating, capacitation, acrosomal reaction, ion transporters

Introducción

La fecundación es un proceso biológico altamente regulado en el cual dos gametos: el óvulo y el espermatozoide, se fusionan permitiendo la formación de un nuevo individuo. En los mamíferos, la fecundación involucra el viaje del espermatozoide (Figura 1A) a través del tracto reproductor femenino

hasta la región donde se localiza el óvulo maduro (Figura 1B). Durante este trayecto, el espermatozoide sufre cambios bioquímicos (p. ej., la fosforilación de proteínas), fisiológicos (p. ej., el incremento de Ca^{2+} intracelular) y morfológicos (p. ej., la reacción acrosomal), que son cruciales para una fecundación exitosa (1).

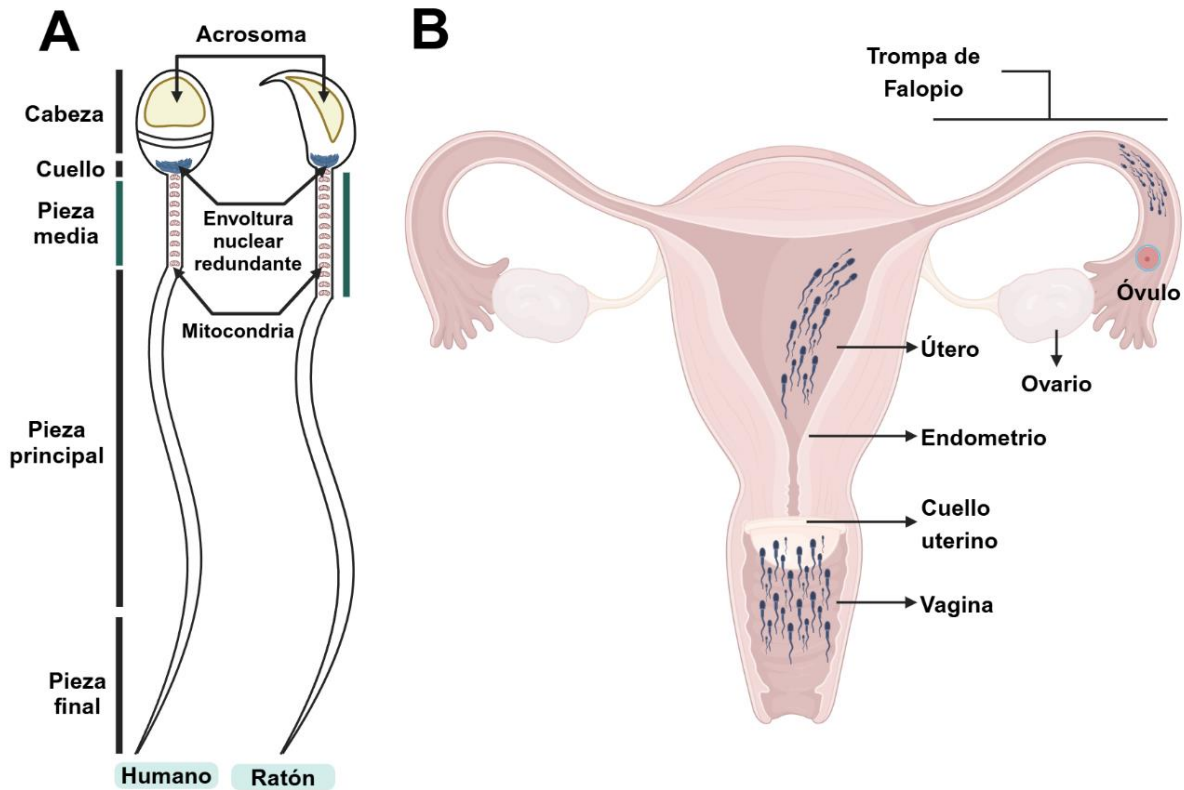


Figura 1. Morfología del espermatozoide y su viaje a través del tracto reproductor femenino. A. Se muestra una representación de la morfología del espermatozoide de humano y ratón. El acrosoma y el núcleo se localizan en la cabeza, ambos rodeados por una pequeña cantidad de citoplasma (el núcleo no se muestra para facilitar la visibilidad del acrosoma). En el cuello se localiza la envoltura nuclear redundante (la gota citoplasmática no se muestra para facilitar la visibilidad de la envoltura nuclear redundante). El flagelo se divide en tres partes: la pieza media (región donde se localizan las mitocondrias), la pieza principal y la pieza final. A lo largo de la pieza media y principal se encuentra el axonema, el cual provee de movimiento a la célula. B. Representación esquemática del viaje del espermatozoide de humano a través del tracto genital femenino. Figura creada usando BioRender.

El espermatozoide almacenado en el epidídimo es incapaz de fecundar al óvulo. Esta capacidad la adquiere en un proceso de maduración conocido como capacitación (1–3). La capacitación ocurre en el tracto genital femenino y comprende una serie de eventos moleculares que preparan a la célula para poder llevar a cabo un evento excitotico único llamado reacción acrosomal (RA) (Figura 2). Durante este proceso de maduración la albumina y otras proteínas reducen el contenido de colesterol de la membrana plasmática del espermatozoide de mamífero. Lo anterior disminuye la rigidez de su

membrana plasmática y reorganiza a otros lípidos y proteínas de esta membrana. A la par, durante la capacitación, el batido flagelar del espermatozoide cambia de una forma activa y simétrica a una hiperactiva y asimétrica. Esta última es muy propulsiva y le permite al espermatozoide despegarse de ciertos sitios del tejido epitelial del oviducto para alcanzar y fecundar al óvulo (1). La capacitación del espermatozoide se puede realizar *in vitro* en el laboratorio usando un medio que contenga Ca^{2+} , HCO_3^- y albumina.

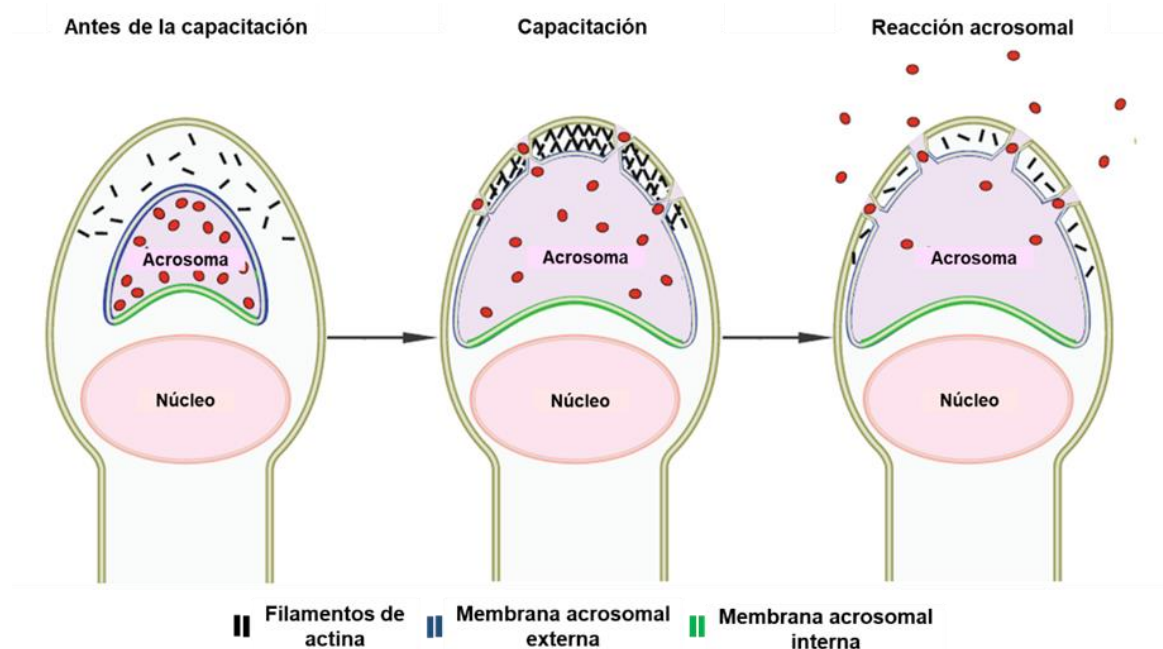


Figura 2. Modelo de la reacción acrosomal en el espermatozoide. La capacitación tiene lugar en el tracto genital femenino y prepara al espermatozoide para llevar a cabo la reacción acrosomal (RA). La RA es un proceso exocitótico que involucra múltiples eventos de fusión entre la membrana plasmática del espermatozoide y sitios específicos de la membrana externa del acrosoma. A diferencia de otros procesos exocitóticos, en la RA no se lleva a cabo el reciclaje de membrana de ahí que este proceso sea único e irreversible. Los gránulos de color rojo representan iones de Ca^{2+} . Figura elaborada con base en: (4, 5).

Un aspecto fundamental del mecanismo de comunicación entre el espermatozoide y el óvulo es la regulación de la permeabilidad iónica a través de la membrana plasmática y los organelos intracelulares. El flujo de iones (p. ej., Ca^{2+} , K^+ y HCO_3^-) a través de los intercambiadores, las bombas dependientes de adenosín trifosfato (ATP) y los canales iónicos, contribuyen a la maduración del espermatozoide. Al mismo tiempo, estas entidades mantienen la homeostasis iónica durante el estado quiescente de la célula (6–8). Por lo tanto, la identificación de estos transportadores de iones es crucial para entender los mecanismos moleculares que subyacen a la fecundación.

Gradientes de iones en el espermatozoide y como estudiarlos

En el espermatozoide, los transportadores de iones se regulan por factores fisiológicos (p. ej., la temperatura, el pH, la progesterona en el tracto) y no fisiológicos (p. ej., compuestos que modifican el pH externo o interno, o la permeabilidad iónica como los ionóforos) (6, 9). Se ha reportado que la entrada de Ca^{2+} extracelular, el incremento del pH intracelular (pH_i) y la liberación de Ca^{2+} desde los reservorios intracelulares, como la envoltura nuclear redundante (ENR), desencadenan la motilidad hiperactiva del flagelo durante la capacitación (6). De igual forma, la

RA depende de un incremento en la concentración de Ca^{2+} citoplásmico ($[\text{Ca}^{2+}]_i$) y del pH_i (6, 10). Recientes hallazgos en nuestro laboratorio muestran que la alcalinización del pH acrosomal (pH_a) que ocurre durante la capacitación (10, 11), estimula la liberación de Ca^{2+} desde el acrosoma promoviendo la RA. Esta alcalinización del pH_a se puede inducir exponiendo a los espermatozoides a bases débiles permeables como las aminas secundarias hidrofóbicas (9, 12).

