

La fosfatidilserina en el espermatozoide: marcador apoptótico e indicador de potencial fértil

Gihovani A. Samano-Barbosa¹, Ahiezer Rodríguez-Tobón², Blanca P. López-Trinidad³, Julio C. Chávez-Zamora⁴ y Edith Arenas-Ríos⁵

Maestría en Biología de la Reproducción Animal¹, Departamento de Biología², Instituto de Biotecnología³, Departamento de Genética del Desarrollo y Fisiología Molecular⁴, Departamento de Biología de la Reproducción⁵
Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa^{1,2,4,5}, Universidad Nacional Autónoma de México³
CDMX^{1,2,4,5}; Cuernavaca, Mor.³; México
gihovanisamano@gmail.com

Abstract—Phosphatidylserine is a component of the plasma membrane that is in the inner layer. However, in certain events it is externalized to perform various functions. In mammalian sperm, its presence has been reported as an indicator of cell elimination, following apoptotic signaling. On the other hand, it has been related to fertilization, occurring during sperm capacitation and from the caudal region of the epididymis. Among the mechanisms for carrying out phospholipid externalization, flippases such as ATP11A and ATP11C and scramblases such as TMEM16 have been reported. It is relevant to perform additional experiments that allow us to understand the function of phosphatidylserine in sperm from its formation to fertilization.

Keyword—*phosphatidylserine, sperm, apoptosis, fertilization, membrane.*

Resumen— La fosfatidilserina es un componente de la membrana plasmática que se ubica en la capa interna. Sin embargo, en ciertos eventos se externaliza para realizar diversas funciones. En el espermatozoide de mamíferos se ha reportado su presencia como un indicador de eliminación celular, siguiendo una señalización apoptótica. Por otra parte, se ha relacionado con la fecundación, presentándose durante la capacitación espermática y desde la región caudal del epidídimo. Dentro de los mecanismos para llevar a cabo la externalización del fosfolípido se han reportado a flipasas como ATP11A y ATP11C y a escramblasas como TMEM16. Es relevante realizar más estudios que permitan profundizar la función de la fosfatidilserina en el espermatozoide desde su formación hasta la fecundación.

Palabras claves—*fosfatidilserina, espermatozoide, apoptosis, fecundación, membrana.*

I. INTRODUCCIÓN

Las células se encuentran recubiertas por la membrana plasmática (MP), que está conformada principalmente por lípidos, proteínas y carbohidratos, pero pueden formar complejos no covalentes de glucolípidos, glucoproteínas y colesterol. Su conformación principal consiste en una bicapa de fosfolípidos que controla el paso de proteínas, iones y otras moléculas esenciales que deben o no ingresar al espacio intracelular [1–3]. Los fosfolípidos que conforman la bicapa son anfipáticos, es decir, presentan un extremo hidrofílico (polar) o “cabeza” y un extremo hidrofóbico (no polar) o “cola” (figura 1). Esta característica les permite organizarse en una bicapa, donde los extremos hidrofílicos interactúan con las moléculas del agua, en el interior y exterior de la célula, y los extremos hidrofóbicos se orientan hacia el interior de la bicapa. Dentro de la bicapa de lípidos que componen la MP, encontramos glicerofosfolípidos, esfingofosfolípidos (donde las más abundantes son las esfingomielinas (EM)) y colesterol [3–5].

Los distintos glicerofosfolípidos presentes en la MP son la fosfatidilcolina (FC) con una presencia del 43%, la fosfatidiletanolamina (FE) con 21%, fosfatidilinositol (FI) y fosfatidilserina (FS) con 7% y 4% respectivamente [4].

La composición de la bicapa no es homogénea, la presencia y distribución de los fosfolípidos difiere entre cada capa, de la MP, la FC y EM se encuentran en la capa externa, mientras que la FS, FI y FE se ubican en la capa interna, por lo que la MP se considera una estructura asimétrica (figura 2). Para mantener esta asimetría lipídica es necesario la acción de enzimas dependientes de ATP llamadas flipasas y flopasas. Sin embargo, la incontinencia de la asimetría, es un proceso conocido como aleatorización o movimiento “flip-flop”, y es un evento relevante para desencadenar eventos como la activación plaquetaria en los trombocitos, en células cerebrales para la liberación de neurotransmisores, la capacitación espermática o la apoptosis. En esta incontinencia, también se ven involucradas otras enzimas que se denominan escramblasas, y funcionan de manera independiente de ATP [1, 2, 4].

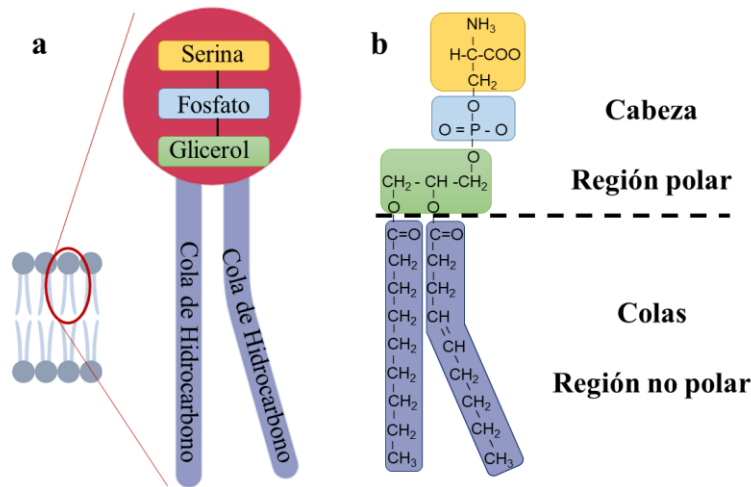


Fig. 1. Molécula anfipática. a: Esquemática de las partes principales; b: Fórmula química.

