



Títol del Treball:

**Paper dels intercanviadors iònics en la capacitació
espermàtica en mamífers**

Estudiant: Elena Colet González

Correu electrònic: elenacoletg@gmail.com

Grau en Biologia

Tutora: Elisabeth Pinart Nadal

Correu electrònic: elisabeth.pinart@udg.edu

ÍNDEX

RESUM	i
RESUMEN.....	ii
ABSTRACT	iii
REFLEXIONS.....	iv
1. INTRODUCCIÓ	1
2. OBJECTIUS.....	6
3. MATERIAL I MÈTODES	7
4. RESULTATS I DISCUSSIÓ	8
4.1. Intercanviadors Na^+/H^+	9
4.2. Intercanviadors de $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$	12
4.3. Intercanviador NCX	17
5. CONCLUSIONS	19
BIBLIOGRAFIA.....	20

RESUM

Aquest treball té com a finalitat fer un recull bibliogràfic del paper fisiològic dels intercanviadors iònics en la capacitació espermàtica en mamífers i descriure les diferències entre espècies. Els canals iònics, les bombes i els transportadors permeten el pas de ions, soluts i altres molècules a través de la membrana plasmàtica. Els espermatozoides presenten diversos canals iònics en la seva membrana que desenvolupen un paper crucial per les seves funcions fisiològiques. Després de l'ejaculació, l'activitat dels canals iònics són essencials per a la capacitació espermàtica i la reacció acrosòmica, dos processos essencials per tal de fecundar l'òocit. La capacitació espermàtica, que té lloc al llarg del tracte reproductor femení, comporta modificacions bioquímiques i fisiològiques que permeten la hiperactivació del moviment espermàtic. Els ions Ca^{2+} i HCO_3^- activen l'adenilat ciclase soluble (sAC), que desencadena en l'activació de la via de senyalització cAMP/PKA. La regulació del flux de ions com K^+ , Na^+ , Cl^- , H^+ i HCO_3^- influeixen en el pH intracel·lular (pHi) i el potencial de membrana (E_m). Diversos intercanviadors iònics modulen aquests processos, mostrant diferències de localització en la membrana espermàtica i de mecanismes d'activació segons l'espècie en mamífers. Els principals intercanviadors presents en la membrana espermàtica es divideixen en intercanviadors Na^+/H^+ (NHE), intercanviadors de $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ i intercanviadors de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX). Els intercanviadors NHE identificats a la membrana espermàtica són NHE1, NHE5, NHE8 (intracel·lular), sNHE, NHA1 i NHA2, i tenen un paper essencial en la regulació del pHi per mantenir l'homeòstasi durant la capacitació, per a l'activació d'altres canals i de la hipermotilitat espermàtica. S'ha identificat dues famílies d'intercanviadors de HCO_3^- - identificats s'han trobat de dues famílies de transportadores de soluts, la família SLC4 (SLC4A1, SLC4A2) i la família SLC26 (SLC26A3, SLC26A6, SLC26A8), que són essencials per l'alcalinització de l'espermatozoide i participen en la hiperactivació de la motilitat espermàtica i l'exocitosi de l'acrosoma. Els intercanviadors NCX participen en la inhibició de la hiperactivació prematura i de la reacció acrosòmica. Entendre el paper dels intercanviadors iònics dels espermatozoides durant la capacitació espermàtica és interessant per comprendre el procés de fecundació i per l'estudi de la fertilitat.

RESUMEN

Este trabajo tiene como finalidad realizar una recopilación bibliográfica del papel fisiológico de los intercambiadores iónicos en la capacitación espermática en mamíferos y describir las diferencias entre especies. Los canales iónicos, bombas y transportadores permiten el paso de iones, solutos y otras moléculas a través de la membrana plasmática. Los espermatozoides presentan varios canales iónicos en su membrana que desempeñan un papel crucial para sus funciones fisiológicas. Después de la eyaculación, la actividad de los canales iónicos son esenciales para la capacitación espermática y la reacción acrosómica, dos procesos esenciales para fecundar el ovocito. La capacitación espermática, que tiene lugar a lo largo del tracto reproductor femenino, comporta modificaciones bioquímicas y fisiológicas que permiten la hiperactivación del movimiento espermático. Los iones Ca^{2+} y HCO_3^- activan la adenil ciclasa soluble (sAC), que desencadena en la activación de la vía de señalización cAMP/PKA. La regulación del flujo de iones como K^+ , Na^+ , Cl^- , H^+ y HCO_3^- influyen en el pH intracelular (pHi) y el potencial de membrana (E_m). Diversos intercambiadores iónicos modulan estos procesos, mostrando diferencias de localización en la membrana espermática y de mecanismos de activación según la especie en mamíferos. Los principales intercambiadores presentes en la membrana espermática se dividen en intercambiadores Na^+/H^+ (NHE), intercambiadores de $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ e intercambiadores de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX). Los intercambiadores NHE identificados en la membrana espermática son NHE1, NHE5, NHE8 (intracelular), sNHE, NHA1 y NHA2, y desempeñan un papel esencial en la regulación del pHi para mantener la homeostasis durante la capacitación, para la activación de otros canales y de la hipermotilidad espermática. Se han identificado dos familias de intercambiadores de HCO_3^- identificados se han encontrado de dos familias de transportadoras de solutos, la familia SLC4 (SLC4A1, SLC4A2) y la familia SLC26 (SLC26A3, SLC26A6, SLC26A8), que son esenciales para la alcalinización del espermatozoide y participan en la hiperactivación de la motilidad espermática y la exocitosis del acrosoma. Los intercambiadores NCX participan en la inhibición de la hiperactivación prematura y de la reacción acrosómica. Entender el papel de los intercambiadores iónicos de los espermatozoides durante la capacitación espermática es interesante para comprender el proceso de fecundación y el estudio de la fertilidad.

ABSTRACT

The aim of this project is to compile a literature review of the physiological role of ion exchangers in mammalian sperm capacitation and to describe the differences among species. Ion channels, pumps, and transporters allow the passage of ions, solutes, and other molecules across the plasma membrane. Sperm cells have several ion channels in their membrane that play a crucial role in their physiological functions. After ejaculation, the activity of ion channels is essential for sperm capacitation and the acrosomal reaction, two essential processes to fertilize the oocyte. Sperm capacitation, which takes place along the female reproductive tract, involves biochemical and physiological modifications that allow sperm motility hyperactivation. Ca^{2+} and HCO_3^- ions activate soluble adenylyl cyclase (sAC), which triggers activation of the cAMP/PKA signaling pathway. Flux regulation of ions such as K^+ , Na^+ , Cl^- , H^+ and, HCO_3^- influence intracellular pH (pHi) and membrane potential (E_m). Several ion exchangers modulate these processes, showing differences in sperm membrane localization and activation mechanisms according to species in mammals. The main exchangers present in the sperm membrane are divided into Na^+/H^+ exchangers (NHE), $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ exchangers and $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchangers (NCX). The NHE exchangers identified in the sperm membrane are NHE1, NHE5, NHE8 (intracellular), sNHE, NHA1 and NHA2, and play an essential role in the regulation of pHi to maintain homeostasis during capacitation, for the activation of other channels and sperm hypermotility. It has been found two families of HCO_3^- exchangers, the SLC4 family (SLC4A1, SLC4A2) and the SLC26 family (SLC26A3, SLC26A6, SLC26A8), which are essential for sperm alkalinization and are involved in hyperactivation of sperm motility and exocytosis of the acrosome. NCX exchangers are involved in the inhibition of premature hyperactivation and the acrosomal reaction. Understanding the role of sperm ion exchangers during sperm capacitation is of interest for understanding the process of fertilization and the study of fertility.

REFLEXIONS

Reflexió sobre ètica

A l'hora d'elaborar aquest treball s'han intentat seguir un criteris ètics. Així doncs, s'han utilitzat bases de dades bibliogràfiques de reconegut prestigi internacional que publiquen articles que han passat per un procés de "peer review", que garanteix la qualitat i fiabilitat de la recerca, ja que permet fer una valoració crítica i imparcial, i que han estat acceptats per un comitè ètic que assegura que no hi hagi males pràctiques i dades fraudulentas. També s'ha procurat que la informació utilitzada en el treball fos degudament citada i en cap cas s'ha copiat de manera literal la informació pels diferents investigadors en els seus estudis, per tal d'evitar apropiació intel·lectual i plagi. Tot i que, personalment, no s'ha contrastat si els articles tenien reflexions ètiques de manera explícita per garantir el benestar dels animals utilitzats en la investigació o quin era l'origen del finançament de l'article per evitar possibles biaixos, s'ha confiat en el comitè ètic de les revistes de prestigi.

Reflexió sobre sostenibilitat

Al tractar-se d'un treball bibliogràfic, els recursos materials utilitzats han estat mínims. Malgrat que en aquest tipus de treball sigui complicat fer reflexions sobre la sensibilització ambiental i la gestió de residus, és important tenir present que els estudis experimentals seleccionats sí que tenen un impacte i generen residus que cal separar de manera selectiva per evitar la contaminació ambiental.

Personalment, podria haver posat més atenció a la gestió de recursos que feia en els articles consultats, ja que quants més experiments es fan, més residus es generen que s'han de separar selectivament. Per això és important trobar una mida mostral adequada que permeti a l'investigador realitzar un bon experiment i obtenir dades robustes des d'un punt de vista científic.