Estudiar y caracterizar a los transportadores de iones expresados en el espermatozoide es una tarea ardua que requiere una amplia gama de técnicas moleculares, inmunológicas, electrofisiológicas, bioquímicas y de microscopía. En principio, el progreso en la identificación de estos transportadores se debe en gran medida a un método electrofisiológico llamado “patch-clamp”. En el espermatozoide, la medición de las corrientes iónicas mediante “patch-clamp” se hace obteniendo un sello de alta resistencia entre un microelectrodo y la membrana plasmática, en la gota citoplasmática. La gota citoplasmática se genera durante la maduración del espermatozoide en la espermatogénesis y sirve para eliminar componentes celulares que el espermatozoide maduro ya no necesitará (Figura 3) (6, 13).

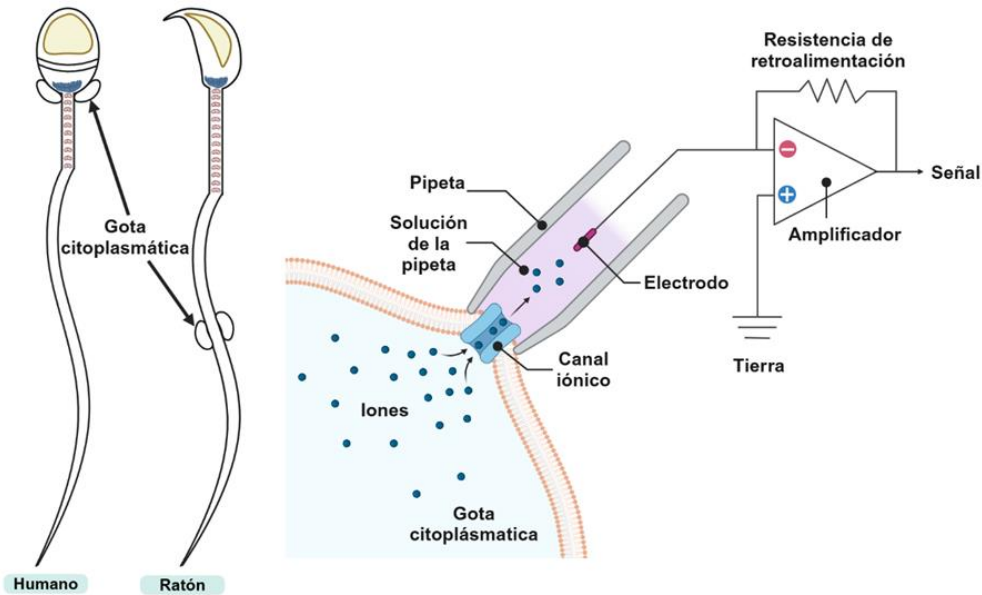


Figura 3. Los transportadores de iones electrogénicos en el espermatozoide se pueden estudiar usando electrofisiología. El “patch-clamp” es un método electrofisiológico en el que se usa una pipeta de vidrio con una punta con un orificio de fracciones de micra, la cual contiene en su interior un electrodo de metal. Esta pipeta se llena de solución de registro para establecer un sello de alta resistencia eléctrica y mecánica con la gota citoplasmática del espermatozoide. Para registrar las corrientes de toda la célula es necesario romper con pulsos cortos de voltaje la membrana plasmática que está dentro de la pipeta sin perder el sello con la célula. En el baño se conecta el electrodo de tierra. Figura creada usando BioRender.

La microscopía de fluorescencia también ha sido crucial para comprender el transporte de iones en el espermatozoide, ya que permite medir su concentración en el citosol y estimar su contenido en pozas intracelulares (Figura 4). En particular, las sondas fluorescentes sintéticas sensibles a iones específicos como el Ca^{2+} , permiten evaluar los cambios celulares de dichos iones durante periodos largos o tan cortos como milisegundos y con precisión espacial de micras o menos (14). Estas moléculas consisten en un fluoróforo (p. ej., la fluoresceína) unido químicamente a un motivo

quelante del ion a estudiar (p. ej., el BAPTA, un ácido aminopolarcarboxílico quelante de Ca^{2+} ; $K_d = 110$ nM). La esterificación de los carboxilos del agente quelante lo hace parcialmente hidrofóbico, permitiendo a la sonda atravesar la membrana celular. Dentro de la célula, los ésteres se hidrolizan gracias a las esterasas y el ácido queda libre, básicamente imposibilitado para salir (15). Los indicadores fluorescentes sintéticos varían en sus propiedades, tales como la afinidad por el ion, características espectrales, permeabilidad celular y capacidades radiométricas (16)

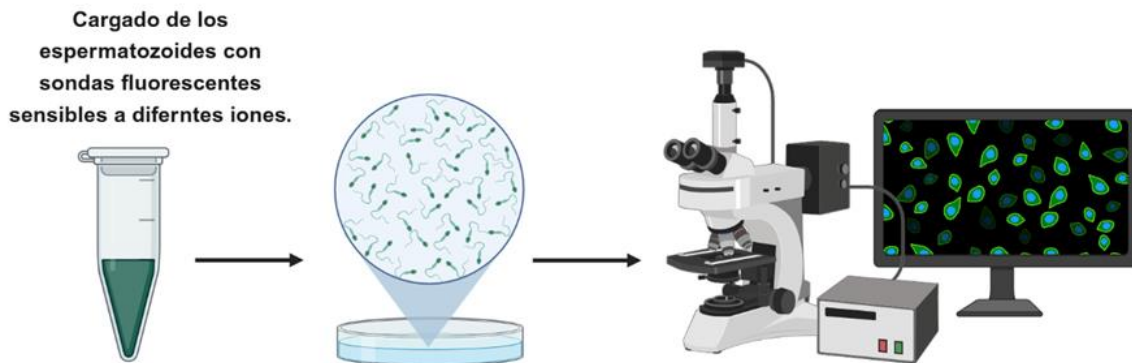


Figura 4. Los flujos iónicos en el espermatozoide se pueden estudiar usando microscopía de fluorescencia. Los espermatozoides se colectan e incuban con la sonda fluorescente. Posteriormente, las células se recuperan mediante centrifugación, se resuspenden en medio de registro y se mantienen en la oscuridad durante el experimento. Una vez cargados los espermatozoides se adhieren a un cubreobjeto que se monta en una cámara para realizar el registro en el microscopio de fluorescencia. La sonda fluorescente al unirse a un ión específico experimenta un cambio en sus propiedades fluorescentes. La afinidad de la sonda por un ión específico se mide cuantitativamente a través de la constante de disociación (K_d), en donde un valor de K_d más bajo indica una mayor afinidad entre las moléculas. Figura creada usando BioRender.

El uso del “patch-clamp” y los indicadores fluorescentes son herramientas indispensables para estudiar e identificar a los transportadores de iones expresados en el espermatozoide. Otra herramienta para estudiar a los transportadores iónicos es la farmacología. Hoy en día existe una amplia gama de inhibidores, pero siempre hay que hacer experimentos control para establecer su especificidad. La posibilidad de eliminar genéticamente a un transportador iónico específico, cuando es posible, puede demostrar su contribución a la homeostasis

iónica de la célula. Sin embargo, los mecanismos compensatorios pueden limitar esta estrategia (17).

Transporte de Ca^{2+} a través de la membrana plasmática

Un aumento en la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ es esencial para regular el batido flagelar hiperactivo, la capacitación y la RA. En el espermatozoide se han descrito varios mecanismos que regulan la dinámica espacial y temporal de los niveles de Ca^{2+} citosólico (Figura 5) (6, 18–20).

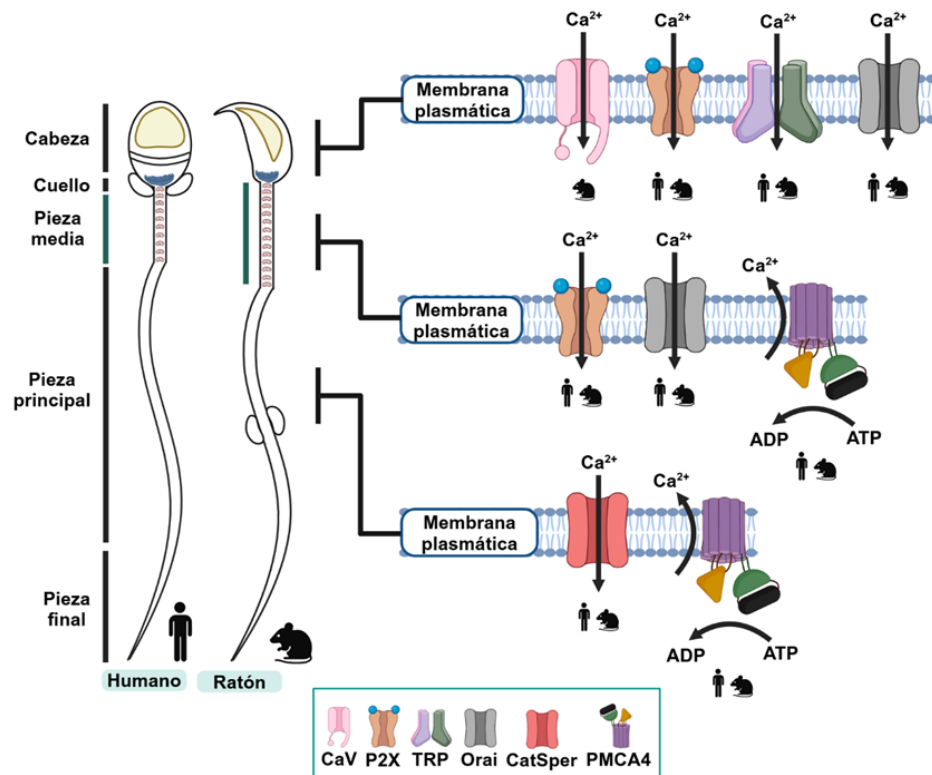


Figura 5. Transporte de Ca^{2+} en la membrana plasmática del espermatozoide. Se muestran los transportadores que regulan la entrada de Ca^{2+} extracelular en la célula. Las bombas PMCA4 remueven el Ca^{2+} del citosol restaurando los niveles basales de Ca^{2+} . Abreviaturas: CaV : canales de Ca^{2+} voltaje dependientes; P2X: receptores purinérgicos; TRP: receptores de potencial transitorio; Orai: subunidad de los canales de Ca^{2+} operados por reservorios de Ca^{2+} intracelulares; CatSper, canal de Ca^{2+} específico del espermatozoide; PMCA4: bombas de Ca^{2+} de la membrana plasmática. Las figuras del humano y ratón indican la especie donde están presentes los transportadores. Modificado de: (46). Figura creada usando BioRender.