Durante las últimas décadas se ha reconocido de manera general la existencia y función de las flipasas, flopasas y escramblasas en diversos tipos celulares. Actualmente se sabe que pueden actuar entre ellas para un mejor funcionamiento, dado esto, la acción en conjunto, así como su participación con cada uno de los glicerofosfolípidos de la MP aún tiene un campo muy amplio por estudiar. Uno de ellos, la FS, ha sido identificado en todas las células eucariotas, y al igual que la mayoría de los glicerofosfolípidos, tiene un esqueleto de glicerol esterificado en los carbonos sn -1 y sn -2, y un grupo fosfato en sn -3, pero lo que lo caracteriza es la unión de una serina al grupo fosfato (figura 1). A pesar de ser un componente relativamente menor en la MP, su baja abundancia no significa una importancia menor para la célula, ya que está involucrado con mecanismos de muerte celular como la apoptosis, funcionando como una señal de “cómeme” una vez que se encuentra en la capa externa de la MP para ser reconocida por los fagocitos [1]. Sabemos que en el espacio intracelular aún hay mucho que investigar, pero es claro que hay funciones determinantes en el contexto extracelular [6].

Muchos son los tipos celulares en los que se ha determinado el papel de la FS en eventos de apoptosis, pero en los espermatozoides, en comparación con las células somáticas, no se cumplen todos los criterios que conlleva el proceso de apoptosis. Sin embargo, la presencia de este fosfolípido se ha estudiado como una posible señal de eliminación celular y también como sitio de unión en eventos de fecundación [7, 8].

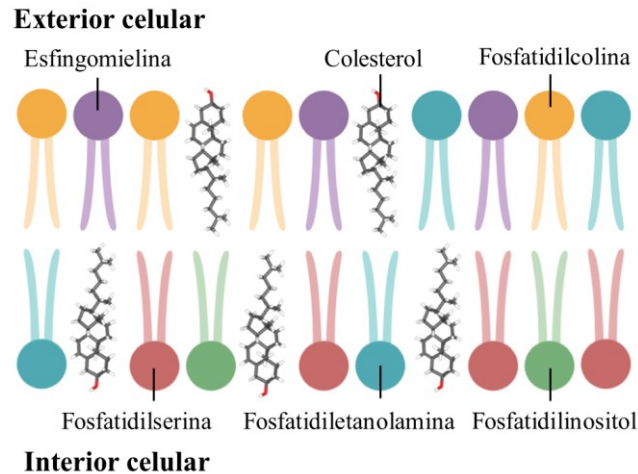


Fig. 2. Esquemización de los componentes lipídicos de la membrana plasmática.

II. APOPTOSIS Y MARCADORES DE MUERTE EN ESPERMATOZOIDES

La muerte celular es un proceso crítico y activo que mantiene la homeostasis de un organismo, existiendo tres principales tipos de muerte: apoptosis, autofagia y necrosis [9]. La apoptosis es un tipo de muerte celular que se lleva a cabo de manera ordenada evitando procesos inflamatorios [10]. La apoptosis, puede ser activada en respuesta a varios tipos de estrés celular, daño al ADN, privación de factores de crecimiento, estrés de retículo endoplásmico y señales del medio ambiente, radiación, toxinas, hipoxia, hipertermia y especies reactivas de oxígeno (ERO) [9]. La apoptosis puede desencadenarse por dos vías: tanto intrínseca (por ejemplo, por daño en el ADN) como extrínsecamente (por ejemplo, ligadura de receptores de muerte). Sin embargo, sea cual sea la vía involucrada, se culmina en la activación de caspasas efectoras o ejecutoras (caspasas 3 y 7), que son un grupo de cisteína proteasas que se expresan como zimógenos inactivos en casi todas las células [11] (figura 3).

De manera más específica, la vía extrínseca se activa cuando un ligando específico se une a su correspondiente receptor de muerte en la superficie celular, como son los Factores de Necrosis Tumoral (TNF- α y - β), el Ligando Inductor de la Apoptosis Relacionado con TNF (TRAIL) y Ligando Fas (Fas L). Cada uno de ellos se une a su receptor como lo son: el Receptor del TNF (TNFR), Receptor del Ligando Inductor de la Apoptosis Relacionado con TNF (TRAILR), Receptor APO-1, también denominado Fas o CD9. Una vez que ocurre la unión del ligando de muerte a su receptor, se induce la trimerización de este último, seguida del reclutamiento al oligómero de la proteína adaptadora FADD (proteína con dominio de muerte que se asocia a Fas) y posteriormente de la unión, para su activación, de las pro-caspasas (8 y/o 10) iniciadoras de la apoptosis. Esta estructura supramolecular se denomina Complejo de Señalización Inductor de Muerte (DISC). En este complejo, las procaspasas (pre -cisteína proteasas) son convertidas mediante hidrólisis parcial, en caspasas activas (por ejemplo, caspasa 8 y 9), capaces de hidrolizar y con ello activar a las pro-caspasas efectoras [12] (figura 3).

En el caso de la vía intrínseca, también llamada mitocondrial, es activada cuando hay una permeabilización de la membrana externa mitocondrial. El papel crítico de control de esta vía de señalización corresponde a las proteínas de la familia BCL-2, que incluye varios miembros pro-apoptóticos y anti- apoptóticos. Cuando las células perciben un estímulo extracelular (citotóxico, radiación UV, rayos X), o alguna señal intracelular (por ejemplo, daño del ADN, inestabilidad nuclear), la membrana externa de la mitocondria presenta cambios en su potencial y en la transición de su permeabilidad. Como consecuencia, se liberan una serie de proteínas apoptóticas desde el espacio intermembrana al citosol, como son: citocromo c, Factor-1 activador de las proteasas apoptogénicas

(Apaf-1), endonucleasa G, factor iniciador de la apoptosis (AIF) y Smac/Diablo (segundo activador mitocondrial de caspasa). En el citosol, el citocromo c se une al factor activador de las proteasas apoptogénicas que, en presencia de ATP atrae a la pro-caspasa iniciadora -9 para su activación en el complejo supramolecular denominado Apoptosoma. La caspasa 9 activa, hidroliza selectivamente a la procaspasa 3 para convertirla en caspasa 3 [12] (figura 3).