Reflexió sobre perspectiva de gènere

Les dones en l'àmbit de la recerca científica s'enfronten a més dificultats per accedir a llocs de treball relacionats en la direcció, en moltes ocasions no se'ls ha reconegut la seva feina i aportacions, com ha passat al llarg de la història. Aquest efecte té el nom d'efecte Matilda. Les disparitats entre gèneres no només comporta injustícies en el reconeixement, sinó en aspectes com la bretxa salarial, la dinàmica en un grup de treball (no es sol donar tant autoritat a les dones com als homes), entre altres. Una forma de combatre la desigualtat seria creant entorns inclusius amb perspectiva de gènere no només en àmbits de recerca sinó en tots els àmbits. En relació al meu treball, una consideració interessant podria consistir en analitzar l'autoria dels articles utilitzats i analitzar la paritat o percentatge de dones que han liderat les investigacions, aquest enfocament permetria aprofundir en la temàtica de perspectiva de gènere en el context acadèmic i de recerca.

1. INTRODUCCIÓ

Les cèl·lules necessiten proteïnes de membrana que actuïn com a conductes pel transport regulat de ions, soluts i altres molècules a través de la membrana plasmàtica (Neverisky i Abbott, 2015). Els canals iònics, les bombes iòniques i els transportadors són grans proteïnes transmembrana que proporcionen les vies que faciliten i controlen el pas dels ions a través de la membrana plasmàtica. (Roux, 2017). Aquests canals difereixen en el tipus de ions que transporten, així com en els mecanismes d'activació i els tipus de senyals externs i interns que regulen el seu funcionament (Nowicka-Bauer i Szymczak-Cendlak, 2021).

Els canals iònics permeten el moviment passiu de ions a favor de gradient electroquímic; per la seva banda, les bombes iòniques utilitzen activament energia per activar la translocació de ions, sovint en contra de gradient de concentració o de voltatge; mentre que els intercanviadors iònics utilitzen energia per aparellar el transport de dues espècies iòniques com el d'un ió que es mou a favor de gradient i que en el seu desplaçament allibera energia que és utilitzada per desplaçar un altre ió diferent en contra del seu gradient electroquímic (Tomaselli i Farinelli, 2018).

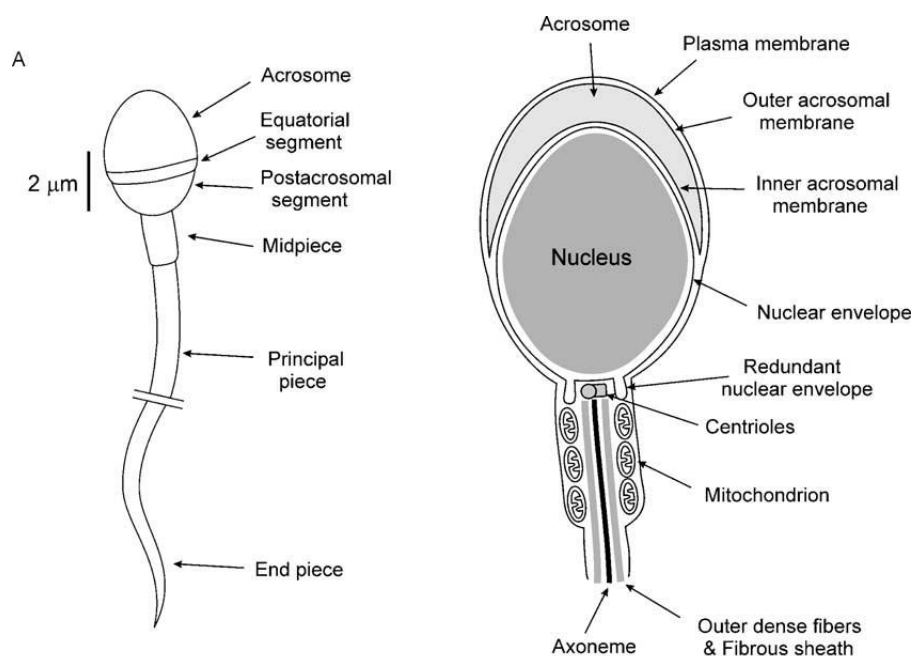


Figura 1. L'espermatozoide humà està format pel cap i el flagel. El cap conté el nucli i l'acrosoma o vesícula acrosòmica. El flagel es divideix: peça de connexió, peça intermèdia, peça principal i peça terminal. Imatge extreta de Darszon *et al.*, (2005).

Els espermatozoides són cèl·lules mòbils haploides; estructuralment es divideixen en dues parts, el cap i el flagel (Figura 1) (Freitas *et al.*, 2017; Darszon *et al.*, 2005). Al llarg de la membrana espermàtica s'expressen diferents canals iònics. Els intercanviadors iònics de la membrana espermàtica dels mamífers permeten el pas de molècules implicades en funcions fisiològiques essencials pels espermatozoides com la diferenciació i maduració cel·lular, la motilitat, la quimiotaxi cap a l'oòcit i l'adaptació de l'espermatozoide al medi. Aquestes funcions són necessàries perquè es pugui dur a terme la fecundació de l'oòcit (Pinart, 2022).

La capacitació espermàtica té lloc després de l'ejaculació i inclou modificacions bioquímiques i fisiològiques de l'espermatozoide a mesura que es va desplaçant al llarg del tracte reproductor femení. Aquestes modificacions preparen l'espermatozoide perquè pugui hiperactivar el seu moviment i perquè dugui a terme la reacció acrosòmica, la qual consisteix en l'exocitosi dels enzims hidrolítics emmagatzemats a la vesícula acrosòmica. La hiperactivació del moviment empeny els espermatozoides a través de les cobertes oocitàries, mentre que els enzims hidrolítics permeten dissoldre de forma local aquestes cobertes (Carrasquel *et al.*, 2022). Així doncs, ambdós processos són fonamentals per tal que l'espermatozoide entri en contacte amb la membrana plasmàtica de l'oòcit i es pugui donar el reconeixement entre ambdues membranes (Puga Molina *et al.*, 2018).

S'han identificat diferents ions que actuen com a desencadenants de la capacitació espermàtica, com el Ca^{2+} i el HCO_3^- (Pinart, 2022), que actuen com a segons missatgers i activen adenilat ciclasa soluble (sAC) que al seu torn activa la via de senyalització cAMP/PKA (monofosfat d'adenosina cíclic/Proteïna-kinasa A), essencial per a la capacitació dels espermatozoides dels mamífers (Figura 2) (Puga Molina *et al.*, 2018). La capacitació espermàtica també porta associada l'augment de fluïdesa de la membrana espermàtica, essencial perquè tingui lloc la reacció acrosòmica; aquest augment es produeix a conseqüència de la pèrdua de colesterol de la membrana plasmàtica durant el desplaçament dels espermatozoides pel tracte femení. S'ha determinat que els fluids extracel·lulars del tracte reproductor femení contenen elevats nivells d'albúmina que actua de receptor d'aquest colesterol (Puga Molina *et al.*, 2018).

Així doncs, al llarg del trajecte dels espermatozoides a través del tracte reproductor femení les condicions ambientals canvien, de manera que es troben amb diferents concentracions de K^+ , Na^+ , Cl^- , H^+ i HCO_3^- extracel·lulars (Puga Molina *et al.*, 2018; Pinart, 2022). Aquests ions també estan implicats en la regulació del pH intracel·lular (pHi) i del potencial de membrana (E_m) durant la capacitació espermàtica; el transport iònic és essencial també durant l'espermioïgènesi i la maduració epididimària (Pinart, 2022), per bé que els canvis en el flux de ions durant aquests processos queden fora de l'abast d'aquest treball. En qualsevol cas, el flux iònic està regulat per canals i transportadors presents a la membrana espermàtica (Figura 3) (Puga Molina *et al.*, 2018), els quals presenten una localització i un paper fisiològic diferent en funció de l'espècie de mamífer (Yeste *et al.*, 2020).

