

El papel del pH intra y extracelular en la fisiología espermática

Ixchel Rojas-Martínez¹, Ahiezer Rodriguez-Tobón², Jorge A. Haro-Castellanos³, Arturo Salame-Méndez³,
Ricardo López-Wilchis², Edith Arenas-Ríos³

Maestría en Biología de la Reproducción Animal¹, Departamento de Biología², Departamento de biología de la
Reproducción³

Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa
Iztapalapa, CDMX; México
rojasixchel92@gmail.com

Abstract— In all physiological events at the cellular level the pH plays a regulatory role since it can inhibit or deviate the cellular function. In the present review, we analyze how this regulation occurs in spermatozoa, since this highly specialized cell faces drastic changes in the composition of the extracellular medium in which it is immersed: from its formation and differentiation in the testicle; transport through the seminiferous tubules, rete testis, efferent ducts; passage through the epididymis where they mature and acquire the capacity to move progressively, recognize and fertilize the oocyte; when they enter the female reproductive tract and during their journey to fertilize the oocyte

Keyword— *spermatozoa, physiology, pH, sperm capacitation.*

Resumen—En todos los eventos fisiológicos a nivel celular el pH juega un papel regulador, ya que puede inhibir o desviar la función celular. En la presente revisión, analizamos como ocurre esta regulación en el espermatozoide ya que esta célula altamente especializada, se ve enfrentada a cambios drásticos en la composición del medio extracelular en el que se ve inmerso: desde su formación y diferenciación en el testículo; transporte por los túbulos seminíferos, rete testis, conductos eferentes; paso por el epidídimo donde se maduran y adquieren la capacidad para moverse progresivamente, reconocer y fertilizar al ovocito; cuando entran al tracto reproductor femenino y durante su viaje para fertilizar al ovocito.

Palabras claves—*espermatozoide, fisiología, pH, capacitación espermática.*

I. INTRODUCCIÓN

En todos los eventos fisiológicos a nivel celular el pH juega un papel regulador, al estar involucrado en la conformación de las proteínas y en su correcta función cualquier alteración en esta variable, puede inhibir o desviar la función celular, debido a que tiene una fuerte relación con la actividad de distintas macromoléculas se ve involucrado en procesos fisiológicos, tan importantes como los eventos reproductivos. Su regulación debe de ser sumamente precisa y controlada, al grado de ser la regulación del pH intracelular uno de los indicadores de un tejido sano, en respuesta a los distintos iones obtenidos en la dieta, ya que está involucrado en la síntesis de proteínas, metabolismo, crecimiento celular, etc. [1, 2]

Su regulación varía significativamente entre todos los tipos celulares, pero el transporte activo de protones juega un papel central en esta regulación. El espermatozoide es un claro ejemplo de la regulación del pH, ya que se ve enfrentado a cambios drásticos en la composición del medio extracelular en el que se ve inmerso: desde su formación y diferenciación en el testículo; transporte por los túbulos seminíferos, rete testis, conductos eferentes; paso por el epidídimo donde se maduran y adquieren la capacidad para moverse progresivamente, reconocer y fertilizar al ovocito; cuando entran al tracto reproductor femenino y durante su viaje para fertilizar al ovocito. Para poder entender el porqué es tan importante, es necesario que comprendamos este factor[3-6].

II. ¿QUÉ ES EL PH?

El pH se refiere a la función exponencial denominada potencial de iones hidrógeno y se define como el logaritmo del valor inverso de la concentración de iones hidrógeno (Figura 1). Se calcula mediante cualquiera de las tres expresiones equivalentes de la ecuación del pH:

$\text{pH} = \log \frac{1}{[\text{H}^+]}$	$\text{pH} = \log [\text{H}^+]^{-1}$	$\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$
---	--------------------------------------	----------------------------------

Fig. 1. Cálculo del potencial de hidrogeno. Donde [H +] es la concentración de iones hidrogeno en una solución.

Debido a que la expresión de pH es un valor inverso a la concentración de iones hidrógeno, cuanto mayor es la concentración de iones hidrógeno, el valor de pH será menor.