La activación de caspasas ejecutoras (3 y 7), propagan una cascada proteolítica que conduce a la escisión de muchas proteínas diana intracelulares cruciales, incluida la molécula encargada de inhibir la ADNasa, que causa la fragmentación del ADN, así como la escisión de proteínas encargadas de mantener la asimetría de la membrana plasmática, proceso apoptótico por el cual las células presentan la señal “cómeme” que instruye la atracción de los fagocitos [1, 11]. La señal más conocida es la externalización de FS, aunque también incluyen lisofosfatidilcolina, esfingosina-1-fosfato y los nucleótidos ATP y UTP [11]. Se ha demostrado que el proceso de externalización de PS es mediado por la acción de flipasas y escramblasas, que previamente fueron modificadas por la caspasa 3, modificando la asimetría de la MP [2, 11] (figura 3).

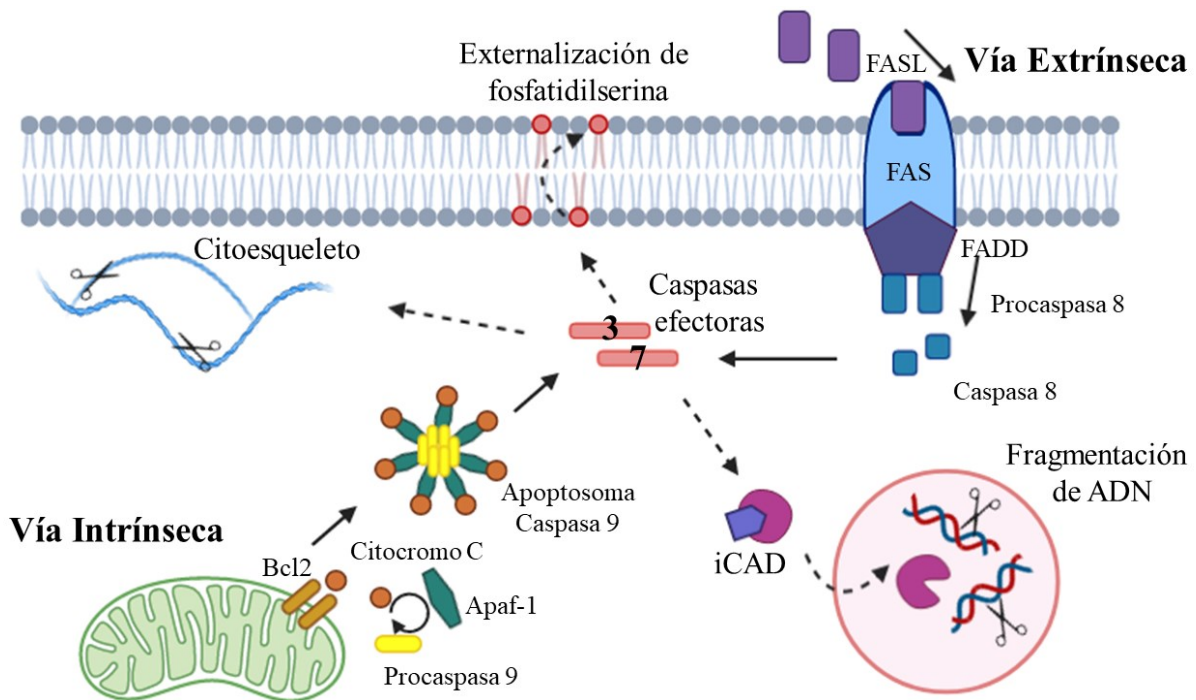


Fig. 3. Mecanismo propuesto de la muerte celular programada.

A diferencia de las células somáticas, el proceso apoptótico en células sexuales no ha sido estudiado profundamente. Sin embargo, se ha reportado que, en el proceso de espermatogénesis, la apoptosis juega un papel clave durante la producción y el control eficiente de las células espermáticas, que es ajustando por las células de Sertoli, fagocitando a las células que presenten el marcaje de FS en la cara externa de la MP, considerándose hasta éste momento que, la FS tiene una función de eliminación celular [13–15]. Además de la FS, otras de las señales apoptóticas que se han registrado son la fragmentación nuclear, la pérdida de la integridad de la membrana plasmática (formación de apoptosomas), pérdida del potencial de membrana mitocondrial y la activación de caspasas efectoras [16].

Una vez concluida la espermatogénesis, el espermatozoide maduro adquiere su morfología definitiva. Sin embargo, no tiene la capacidad para fecundar el ovocito por lo que, una vez liberados del testículo, deberán pasar a través de los ductos eferentes hasta el epidídimo, en donde completarán los cambios

estructurales, fisiológicos y bioquímicos que le conferirán el potencial fecundante, proceso denominado maduración espermática epididimaria [17]. Cabe mencionar que, los espermatozoides son células transcripcionalmente silenciadas, por lo que son incapaces de transcribir sus propias proteínas, es por esta razón que, el tránsito de los gametos por el epidídimo resulta de gran importancia durante el proceso de maduración.

El epidídimo es un tubo altamente enrollado que une los conductos eferentes provenientes del testículo, con el conducto deferente en su parte distal [17–19]. Anatómicamente se ha dividido en cuatro principales regiones: segmento inicial, caput, corpus y cauda [17]. Se ha observado que la composición iónica, las moléculas orgánicas y las proteínas que tienen contacto con los espermatozoides durante su tránsito por el epidídimo, son los que producen las continuas modificaciones que permiten: el aumento en la carga negativa de la membrana plasmática, pérdida de la gota citoplasmática, cambio en el coeficiente fosfolípidos: colesterol, reestructuración o remodelación de la forma del acrosoma, disminución del diámetro de las mitocondrias e incremento del movimiento progresivo [20–31].