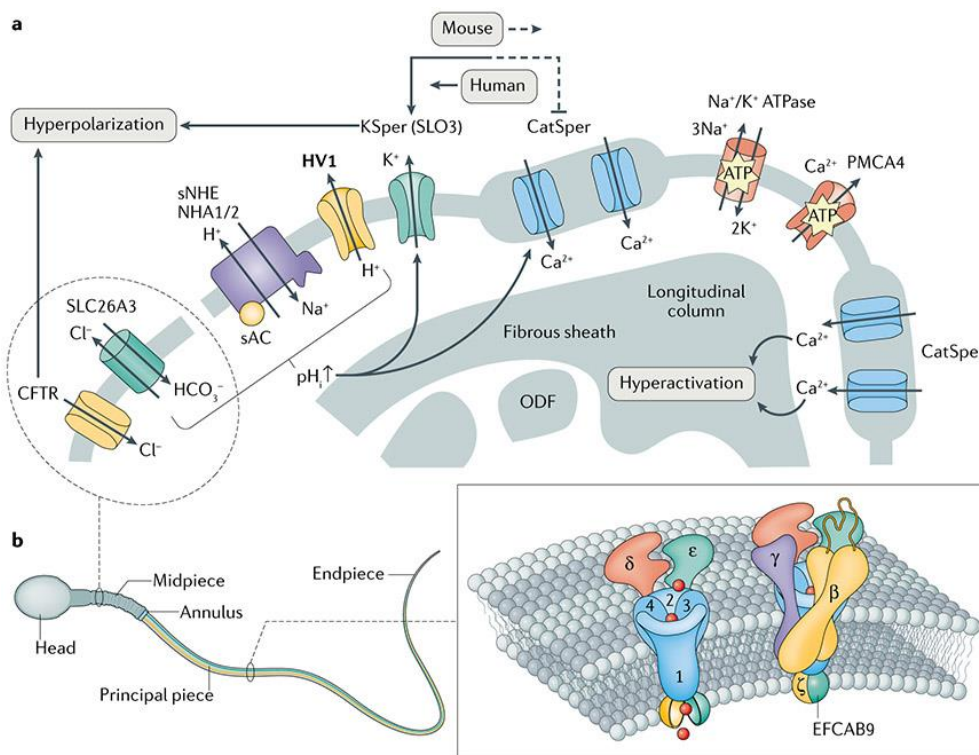


Figura 3. Canals i receptors iònics de l'espermatozoide de ratolí (a) Vista transversal parcial de la membrana flagel·lar de mamífers. En espermatozoides de ratolí i humans l'alcalinització intracel·lular és induïda, respectivament, per sNHE i, respectivament, i per transportadors de HCO_3^- . Els transportadors de HCO_3^- com SLC26A3, que interactua amb el CFTR permeable al Cl^- , també poden transportar HCO_3^- present als fluids present als fluids reproductor femení per desencadenar l'activació de l'adenilat ciclasa soluble (sAC). En conseqüència, en els espermatozoides de ratolí, els canals K_{Sper} i CatSper sensibles al pH s'activen i provoquen la hiperpolarització de la membrana i l'entrada de Ca^{2+} , respectivament. La Na^+/K^+ ATPasa $\alpha 4$ i la PMCA4 funcionen com a transportadors i mantenen l'homeòstasi iònica del citoplasma espermàtic. Donat que la Na^+/K^+ ATPasa $\alpha 4$ contribueix al manteniment del potencial de la membrana, tots dos transportadors estan associats a la regulació del Ca^{2+} , directa o indirectament. L'expressió de Hv1 és específica de cada espècie. (b) Nanodomini lineal del complex de canals CatSper format per 10 subunitats. A la figura

es representen: canal regulador de la conductància transmembrana de la fibrosi quística, CFTR; intercanviador de la família de transportadors de soluts 26, SLC26A3; intercanviadors Na^+/H^+ , sNHE i NHA1 i 2; canal de H^+ depenent de voltatge, Hv1; canal de K^+ específiques dels espermatozoides, KSper (SLO3); canal Ca^{2+} específica d'espermatozoide, CatSper; ATPasa Na^+/K^+ ; ATPasa Ca^{2+} de membrana plasmàtica 4, PMCA4. Imatge extreta de Wang *et al.*, (2021).

2. OBJECTIUS

This project aims to review the physiological role of ion exchangers in capacitation of mammalian sperm cells and to describe the differences between species. This objective can be divided into specific objectives:

- To identify the different ion exchangers present in the sperm membrane in different mammalian species.
- To compare the types, distribution and regulation mechanisms of ionic exchangers among different mammalian species.
- To comprehend the relevance of ion exchangers in the fertilization capacity of mammalian sperm cells.

3. MATERIAL I MÈTODES

En tractar-se d'un treball de revisió bibliogràfica s'han utilitzat articles científics de les bases de dades, PubMed i GoogleScholar, principalment. Per realitzar la cerca de bibliografia s'han seguit un conjunt de criteris pel que fa a les paraules clau, l'any de la publicació i la qualitat científica de les revistes.

Pel que fa a les paraules clau per la cerca dels articles s'ha fet utilitzant: “ion exchangers”, “sperm”, “mammals”, “NHE”, “HCO₃”, “NCX”; També s'ha fet un triatge en funció de l'any de publicació, prioritzant els articles publicats a partir del 2015, a fi de garantir que el treball recull els darrers avenços en el coneixement dins d'aquest àmbit; de tota manera, també s'han inclòs altres publicacions anteriors, però que aporten un coneixement rellevant i que han estat la base de posteriors estudis. Finalment, cal destacar que tots els articles seleccionats per a la realització d'aquest TFG han estat publicats en revistes de reconegut prestigi científic dins del seu àmbit de coneixement; tots els articles citats han passat per un procés de “peer review” (revisió per parells). Tots els articles experimentals consultats han estat acceptats per un comitè ètic.

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

Entendre l'activitat i localització dels diferents intercanviadors implicats en la capacitació espermàtica té un gran interès en l'estudi de la fertilitat humana i d'altres mamífers, ja sigui en l'ús de tècniques reproductives o en l'estudi de mètodes anticonceptius. Els intercanviadors presents en els espermatozoides de mamífers implicats en la capacitació en què se centra aquest treball, es divideixen en intercanviadors Na^+/H^+ (NHE) (NHE1, NHE5, NHE8, sNHE, NHA1 i NHA2), intercanviadors de HCO_3^- ($\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$) (SLC4A1, SLC4A2, SLC26A3, SLC26A6, SLC26A8), i intercanviadors de $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX) (Taula 1).

Taula 1. Taula dels diferents intercanviadors implicats en la capacitació espermàtica en mamífers, amb les seves localitzacions i papers.

Intercanviador	Localització a l'espermatozoide ¹	Paper en la capacitació
NHE1	Peça intermèdia del flagel (ratolí); Peça intermèdia i principal del flagel i regió equatorial del cap (ovella i porc).	Regulació del H^+ intracel·lular (ratolí); Activació de la motilitat espermàtica (ovella).
NHE5	Peça intermèdia del flagel (ratolí).	Desconegut
NHE8	Complex de Golgi i grànuls acrosòmics de les espermàtides.	Diferenciació de la vesícula acrosòmica durant l'espermioogènesi.
sNHE	Peça intermèdia del flagel (ratolí); Peça intermèdia i principal del flagel (humà).	Activació d'altres canals iònics durant la capacitació (ratolí i humà); Hiperactivació del moviment espermàtic (humà).
NHA1	Peça principal del flagel (ratolí, rata, mico, cabra, toro, i humà).	Activació de la motilitat espermàtica i producció de cAMP durant l'ejaculació (ratolí).
NHA2	Peça principal del flagel (ratolí).	Activació de la motilitat espermàtica i producció de cAMP durant l'ejaculació (ratolí).
SLC4A1 (AE1)	Cap i flagel (humà).	Reacció acrosòmica (humà).

SLC4A2 (AE2)	Regió equatorial del cap (ratolí i humà).	Elongació de les espermàtides (ratolí i humà).
SLC26A3	Peça intermèdia del flagel (ratolí).	Fosforilació dels residus de tirosina de les proteïnes flagelars i hiperactivació del moviment espermàtic (ratolí).
SLC26A6	Peça intermèdia del flagel (ratolí).	Desconegut
SLC26A8	Regió equatorial i anell de Jensen (ratolí i humà).	Hiperactivació de la motilitat i exocitosi de l'acrosoma (ratolí i humà).
NCX1	Peça intermèdia i peça principal del flagel, i cap (hàmsster); Acrosoma i peça intermèdia del flagel (humà).	Regulació Ca ²⁺ intracel·lular; Inhibició hiperactivació (hàmsster); Regulació de la motilitat espermàtica (humà).

¹Les localitzacions no indiquen l'exclusivitat en aquelles espècies de mamífers.

4.1. Intercanviadors Na⁺/H⁺

Els intercanviadors Na⁺/H⁺ (NHE o NHA) són proteïnes transmembrana que afavoreixen l'intercanvi d'hidrogen intracel·lular amb sodi extracel·lular a través de la bicapa lipídica, i participen en la regulació del pH intracel·lular (pHi); aquests transportadors s'expressen en gairebé tots els organismes, inclosos els mamífers (Chen *et al.*, 2016; Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022). El paper dels NHE és fonamental perquè es produeixi l'alcalinització del citosol durant la capacitació espermàtica. Aquests intercanviadors són membres de la família de transportadors de soluts 9 (SLC9), que inclou diversos transportadors, cadascun codificat per un gen i que difereixen entre si en la seva localització, propietats cinètiques i moleculars, sensibilitat a drogues i fàrmacs i mecanismes de regulació, cosa que fa que els transportadors NHE es classifiquin en diferents subfamílies: (1) els intercanviadors NHE1–NHE9, que es poden localitzar a la membrana plasmàtica (NHE1-NHE5 o SLC9A1-SLC9A5) o intracel·lularment (NHE6-NHE9 o SLC9A6-SLC9A9); (2) els antiportadors NHA1 i NHA2 (SLC9B1 i SLC9B2); i (3) l'intercanviador sNHE específic dels espermatozoides (SLC9C1 o SLC9A10 i SLC9C2) (Chen *et al.*, 2016; Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022).

Els membres de la família SLC9 es troben en monòmers o dímers, la dimerització dona estabilitat als canals tot i ser capaços d'actuar com a canals monomèrics (Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022) i fan un intercanvi electroneutre (1:1) de ions (Xu *et al.*, 2018). Les isoformes de NHE estan formades per 12 segments transmembrana hidrofòbics i helicoidals (Figura 4), una seqüència N-terminal i un segment C-terminal amb elevada hidrofília (Masereel *et al.*, 2003).