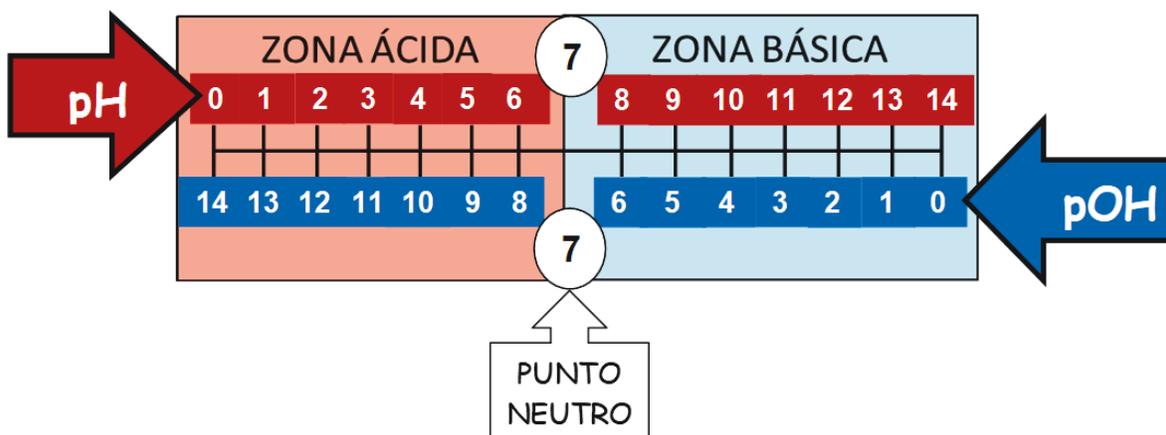


Fig. 2. Escala de pH. ácido (0 -7) y base (7-14)

La escala utilizada para medirlo (Fig. 2) se basa en la disociación del agua, y tiene como valor central el pH del agua pura a 25°C (pH = 7); por tanto, esta escala es válida solo para soluciones acuosas. Esta escala va desde 0 hasta 14, justo en el centro de la escala se encuentra el 7 que es el pH que se considera neutro. Las disoluciones que se encuentran por debajo de este punto se consideran sustancias ácidas y las que se encuentran por arriba de este valor, se consideran sustancias básicas o alcalinas [7].

Diversas reacciones químicas que se generan en disolución acuosa necesitan que el pH del sistema se mantenga constante, para evitar que ocurran otras reacciones no deseadas. Cuantitativamente hablando, la concentración de iones hidrógeno depende de la concentración del soluto y la presencia de solutos en el agua, principalmente ácidos o bases débiles, son los encargados de modificar las propiedades de la solución como el pH [8] ya que estas especies químicas se ionizan parcialmente, esto es, que en solución habrá una proporción de cationes, otra proporción de aniones y otra de moléculas no disociadas. Otro

factor que interviene son las fuerzas de atracción entre las moléculas de agua y su tendencia débil a ionizarse, lo que influye en el mantenimiento de la estructura y función de las biomoléculas [9].

Una función más de los ácidos y bases débiles en los organismos vivos es, estabilizar el pH de los fluidos orgánicos, en consecuencia, ayudan a mantener la estructura y actividad de las macromoléculas biológicas que se encuentran conformando a las células. Por ejemplo, en el caso de las enzimas, el pH tiene un efecto importante sobre la velocidad de las reacciones enzimáticas. Recordemos que las enzimas son proteínas compuestas de aminoácidos y aunque la mayoría de los grupos carboxilo y amino de estos se unen para formar las uniones peptídicas, algunos quedan disponibles, estos grupos libres son los que se pueden ionizar y cargar positiva o negativamente dependiendo el pH al que se encuentre expuesto y debido a esta característica la carga neta de estas, varía con el pH [7]. Por esta razón, a cierto pH las cargas de los residuos de los aminoácidos que participan en el sitio activo están en condiciones óptimas para la actividad catalítica sobre el sustrato correspondiente [10].

Estas reacciones están involucradas en casi todas las funciones celulares, es decir, son necesarias para la supervivencia de la célula y es por ello que la regulación del pH en la célula debe ser meticulosa. Uno de los principales reguladores es la misma membrana celular.

III. LA MEMBRANA CELULAR

Las células se encuentran delimitadas por una membrana altamente especializada, con una composición compleja que consiste en múltiples componentes que contribuyen a sus diversas funciones. En general, una membrana celular se conforma de lípidos. Entre las diferentes funciones de la membrana, una de las más importantes es separar su contenido interno del medio externo, actuando como una barrera selectiva al paso de las moléculas, donde la célula está expuesta a dos medios el extracelular y el intracelular, estrechamente relacionados [11].