Una vez que los espermatozoides llegan a la región caudal del epidídimo, son almacenados y se mantienen en un estado de quiescencia celular, en la mayoría de los mamíferos, se almacenan en promedio por 15 días [32]. En esta región, los espermatozoides ya han adquirido una serie de modificaciones para su posterior función al ser inseminados. Sin embargo, la eyaculación no siempre ocurre, pues no todos los individuos tienen éxito en el periodo de cópula, los machos deben competir por hembras y solo aquellos individuos que presenten los rasgos que incrementen el éxito reproductivo serán favorecidos [33].

Cuando no ocurre un evento eyaculatorio, los espermatozoides deben de ser eliminados de alguna manera. Sin embargo, los mecanismos de eliminación no han sido claramente definidos. Dentro de las vías para eliminar a los espermatozoides, Sutovsky et al. [34] propusieron la ubiquitinación de los espermatozoides defectuosos en la superficie celular como señal necesaria para que estas células sean fagocitadas por las células del tejido epididimario. Otra de las propuestas es la desarrollada por Olson G., Winfrey V, NagDas S. y Melner H. [35, 36] quienes han identificado una proteína similar al fibrinógeno (fgl2), que se secreta selectivamente en la cauda del epidídimo del hámster y que se une y recubre a los espermatozoides no viables. Se ha reportado también que la eliminación ocurre junto con la orina o por eyaculación espontánea, y que ésta, ocurre en ausencia de estimulación sexual. Así mismo, se ha registrado en varias condiciones patológicas, en la ansiedad, pánico, estrés psicológico, complicaciones de drogas psiquiátricas y lesiones en la médula espinal [37–39].

Por otra parte, la apoptosis también podría estar involucrada en la eliminación de espermatozoides en el epidídimo. Si bien es un proceso que se lleva a cabo de manera normal durante la espermatogénesis, una vez que los espermatozoides se encuentran en el epidídimo, parece que el proceso de apoptosis, como se ha descrito, no se cumple en su totalidad, ya que, aunque se han identificado algunas señales celulares y cambios apoptóticos, la formación de apoptosomas no se lleva a cabo, por lo que el término puede ser engañoso, a lo que se sugiere utilizar el término de espermatozoides con señal o marca apoptótica [16].

Las células que pasan por un evento apoptótico rara vez son visibles debido a que los mecanismos de eliminación son eficientes, esto debido a que durante el proceso apoptótico las células presentan la señal “cómeme” [2, 11]. Dentro de las manifestaciones apoptóticas más reportadas en espermatozoides epididimarios y en eyaculados, se encuentra el deterioro de la integridad de la membrana celular, evidenciado por la externalización de FS, la presencia de la forma activa de caspasa 3 [16], la fragmentación de ADN, y la pérdida de potencial de membrana mitocondrial. Estas señales en su mayoría son estudiadas o están relacionadas con procesos de deterioro, infertilidad o muerte espermática.

III. FECUNDACIÓN Y FOSFATIDILSERINA EN ESPERMATOZOIDES

Cuando el macho tiene éxito en la cópula, y el espermatozoide ha sido inseminado a nivel de vagina o útero, este deberá recorrer el tracto genital femenino, en dónde se encontrará en una serie continua de cambios para llevar a cabo la correcta fusión entre gametos, proceso conocido como fecundación. Para que la fecundación tenga éxito, continúan ocurriendo diversos eventos moleculares relacionados principalmente con la MP espermática, primero durante la capacitación espermática, continuando con la reacción acrosoma y finalmente la unión, adhesión y fusión de gametos [7, 8], en este último evento, un paso crítico es el reconocimiento adecuado entre el ligando específico en el espermatozoide y el sitio de unión apropiado en el óvulo [40].

Se tiene información clara de varias moléculas implicadas en los cambios membranales del espermatozoide en las diversas etapas para lograr la fecundación, y una de las moléculas que desempeña un papel central en estos eventos es la FS. En los espermatozoides, al igual que en células somáticas, la FS se presenta en la cara interna de la membrana espermática. Si bien se ha reportado que la FS se externaliza en espermatozoides como un indicador apoptótico, también está presente después de la capacitación y reacción acrosomal, como parte del proceso fisiológico en el cual el espermatozoide se prepara para fusionarse con el ovocito [8] (figura 4).