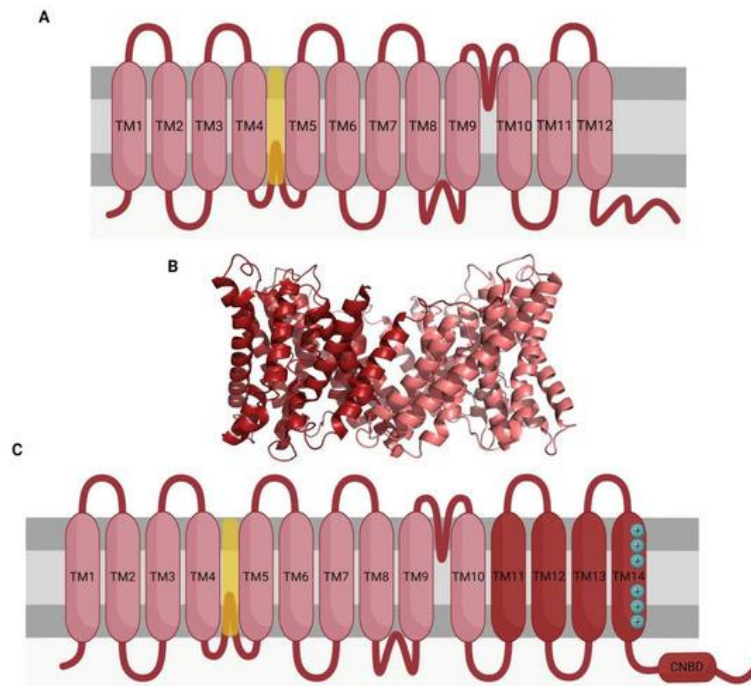


Figura 4. (A) Estructura general dels intercanviadors NHE, amb 12 segments transmembrana en hèlix- α connectats per loops; en groc, es destaca la via permeable als ions entre els segments 4 i 5. (B) Conformació quaternària dels canals SLC9, que tendeixen a formar dímers i d'aquesta manera, incrementen l'estabilitat a la seva conformació. L'estructura representada a la figura és l'intercanviador SLC9A1. (C) Estructura de sNHE; els segments 11 a 14 conformen el domini sensible a voltatge a causa de la semblança amb altres canals: a la part C-terminal, el domini CNBD (domini cíclic d'unió a nucleòtids); en groc, es destaca la via permeable als ions entre els segments 4 i 5. Imatge extreta de Delgado-Bermúdez *et al.*, (2022).

Els intercanviadors NHE1, NHE5, sNHE, NHA1 i NHA2 s'expressen en espermatozoides d'algunes espècies de mamífers (Anderegg *et al.*, 2022). Tot i que NHA1 i NHA2 s'ha trobat en altres mamífers, només s'han estudiat en profunditat en ratolins (Chen *et al.*, 2016). Els canals NHE8 són presents al complex de Golgi i els grànuls acrosòmics de les espermàtides, i són essencials per a la diferenciació de la vesícula acrosòmica durant l'espermioïgènesi (Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022). Molts estudis sobre la funció de canals NHE es basen en l'ús de fàrmacs inhibidors; de tota manera, a causa de la falta d'inhibidors específics per a cada tipus de canal NHE, els assajos utilitzant aquests fàrmacs aporten una informació general sobre el paper dels canals NHE sobre la fisiologia espermàtica, però no permet determinar la rellevància fisiològica de cada tipus de NHE. En ratolins, la inhibició dels canals NHE s'associa a una alteració en la motilitat espermàtica (Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022).

NHE1 s'expressa en gairebé totes les cèl·lules dels mamífers. En els espermatozoides, la localització, el pes molecular i el paper fisiològic varia entre espècies. Així doncs, en ratolins es localitzen a la peça intermèdia del flagel (Martins *et al.*, 2014) amb un pes molecular de 90-100 kDa (Mraiche *et al.*, 2011),

mentre que en ovelles i porcs s'estenen al llarg de la peça intermèdia, la peça principal i la regió equatorial del cap de l'espermatozoide amb un pes molecular de 85 kDa i 75 kDa, respectivament (Muzzachi *et al.*, 2018; Yeste *et al.*, 2021). Tot i això, la informació sobre el paper fisiològic de NHE1 en espermatozoides madurs és escassa. En ovelles s'ha descrit que són essencials per a l'activació de la motilitat espermàtica després de l'ejaculació; de tota manera, és important destacar que en aquesta espècie el bloqueig dels canals NHE1 no es manifesta associat a alteracions en la capacitat fecundant dels espermatozoides (Muzzachi *et al.*, 2018). En ratolins, NHE1 sembla no tenir un paper rellevant en l'activació de canals iònics sensibles a pH durant la capacitació espermàtica (Kang *et al.*, 2021), per bé que podrien regular la concentració local de H^+ intracel·lular (Woo *et al.*, 2002). A més, els ratolins knockout (cKO) per NHE1 són fèrtils, cosa que indica que en aquesta espècie el transport de H^+ està regulat per altres canals (Martins *et al.*, 2014).

L'intercanviador NHE5 només s'ha trobat a la peça intermèdia d'espermatozoides de ratolins (Woo *et al.*, 2002) i el seu paper en la fisiologia espermàtica és encara desconegut (Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022).

L'intercanviador sNHE s'ha identificat en ratolins i humans (Liu *et al.*, 2010; Zhang *et al.*, 2017) observant-se diferències entre ambdues espècies en el pes i la distribució. Així doncs, en ratolins es localitzen a la peça intermèdia i tenen un pes molecular de 68 kDa (Liu *et al.*, 2010), mentre en humans s'estenen per les peces intermèdia i principal i tenen un pes molecular de 120 kDa (Zhang *et al.*, 2017). L'estructura de sNHE es diferencia d'altres d'intercanviadors Na^+/H^+ , ja que presenten un domini que actua d'intercanviador, un domini sensible al voltatge i un domini cíclic d'unió de nucleòtids (CNBD) (Figura 4). Durant la capacitació espermàtica, l'activació dels canals sNHE és fonamental per a l'activació d'altres canals iònics, com els canals de Ca^{2+} CatSper regulat per pH (Bernardino *et al.*, 2019). És important destacar que en ratolins, els canals sNHE es poden acoblar als complexos SLC26A3-CFTR, els quals es formen a partir de l'associació entre els intercanviadors de Cl^-/HCO_3^- de la família de transportadors de soluts SLC26 i el canal regulador de la conductància transmembrana de la fibrosi quística, que transporta Cl^- ; aquest acoblament resulta en un augment sostingut dels nivells de HCO_3^- i Cl^- que garanteixen l'augment de cAMP i l'alcalinització del citosol durant la capacitació. En aquesta espècie, la deficiència, absència o disfunció de sNHE s'associa a infertilitat a causa de la reducció dels nivells de cAMP i sAC que provoquen alteracions en la hiperactivació de la motilitat espermàtica. En humans, sNHE està implicat en la hiperactivació del moviment espermàtic durant la capacitació; en pacients, les anomalies en l'expressió o activitat dels canals sNHE es manifesten associades a astenozoospermia, que es caracteritza per la presència a l'ejaculat d'un elevat percentatge d'espermatozoides amb baixa motilitat o immòbils (Zhang *et al.*, 2017).

En ratolins, els intercanviadors NHA1 i NHA2 semblen desenvolupar un paper important en l'activació de la motilitat espermàtica i la producció de cAMP durant l'ejaculació (Chen *et al.*, 2016), tot i que el seu rol específic durant la capacitació encara no ha estat descrit. Tot i que l'estructura i l'activitat de transport de NHA1 es desconeix, es creu que és un intercanviador de Na^+/H^+ que actua de forma similar

a NHA2, i que tenen estructures semblants a causa de la similitud de seqüències entre NHA1 i NHA2 (Anderegg *et al.*, 2022).

L'intercanviador NHA1 es troba de manera específica a la cua de les espermàtides madures durant l'espermioogènesi i, en concret, a la peça principal del flagel en diverses espècies de mamífers, incloent-hi rata, mico, cabra, toro, ratolí i humà (Figura 5) (Chen *et al.*, 2016).

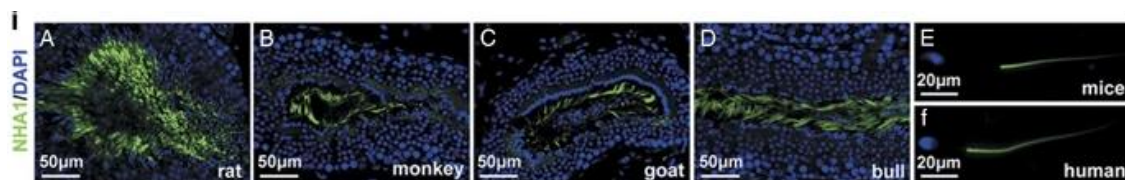


Figura 5. Immunolocalització de NHA1 a les espermàtides madures de rates (A), micos (B), bocs (C) i toros (D) i en espermatozoides de ratolins (E) i humans (F). A les espermàtides madures NHA1 es localitza al llarg del flagel, mentre que en els espermatozoides es localitza a la peça intermèdia en ratolins i a les peces intermèdia i principal en humans. Imatge extreta de Chen *et al.* (2016).

El transportador NHA2 es troba a la peça principal del flagel dels espermatozoides, tot i que no és específic de les cèl·lules espermàtiques com el NHA1. En ratolins, la localització de NHA2 és ubíqua, per exemple, en cèl·lules pancreàtiques, renals i osteoclasts (Chen *et al.*, 2016).

Els intercanviadors NHA1 i NHA2 estan implicats en la motilitat espermàtica. Els ratolins cKO pels gens *Nha1* presenten una baixa motilitat espermàtica i baixos nivells de cAMP; aquesta alteració es manifesta associada a un descens de la fertilitat (Chen *et al.*, 2016). En ratolins cKO per *Nha2* l'alteració de la motilitat espermàtica és menor que en ratolins cKO per *Nha1* cKO. És important remarcar que en els animals cKO per un dels gens s'observa un increment de la transcripció de l'altre gen, cosa que posa de manifest la seva redundància (Chen *et al.*, 2016). En ratolins knockout per als dos gens (*Nha1/2* dKO) la motilitat espermàtica és molt baixa i provoca infertilitat (Chen *et al.*, 2016).