El canal de Ca^{2+} específico del espermatozoide, CatSper, se expresa en cuatro bandas a lo largo de la pieza principal del flagelo (21). Este canal se considera el sitio predominante de entrada de Ca^{2+} extracelular a la célula. Las señales de Ca^{2+} generadas por los canales CatSper impactan en casi todos los eventos moleculares que le permiten al espermatozoide fecundar al óvulo, y su ausencia origina infertilidad. Los canales CatSper responden a diferentes estímulos (p. ej., un incremento del pH_i) y se inhiben y/o activan por múltiples moléculas como la progesterona (Pg) (21). En el espermatozoide de humano se ha reportado que la Pg activa a CatSper

mediante un mecanismo que involucra la hidrólisis del 2-araquidonilglicerol, un endocannabinoide que mantiene secuestrado a estos canales (22, 23). El incremento en la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ originado por la Pg promueve el batido flagelar hiperactivo y se ha propuesto, aun cuando hay controversia, que desencadena la RA (24, 25). En contraste, en el espermatozoide de ratón, la Pg induce un aumento transitorio en la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ en la cabeza promoviendo la RA (26). No obstante, no se conoce en detalle cómo la Pg dispara la RA en el espermatozoide de ratón. La Pg también induce el batido flagelar hiperactivado en estas células (27). Nuestro laboratorio ha propuesto que el adenosín

monofosfato cíclico (AMPC), también regula a los canales CatSper en el espermatozoide de ratón y su efecto es mediado por la proteína quinasa A (PKA) (28). De manera interesante, el ratón carente de la subunidad catalítica Ca_2 de la PKA es infértil y sus espermatozoides exhiben defectos asociados con la capacitación (29).

Otras entidades moleculares que posiblemente contribuyen en la regulación de los flujos de Ca^{2+} extracelular en el espermatozoide son los receptores de potencial transitorio (TRPs) como la melastatina 8 (TRPM8). Los TRPM8 son canales catiónicos no selectivos, dependientes de voltaje que se activan principalmente con temperaturas frías y ciertos compuestos refrescantes como el mentol (30). En el espermatozoide de humano y ratón, los TRPM8 se localizan en la cabeza y el flagelo. Los agonistas de estos canales son capaces de inducir la RA en la célula de humano, sin embargo, los inhibidores no afectan la RA estimulada por la Pg y zona pelúcida (Zp) (30). En contraste, en el espermatozoide de ratón, los antagonistas de los TRPM8 bloquean parcialmente la RA inducida por Pg y Zp (31). Estos resultados sugieren que, en las células de humano, los TRPM8 podría participar principalmente en la quimiotaxis y termotaxis de la célula, mientras que, en el ratón, contribuiría al incremento de Ca^{2+} intracelular que desencadena la RA. Por otra parte, se ha propuesto que los TRP2 también participan en las señales de Ca^{2+} inducidas por la Zp que estimulan la RA en el espermatozoide de ratón (32).

Por su parte, los receptores purinérgicos (P2X) cuya activación depende de la adenosina y el ATP, también parecen contribuir de manera significativa en la regulación de los flujos de Ca^{2+} en el espermatozoide. Los receptores P2X se localizan en la cabeza y en la pieza media del espermatozoide de humano y de ratón (33). En particular, la activación de los receptores P2X4 induce un aumento en la $[\text{Ca}^{2+}]_i$, este incremento de Ca^{2+} conduce a un cambio en el volumen de la cabeza del espermatozoide de humano, que contribuiría al hinchamiento del acrosoma, un paso crucial durante la RA en esta célula (34).

Los canales de Ca^{2+} voltaje dependientes (CaV) son otra vía de ingreso de Ca^{2+} extracelular y se ha reportado que se localizan en la cabeza y el flagelo del espermatozoide de ratón. Su presencia sigue siendo cuestionada en el campo. Estos canales modulan la entrada de Ca^{2+} en respuesta a la despolarización de la membrana. Se ha propuesto que el canal CaV2.3 contribuye en los transitorios de Ca^{2+} que promueven la RA inducida por la Zp y el batido flagelar hiperactivo durante la capacitación (35, 36).

Por otra parte, la entrada de Ca^{2+} operada por los reservorios de Ca^{2+} intracelulares es una vía importante de influjo de Ca^{2+} extracelular en el espermatozoide (6, 9, 37). Las proteínas Orail son una subunidad de los canales de Ca^{2+} operados por reservorios de Ca^{2+} intracelulares (SOC) y se activan por la liberación de Ca^{2+} desde pozas ácidas (p. ej., el acrosoma). También se ha propuesto que estos canales se estimulan por receptores acoplados a la proteína G (12, 38). La proteínas Orail se localizan en la cabeza y pieza media del flagelo en el espermatozoide de humano y ratón (18, 39). Estas entidades moleculares contribuyen al hinchamiento del acrosoma durante la RA estimulada por Pg en el espermatozoide de humano (40). Además, el ratón carente de esta proteína es infértil y sus espermatozoides tiene graves defectos en el batido flagelar. Este ratón presenta una notable reducción del número de espermatozoides. Lo anterior sugiere que, a diferencia de CatSper, las proteínas Orail son necesarias para el desarrollo de gametos en los túbulos seminíferos de los testículos y para la integridad de la célula durante su maduración en el epidídimo (41).

A la par, tras un aumento en la $[\text{Ca}^{2+}]_i$, las bombas de Ca^{2+} de la membrana plasmática (PMCA) contribuyen a restablecer los niveles basales de Ca^{2+} intracelular. En particular, las PMCA4 localizadas en la pieza principal del flagelo del espermatozoide de ratón. Estas bombas son esenciales para restaurar los niveles de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ y el batido flagelar, por lo anterior, su ausencia conduce a problemas de infertilidad (42–44). Recientemente, en el espermatozoide de humano, se ha propuesto que los flujos de Ca^{2+} podrían estar controlados por la interacción funcional entre los canales CatSper y las bombas PMCA, es decir, que el equilibrio de entrada de Ca^{2+} y la exportación de Ca^{2+} es esencial para la función de esta célula (45)

Regulación de los flujos de Ca^{2+} en los reservorios intracelulares

La retroalimentación a través de la liberación de Ca^{2+} desde los organelos intracelulares como el acrosoma (47–49), la ENR (18, 50) y las mitocondrias (51) también contribuye al mantenimiento del batido flagelar hiperactivo y la RA (Figura 6).

El acrosoma es un organelo relacionado con los lisosomas; se localiza en la cabeza del espermatozoide y se considera el principal depósito de Ca^{2+} en la célula (47–49, 52). Por otra parte, se ha propuesto que la ENR y las mitocondrias fungan como almacenes pequeños de este catión (18, 50, 51). Aún no está claro cómo estos organelos transportan el Ca^{2+} citosólico hacia su espacio luminal, pero se ha

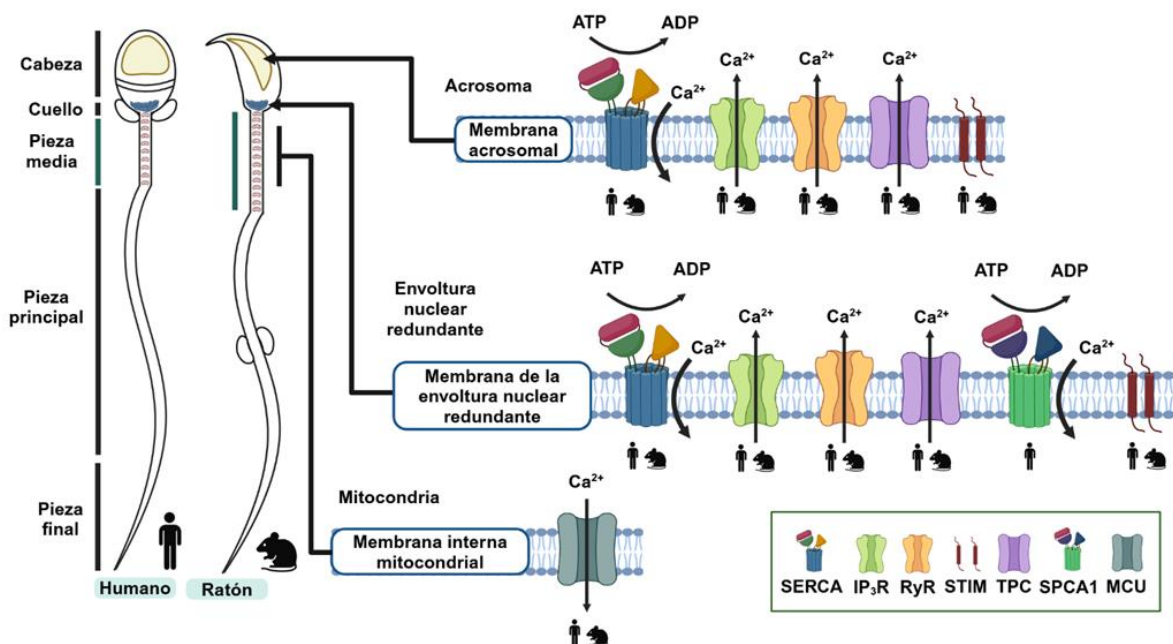


Figura 6. Regulación de los flujos de Ca^{2+} en los organelos intracelulares del espermatozoide. Se muestran los transportadores que regulan el eflujo de Ca^{2+} desde el acrosoma, la envoltura nuclear redundante y la mitocondria. Las bombas SERCA y SPCA1 remueven el Ca^{2+} del citosol hacia el lumen de los organelos contribuyendo a restaurar los niveles basales de Ca^{2+} . Abreviaturas: SERCA: bombas ATPasas del retículo sarco/endoplásmico; IP_3R : receptores de IP_3 ; RyR: receptores de rianodina; STIM: subunidad de los canales de Ca^{2+} operados por reservorios de Ca^{2+} intracelulares; TPC: canales de dos poros; SPCA1: bombas ATPasas de la vía secretora 1; MCU: uniportador de Ca^{2+} mitocondrial. Modificado de: (46). Figura creada usando BioRender

propuesto que las ATPasas y los canales de Ca^{2+} pueden contribuir a la captación de este ion (6, 18). Las bombas de Ca^{2+} o ATPasas del retículo sarco/endoplásmico (SERCA), se localizan en el acrosoma y la ENR del espermatozoide de humano y ratón (53, 54). Estas entidades moleculares transportan al lumen del organelo 2 iones Ca^{2+} por cada ciclo de hidrólisis de ATP (55). La inhibición de las bombas SERCA (p. ej., usando tapsigargina) promueve el incremento de la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ que contribuye al batido flagelar hiperactivo e induce la RA en el espermatozoide de humano y ratón (49, 53, 54).