Dada su estructura química, esta bicapa lipídica puede ser una barrera formidable o un canal libre dependiendo de la naturaleza de las sustancias que quieran entrar [12]. Por ejemplo, las moléculas solubles en lípidos o de dimensiones pequeñas pasaran sin ningún problema, en contra parte, las moléculas hidrosolubles o iones cargados, encontrarán dificultad para pasar, lo cual significa un problema ya que estas últimas son altamente necesarias para el funcionamiento de la célula, sin embargo ésta cuenta con distintos mecanismos para transportar a su medio interno estas sustancias vitales [11].

El mecanismo más sencillo mediante el cual las moléculas solubles en lípidos o de dimensiones pequeñas pueden atravesar la membrana, es la difusión pasiva (Fig. 3A), que consiste en la dilución de la molécula en la bicapa fosfolipídica, la cual se difunde a través de ella y después se disuelve en la solución acuosa al otro lado de la membrana y no hay intervención de ninguna proteína, ni gasto de energía siendo la dirección del transporte determinada simplemente por las concentraciones relativas de la molécula dentro y fuera de la célula y el movimiento a favor del gradiente. Es importante señalar que las moléculas que se mueven por este mecanismo son gases (O_2 y CO_2), moléculas hidrofóbicas (ej. benceno) y moléculas polares pequeñas pero sin carga (agua y etanol) [11 2014].

Un mecanismo similar es la difusión facilitada (Fig. 3B), al igual que el anterior no hay intervención de energía, por lo que las moléculas se desplazan a favor del gradiente y en el caso de las moléculas pequeñas con carga, estas pasan favorecidas por el potencial eléctrico. La principal diferencia entre estos mecanismos es que, las moléculas son transportadas por proteínas transportadoras o proteínas de canal (canales iónicos), hacia el interior de la célula ya que las moléculas que son transportadas poseen una carga y no son permeables a la membrana [13].

En contra parte a estos últimos dos procesos, existe un tercer mecanismo en el que la célula transporta moléculas en contra del gradiente de concentración, denominado transporte activo (Fig. 3C), el cual está dirigido por hidrólisis de ATP, en el que intervienen bombas iónicas, que son las responsables de mantener el gradiente iónico a través de la membrana plasmática [11].

Estos mecanismos regulan el mantenimiento de la homeostasis celular y por lo tanto todas las funciones de la célula.