En humans s'ha vist que alguns pacients amb teratozoospermia, condició que es caracteritza per la presència a l'ejaculat d'un elevat percentatge d'espermatozoides amb una morfologia aberrant (Bernardino *et al.*, 2019), tenen una expressió de NHA1 reduïda o absent; això suggereix que aquest canal té un paper important en la fertilitat humana (Chen *et al.* 2016).

4.2. Intercanviadors de $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$

Les proteïnes de membrana que transporten bicarbonat (HCO_3^-) pertanyen a les famílies de transportadores de soluts 4 (SLC 4) i 26 (SLC 26) (Figura 6) (Donà *et al.*, 2020; Bernardino *et al.*, 2019). Els membres d'aquestes dues famílies són transportadors secundaris d'ions, és a dir, que requereixen un gradient electroquímic d'un ió per transportar un altre ió en contra del seu gradient (Alper i Sharma, 2013). Cada transportador de bicarbonat està codificat per un gen específic, tot i comparteixen una

mateixa estructura, tenen característiques diferents pel que fa a l'afinitat a ions, la funció de transport, les propietats fisiològiques i la interacció amb altres proteïnes (Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022).

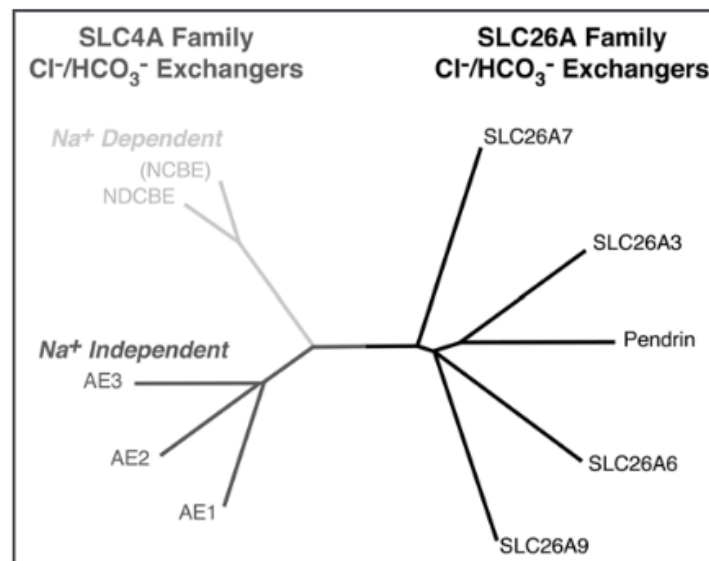


Figura 6. Dendrograma filogenètic dels gens que codifiquen pels intercanviadors $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ en mamífers humans. Els intercanviadors $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ s'agrupen en dues famílies, SLC4A i SLC26A, que es representen en diferents escales de grisos i etiquetades. La família SLC4A es divideix en dues subfamílies, els transportadors dependents de Na^+ i els independents de Na^+ . A la subfamília dependent de Na^+ , el canal NCBE es representa entre parèntesi perquè es creu que és un cotransportador de bicarbonat i sodi en lloc d'un intercanviador $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$. Imatge extreta de Bonar i Casey (2008).

Família de transportadors de soluts 4

La família de transportadors de soluts 4 (SLC 4) (Figura 7) està formada per 10 canals diferents, nou dels quals són transportadors de bicarbonat (HCO_3^-) i un transportador de borat ($\text{B}(\text{OH})_4^-$). Els transportadors de HCO_3^- s'agrupen en els cotransportadors de $\text{HCO}_3^-/\text{Na}^+$ i els antiportadors de $\text{HCO}_3^-/\text{Cl}^-$. Els intercanviadors $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ poden ser dependents de Na^+ (SLC4A8 o NDCBE i SLC4A9 o AE4) o independents de Na^+ (SLC4A1, SLC4A2 i SLC4A3). SLC4A1, SLC4A2 i SLC4A3 també es coneixen com a intercanviadors aniònics (AE) i, per tant, també poden designar-se com a AE1, AE2, i AE3 respectivament. Cadascun d'ells està codificat per un gen específic, tot i que s'ha identificat una gran varietat d'aquests canals en funció del tipus de teixit; aquestes variants específiques de teixit es produeixen a partir de processos de modificació posttraduccional (Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022) AE1 es troba en eritròcits, in en cèl·lules renals, cardíques i del colon; AE2, és present en cèl·lules epitelials, mentre que AE3 s'ha descrit en el cor, retina, cervell i múscul llis (Romero *et al.*, 2013).

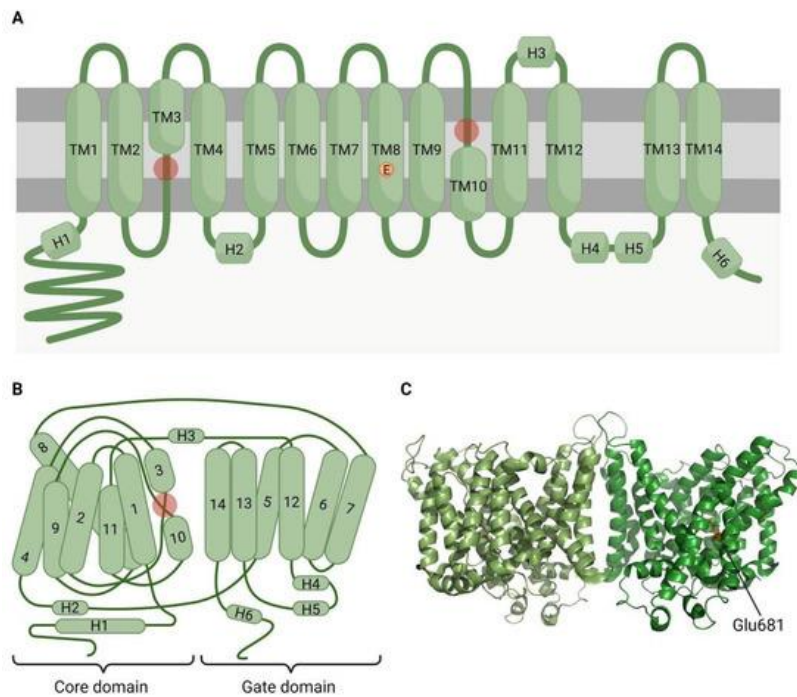


Figura 7. Estructura de l'intercanviador SLC4A1. Els transportadors de bicarbonat de la família SLC4 tenen funcions lleugerament diferents, però l'estructura generalment es conserva entre ells. (A) L'intercanviador SLC4A1 presenta 14 segments transmembrana en hèlix- α connectats per loops. (B) La proteïna plegada forma 2 dominis diferents: el domini de nucli i el domini d'entrada. El segments 3 i 10 formen el centre actiu. (C) Els canals SLC4 formen dímers que interactuen a través d'una interfàcia de dimerització constituïda pels segments 6 i 7. Imatge extreta de Delgado-Bermúdez *et al.*, (2022).

D'entre els canals SLC4 que actuen com a intercanviadors de $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$, només els canals SLC4A1 i SLC4A2, ambdós independents de Na^+ , s'han identificat a la membrana d'espermatozoides madurs d'humans (Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022). Ambdós canals intercanvien de manera electroneutra anions monovalents (1:1), sent l'intercanvi de Cl^- i HCO_3^- el més freqüent (Donà *et al.*, 2020). En els espermatozoides humans, SLC4A1 es troba distribuït en la membrana plasmàtica del cap i del flagel. Durant la capacitació espermàtica, l'intercanviador SLC4A1 sembla no tenir un paper essencial en la regulació de la motilitat espermàtica o en el manteniment de la integritat estructural de la beina fibrosa durant la hiperactivació del moviment espermàtic, però, en canvi, sembla essencial per la reacció acrosòmica (Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022).

Els intercanviadors SLC4A2 es troben expressats en cèl·lules germinals en procés de diferenciació en rosegadors i humans, en les que podrien ser essencials per a l'elongació de les espermàtides. Els ratolins *Slc4a2*^{-/-} són infèrtils a causa d'anomalties en el procés d'elongació de les espermàtides i l'absència d'espermatozoides en els túbuls seminífers (Medina *et al.*, 2003). En espermatozoides madurs de ratolins i humans, aquest intercanviador es troba a la regió equatorial, tot i que el seu paper durant la capacitació espermàtica encara no ha estat descrit (Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022).

Família de transportadors de soluts 26

La família de transportadors de soluts 26 (SLC26) està formada per 11 tipus de transportadors aniònics electrogènics. Cadascun dels transportadors està un codificat per un gen específic (SLC26A1 a SLC26A11); comparteixen una estructura similar (Figura 8), però difereixen en estequiometria i en especificitat de soluts. Els membres d'aquesta família no només transporten Cl^- i HCO_3^- , sinó també sulfat (SO_4^{2-}), iodur (I^-), format (HCO_3^-) i oxalat ($\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$). Tot i això, només cinc membres d'aquesta família es consideren intercanviadors de bicarbonat: SLC26A3, SLC26A4, SLC26A6, SLC26A7 i SLC26A9 (Alper i Sharma, 2013).