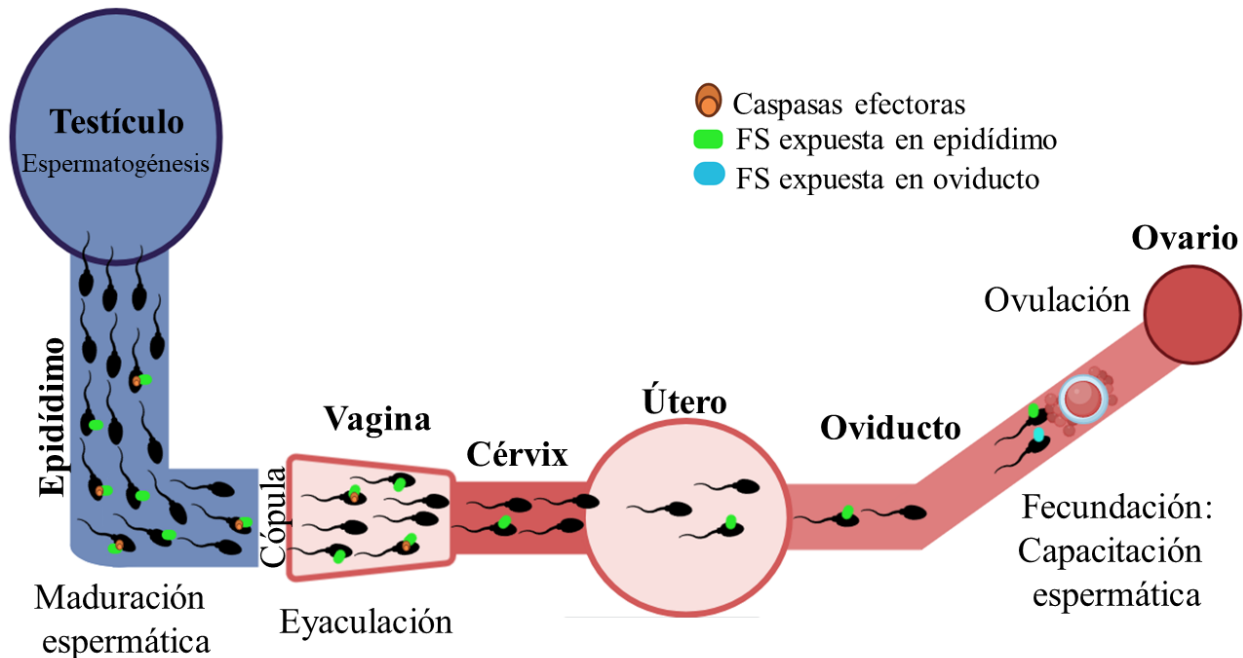


Fig. 4. Caspasas efectoras y FS en el espermatozoide: desde su formación hasta la fecundación.

Rival et al. [40] demostraron el papel que tiene FS en la fecundación. Se mostró la FS expuesta en la región de la cabeza de los espermatozoides viables y móviles, y un aumento progresivo durante su tránsito por el epidídimo, siendo mayor en la región de caudal. Se realizaron experimentos en dónde se interrumpió la acción de receptores de reconocimiento de FS (BAI1, CD36, Tim-4 y Mer-TK) en el ovocito, que fueron marcados basándose en los receptores que muestran los fagocitos para identificar a FS. Posteriormente se realizaron pruebas de fecundación y se demostró que dichos receptores contribuyen a la fecundación, ya que, si eran interrumpidos, el porcentaje de fecundación se veía disminuido. Por lo que, estos datos demuestran que la externalización de FS en espermatozoides viables y en acción conjunta con los receptores de reconocimiento en los ovocitos, son participantes clave para

la fusión de gametos. En conclusión, este estudio sugiere que la externalización de FS se lleva a cabo de manera progresiva en el epidídimo, sin embargo, no como una señal de eliminación celular, si no como una modificación de la MP requerida para tener éxito en la fecundación.

Se ha descrito como se lleva a cabo la externalización de FS en eventos apoptóticos, mediados por acción de caspasas y flipasa/escramblasas. Sin embargo, lo que sugieren Rival et al., (2019) en su estudio, no estaría ocurriendo en un evento apoptótico, por lo que es probable que la translocación de FS a la cara externa de la MP sea mediado por actividad de escramblasas, como ocurre en la capacitación. Se ha reportado que, durante la capacitación espermática, TMEM16F, una escramblasa dependiente de Ca^{2+} , es la molécula involucrada para la externalización del fosfolípido, y respondería a Ca^{2+} , ion involucrado durante este proceso (Tabla 1) [2].

Tabla I. Procesos biológicos que causan la exposición a FS.

Célula	Escramblasa	Efector
Células apoptóticas	XKR8	Caspasa 3 y 7
Espermatozoide capacitado	TMEM16F O XKR8?	Ca^{2+} o cinasa

IV. MECANISMOS DE EXTERNALIZACIÓN DE FOSFATIDILSERINA

Como se describió anteriormente, los fosfolípidos se distribuyen asimétricamente entre las caras externa e interna de la MP y para que estas moléculas se puedan cambiar de lugar (proceso denominado “flip-flop”) es necesario la acción de proteínas denominadas translocasas, de las cuales existen tres tipos: flipasas, flopasas y escramblasas (“mezcladores”) [2, 3, 41].

Las flipasas se encargan de mantener a los lípidos en la cara interna y, al contrario, las flopasas en la cara externa. Por último, las escramblasas participan en el movimiento en ambas direcciones (figura 5) [2, 41]. En FS esta capacidad de translocarse se mantiene debido a la acción de ATPasas, que son enzimas que catalizan la descomposición de ATP en ADP y de ion de fosfato libre. Esta reacción es exergónica ya que libera energía, esta energía resultante se utiliza para llevar a cabo otra reacción química [42]. En este caso la familia de ATPasas conocidas son las P4-ATPasas, en las que se han reportado ATP11A y ATP11C, que funcionan como flipasas, translocando activamente a FS y también a FE (fosfatidiletanolamina) hacia la cara citosólica de la célula. Estas flipasas tienen que ser desactivadas para interrumpir la distribución asimétrica de la MP, así como también está involucrada la participación de escramblasas, que no dependen de ATP, de las que se han reportado a TMEM16F y XKR8, que transportan fosfolípidos de forma inespecífica y bidireccional entre las caras de la MP independiente de energía [2, 41].

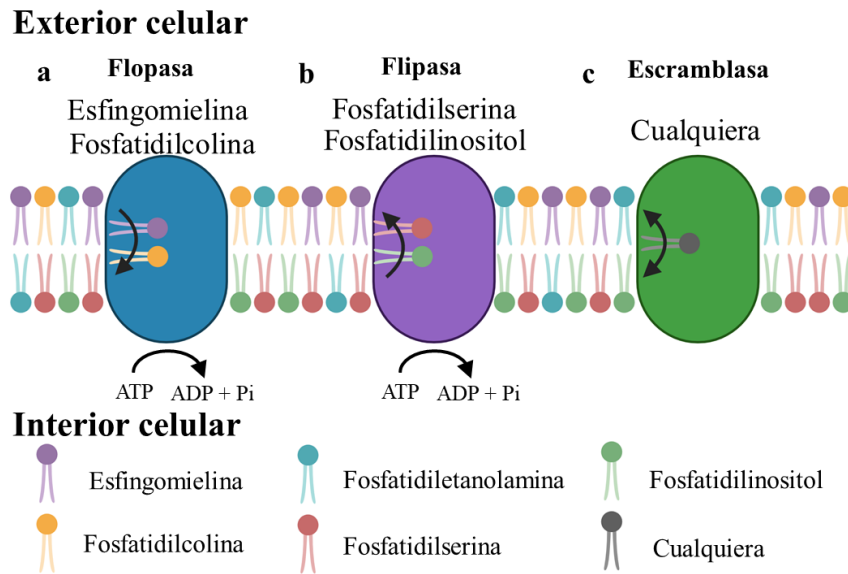


Fig. 5. Esquematización de las proteínas encargadas de redistribuir los diferentes fosfolípidos de la membrana plasmática.