Por su parte, las bombas de Ca^{2+} -ATPasas de la vía secretora 1 (SPCA1) solo se han detectado y observado en la ENR del espermatozoide de humano (56). Su expresión también se confirmó mediante proteómica (57, 58). A diferencia de las bombas SERCA que tienen 2 sitios de alta afinidad para el Ca^{2+} , las bombas SPCA1 solo transportan un Ca^{2+} por cada ciclo de hidrólisis de ATP. Las bombas SPCA1 contribuyen a mantener las oscilaciones de Ca^{2+} espontáneas e inducidas por la Pg, las cuales regulan la motilidad hiperactiva del flagelo y la RA (50, 59).

El uniportador de Ca^{2+} mitocondrial 1 (MCU1) permite el ingreso de Ca^{2+} a la matriz mitocondrial tras un aumento de Ca^{2+} en el citosol (60). En el espermatozoide de humano, la expresión del MCU1

se ha confirmado mediante proteómica (57, 58). Se ha demostrado mediante farmacología que MCU1 parece participar en la vía de muerte celular en esta célula. También se ha propuesto que está involucrado en la regulación de la concentración de Ca^{2+} mitocondrial durante la capacitación del espermatozoide de ratón (61–63).

Por otra parte, existe evidencia de que los receptores de inositol 1,4,5-trifosfato (IP_3) (IP_3R) (47, 48, 64), los receptores de rianodina (RyR) (48, 56, 65) y los canales de dos poros (TPC) (66, 67) regulan el eflujo de Ca^{2+} desde el acrosoma y la ENR en el espermatozoide de humano y de ratón.

La función de los IP_3R está regulada por el IP_3 , un segundo mensajero soluble en agua que se produce principalmente a través de la hidrólisis del fosfatidilinositol 4,5-bisfosfato por la fosfolipasa C, tras la activación de los receptores acoplados a proteína G (68). Los IP_3R contribuyen al incremento de Ca^{2+} que regulan el batido flagelar hiperactivo y la RA (6).

Se sabe que los RyR normalmente están cerrados a bajas $[\text{Ca}^{2+}]_i$ (100-200 nM), sin embargo, cuando la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ aumenta, se une a sitios de unión de alta afinidad para Ca^{2+} en el receptor, lo que aumenta la probabilidad de su apertura (69). Experimentos farmacológicos sugieren que los RyRs están

involucrados en el mantenimiento de las oscilaciones de Ca^{2+} en el espermatozoide de humano (50).

Los TPC1 son selectivos a Na^+ pero tienen una permeabilidad al Ca^{2+} relativamente baja que es fisiológicamente relevante en la célula. Los TPC1 participan en la movilidad de Ca^{2+} desde el acrosoma del espermatozoide de humano y en la RA en el espermatozoide de ratón (12, 66, 67).

Transportadores que contribuyen al mantenimiento del pH_i y pH_a

Durante la capacitación, la entrada de HCO_3^- promueve el incremento del AMPc, pH_i , pH_a y la $[\text{Ca}^{2+}]_i$ en el espermatozoide de humano y ratón (Figura 7) (6, 10, 11).

Se ha propuesto que los cotransportadores electrogénicos de $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$ (NBC) en el espermatozoide de humano y ratón, contribuyen a la regulación de los flujos de HCO_3^- . Los NBC actúan como una de las primeras vías de transporte de HCO_3^- , que es requerido para la activación de las vías de señalización dependientes de este anión durante la capacitación, tales como la hiperpolarización de la membrana plasmática y la fosforilación de tirosinas (70, 71). No obstante, la localización de los NBC no se ha establecido y se ha propuesto que quizá el HCO_3^- entre al espermatozoide como CO_2 y dentro se convierte en HCO_3^- (72).

Vale la pena mencionar que los intercambiadores de aniones (AE) son importantes para el transporte de HCO_3^- a través de la membrana plasmática del espermatozoide. En particular, la inhibición del intercambiador $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ durante la capacitación del espermatozoide de ratón bloquea el incremento del pH_a (10). Este intercambiador se localiza en el segmento ecuatorial de la cabeza del espermatozoide (7). Por otra parte, los canales aniónicos reguladores de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR) que transportan Cl^- y HCO_3^- , pueden contribuir al incremento del pH_i en el espermatozoide (73). Los canales CFTR se localizan en el segmento ecuatorial de la cabeza y la pieza media del flagelo del espermatozoide humano y de ratón (74). En estas células, los antagonistas de los canales CFTR reducen la hiperactividad del batido flagelar, el cambio en el potencial de membrana asociado a la capacitación y la RA (7, 71, 74–76). Los transportadores Na^+/H^+ (NHE) son proteínas que también regulan el pH_i de manera electroneutra, usando el gradiente de Na^+ entrante para exportar H^+ al medio extracelular. En el espermatozoide de ratón se ha propuesto que el NHE1 contribuye al aumento del pH_i y a la hiperpolarización asociada a la capacitación (77, 78). Por otra parte, el NHE específico del espermatozoide (sNHE) es esencial para la fertilidad en el humano y ratón. Sin

embargo, hasta el momento se sabe muy poco acerca de la presencia, distribución y función de estas proteínas en el espermatozoide maduro (79, 80).

Por otra parte, los canales de H^+ voltaje dependientes (Hv1) son altamente selectivos para H^+ y su actividad es regulada por diversos mecanismos, incluyendo el gradiente de H^+ a través de la membrana plasmática. Cuanto mayor sea el gradiente, menor será el potencial de membrana necesario para inducir un aumento en la conductancia del canal (81, 82). Después de su activación, los Hv1 permiten la salida de H^+ hacia el medio extracelular causando un aumento del pH_i . Estas entidades moleculares se encuentran en la pieza principal del flagelo del espermatozoide humano (83, 84). Es notable que el espermatozoide de ratón carece de esta proteína, lo que sugiere una distinción específica de la especie. En particular, durante la capacitación, los antagonistas de los Hv1 inhiben la motilidad hiperactiva del flagelo y el patrón de nado ondulante en el espermatozoide de humano (84, 85). Estos resultados sugieren que Hv1 podría estar regulando la actividad de los canales CatSper alcalinizando pH_i (7). Adicionalmente, se ha encontrado una variante específica de los Hv1 en el espermatozoide de humano llamada Hv1Sper. Esta isoforma puede formar dímeros funcionales con monómeros de Hv1; su activación ocurre a voltajes más hiperpolarizados en presencia de gradientes de pH (86).

En el acrosoma del espermatozoide de humano (datos no publicado del laboratorio) y ratón (87), las bombas ATPasas de H^+ de la vacuola (vATPasa) contribuyen a la regulación del pH_a (67, 87). Estas ATPasas transportan H^+ desde el citosol hacia el lumen del organelo utilizando la energía del ATP. Se ha observado que la inhibición de las bombas vATPasas durante la capacitación contribuye al incremento del pH_a en ambas especies (10, 11).

Regulación de los flujos de Cl^- en la membrana plasmática

El Cl^- desempeña un papel importante en la fisiología del espermatozoide. La incubación de la célula en un medio carente de este anión inhibe varios procesos relacionados con la capacitación, tales como el batido hiperactivo del flagelo y la exocitosis del acrosoma. Lo anterior impide que el espermatozoide pueda fecundar al óvulo (88, 89).

En principio, los iones Cl^- y HCO_3^- pueden compartir una vía de transporte común en algunos canales como el CFTR y otros transportadores. Se ha propuesto que los canales CFTR contribuyen al reciclaje de los iones Cl^- facilitando el transporte de HCO_3^- mediado por el intercambiador $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ (Figura 7) (90).

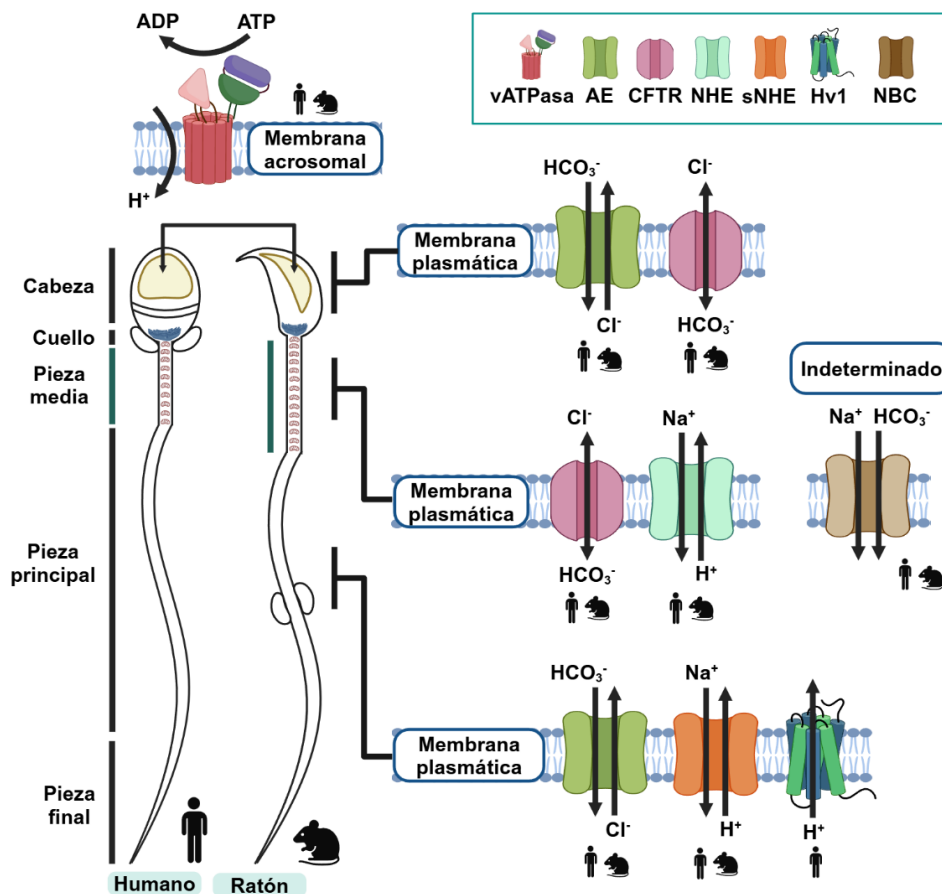


Figura 7. Transportadores que participan en el mantenimiento del pH_i y pH_a en el espermatozoide. Se muestran los transportadores que regulan los flujos de HCO_3^- y H^+ en la célula. Las bombas ATPasa de H^+ vacuolar (vATPasa) mantienen el pH ácido del acrosoma. Los intercambiadores de aniones y los canales CFTR también contribuyen en la regulación de los flujos de Cl^- . Como se incluyeron aquí ya no se representarán en la figura de transporte de Cl^- . Abreviaturas: AE: intercambiadores de aniones; CFTR: canales aniónicos reguladores de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística; NHE: intercambiadores Na^+/H^+ ; sNHE: NHE específico del espermatozoide; Hv1: canales de H^+ voltaje dependientes; NBC: cotransportadores electrogénicos de Na^+/HCO_3^- . Modificado de: (7, 46). Figura creada usando BioRender.