Els SLC26 estan distribuïts per tot el cos i mostren una distribució organo-específica (Alper i Sharma, 2013). Només SLC26A3 i SLC26A6 s'han trobat a la membrana espermàtica; a més, els canals SLC26A8 es consideren específics dels espermatozoides (Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022). El canal SLC26A3 és un intercanviador de $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ amb una estequiometria 1:1 o 2:1 que s'expressa de forma majoritària en els intestins (Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022). SLC26A6 s'expressa en pàncrees, ronyons i intestins de ratolins i humans; la seva estequiometria és 1:1 en humans i 1:2 en ratolins (Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022). Finalment, SLC26A8, és un intercanviador electroneutre de $\text{Cl}^-/\text{SO}_4^{2-}$ amb una afinitat desconeguda pel bicarbonat (Rode *et al.*, 2012).

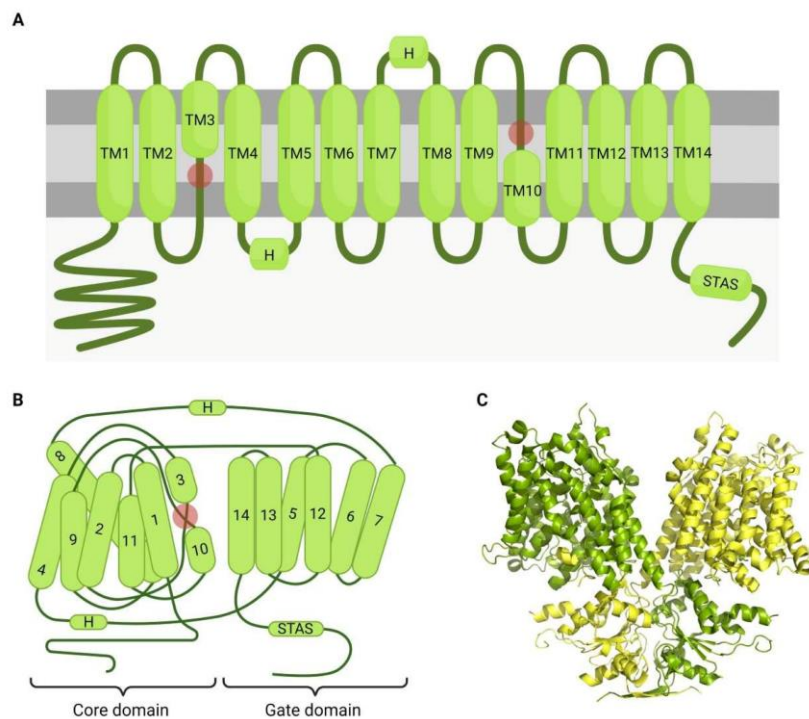


Figura 8. Estructura dels canals SLC26. Els intercanviadors de bicarbonat de la família SLC26 tenen una estructura molt similar als SLC4. L'estructura representada a la figura és de l'intercanviador SLC26A9. (A) L'intercanviador SLC26 presenta 14 segments transmembrana en hèlix- α connectats per loops. A la regió C-terminal, hi ha un domini antagonista de factor anti-sigma i transportador de sulfat (STAS), que està involucrat en tràfic, interacció entre proteïnes i regulació, i inclou la interacció amb el canal CFTR. (B) La proteïna plegada forma 2 dominis diferents: el

domini de nucli i el domini d'entrada. Els segments 3 i 10 són dues mitges hèlix i les seves regions N-terminal formen el centre actiu. (C) Els canals SLC26 formen dímers, però el domini STAS queda exclòs de la dimerització, ja que ha d'estar lliure per poder interactuar amb altres proteïnes. Imatge extreta de Delgado-Bermúdez *et al.*, (2022).

En ratolins, els transcrits *Slc26a6* i *Slc26a8* es detecten ja durant l'espermatogènesi. També s'han identificat transcrits de *Slc26a2*, *Slc26a7* i *Slc26a11* a les cèl·lules germinals testiculars (Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022), per bé que no s'ha detectat l'expressió proteica en els espermatozoides madurs. En humans la transcripció de SLC26A3 té lloc durant l'espermatogènesi i l'expressió de la proteïna durant la maduració epididimària dels espermatozoides (Touré, 2019). En ratolins, en canvi, s'han identificat transcrits *Slc26a3* i proteïnes SLC26A3 tant en espermatozoides epididimaris com madurs (Hihnala *et al.*, 2006). Finalment, no s'han trobat ni transcrits ni proteïnes corresponents a SLC26A1, SLC26A4, SLC26A5 i SLC26A9 en cèl·lules germinals en procés de diferenciació ni en espermatozoides madurs (Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022).

Els canals SLC26A3 i SLC26A6 s'expressen majoritàriament a la peça intermèdia dels espermatozoides de ratolí, tot i que també mostren una baixa presència a la regió cefàlica (Chávez *et al.*, 2012). Al llarg de la capacitació espermàtica, el transport de HCO_3^- a través dels canals SLC26A3 està associat a la fosforilació dels residus de tirosina de les proteïnes flagel·lars i amb la hiperactivació del moviment dels espermatozoides (Touré, 2019); en canvi, SLC26A6 sembla no tenir un paper fisiològic important en els espermatozoides de ratolí (El Khouri i Touré, 2014). Els ratolins cKO per *Slc26a3* són subfèrtils i es caracteritzen per presentar una baixa concentració espermàtica i un moviment anòmal, mentre que els ratolins cKO per *Slc26a6* són fèrtils (Touré, 2019). En humans, les mutacions en els gens que codifiquen per aquests dos intercanviadors s'associen a subfertilitat masculina a causa d'alteracions en la concentració, la motilitat i la morfologia espermàtiques, i d'un elevat contingut de Cl^- i H^+ en el plasma seminal (Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022).

L'intercanviador SLC26A8 o transportador aniònic testicular 1 (TAT1) es localitza al segment equatorial i a l'anell de Jensen dels espermatozoides de ratolins i humans (Alper i Sharma, 2013). L'absència o expressió anòmala d'aquest intercanviador es manifesten associades a anomalies en la diferenciació o, fins i tot, a l'absència de l'anell de Jensen i la beina mitocondrial, les quals provoquen una astenozoospermia severa (Gao *et al.*, 2022). Durant el procés de capacitació espermàtica, les anomalies en la funció de SLC26A8 provoquen a una alteració en la hiperactivació de la motilitat i en l'exocitosi de l'acrosoma (Rode *et al.*, 2012).

Els canals SLC26A3 i SLC26A6 es poden associar amb canals CFTR formant els complexos SLC26A3-SLC26A6-CFTR que es localitzen a la peça intermèdia de l'espermatozoide de ratolí, i participen en l'alcalinització del pHi durant la capacitació espermàtica (Chávez *et al.*, 2012). En humans, les mutacions en el gen que codifica per SLC26A3 s'associen a una inhibició de CFTR i a infertilitat masculina (Rapp *et al.*, 2017), mentre que la deleció del gen *Slc26a3* en ratolins provoca una alteració en la capacitat fecundant dels espermatozoides (El Khouri *et al.*, 2018). A la membrana plasmàtica dels espermatozoides de mamífer també es poden trobar complexos SLC26A8-CFTR, que exerceixen un

paper important en la hiperactivació del moviment espermàtic i l'exocitosi de l'acrosoma (Delgado-Bermúdez *et al.*, 2022).

4.3. Intercanviador NCX

Els intercanviadors $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ (NCX) formen part de la superfamília d'antiporadors de cations Ca^{2+} (CaCA); s'han identificat tres isoformes de NCX codificades per *SLC8A1* (NCX1), *SLC8A2* (NCX2) i *SLC8A3* (NCX3). En humans (NCX1 es troba distribuït de manera ubíqua, mentre que NCX2 es localitza en cèl·lules del cervell i de la medul·la espinal, i NCX3 en cèl·lules del cervell i del teixit muscular esquelètic) (Loeck i Schwab, 2023). El model estructural dels intercanviadors NCX (Figura 9) ha anat evolucionant al llarg dels anys amb els diferents estudis que s'han anat realitzant. El model actual de mamífers, es basa en l'arquitectura del NCX d'arqueobacteris (Ottolia *et al.*, 2021)

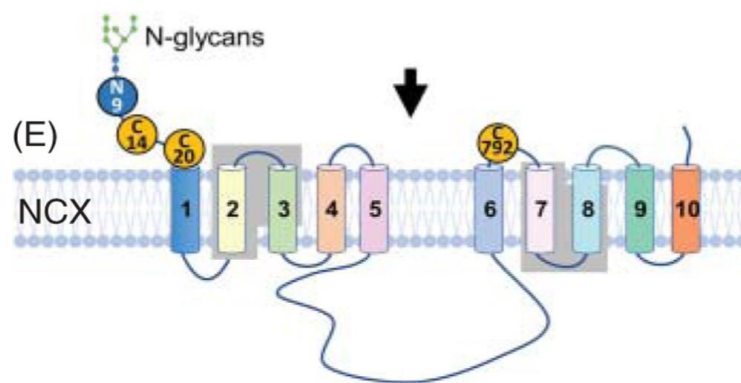


Figura 9. Estructura general dels intercanviadors NCX, amb 10 segments transmembrana en hèlix- α connectats per loops; la via permeable als ions entre els segments 5 i 6 on es troben una regió XIP (el nom de la regió prové d'un pèptid sintètic amb la mateixa seqüència que el XIP (pèptid inhibidor de l'intercanviador) endogen), un domini semblant a Catenina (Catenin-like), el domini d'unió del Ca^{2+} , un segon domini semblant a Catenina i un domini de palmitoilació. Imatge extreta d'Ottolia *et al.*, (2021).