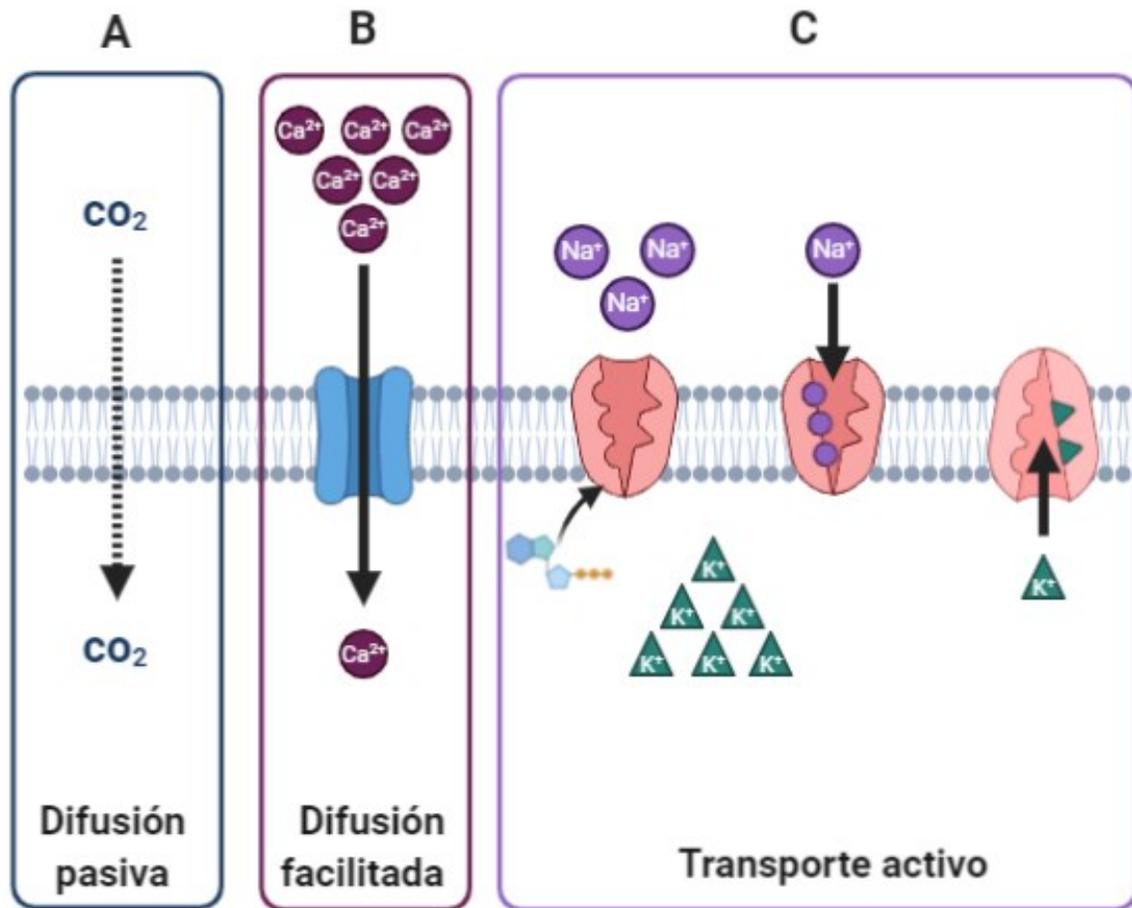


Fig. 3. Mecanismos de transporte a través de la membrana plasmática: A) difusión pasiva; B) difusión facilitada y C) transporte activo

IV. REGULACION DEL pH CELULAR

Como ya se mencionó antes, el pH tiene una fuerte relación con la actividad de distintas biomoléculas y, por lo tanto, se ve involucrado en varios procesos, un ejemplo es la conversión del ácido cítrico a ácido isocítrico en el ciclo de Krebs, donde la enzima aconitato sintetasa o aconitasa cataliza la isomerización reversible del citrato en un isómero de posición: el ácido isocítrico de estructura asimétrica, produciéndose como intermediario el ácido cis aconítico (cis aconitato), únicamente si esta se encuentra en un pH de 7.3 (Fig. 4) [14]. Por lo que su regulación debe de ser sumamente precisa y controlada [15].