Los canales de Cl^- (CLC) también participan en la capacitación del espermatozoide. Los CLC presentan una alta selectividad por este anión y contribuyen en el mantenimiento del potencial de membrana en reposo y la regulación del volumen celular, además, modulan el pH de los compartimentos intracelulares (91). El CLC-3 localizado en la parte media del espermatozoide de humano, desempeña un papel importante en la regulación del volumen celular y el batido flagelar hiperactivo durante la capacitación (Figura 8) (92).

Adicionalmente, los canales de cloro activados por Ca^{2+} (CaCC) también contribuyen a el flujo de Cl^- en el espermatozoide. Nuestro grupo fue de los primeros en el mundo en registrar actividad de canales individuales en el espermatozoide y uno de ellos era de Cl^- (93). La activación de estos canales depende de los niveles de Ca^{2+} intracelulares, la proteína quinasa II dependiente de Ca^{2+} /calmodulina

o del monofosfato de guanosina cíclico (94). Los canales anoctamin-1 (ANO1), también conocidos como TMEM16A, son un CaCC que se localiza en la cabeza del espermatozoide y se ha propuesto que participa en la RA del espermatozoide de humano (Figura 8) (95).

Transporte de K^+ a través de la membrana plasmática

En el espermatozoide, los canales de K^+ están principalmente involucrados en controlar el potencial de membrana del cual dependen varias funciones, entre ellas el inicio de la motilidad de la célula durante la eyaculación, el desarrollo del batido flagelar hiperactivo, la capacitación y por ende la RA (96). Durante la capacitación, la permeabilidad a K^+ aumenta, lo que promueve la hiperpolarización de la membrana plasmática, que es necesaria para elevar el pH_i , entre otras cosas (Figura 8) (97).

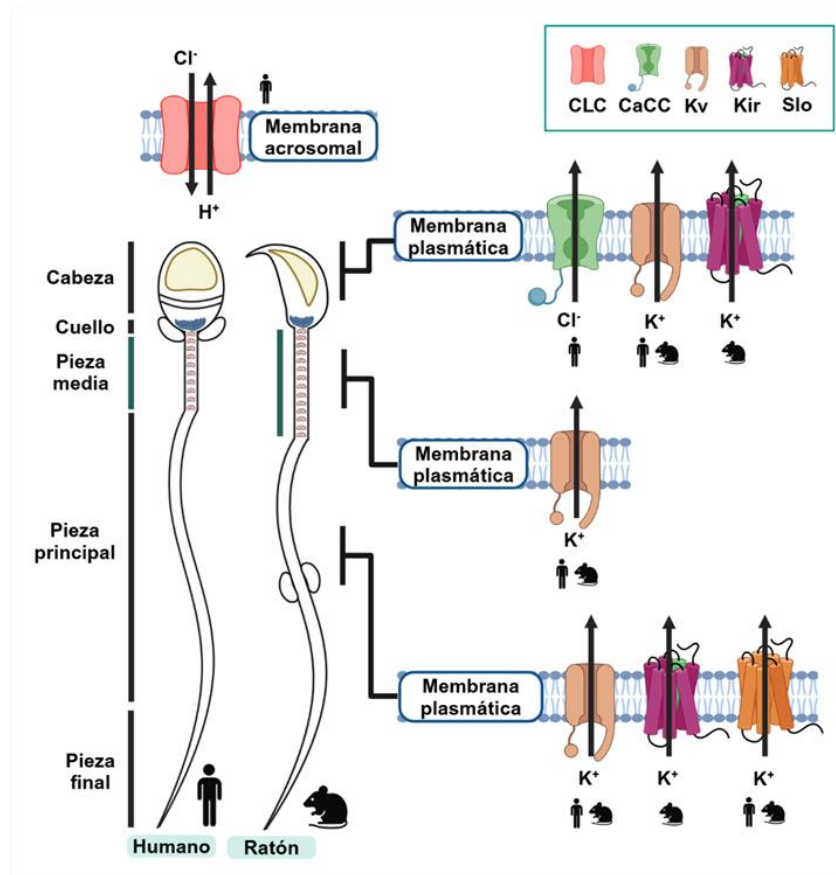


Figura 8. Transportadores de Cl^- y K^+ que contribuyen a la capacidad fecundante del espermatozoide. Se muestran los transportadores que regulan los flujos de Cl^- y K^+ durante la capacitación del espermatozoide. Abreviaturas: CLC: canales de Cl^- ; CaCC: canales de Cl^- activados por Ca^{2+} ; Kv: canales de K^+ dependientes de voltaje; Kir: canales de K^+ rectificadores de entrada; Slo: canales de K^+ dependientes de Ca^{2+} . Modificado de: (7, 46). Figura creada usando BioRender.

Los canales de K^+ dependientes de voltaje (Kv) se activan por una despolarización de la membrana plasmática, la salida de iones K^+ permite repolarizar el potencial de membrana. En el espermatozoide de humano se ha reportado que los canales Kv1.5 y Kv7.1 se localizan en la región post acrosomal y en el cuello, respectivamente (98, 99). Por otra parte, los canales Kv1.1, Kv1.2 se localizan en la cabeza del espermatozoide de ratón, mientras que los canales Kv3.1 se expresan en el flagelo (100). Todas estas entidades moleculares, junto con otros canales permeables a K^+ , contribuyen en la regulación del volumen celular durante su maduración en el epidídimo y después de la eyaculación. Como mencionamos, la salida de K^+ a través de estos canales hiperpolariza a la membrana. Este cambio de potencial eléctrico es necesario para la capacitación y la RA del espermatozoide de humano y ratón (8, 98–100).

Por otra parte, los canales de K^+ rectificadores de entrada (Kir) también se ha reportado que participan en la regulación de los flujos de este ion en el espermatozoide de ratón. Los Kir permiten el

movimiento de los iones K^+ hacia el interior de la célula con mayor facilidad que hacia el exterior. La actividad de los canales Kir es regulada por la hiperpolarización de la membrana en lugar de la despolarización, y se modulan mediante iones, fosfolípidos y proteínas de unión (101). Los canales Kir3.1 y Kir3.2 se localizan en la cabeza del espermatozoide de ratón, mientras que los canales Kir6.2 se encuentran en la pieza media del flagelo (100, 102, 103). Se ha propuesto que los canales Kir3.2 y Kir6.2 están involucrados en la capacitación y la RA (102, 103). La participación de los canales Kir3.1 aun no es del todo conocida, pero se propone que contribuye en los cambios del potencial de membrana durante la capacitación de la célula (8).

Por último, se considera que los canales de K^+ dependientes de Ca^{2+} , Slo1 y Slo3, son los principales reguladores de las corrientes de K^+ en el espermatozoide, por lo tanto, regulan la osmolaridad de la célula y el potencial de membrana (8). Los canales de la familia Slo son similares a los canales de K^+ dependientes de voltaje, sin embargo, estos son más versátiles ya que su rango de voltaje de

activación se puede modificar por factores que incluyen al Ca^{2+} , Na^+ , Cl^- , pH y fosforilación (104). En el espermatozoide de humano, los antagonistas de los canales Slo1 y Slo3 inhiben la hiperpolarización de la membrana plasmática durante la capacitación (105–107). Además, el espermatozoide de humano y ratón carente de la proteína Slo3 no puede llevar a cabo la RA ni fecundar (108, 109).

Conclusión

El estudio de los canales iónicos, transportadores iónicos y receptores en el espermatozoide ha mejorado significativamente nuestra comprensión sobre cómo funciona esta célula y los mecanismos que conducen a una exitosa fecundación. Estas entidades moleculares facilitan procesos críticos como el batido hiperactivo del flagelo, la capacitación y la RA. La intrincada interacción entre los

transportadores de iones en el espermatozoide resalta la complejidad e importancia de estas proteínas para mantener la homeostasis celular y responder a diversos estímulos durante su trayecto al óvulo. La investigación sobre la regulación de los flujos de iones en el espermatozoide continua promete proporcionar información valiosa sobre los procesos que suceden durante la fecundación y la oportunidad para el tratamiento de infertilidad masculina

Agradecimientos

Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT), Donativo CF-2023-I-291; Universidad Nacional Autónoma de México/PAPIIT-DGAPA, Donativos IN206925 y National Institute of Health (NIH) (RO1 HD380882).