A. Flipasas

En células de glándulas suprarrenales bovinas y en eritrocitos se han identificado enzimas dependientes de ATP que translocan FS en la MP. Una de las que se han descrito es la proteína de 115-120 kDa un miembro de la subfamilia P4 de ATPasas tipo P con 10 regiones transmembrana y dos bucles grandes de ATPasa citoplasmática, conformados por un dominio actuador (A), dominio de unión a Nucleótidos (N) y dominio de Fosforilación (P), la mayoría de los cuales requieren CDC50A (TMEM30A) como una subunidad funcional para la localización del objetivo (figura 6) [2].

Recientemente se ha propuesto el mecanismo para la translocación de lípidos por P4-ATPasa-CDC50A. Esta familia P4-ATPasa comprende 14 miembros de los cuales, ocho se localizan en la MP y tres (ATP8A2, ATP11A y ATP11C) tienen un papel como flipasas. A diferencia de la ATP8A2, que es específica de la médula espinal, ATP11A y ATP11C se expresan en muchos tipos de células. Se ha comprobado que las células que carecen de ATP11A no exponen FS, lo que confirmaría que estas flipasas son indispensables para mantener la distribución asimétrica de FS. Por otra parte, se han hecho tratamientos en células knockout para ATP11A y ATP11C con un ionóforo de Ca²⁺ que provoca la exposición a FS debido a la acción de escramblasas dependiente de Ca²⁺. Cuando se elimina el ionóforo, la FS expuesta en la superficie celular se internaliza rápidamente en las células intactas, pero permanece en la superficie celular en las células knockout, lo que indica que estas flipasas juegan el papel clave de internalizar a FS [2].

En un evento apoptótico, las células exponen FS en cuestión de horas, y esto se debe a que ATP11A y ATP11C son escindidos e inactivados por la acción de caspasa 3 durante el proceso de muerte celular, mientras que su actividad ATPasa es inhibida por una alta concentración de Ca²⁺. Sin embargo, la inactivación de flipasa es insuficiente para exponer FS rápidamente en células apoptóticas. Una vez comenzado el evento que modificará la asimetría de fosfolípidos, lleva días destruirlos, debido a que la translocación de la cabeza hidrofílica de los fosfolípidos a través de las capas lipídicas hidrofóbicas no ocurre con facilidad, se necesita adicionalmente, una escramblasa que se encargue de revolver rápidamente los fosfolípidos entre la bicapa lipídica, por lo que es necesaria para exponer FS rápidamente [2].

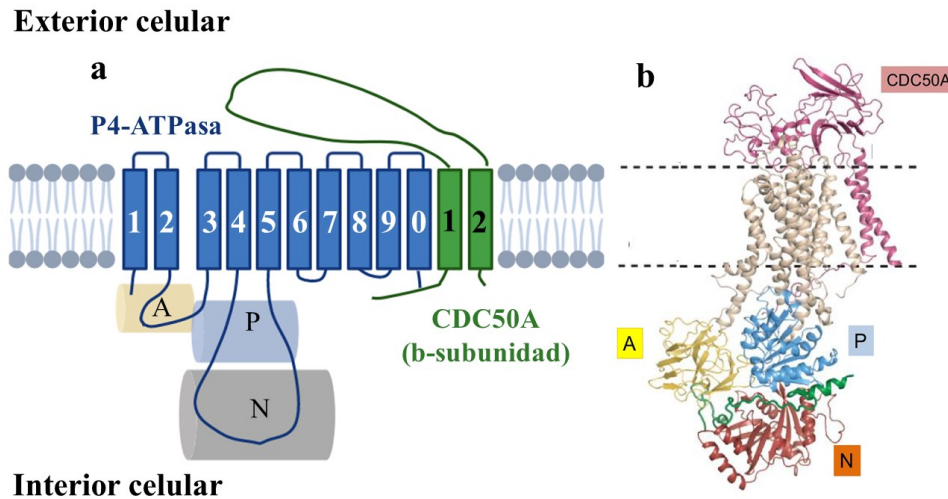


Fig. 6. P4-ATPasa. a: Esquematación de la estructura de P4-ATPasa; b: Estructura terciaria. Modificado de [2].

B. Escramblasas

En este grupo encontramos moléculas de dos familias de proteínas con diez regiones transmembrana, TMEM16 y XKR, que actúan como escramblasas. Se tiene identificada a TMEM16F como una escramblasa dependiente de Ca^{2+} , ésta forma un homodímero con una 'cavidad de subunidad' que contiene algunos residuos polares y ocasiona un adelgazamiento de la bicapa lipídica en un área específica. La unión de Ca^{2+} a TMEM16F induce su cambio conformacional y abre la cavidad para pasar a los fosfolípidos. Este modelo se llama modelo de "trampolín" o "tarjeta de crédito" (figura 7). Se conocen miembros de TMEM16F (16C, 16D, 16F, 16G y 16J) que están presentes en las MP. Esta escramblasa se presenta en muchos tipos celulares, y su función se ha demostrado en pacientes con síndrome de Scott, un trastorno hemorrágico en el que las plaquetas no pueden exponer FS, debido mutación recesiva en TMEM16F [2].