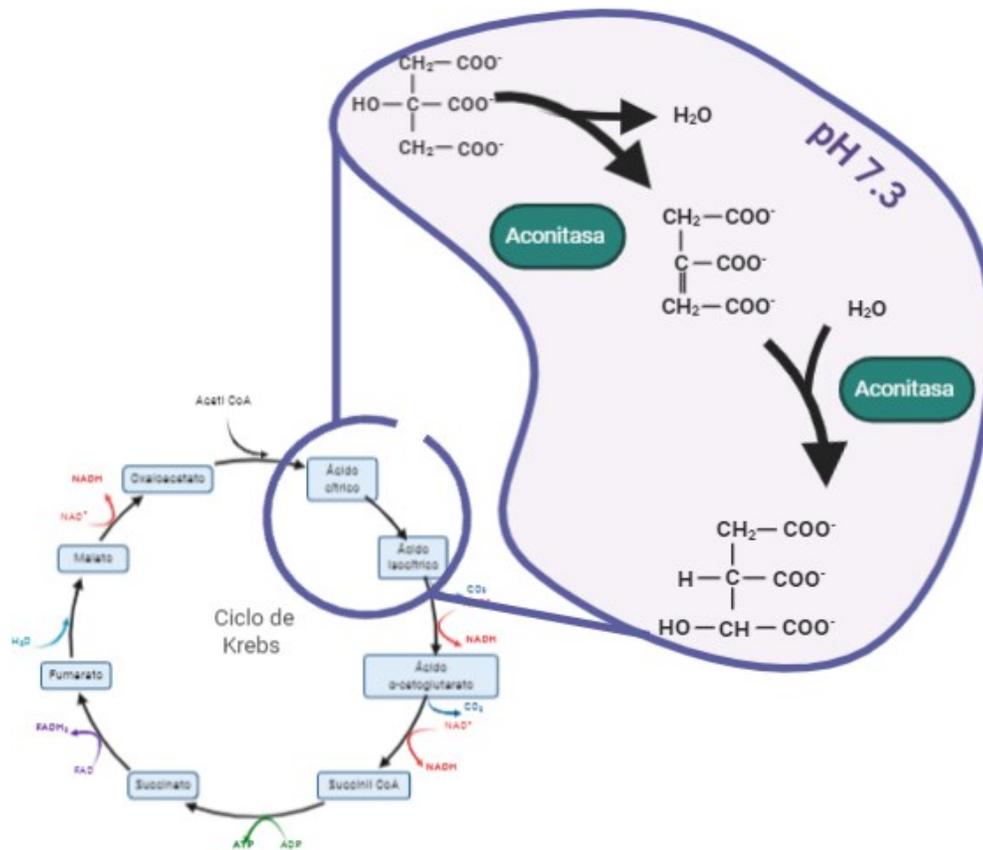


Fig. 4. pH específico para la acción de la enzima Aconitasa sobre el ácido cítrico durante el ciclo de Krebs

Es bien sabido que uno de los indicadores de tejidos sanos, es la correcta regulación del pH intracelular en respuesta a los distintos iones obtenidos en la dieta, al encontrarse directamente involucrado en la síntesis de proteínas, metabolismo, crecimiento celular, etc. [16]. Esta regulación se debe a la producción de ácidos a través de procesos metabólicos celulares, es decir, las sustancias capaces de liberar iones H⁺, que se generan por oxidación de los hidratos de carbono, grasas y los compuestos orgánicos de las proteínas (a partir del fósforo y el azufre que contienen). De igual manera, también se producen bases (sustancias capaces de capturar iones H⁺), de lo que resulta la existencia de un justo equilibrio entre la producción de ácidos y bases, permitiendo un estado normal de neutralidad en el ambiente extracelular [17].

El equilibrio ácido-base del organismo es debido a la interrelación de tres sistemas:

1. Tampones intra y extracelulares, que amortiguan la intensidad de los cambios agudos del equilibrio ácido-base, ya que ante el aumento de un ácido o base reaccionan oponiendo la parte de componente básica o ácida. Existen tampones inorgánicos en el cuerpo, el bicarbonato, el fosfato, la hemoglobina y los grupos amino y carboxilo libres de las proteínas [18].
2. La compensación respiratoria, ya que el dióxido de carbono es un óxido de un elemento no metálico que puede reaccionar con el agua para formar el ácido carbónico (H₂CO₃), el cual es un ácido débil. En agua, el CO₂ disuelto estará, en parte, como ácido carbónico y el resto como

moléculas de dióxido de carbono rodeadas de moléculas de agua, lo cual podemos escribir como $\text{CO}_2(\text{aq})$ y se encuentra íntimamente relacionado con el sistema anterior [19].

3. La excreción renal del exceso de ácidos.

El resultado de esta interacción es el mantenimiento del pH extracelular y por lo tanto el intracelular. Además de esta interacción, el mantenimiento del pH está estrechamente relacionado con los iones. Todos los tipos celulares regulan de manera diferente la concentración intracelular de iones, en donde los canales iónicos juegan un papel central [15, 20, 21].

El intercambio iónico está determinado por la disponibilidad de iones en el exterior de la célula, por lo que las células pueden exhibir cambios drásticos entre estados de dormancia o actividad. La diferencia entre ambos estados fisiológicos de la célula ocurre por la permeabilidad de la membrana plasmática a distintos iones y sus concentraciones, dentro y fuera de la célula, por la acción de distintos canales iónicos y transportadores, así como los gradientes que terminan por establecer el estado metabólico de la célula [22]. La mayoría de los tipos celulares permanecen en contacto con un ambiente constante durante toda su vida útil dentro del organismo, pero existen otros como los espermatozoides que se ven constantemente expuestos a distintos ambientes, con un pH diferente durante toda su vida desde que son producidos en los testículos, hasta el momento de la fertilización

V. EFECTO EN LA FISIOLÓGÍA ESPERMÁTICA

El pH está íntimamente relacionado con el correcto funcionamiento de este tipo celular tan particular, ya que desde su producción en los testículos, el gameto masculino debe afrontar distintos cambios en el ambiente en el que se encuentra embebido, que le proporcionan las características necesarias para poder fertilizar al ovocito [6, 23, 24], donde se ha observado que existen diversos transportadores de iones y enzimas exclusivas del espermatozoide, que son dependientes del cambio de pH o directamente relacionadas con su regulación.