Referencias

- Yanagimachi, R. (2022) Mysteries and unsolved problems of mammalian fertilization and related topics. *Biol Reprod.* **106**, 644–675
- AUSTIN, C. R. (1951) Activation and the correlation between male and female elements in fertilization. *Nature.* **168**, 558–9
- CHANG, M. C. (1951) Fertilizing capacity of spermatozoa deposited into the fallopian tubes. *Nature.* **168**, 697–8
- Mayorga, L. S., Tomes, C. N., and Belmonte, S. A. (2007) Acrosomal exocytosis, a special type of regulated secretion. *IUBMB Life.* **59**, 286–92
- Romarowski, A., Luque, G. M., La Spina, F. A., Krapf, D., and Buffone, M. G. (2016) Role of Actin Cytoskeleton During Mammalian Sperm Acrosomal Exocytosis. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* **220**, 129–44
- Darszon, A., Nishigaki, T., Beltran, C., and Treviño, C. L. (2011) Calcium channels in the development, maturation, and function of spermatozoa. *Physiol Rev.* **91**, 1305–55
- Chávez, J. C., Carrasquel-Martínez, G., Hernández-Garduño, S., Matamoros Volante, A., Treviño, C. L., Nishigaki, T., and Darszon, A. (2024) Cytosolic and Acrosomal pH Regulation in Mammalian Sperm. *Cells.* **13**, 865
- Delgado-Bermúdez, A., Yeste, M., Bonet, S., and Pinart, E. (2025) Physiological role of potassium channels in mammalian germ cell differentiation, maturation, and capacitation. *Andrology.* **13**, 184–201
- Chávez, J. C., De la Vega-Beltrán, J. L., José, O., Torres, P., Nishigaki, T., Treviño, C. L., and Darszon, A. (2018) Acrosomal alkalization triggers Ca^{2+} release and acrosome reaction in mammalian spermatozoa. *J Cell Physiol.* **233**, 4735–4747
- Nakanishi, T., Ikawa, M., Yamada, S., Toshimori, K., and Okabe, M. (2001) Alkalinization of acrosome measured by GFP as a pH indicator and its relation to sperm capacitation. *Dev Biol.* **237**, 222–31
- Carrasquel Martínez, G., Aldana, A., Carneiro, J., Treviño, C. L., and Darszon, A. (2022) Acrosomal alkalization occurs during human sperm capacitation. *Mol Hum Reprod.* **28**, gaac005. <https://doi.org/10.1093/molehr/gaac005>
- Oliver, E. I., Jabłoński, M., Buffone, M. G., and Darszon, A. (2023) Two-pore channel 1 and Ca^{2+} release-activated Ca^{2+} channels contribute to the acrosomal pH-dependent intracellular Ca^{2+} increase in mouse sperm. *J Physiol.* **601**, 2935–2958
- Kirichok, Y., Navarro, B., and Clapham, D. E. (2006) Whole-cell patch-clamp measurements of spermatozoa reveal an alkaline-activated Ca^{2+} channel. *Nature.* **439**, 737–40
- Zajac, M., Modi, S., and Krishnan, Y. (2022) The evolution of organellar calcium mapping technologies. *Cell Calcium.* **108**, 102658
- Tsien, R. Y. (1981) A non-disruptive technique for loading calcium buffers and indicators into cells. *Nature.* **290**, 527–8
- Bootman, M. D., Rietdorf, K., Collins, T., Walker, S., and Sanderson, M. (2013) Ca^{2+} -sensitive fluorescent dyes and intracellular Ca^{2+} imaging. *Cold Spring Harb Protoc.* **2013**, 83–99
- Beltrán, C., Treviño, C. L., Mata-Martínez, E., Chávez, J. C., Sánchez-Cárdenas, C., Baker, M., and Darszon, A. (2016) Role of Ion Channels in the Sperm Acrosome Reaction. *Adv Anat Embryol Cell Biol.* **220**, 35–69
- Costello, S., Michelangeli, F., Nash, K., Lefievre, L., Morris, J., Machado-Oliveira, G., Barratt, C., Kirkman-Brown, J., and Publicover, S. (2009) Ca^{2+} -stores in sperm: their identities and functions. *REPRODUCTION.* **138**, 425–437
- Darszon, A., Nishigaki, T., López-González, I., Visconti, P. E., and Treviño, C. L. (2020) Differences and Similarities: The Richness of Comparative Sperm Physiology. *Physiology (Bethesda).* **35**, 196–208
- Yang, Y., Yang, L., Han, X., Wu, K., Mei, G., Wu, B., and Cheng, Y. (2024) The regulation role of calcium channels in mammalian sperm function: a narrative review with a focus on humans and mice. *PeerJ.* **12**, e18429
- Hwang, J. Y., and Chung, J.-J. (2023) CatSper Calcium Channels: 20 Years On. *Physiology.* **38**, 125–140
- Lishko, P. V., Botchkina, I. L., and Kirichok, Y. (2011) Progesterone activates the principal Ca^{2+} channel of human sperm. *Nature.* **471**, 387–91
- Miller, M. R., Mannowetz, N., Iavarone, A. T., Safavi, R., Gracheva, E. O., Smith, J. F., Hill, R. Z., Bautista, D. M., Kirichok, Y., and Lishko, P. V. (2016) Unconventional endocannabinoid signaling governs sperm activation via the sex hormone progesterone. *Science.* **352**, 555–559
- Coy, P., García-Vázquez, F. A., Visconti, P. E., and Avilés, M. (2012) Roles of the oviduct in mammalian fertilization. *REPRODUCTION.* **144**, 649–660

25. Tamburrino, L., Marchiani, S., Muratori, M., Luconi, M., and Baldi, E. (2020) Progesterone, spermatozoa and reproduction: An updated review. *Mol Cell Endocrinol.* **516**, 110952
26. Romarowski, A., Sánchez-Cárdenas, C., Ramírez-Gómez, H. V., Puga Molina, L. del C., Treviño, C. L., Hernández-Cruz, A., Darszon, A., and Buffone, M. G. (2016) A Specific Transitory Increase in Intracellular Calcium Induced by Progesterone Promotes Acrosomal Exocytosis in Mouse Sperm. *Biol Reprod.* **94**, 63. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.136085>
27. Suzuki, R., and Fujinoki, M. (2023) Progesterone increases the success of in vitro fertilization via enhanced sperm hyperactivation in mice. *Journal of Reproduction and Development.* **69**, 147–153
28. Orta, G., de la Vega-Beltrán, J. L., Martín-Hidalgo, D., Santi, C. M., Visconti, P. E., and Darszon, A. (2018) CatSper channels are regulated by protein kinase A. *Journal of Biological Chemistry.* **293**, 16830–16841
29. Nolan, M. A., Babcock, D. F., Wennemuth, G., Brown, W., Burton, K. A., and McKnight, G. S. (2004) Sperm-specific protein kinase A catalytic subunit Ca_v2 orchestrates cAMP signaling for male fertility. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* **101**, 13483–13488
30. De Blas, G. A., Darszon, A., Ocampo, A. Y., Serrano, C. J., Castellano, L. E., Hernández-González, E. O., Chirinos, M., Larrea, F., Beltrán, C., and Treviño, C. L. (2009) TRPM8, a Versatile Channel in Human Sperm. *PLoS One.* **4**, e6095
31. Martínez-López, P., Treviño, C. L., de la Vega-Beltrán, J. L., De Blas, G., Monroy, E., Beltrán, C., Orta, G., Gibbs, G. M., O'Bryan, M. K., and Darszon, A. (2011) TRPM8 in mouse sperm detects temperature changes and may influence the acrosome reaction. *J Cell Physiol.* **226**, 1620–31
32. Jungnickel, M. K., Marrero, H., Birnbaumer, L., Lemos, J. R., and Florman, H. M. (2001) Trp2 regulates entry of Ca²⁺ into mouse sperm triggered by egg ZP3. *Nat Cell Biol.* **3**, 499–502
33. López-González, I., Oseguera-López, I., Castillo, R., and Darszon, A. (2024) Influence of extracellular ATP on mammalian sperm physiology. *Reprod Fertil Dev.* **36**, RD23227. <https://doi.org/10.1071/RD23227>
34. López-González, I., Sánchez-Cárdenas, C., De la Vega-Beltrán, J. L., Alvarado-Quevedo, B., Ocelotl-Oviedo, J. P., González-Cota, A. L., Aldana, A., Orta, G., and Darszon, A. (2023) ATP increases head volume in capacitated human sperm via a purinergic channel. *Biochem Biophys Res Commun.* **671**, 318–326
35. O'Toole, C. M. B., Arnoult, C., Darszon, A., Steinhart, R. A., and Florman, H. M. (2000) Ca²⁺ Entry through Store-operated Channels in Mouse Sperm Is Initiated by Egg ZP3 and Drives the Acrosome Reaction. *Mol Biol Cell.* **11**, 1571–1584
36. Sakata, Y., Saegusa, H., Zong, S., Osanai, M., Murakoshi, T., Shimizu, Y., Noda, T., Aso, T., and Tanabe, T. (2002) Ca_v(v)2.3 (alpha1E) Ca²⁺ channel participates in the control of sperm function. *FEBS Lett.* **516**, 229–33
37. Brown, S. G., Publicover, S. J., Barratt, C. L. R., and Martins da Silva, S. J. (2019) Human sperm ion channel (dys)function: implications for fertilization. *Hum Reprod Update.* **25**, 758–776
38. Bakowski, D., Murray, F., and Parekh, A. B. (2021) Store-Operated Ca²⁺ Channels: Mechanism, Function, Pharmacology, and Therapeutic Targets. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* **61**, 629–654
39. Darszon, A., Sánchez-Cárdenas, C., Orta, G., Sánchez-Tusie, A. A., Beltrán, C., López-González, I., Granados-González, G., and Treviño, C. L. (2012) Are TRP channels involved in sperm development and function? *Cell Tissue Res.* **349**, 749–64
40. Sosa, C. M., Zanetti, M. N., Pocognoni, C. A., and Mayorga, L. S. (2016) Acrosomal Swelling is Triggered by cAMP Downstream of the Opening of Store-Operated Calcium Channels During Acrosomal Exocytosis in Human Sperm. *Biol Reprod.* **94**, 57. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.133231>
41. Davis, F. M., Goulding, E. H., D'Agostin, D. M., Janardhan, K. S., Cummings, C. A., Bird, G. S., Eddy, E. M., and Putney, J. W. (2016) Male infertility in mice lacking the store-operated Ca²⁺ channel Orai1. *Cell Calcium.* **59**, 189–197
42. Wennemuth, G., Babcock, D. F., and Hille, B. (2003) Calcium Clearance Mechanisms of Mouse Sperm. *J Gen Physiol.* **122**, 115–128
43. Okunade, G. W., Miller, M. L., Pyne, G. J., Sutliff, R. L., O'Connor, K. T., Neumann, J. C., Andringa, A., Miller, D. A., Prasad, V., Doetschman, T., Paul, R. J., and Shull, G. E. (2004) Targeted ablation of plasma membrane Ca²⁺-ATPase (PMCA) 1 and 4 indicates a major housekeeping function for PMCA1 and a critical role in hyperactivated sperm motility and male fertility for PMCA4. *J Biol Chem.* **279**, 33742–50
44. Schuh, K., Cartwright, E. J., Jankevics, E., Bundschu, K., Liebermann, J., Williams, J. C., Armesilla, A. L., Emerson, M., Oceandy, D., Knobloch, K.-P., and Neyses, L. (2004) Plasma Membrane Ca²⁺ ATPase 4 Is Required for Sperm Motility and Male Fertility. *Journal of Biological Chemistry.* **279**, 28220–28226
45. Herrmann, L., Brenker, C., Mittermair, T., Bojovic, V., Münchow, J., Zhu, W. F., Trügge, C., Fußhöller, D., Jikeli, J., Temme, L., Kaupp, U. B., and Strücker, T. (2025) Chemosensory signalling in human sperm is controlled by Ca²⁺ influx via CatSper and Ca²⁺ clearance via plasma membrane Ca²⁺ ATPases. *Br J Pharmacol.* **182**, 2694–2712
46. Sánchez-Cárdenas, C., Oliver, E. I., Chávez, J. C., Luque, G. M., Hernández-Cruz, A., Buffone, M. G., Darszon, A., Visconti, P. E., and Romarowski, A. (2025) Ion channels and transporters involved in calcium flux regulation in mammalian sperm. *Current Topics in Developmental Biology* **162**, 351–385. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2025.01.006>
47. Walensky, L. D., and Snyder, S. H. (1995) Inositol 1,4,5-trisphosphate receptors selectively localized to the acrosomes of mammalian sperm. *J Cell Biol.* **130**, 857–869
48. Treviño, C. L., Santi, C. M., Beltrán, C., Hernández-Cruz, A., Darszon, A., and Lomeli, H. (1998) Localisation of inositol trisphosphate and ryanodine receptors during mouse spermatogenesis: possible functional implications. *Zygote.* **6**, 159–72
49. Herrick, S. B., Schweissinger, D. L., Kim, S.-W., Bayan, K. R., Mann, S., and Cardullo, R. A. (2005) The acrosomal vesicle of mouse sperm is a calcium store. *J Cell Physiol.* **202**, 663–71
50. Mata-Martínez, E., Sánchez-Cárdenas, C., Chávez, J. C., Guerrero, A., Treviño, C. L., Corkidi, G., Montoya, F., Hernandez-Herrera, P., Buffone, M. G., Balestrini, P. A., and Darszon, A. (2021) Role of calcium oscillations in sperm physiology. *Biosystems.* **209**, 104524
51. Sánchez-Guevara, Y., Oliver, E. I., and Nishigaki, T. (2023) Ca²⁺ concentrations in mouse sperm mitochondria fluctuate according to the cytosol. *Reproduction.* **167**, e230237. <https://doi.org/10.1530/REP-23-0237>
52. Khawar, M. B., Gao, H., and Li, W. (2019) Mechanism of Acrosome Biogenesis in Mammals. *Front Cell Dev Biol.* **7**, 195. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00195>
53. Rossato, M., Di Virgilio, F., Rizzuto, R., Galeazzi, C., and Foresta, C. (2001) Intracellular calcium store depletion and acrosome reaction in human spermatozoa: role of calcium and plasma membrane potential. *Mol Hum Reprod.* **7**, 119–28
54. Lawson, C., Dorval, V., Goupil, S., and Leclerc, P. (2007) Identification and localisation of SERCA 2 isoforms in mammalian sperm. *Mol Hum Reprod.* **13**, 307–16
55. Wu, M., Wu, C., Song, T., Pan, K., Wang, Y., and Liu, Z. (2023) Structure and transport mechanism of the human calcium pump SPCA1. *Cell Res.* **33**, 533–545