La presència, localització i funció dels canals NCX a la membrana plasmàtica dels espermatozoides de mamífers ha estat poc estudiada. S'ha demostrat que es troben en espermatozoides de hámsters i que tenen un paper important amb la regulació de la hiperactivació dels espermatozoides durant la capacitació (Takei *et al.*, 2023). En aquesta espècie s'han detectat transcrits de NCX1, NCX2 i NCX3, però només s'ha detectat la presència de proteïnes NCX1 majoritàriament a la peça intermèdia i la peça principal del flagel; l'expressió d'aquesta proteïna a la regió cefàlica és baixa (Takei *et al.*, 2023). En espermatozoides humans s'ha descrit la presència d'intercanviadors NCX a l'acrosoma i a la peça intermèdia del flagel, per bé que es desconeix quins tipus específics de canals NCX hi són presents. La inhibició dels canals NCX utilitzant fàrmacs bloquejadors provoca un augment dels nivells de Ca^{2+} intracel·lular i una supressió de la motilitat espermàtica (Peralta-Arias *et al.*, 2015).

Durant la capacitació dels espermatozoides es produeix una entrada sostinguda de Ca^{2+} a l'interior de cèl·lula a través dels canals CatSper; l'increment dels nivells de Ca^{2+} intracel·lular és fonamental per tal que tingui lloc la hiperactivació del moviment espermàtic i la reacció acrosòmica (Takei *et al.*, 2023). Durant la capacitació espermàtica s'activen els canals NCX1, i permet el transport del Ca^{2+} intracel·lular cap a l'exterior, evitant que tingui lloc de forma prematura la hiperactivació del moviment espermàtic i la reacció acrosòmica. El seu paper és, doncs, el de mantenir en pausa la hiperactivació i la reacció acrosòmica per tal que no es produeixin abans d'hora i garantir que tenen lloc quan l'espermatozoide entra en contacte amb les cobertes oocitàries (Figura 10) (Takei *et al.*, 2023). No es coneix massa bé com es produeix la inactivació dels canals NCX1, però s'ha vist que es produeix quan l'espermatozoide entra en contacte amb la zona pel·lúcida, i que és fonamental perquè tingui lloc la hiperactivació del moviment i la reacció acrosòmica (Takei *et al.*, 2023).

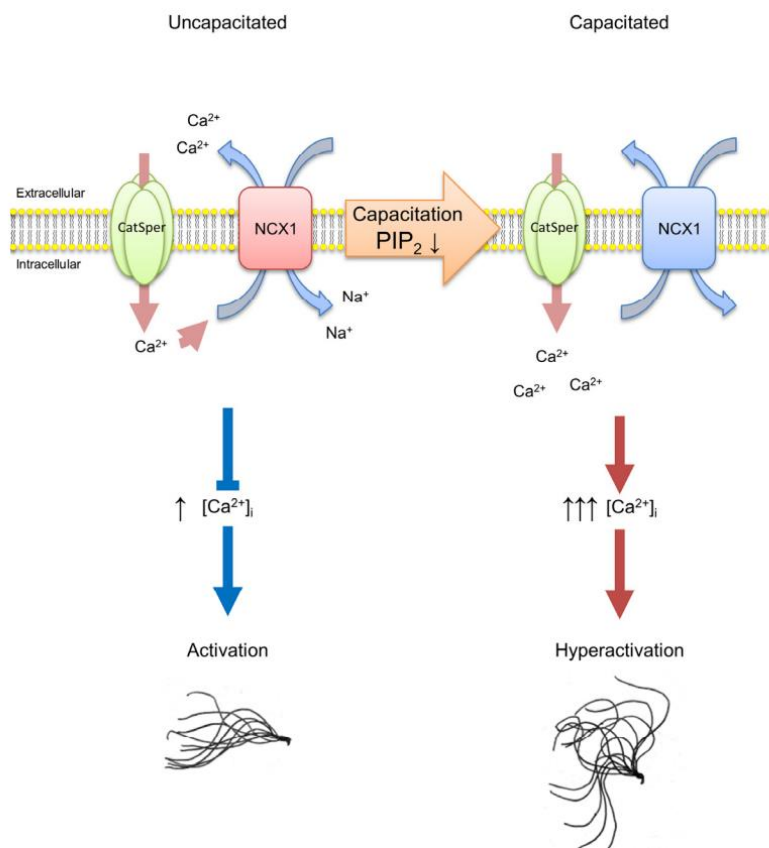


Figura 10. Esquema de la regulació per NCX1 de la hiperactivació del moviment durant la capacitació dels espermatozoides de hámster. En espermatozoides no capacitats, NCX1 està actiu i extreu Ca^{2+} intracel·lular, que suposadament ha entrat a través del canal CatSper, i per tant, suprimeix la hiperactivació i manté l'espermatozoide en un estat actiu. En espermatozoides activats, l'activitat de NCX1 disminueix i s'inactiva. Així doncs, els ions Ca^{2+} que entren a través de CatSper no són expulsats. Això causa un increment dels nivells de Ca^{2+} intracel·lular, que porta a una expressió de la motilitat hiperactivada. Imatge extreta de Takei *et al.*, (2023).

5. CONCLUSIONS

The conclusions obtained from this bibliographic review project are:

1. Ion exchangers play a key regulatory role during the mammalian sperm capacitation process.
2. Na^+/H^+ exchangers (NHE) play a crucial role in the regulation of pH_i to maintain homeostasis during the changes occurring in the female reproductive tract, as well as the HCO_3^- exchangers of the SLC4 and SLC26 families are essential for sperm alkalization and participate in the hyperactivation of sperm motility and acrosome exocytosis.
3. The activation of NCX exchangers is indispensable for the inhibition of premature hyperactivation and the acrosomal reaction.
4. There are differences among species in the type of ion exchangers present in the sperm membrane, as well as in their location, functions, and regulation mechanisms.

BIBLIOGRAFIA

- Alper, S. L., i Sharma, A. K. (2013). The SLC26 gene family of anion transporters and channels. *Molecular aspects of medicine*, 34(2-3), 494–515. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.07.009>
- Anderegg, M. A., Gyimesi, G., Ho, T. M., Hediger, M. A., i Fuster, D. G. (2022). The Less Well-Known Little Brothers: The SLC9B/NHA Sodium Proton Exchanger Subfamily-Structure, Function, Regulation and Potential Drug-Target Approaches. *Frontiers in physiology*, 13, 898508. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.898508>
- Bernardino, R. L., Carrageta, D. F., Sousa, M., Alves, M. G., i Oliveira, P. F. (2019). pH and male fertility: making sense on pH homeodynamics throughout the male reproductive tract. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 76, 3783-3800. <https://doi.org/10.1007/s00018-019-03170-w>
- Bonar, P. T., i Casey, J. R. (2008). Plasma membrane Cl⁻/HCO₃⁻ exchangers: structure, mechanism and physiology. *Channels (Austin, Tex.)*, 2(5), 337–345. <https://doi.org/10.4161/chan.2.5.6899>
- Carrasquel Martínez, G., Aldana, A., Carneiro, J., Treviño, C. L., i Darszon, A. (2022). Acrosomal alkalization occurs during human sperm capacitation. *Molecular human reproduction*, 28(3), gaac005. <https://doi.org/10.1093/molehr/gaac005>
- Chávez, J. C., Hernández-González, E. O., Wertheimer, E., Visconti, P. E., Darszon, A., i Treviño, C. L. (2012). Participation of the Cl⁻/HCO₃⁻ exchangers SLC26A3 and SLC26A6, the Cl⁻ channel CFTR, and the regulatory factor SLC9A3R1 in mouse sperm capacitation. *Biology of reproduction*, 86(1), 14-1. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.111.094037>
- Chen, S., Chen, M., Deng, S., Hao, X., Wang, X., i Liu, Y. (2016). Sodium–hydrogen exchanger NHA1 and NHA2 control sperm motility and male fertility. *Cell Death & Disease*, 7(3), e2152. <https://doi.org/10.1038/cddis.2016.65>
- Darszon, A., Nishigaki, T., Wood, C., Treviño, C. L., Felix, R., i Beltrán, C. (2005). Calcium channels and Ca²⁺ fluctuations in sperm physiology. *International review of cytology*, 243, 79–172. [https://doi.org/10.1016/S0074-7696\(05\)43002-8](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(05)43002-8)
- Delgado-Bermúdez, A., Yeste, M., Bonet, S., i Pinart, E. (2022). A Review on the Role of Bicarbonate and Proton Transporters during Sperm Capacitation in Mammals. *International journal of molecular sciences*, 23(11), 6333. <https://doi.org/10.3390/ijms23116333>
- Donà, G., Tibaldi, E., Andrisani, A., Ambrosini, G., Sabbadin, C., Pagano, M. A., Brunati, A. M., Armanini, D., Ragazzi, E., i Bordin, L. (2020). Human Sperm Capacitation Involves the Regulation of

the Tyr-Phosphorylation Level of the Anion Exchanger 1 (AE1). *International journal of molecular sciences*, 21(11), 4063. <https://doi.org/10.3390/ijms21114063>

El Khouri, E., i Touré, A. (2014). Functional interaction of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator with members of the SLC26 family of anion transporters (SLC26A8 and SLC26A9): physiological and pathophysiological relevance. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 52, 58-67. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2014.02.001>

El Khouri, E., Whitfield, M., Stouvenel, L., Kini, A., Riederer, B., Loes, P., Roemermann, D., di Stefano, G., Drevet, J. R., Saez, F., Seidler, U., i Touré, A. (2018). Slc26a3 deficiency is associated with epididymis dysplasia and impaired sperm fertilization potential in the mouse. *Molecular reproduction and development*, 85(8-9), 682–695. <https://doi.org/10.1002/mrd.23055>