V. CONCLUSIÓN

Es claro el papel de la FS en eventos de muerte celular programada en células somáticas. Sin embargo, en los últimos años, su función en células sexuales como los espermatozoides, ha atraído la atención de los científicos. Actualmente se conoce que la fosfatidilserina no solo funciona como un marcador apoptótico en el espermatozoide una vez que se encuentra en el epidídimo, si no, que también su presencia indica que la célula se prepara para la fecundación y no únicamente en el proceso de capacitación, como se describe desde hace tiempo. Ahora se conocen dos mecanismos para su translocación, la acción de flipasas y escramblasas, en donde la participación de ambas, conducen a que el evento se realice de una forma adecuada.

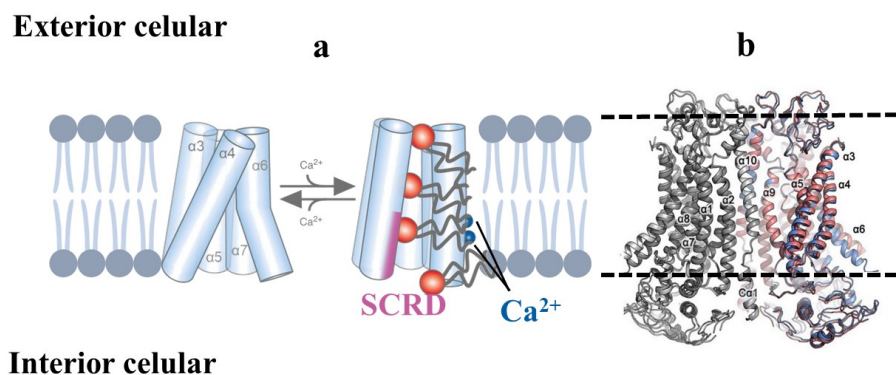


Fig. 7. TMEM16F. a: Modelo de “trampolín” o “tarjeta de crédito”; b: Estructura terciaria. Modificado de [2].

VI. PERSPECTIVAS

Es importante realizar estudios que definan los mecanismos particularidades de una señal celular de muerte y una señal de maduración o fertilización, ya que existe una relación directa entre espermatozoides dañados o en vías de morir con los marcadores mencionados en el presente documento. No obstante, se requieren más estudios sobre la participación de flipasas y Escramblasas en células espermáticas, así como más evidencias que sustenten que estos marcadores participan en funciones esenciales como la fecundación.

REFERENCIAS

- [1] G. Mariño, and G. Kroemer, “Mechanisms of apoptotic phosphatidylserine exposure,” *Cell Research*, vol. 23, no. 11, 2013, pp. 1247-1248.
- [2] S. Nagata, T. Sakuragi, and K. Segawa, “Flippase and scramblase for phosphatidylserine exposure,” *Curr. Opin. Immunol.* Vol. 62, 2020, pp. 31-38.
- [3] S. J. Singer, and G.L. Nicolson, “The Fluid Mosaic Model of the Structure of Cell Membranes,” *Science*, vol. 175, no. 4023, 1972, pp. 720-731.
- [4] G. L. Nicolson, “The Fluid—Mosaic Model of Membrane Structure: Still relevant to understanding the structure, function and dynamics of biological membranes after more than 40 years,” *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, vol. 1838, no. 6, 2014, pp. 1451-1466.
- [5] F. M. Flesch, and B.M. Gadella, “Dynamics of the mammalian sperm plasma membrane in the process of fertilization,” *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 1469, no. 3, 2000, pp. 197-235.
- [6] J. G. Kay, and S. Grinstein, “Sensing phosphatidylserine in cellular membranes,” *Sensors (Basel, Switzerland)*, vol. 11, no. 2, 2011, pp. 1744-1755.
- [7] N. Kawano, et al., “Lipid Rafts: Keys to Sperm Maturation, Fertilization, and Early Embryogenesis,” *Journal of Lipids*, vol. 2011, 2011, pp. 264-706.
- [8] M. Tavalae, et al., “Relationship between fertilization rate and early apoptosis in sperm population of infertile individuals,” *Andrologia*, vol. 46, no. 1, 2014, p. 36-41.
- [9] D. R. Green, and F. Llambi, “Cell Death Signaling,” *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, vol. 7, no. 12, 2015, pp. a006080.