56. Harper, C. V., Barratt, C. L. R., and Publicover, S. J. (2004) Stimulation of human spermatozoa with progesterone gradients to simulate approach to the oocyte. Induction of $[Ca^{2+}]_i$ oscillations and cyclical transitions in flagellar beating. *J Biol Chem.* **279**, 46315–25
57. Wang, G., Guo, Y., Zhou, T., Shi, X., Yu, J., Yang, Y., Wu, Y., Wang, J., Liu, M., Chen, X., Tu, W., Zeng, Y., Jiang, M., Li, S., Zhang, P., Zhou, Q., Zheng, B., Yu, C., Zhou, Z., Guo, X., and Sha, J. (2013) In-depth proteomic analysis of the human sperm reveals complex protein compositions. *J Proteomics.* **79**, 114–22
58. Greither, T., Dejung, M., Behre, H. M., Butter, F., and Herlyn, H. (2023) The human sperm proteome-Toward a panel for male fertility testing. *Andrology.* **11**, 1418–1436
59. Harper, C., Wootton, L., Michelangeli, F., Lefièvre, L., Barratt, C., and Publicover, S. (2005) Secretory pathway Ca^{2+} -ATPase (SPCA1) Ca^{2+} pumps, not SERCAs, regulate complex $[Ca^{2+}]_i$ signals in human spermatozoa. *J Cell Sci.* **118**, 1673–85
60. Pathak, T., and Trebak, M. (2018) Mitochondrial Ca^{2+} signaling. *Pharmacol Ther.* **192**, 112–123
61. Bejarano, I., Lozano, G. M., Ortiz, A., García, J. F., Paredes, S. D., Rodríguez, A. B., and Pariente, J. A. (2008) Caspase 3 activation in human spermatozoa in response to hydrogen peroxide and progesterone. *Fertil Steril.* **90**, 1340–7
62. Bravo, A., Treulen, F., Uribe, P., Boguen, R., Felmer, R., and Villegas, J. V. (2015) Effect of mitochondrial calcium uniporter blocking on human spermatozoa. *Andrologia.* **47**, 662–8
63. Ferreira, J. J., Cassina, A., Irigoyen, P., Ford, M., Pietroroia, S., Peramsetty, N., Radi, R., Santi, C. M., and Sapiro, R. (2021) Increased mitochondrial activity upon CatSper channel activation is required for mouse sperm capacitation. *Redox Biol.* **48**, 102176
64. Naaby-Hansen, S., Wolkowicz, M. J., Klotz, K., Bush, L. A., Westbrook, V. A., Shibahara, H., Shetty, J., Coonrod, S. A., Reddi, P. P., Shannon, J., Kinter, M., Sherman, N. E., Fox, J., Flickinger, C. J., and Herr, J. C. (2001) Co-localization of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor and calreticulin in the equatorial segment and in membrane bounded vesicles in the cytoplasmic droplet of human spermatozoa. *Mol Hum Reprod.* **7**, 923–33
65. Zhou, Y., Ru, Y., Wang, C., Wang, S., Zhou, Z., and Zhang, Y. (2013) Tripeptidyl Peptidase II Regulates Sperm Function by Modulating Intracellular Ca^{2+} Stores via the Ryanodine Receptor. *PLoS One.* **8**, e66634
66. Arndt, L., Castonguay, J., Arlt, E., Meyer, D., Hassan, S., Borth, H., Zierler, S., Wennemuth, G., Breit, A., Biel, M., Wahl-Schott, C., Gudermann, T., Klugbauer, N., and Boehhoff, I. (2014) NAADP and the two-pore channel protein 1 participate in the acrosome reaction in mammalian spermatozoa. *Mol Biol Cell.* **25**, 948–964
67. Sánchez-Tusie, A. A., Vasudevan, S. R., Churchill, G. C., Nishigaki, T., and Treviño, C. L. (2014) Characterization of NAADP-mediated calcium signaling in human spermatozoa. *Biochem Biophys Res Commun.* **443**, 531–6
68. Santulli, G., Nakashima, R., Yuan, Q., and Marks, A. R. (2017) Intracellular calcium release channels: an update. *J Physiol.* **595**, 3041–3051
69. Bezprozvanny, I. B., Ondrias, K., Kaftan, E., Stoyanovsky, D. A., and Ehrlich, B. E. (1993) Activation of the calcium release channel (ryanodine receptor) by heparin and other polyanions is calcium dependent. *Mol Biol Cell.* **4**, 347–352
70. Demarco, I. A., Espinosa, F., Edwards, J., Sosnik, J., de la Vega-Beltrán, J. L., Hockensmith, J. W., Kopf, G. S., Darszon, A., and Visconti, P. E. (2003) Involvement of a Na^+/HCO_3^- cotransporter in mouse sperm capacitation. *Journal of Biological Chemistry.* **278**, 7001–7009
71. Puga Molina, L. C., Pinto, N. A., Torres, N. I., González-Cota, A. L., Luque, G. M., Balestrini, P. A., Romarowski, A., Krapf, D., Santi, C. M., Treviño, C. L., Darszon, A., and Buffone, M. G. (2018) CFTR/ENaC-dependent regulation of membrane potential during human sperm capacitation is initiated by bicarbonate uptake through NBC. *Journal of Biological Chemistry.* **293**, 9924–9936
72. Grahn, E., Kaufmann, S. V., Askarova, M., Ninov, M., Welp, L. M., Berger, T. K., Urlaub, H., and Kaupp, U. B. (2023) Control of intracellular pH and bicarbonate by CO_2 diffusion into human sperm. *Nat Commun.* **14**, 5395
73. Figueiras-Fierro, D., Acevedo, J. J., Martínez-López, P., Escoffier, J., Sepúlveda, F. V., Balderas, E., Orta, G., Visconti, P. E., and Darszon, A. (2013) Electrophysiological evidence for the presence of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) in mouse sperm. *J Cell Physiol.* **228**, 590–601
74. Xu, W. M., Shi, Q. X., Chen, W. Y., Zhou, C. X., Ni, Y., Rowlands, D. K., Yi Liu, G., Zhu, H., Ma, Z. G., Wang, X. F., Chen, Z. H., Zhou, S. C., Dong, H. S., Zhang, X. H., Chung, Y. W., Yuan, Y. Y., Yang, W. X., and Chan, H. C. (2007) Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator is vital to sperm fertilizing capacity and male fertility. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* **104**, 9816–9821
75. Li, C.-Y., Jiang, L.-Y., Chen, W.-Y., Li, K., Sheng, H.-Q., Ni, Y., Lu, J.-X., Xu, W.-X., Zhang, S.-Y., and Shi, Q.-X. (2010) CFTR is essential for sperm fertilizing capacity and is correlated with sperm quality in humans. *Human Reproduction.* **25**, 317–327
76. Puga Molina, L. C., Pinto, N. A., Torres Rodríguez, P., Romarowski, A., Vicens Sanchez, A., Visconti, P. E., Darszon, A., Treviño, C. L., and Buffone, M. G. (2017) Essential Role of CFTR in PKA-Dependent Phosphorylation, Alkalinization, and Hyperpolarization During Human Sperm Capacitation. *J Cell Physiol.* **232**, 1404–1414
77. Gardner, C. C., and James, P. F. (2023) The SLC9C2 Gene Product (Na^+/H^+ Exchanger Isoform 11; NHE11) Is a Testis-Specific Protein Localized to the Head of Mature Mammalian Sperm. *Int J Mol Sci.* **24**, 5329
78. Novero, A. G., Torres Rodríguez, P., De la Vega Beltrán, J. L., Schiavi-Ehrenhaus, L. J., Luque, G. M., Carruba, M., Stival, C., Gentile, I., Ritagliati, C., Santi, C. M., Nishigaki, T., Krapf, D., Buffone, M. G., Darszon, A., Treviño, C. L., and Krapf, D. (2024) The sodium-proton exchangers sNHE and NHE1 control plasma membrane hyperpolarization in mouse sperm. *Journal of Biological Chemistry.* **300**, 107932
79. Wang, D., King, S. M., Quill, T. A., Doolittle, L. K., and Garbers, D. L. (2003) A new sperm-specific Na^+/H^+ exchanger required for sperm motility and fertility. *Nat Cell Biol.* **5**, 1117–22
80. Cavarocchi, E., Whitfield, M., Chargui, A., Stouvenel, L., Lorès, P., Coutton, C., Arnoult, C., Santulli, P., Patrat, C., Thierry-Mieg, N., Ray, P. F., Dulioust, E., and Touré, A. (2021) The sodium/proton exchanger SLC9C1 (sNHE) is essential for human sperm motility and fertility. *Clin Genet.* **99**, 684–693
81. Cherny, V. V., Markin, V. S., and DeCoursey, T. E. (1995) The voltage-activated hydrogen ion conductance in rat alveolar epithelial cells is determined by the pH gradient. *J Gen Physiol.* **105**, 861–896
82. Musset, B., Smith, S. M. E., Rajan, S., Morgan, D., Cherny, V. V., and DeCoursey, T. E. (2011) Aspartate 112 is the selectivity filter of the human voltage-gated proton channel. *Nature.* **480**, 273–277
83. Lishko, P. V., Botchkina, I. L., Fedorenko, A., and Kirichok, Y. (2010) Acid extrusion from human spermatozoa is mediated by flagellar voltage-gated proton channel. *Cell.* **140**, 327–37
84. Miller, M. R., Kenny, S. J., Mannowetz, N., Mansell, S. A., Wojcik, M., Mendoza, S., Zucker, R. S., Xu, K., and Lishko, P. V. (2019) Asymmetrically Positioned Flagellar Control Units Regulate Human Sperm Rotation. *Cell Rep.* **26**, 2847