Freitas, M. J., Vijayaraghavan, S., i Fardilha, M. (2017). Signaling mechanisms in mammalian sperm motility. *Biology of reproduction*, 96(1), 2–12. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.144337>

Gao, Y., Wu, H., Xu, Y., Shen, Q., Xu, C., Geng, H., Lv, M., Tan, Q., Li, K., Tang, D., Song, B., Zhou, P., Wei, Z., He, X., i Cao, Y. (2022). Novel biallelic mutations in *SLC26A8* cause severe asthenozoospermia in humans owing to midpiece defects: Insights into a putative dominant genetic disease. *Human Mutation*, 43, 434– 443. <https://doi.org/10.1002/humu.24322>

Hihnala, S., Kujala, M., Toppari, J., Kere, J., Holmberg, C., i Höglund, P. (2006). Expression of SLC26A3, CFTR and NHE3 in the human male reproductive tract: role in male subfertility caused by congenital chloride diarrhoea. *Molecular human reproduction*, 12(2), 107–111. <https://doi.org/10.1093/molehr/gal009>

Kang, H., Liu, M., Zhang, W., Huang, R. Z., Zhao, N., Chen, C., i Zeng, X. H. (2021). Na⁺/H⁺ Exchangers Involve in Regulating the pH-Sensitive Ion Channels in Mouse Sperm. *International journal of molecular sciences*, 22(4), 1612. <https://doi.org/10.3390/ijms22041612>

Loeck, T. i Schwab, A. (2023). The role of the Na⁺/Ca²⁺-exchanger (NCX) in cancer-associated fibroblasts. *Biological Chemistry*, 404(4), 325-337. <https://doi.org/10.1515/hsz-2022-0253>

Liu T., Huang J. C., Zuo W. L., Lu C. L., Chen M., Zhang X. S., Li Y. C., Cai H., Zhou W. L., Hu Z. Y., Gao F. i Liu, Y. X. (2010). A novel testis-specific Na⁺/H⁺ exchanger is involved in sperm motility and fertility. *Frontiers in Bioscience-Elite*, 2(2), 566-581. <https://doi.org/10.2741/E115>

Martins, A. D., Bernardino, R. L., Neuhaus-Oliveira, A., Sousa, M., Sá, R., Alves, M. G., i Oliveira, P. F. (2014). Physiology of na⁺/h⁺ exchangers in the male reproductive tract: relevance for male fertility. *Biology of reproduction*, 91(1), 11. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.114.118331>

- Masereel, B., Pochet, L., i Laeckmann, D. (2003). An overview of inhibitors of Na(+)/H(+) exchanger. *European journal of medicinal chemistry*, 38(6), 547–554. [https://doi.org/10.1016/s0223-5234\(03\)00100-4](https://doi.org/10.1016/s0223-5234(03)00100-4)
- Medina, J. F., Recalde, S., Prieto, J., Lecanda, J., Saez, E., Funk, C. D., Vecino, P., van Roon, M. A., Ottenhoff, R., Bosma, P. J., Bakker, C. T., i Elferink, R. P. (2003). Anion exchanger 2 is essential for spermiogenesis in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(26), 15847–15852. <https://doi.org/10.1073/pnas.2536127100>
- Mraiche, F., Oka, T., Gan, X. T., Karmazyn, M., i Fliegel, L. (2011). Activated NHE1 is required to induce early cardiac hypertrophy in mice. *Basic research in cardiology*, 106(4), 603–616. <https://doi.org/10.1007/s00395-011-0161-4>
- Muzzachi, S., Guerra, L., Martino, N. A., Favia, M., Punzi, G., Silvestre, F., Guaricci, A. C., Roscino, M. T., Pierri, C. L., Dell'Aquila, M. E., Casavola, V., Lacalandra, G. M., i Ciani, E. (2018). Effect of cariporide on ram sperm pH regulation and motility: possible role of NHE1. *Reproduction (Cambridge, England)*, 155(5), 433–445. <https://doi.org/10.1530/REP-17-0456>
- Neverisky, D. L., i Abbott, G. W. (2015). Ion channel-transporter interactions. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 51(4), 257. <https://doi.org/10.3109/10409238.2016.1172553>
- Nowicka-Bauer, K., i Szymczak-Cendlak, M. (2021). Structure and Function of Ion Channels Regulating Sperm Motility—An Overview. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(6). <https://doi.org/10.3390/ijms22063259>
- Ottolia, M., John, S., Hazan, A., i Goldhaber, J. I. (2021). The Cardiac Na⁺-Ca²⁺ Exchanger: From Structure to Function. *Comprehensive Physiology*, 12(1), 2681–2717. <https://doi.org/10.1002/cphy.c200031>
- Peralta-Arias, R. D., Vivenes, C. Y., Camejo, M. I., Piñero, S., Proverbio, T., Martínez, E., Marín, R., i Proverbio, F. (2015). ATPases, ion exchangers and human sperm motility. *Reproduction (Cambridge, England)*, 149(5), 475–484. <https://doi.org/10.1530/REP-14-0471>
- Pinart, E. (2022). Ion Channels of Spermatozoa: Structure, Function, and Regulation Mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.* 23, 5880. <https://doi.org/10.3390/ijms23115880>
- Puga Molina, L. C., Luque, G. M., Balestrini, P. A., Marín-Briggiler, C. I., Romarowski, A., i Buffone, M. G. (2018). Molecular Basis of Human Sperm Capacitation. *Frontiers in cell and developmental biology*, 6, 72. <https://doi.org/10.3389/fcell.2018.00072>

- Rapp, C., Bai, X., i Reithmeier, R. A. F. (2017). Molecular analysis of human solute carrier SLC26 anion transporter disease-causing mutations using 3-dimensional homology modeling. *Biochimica et biophysica acta. Biomembranes*, 1859(12), 2420–2434. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.09.016>
- Rode, B., Dirami, T., Bakouh, N., Rizk-Rabin, M., Norez, C., Lhuillier, P., Lorès, P., Jollivet, M., Melin, P., Zvetkova, I., Bienvenu, T., Becq, F., Planelles, G., Edelman, A., Gacon, G., i Touré, A. (2012). The testis anion transporter TAT1 (SLC26A8) physically and functionally interacts with the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator channel: a potential role during sperm capacitation. *Human molecular genetics*, 21(6), 1287–1298. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddr558>
- Romero, M. F., Chen, A. P., Parker, M. D., i Boron, W. F. (2013). The SLC4 family of bicarbonate (HCO_3^-) transporters. *Molecular aspects of medicine*, 34(2-3), 159–182. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2012.10.008>
- Roux B. (2017). Ion channels and ion selectivity. *Essays in biochemistry*, 61(2), 201–209. <https://doi.org/10.1042/EBC20160074>
- Takei, G. L., Ogura, Y., Ujihara, Y., Toyama, F., Hayashi, K., i Fujita, T. (2023). Hamster Sperm Possess Functional $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Exchanger 1: Its Implication in Hyperactivation. *International journal of molecular sciences*, 24(10), 8905. <https://doi.org/10.3390/ijms24108905>
- Tomaselli, G. F., i Farinelli, F. (2018). NaV Channels: Assaying Biosynthesis, Trafficking, Function. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1722, 167–184. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7553-2_11
- Touré, A. (2019). Importance of SLC26 Transmembrane Anion Exchangers in Sperm Post-testicular Maturation and Fertilization Potential. *Frontiers in cell and developmental biology*, 7, 230. <https://doi.org/10.3389/fcell.2019.00230>
- Wang, H., McGoldrick, L. L., i Chung, J. J. (2021). Sperm ion channels and transporters in male fertility and infertility. *Nature reviews. Urology*, 18(1), 46–66. <https://doi.org/10.1038/s41585-020-00390-9>
- Woo, A. L., James, P. F., i Lingrel, J. B. (2002). Roles of the Na,K-ATPase alpha4 isoform and the Na^+/H^+ exchanger in sperm motility. *Molecular reproduction and development*, 62(3), 348–356. <https://doi.org/10.1002/mrd.90002>
- Xu, H., Ghishan, F. K., i Kiela, P. R. (2018). SLC9 Gene Family: Function, Expression, and Regulation. *Comprehensive Physiology*, 8(2), 555. <https://doi.org/10.1002/cphy.c170027>

Yeste, M., Llavanera, M., Mateo-Otero, Y., Catalán, J., Bonet, S., i Pinart, E. (2020). HVCN1 Channels Are Relevant for the Maintenance of Sperm Motility During In Vitro Capacitation of Pig Spermatozoa. *International journal of molecular sciences*, 21(9), 3255. <https://doi.org/10.3390/ijms21093255>

Yeste, M., Recuero, S., Maside, C., Salas-Huetos, A., Bonet, S., i Pinart, E. (2021). Blocking NHE Channels Reduces the Ability of In Vitro Capacitated Mammalian Sperm to Respond to Progesterone Stimulus. *International journal of molecular sciences*, 22(23), 12646. <https://doi.org/10.3390/ijms222312646>

Zhang, Z., Yang, Y., Wu, H., Zhang, H., Zhang, H., Mao, J., Liu, D., Zhao, L., Lin, H., Tang, W., Hong, K., i Jiang, H. (2017). Sodium-Hydrogen-Exchanger expression in human sperm and its relationship with semen parameters. *Journal of assisted reproduction and genetics*, 34(6), 795–801. <https://doi.org/10.1007/s10815-017-0898-2>