- [10] S. Elmore, "Apoptosis: a review of programmed cell death," *Toxicologic pathology*, vol. 35, no. 4, 2007, pp. 495-516.
- [11] Y. Fuchs, and H. Steller, "Live to die another way: modes of programmed cell death and the signals emanating from dying cells," *Nature reviews. Molecular cell biology*, vol. 16, no. 6, 2015, pp. 329-344.
- [12] G. Kroemer, et al., "Classification of cell death: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2009," *Cell death and differentiation*, vol. 16, no. 1, 2009, pp. 3-11.
- [13] C. Almeida, M. Sousa, and A. Barros, "Phosphatidylserine translocation in human spermatozoa from impaired spermatogenesis," *Reprod. Biomed. Online*, vol. 19, no. 6, 2009, pp. 770-777.
- [14] A. L. Kierszenbaum, "Apoptosis during spermatogenesis: The thrill of being alive," *Molecular Reproduction and Development*, vol. 58, no. 1, 2001, pp. 1-3.
- [15] Y. Nakanishi, and A. Shiratsuchi, "Phagocytic removal of apoptotic spermatogenic cells by Sertoli cells: mechanisms and consequences," *Biol. Pharm. Bull. Vol.* 27, no. 1, 2004, pp. 13-6.
- [16] J. Talarczyk-Desole, et al., "Sperm midpiece apoptotic markers: impact on fertilizing potential in in vitro fertilization and intracytoplasmic sperm injection," *Human cell*, vol. 29, no. 2, 2016, pp. 67-75.
- [17] B. Robaire, B.T. Hinton, and M.-C. Orgebin-Crist, "The Epididymis," in *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction*, E. Knobil and J.D. Neill, Eds: Elsevier, 2006, pp. 1071-1148.
- [18] R. J. Aitken, et al., "Proteomic changes in mammalian spermatozoa during epididymal maturation," *Asian J. Androl. Vol.* 9, no. 4, 2007, pp. 554-64.
- [19] R. Sullivan, and R. Mieusset, "The human epididymis: its function in sperm maturation," *Human Reproduction Update*, vol. 22, no. 5, 2016, pp. 574-587.
- [20] M. Awano, A. Kawaguchi, and H. Mohri, "Lipid composition of hamster epididymal spermatozoa," *J. Reprod. Fertil. Vol.* 99, no. 2, 1993, pp. 375-83.
- [21] H. Ecroyd, et al., "The development of signal transduction pathways during epididymal maturation is calcium dependent," *Dev. Biol. Vol.* 268, no.1, 2004, pp. 53-63.
- [22] J. S. Tash, and G.E. Bracho, "Regulation of sperm motility: emerging evidence for a major role for protein phosphatases," *J. Androl. Vol.* 16, no. 6, 1994, pp. 505-9.
- [23] P. Vernet, et al., "Analysis of Reactive Oxygen Species Generating Systems in Rat Epididymal Spermatozoa," *Biology of Reproduction*, vol. 65, no. 4, 2001, pp. 1102-1113.
- [24] A. Fàbrega, et al., "Impact of epididymal maturation, ejaculation and in vitro capacitation on tyrosine phosphorylation patterns exhibited of boar (*Sus domesticus*) spermatozoa," *Theriogenology*, vol. 76, 2011, pp. 1356-66.
- [25] M. G. Gervasi, and P.E. Visconti, "Molecular changes and signaling events occurring in sperm during epididymal maturation," *Andrology*, vol. 5, no. 2, 2017, pp. 204-218.
- [26] Y. Huang, Y.W. Chung, and P.Y. Wong, "Potassium channel activity recorded from the apical membrane of freshly isolated epithelial cells in rat caudal epididymis," *Biol. Reprod. Vol.* 66, no. 6, 1999, pp. 1509-1514.
- [27] C. Légaré, et al., "Effect of vasectomy on P34H messenger ribonucleic acid expression along the human excurrent duct: a reflection on the function of the human epididymis," *Biol. Reprod. Vol.* 64, no. 2, 2001, pp. 720-7.
- [28] B. Lewis, and R.J. Aitken, "Impact of epididymal maturation on the tyrosine phosphorylation patterns exhibited by rat spermatozoa," *Biol. Reprod. Vol.* 65, no. 5, 2001, pp. 1545-56.
- [29] R. K. Naz, and P.B. Rajesh, "Role of tyrosine phosphorylation in sperm capacitation / acrosome reaction," *Reproductive Biology and Endocrinology*, vol. 2, no. 1, 2004, p. 75.
- [30] K. S. Sidhu, et al., "A flow cytometric assay for global estimation of tyrosine phosphorylation associated with capacitation of spermatozoa from two marsupial species, the tammar wallaby (*Macropus eugenii*) and the brushtail possum (*Trichosurus vulpecula*)," *Reproduction*, vol. 127, no. 1, 2004, pp. 95-103.

- [31] R. Sullivan, G. Frenette, and J. Girouard, "Epididymosomes are involved in the acquisition of new sperm proteins during epididymal transit," *Asian J. Androl.* Vol. 9, no. 4, 2007, pp. 483-91.
- [32] T. G. Cooper, "Maturation of Spermatozoa in the Epididymis," in *The Epididymis, Sperm Maturation and Fertilisation*, Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg. 1986, pp. 1-8.
- [33] D. A. Edward, P. Stockley, and D.J. Hosken, "Sexual conflict and sperm competition," *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, vol. 7, no. 4, 2014, pp. a017707-a017707.
- [34] P. Sutovsky, et al., "A putative, ubiquitin-dependent mechanism for the recognition and elimination of defective spermatozoa in the mammalian epididymis," *J. Cell Sci.* Vol. 114, 2001, pp. 1665-75.
- [35] S. K. NagDas, V.P. Winfrey, and G.E. Olson, "Identification of a Hamster Epididymal Region-Specific Secretory Glycoprotein That Binds Nonviable Spermatozoa1," *Biology of Reproduction*, vol. 63, no. 5, 2000, pp. 1428-1436.
- [36] G. E. Olson, et al., "Region-specific expression and secretion of the fibrinogen-related protein, fgl2, by epithelial cells of the hamster epididymis and its role in disposal of defective spermatozoa," *J. Biol. Chem.* Vol. 279, no. 49, 2004, pp. 51266-74.
- [37] T. Otani, "Editorial Comment to Silodosin improved spontaneous ejaculation induced by mental strain," *International Journal of Urology*, vol. 21, no. 8, 2014, pp. 841-842.
- [38] D. E. Redmond, T.R. Kosten, and M.F. Reiser, "Spontaneous ejaculation associated with anxiety: psychophysiological considerations," *Am. J. Psychiatry*, vol. 140, no. 9, 1983, pp. 1163-6.
- [39] H. A Yasien, and A.M. Attia, "Spontaneous ejaculation after spinal cord trauma," *Asian journal of andrology*, vol. 12, no. 4, 2010, pp. 609-610.
- [40] C. M. Rival, et al., "Phosphatidylserine on viable sperm and phagocytic machinery in oocytes regulate mammalian fertilization," *Nature Communications*, vol. 10, no. 1, 2019, pp. 44-56.
- [41] T. Sakuragi, H. Kosako, and S. Nagata, "Phosphorylation-mediated activation of mouse Xkr8 scramblase for phosphatidylserine exposure," *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 116, no. 8, 2019, pp. 2907-2912.
- [42] K. Geider, and H. Hoffmann-Berling, "Proteins controlling the helical structure of DNA," *Annu. Rev. Biochem.* Vol. 50, 1981, pp. 233-60.