85. Matamoros-Volante, A., and Treviño, C. L. (2020) Capacitation-associated alkalization in human sperm is differentially controlled at the subcellular level. *J Cell Sci.* **133**, jcs238816. <https://doi.org/10.1242/jcs.238816>
86. Berger, T. K., Fußhöller, D. M., Goodwin, N., Bönigk, W., Müller, A., Dokani Khesroshahi, N., Brenker, C., Wachten, D., Krause, E., Kaupp, U. B., and Strünker, T. (2017) Post-translational cleavage of Hvl1 in human sperm tunes pH- and voltage-dependent gating. *J Physiol.* **595**, 1533–1546
87. Sun-Wada, G.-H., Imai-Senga, Y., Yamamoto, A., Murata, Y., Hirata, T., Wada, Y., and Futai, M. (2002) A proton pump ATPase with testis-specific E1-subunit isoform required for acrosome acidification. *J Biol Chem.* **277**, 18098–105
88. Hernández-González, E. O., Treviño, C. L., Castellano, L. E., de la Vega-Beltrán, J. L., Ocampo, A. Y., Wertheimer, E., Visconti, P. E., and Darszon, A. (2007) Involvement of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in mouse sperm capacitation. *J Biol Chem.* **282**, 24397–406
89. Wertheimer, E. V., Salicioni, A. M., Liu, W., Trevino, C. L., Chavez, J., Hernández-González, E. O., Darszon, A., and Visconti, P. E. (2008) Chloride Is Essential for Capacitation and for the Capacitation-associated Increase in Tyrosine Phosphorylation. *Journal of Biological Chemistry.* **283**, 35539–35550
90. Delgado-Bermúdez, A., Yeste, M., Bonet, S., and Pinart, E. (2022) A Review on the Role of Bicarbonate and Proton Transporters during Sperm Capacitation in Mammals. *Int J Mol Sci.* **23**, 6333
91. Zifarelli, G., and Pusch, M. (2007) CLC chloride channels and transporters: a biophysical and physiological perspective. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* **158**, 23–76
92. Yeung, C. H., Barfield, J. P., and Cooper, T. G. (2005) Chloride Channels in Physiological Volume Regulation of Human Spermatozoa. *Biol Reprod.* **73**, 1057–1063
93. Espinosa, F., de la Vega-Beltrán, J. L., López-González, I., Delgado, R., Labarca, P., and Darszon, A. (1998) Mouse sperm patch-clamp recordings reveal single Cl⁻ channels sensitive to niflumic acid, a blocker of the sperm acrosome reaction. *FEBS Lett.* **426**, 47–51
94. Cruz-Rangel, S., De Jesús-Pérez, J. J., Contreras-Vite, J. A., Pérez-Cornejo, P., Hartzell, H. C., and Arreola, J. (2015) Gating modes of calcium-activated chloride channels TMEM16A and TMEM16B. *J Physiol.* **593**, 5283–5298
95. Orta, G., Ferreira, G., José, O., Treviño, C. L., Beltrán, C., and Darszon, A. (2012) Human spermatozoa possess a calcium-dependent chloride channel that may participate in the acrosomal reaction. *J Physiol.* **590**, 2659–2675
96. Cooray, A., Kim, J. H., Chae, M. R., Lee, S., and Lee, K. P. (2022) Perspectives on Potential Fatty Acid Modulations of Motility Associated Human Sperm Ion Channels. *Int J Mol Sci.* **23**, 3718
97. Navarro, B., Kirichok, Y., and Clapham, D. E. (2007) K_{Sper}, a pH-sensitive K⁺ current that controls sperm membrane potential. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* **104**, 7688–7692
98. Barfield, J. P., Yeung, C. H., and Cooper, T. G. (2005) Characterization of potassium channels involved in volume regulation of human spermatozoa. *Mol Hum Reprod.* **11**, 891–7
99. Gao, T., Li, K., Liang, F., Yu, J., Liu, A., Ni, Y., and Sun, P. (2021) KCNQ1 Potassium Channel Expressed in Human Sperm Is Involved in Sperm Motility, Acrosome Reaction, Protein Tyrosine Phosphorylation, and Ion Homeostasis During Capacitation. *Front Physiol.* **12**, 761910. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.761910>
100. Felix, R., Serrano, C. J., Treviño, C. L., Muñoz-Garay, C., Bravo, A., Navarro, A., Pacheco, J., Tsutsumi, V., and Darszon, A. (2002) Identification of distinct K⁺ channels in mouse spermatogenic cells and sperm. *Zygote.* **10**, 183–8
101. Hibino, H., Inanobe, A., Furutani, K., Murakami, S., Findlay, I., and Kurachi, Y. (2010) Inwardly rectifying potassium channels: their structure, function, and physiological roles. *Physiol Rev.* **90**, 291–366
102. Acevedo, J. J., Mendoza-Lujambio, I., de la Vega-Beltrán, J. L., Treviño, C. L., Felix, R., and Darszon, A. (2006) KATP channels in mouse spermatogenic cells and sperm, and their role in capacitation. *Dev Biol.* **289**, 395–405
103. Yi, Y.-J., Sung, D. Y., Millette, C., Sutovsky, M., Kennedy, C., Sutovsky, P., Thompson, W., and Thomas, K. (2011) Sperm GIRK2-containing K⁺ inward rectifying channels participate in sperm capacitation and fertilization. *Syst Biol Reprod Med.* **57**, 296–308
104. Salkoff, L., Butler, A., Ferreira, G., Santi, C., and Wei, A. (2006) High-conductance potassium channels of the SLO family. *Nat Rev Neurosci.* **7**, 921–31
105. Chávez, J. C., de la Vega-Beltrán, J. L., Escoffier, J., Visconti, P. E., Treviño, C. L., Darszon, A., Salkoff, L., and Santi, C. M. (2013) Ion Permeabilities in Mouse Sperm Reveal an External Trigger for SLO3-Dependent Hyperpolarization. *PLoS One.* **8**, e60578
106. López-González, I., Torres-Rodríguez, P., Sánchez-Carranza, O., Solís-López, A., Santi, C. M., Darszon, A., and Treviño, C. L. (2014) Membrane hyperpolarization during human sperm capacitation. *MHR: Basic science of reproductive medicine.* **20**, 619–629
107. Sánchez-Carranza, O., Torres-Rodríguez, P., Darszon, A., Treviño, C. L., and López-González, I. (2015) Pharmacology of hSlo3 channels and their contribution in the capacitation-associated hyperpolarization of human sperm. *Biochem Biophys Res Commun.* **466**, 554–9
108. Santi, C. M., Martínez-López, P., de la Vega-Beltrán, J. L., Butler, A., Alisio, A., Darszon, A., and Salkoff, L. (2010) The SLO3 sperm-specific potassium channel plays a vital role in male fertility. *FEBS Lett.* **584**, 1041–1046
109. Liu, R., Yan, Z., Fan, Y., Qu, R., Chen, B., Li, B., Wu, L., Wu, H., Mu, J., Zhao, L., Wang, W., Dong, J., Zeng, Y., Li, Q., Wang, L., Sang, Q., Zhang, Z., and Kuang, Y. (2022) Bi-allelic variants in KCNU1 cause impaired acrosome reactions and male infertility. *Hum Reprod.* **37**, 1394–1405



DR. ALBERTO DARSZON ISRAEL
ORCID: 0000-0002-2502-0505

El **Dr. Alberto Darszon Israel**, es investigador del Instituto de Biotecnología de la UNAM, es parte del consorcio de fisiología del espermatozoide en el Depto. De Genética del Desarrollo y Fisiología Molecular. El consorcio combina estrategias de la bioquímica, la fisiología celular y la electrofisiología para entender la regulación de la

permeabilidad iónica del espermatozoide. Los canales iónicos, proteínas de membrana que eficientemente transportan iones, participan importantemente en la movilidad, maduración e inducción de un proceso excitotico llamado la reacción acrosomal del espermatozoide. La reacción acrosomal prepara al espermatozoide para que se fusione con el óvulo y lo fecunde. Estos procesos y la participación de los canales iónicos del espermatozoide en ellos, es muy importante en la generación de un nuevo individuo.

El grupo del Dr. Darszon ha publicado más de 240 trabajos en revistas internacionales, 19 capítulos en libros internacionales que en conjunto tienen más de 5000 citas. Se le ha invitado a escribir múltiples revisiones y a impartir conferencias internacionales en los congresos y revistas más importantes de su campo. El Dr. Darszon fue el primer académico no-norteamericano elegido como Chair de las Conferencias Gordon sobre Fecundación y Activación del Desarrollo 2009, una de las reuniones más importante del campo de la fecundación y la fisiología del espermatozoide. Él ha recibido premios de: la Academia Mexicana de Ciencias (1985), Fundación Miguel Alemán Valdés (1989), la Universidad Nacional de México en Ciencias Naturales (2000), SNI Investigador de Excelencia 2002-2013, Scopus en Ciencias de la Vida/Biotecnología (2008) y el Premio Nacional de Ciencias y Artes (2009).