Para la regulación del pH intracelular en el espermatozoide (Fig. 5), existen dos grupos de transportadores de iones:

- Transportadores de protones: incluyen transportadores Na^+/H^+ de la familia de SLC9 y canales de H^+
- Transportadores de HCO_3^- : incluyen proteínas de las familias SLC4, SLC26 y el regulador de la conductancia transmembranal (CFTR)

La acción de estos canales es crítica en la regulación de la movilidad del espermatozoide, ya que en la mayoría de las especies los espermatozoides se encuentran almacenados hasta el momento de la copula. En el caso de los mamíferos, el espermatozoide permanece quiescente en el epidídimo debido al ambiente ácido creado por la ATPasa-V de las células epiteliales [25]. Este ambiente ácido se debe a una baja concentración de bicarbonato (HCO_3^-) durante la maduración y el almacenamiento en este órgano [26]. Esto previene la activación de canales iónicos de calcio (Ca^{2+}) y potasio (K^+), participantes en la capacitación, lo cual reprime el batido flagelar, ya que la dineína ATPasa (la principal proteína involucrada en el movimiento flagelar) es dependiente del pH, una vez que el espermatozoide hace contacto con el fluido seminal [27].

El microambiente provisto por el líquido seminal, es una mezcla de secreciones del testículo, epidídimo y glándulas accesorias, que contiene $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_2$, iones inorgánicos, ácidos orgánicos, azúcares, lípidos, esteroides, aminoácidos, poliaminas, bases nitrogenadas y proteínas; esto da como resultado uno de los buffers más efectivos que hay en el organismo, con un pH alcalino que varía dependiendo de la especie (pH 7-9), donde la regulación que está dada por la bomba de sodio (Na^+/K^+ -ATPasa) también actúa durante la capacitación para mantener la concentración intracelular de Ca^{2+} [28].

En mamíferos, el momento en que los espermatozoides son depositados en la vagina nadan de manera progresiva, con movimientos de flagelo frecuentes y simétricos, sin embargo, al contacto con el ambiente rico en HCO_3^- , Ca^{2+} y albumina, sufren distintos cambios que en conjunto se conocen como capacitación espermática, entre ellos se encuentra la hiperactivación, es decir el movimiento del espermatozoide donde se vuelve errático, el batido flagelar asimétrico y con menos frecuencia, lo cual es esencial ya que este tipo de movimiento permitirá al espermatozoide atravesar las criptas oviductales para llegar al sitio de fertilización y poder fecundar un ovocito [29]. En los espermatozoides que conservan el flagelo, el batido de esa estructura es indispensable para una fecundación exitosa. El batido del flagelo no es un movimiento constante durante la fecundación donde se alteran tanto la frecuencia como la forma (la curvatura). Particularmente, el ion calcio (Ca^{2+}) es un elemento crucial para modificar la dinámica del flagelo. De hecho, la importancia del Ca^{2+} está bien establecida en dos procesos: 1) durante la hiperactivación de la movilidad en el espermatozoide de mamíferos y 2) en la quimiotaxis del espermatozoide en distintos grupos taxonómicos de eucariontes. Por lo tanto, los transportadores de Ca^{2+} son cruciales para regular estos dos eventos. En mamíferos, se sabe que existen dos moléculas indispensables para controlar el nivel de Ca^{2+} intracelular en el flagelo: CatSper (un canal catiónico específico del espermatozoide) y PMCA4 (una bomba de Ca^{2+} en la membrana plasmática) [27]

La vía sAC/cAMP/PPK es por la cual ocurre este cambio de movilidad en los espermatozoides y es altamente dependiente de las concentraciones HCO_3^- y Ca^{2+} . La adenilato ciclasa soluble (sAC) es específica del espermatozoide y para ser activada se necesita su unión a HCO_3^- y Ca^{2+} , una vez activada, la sAC convierte adenosina monofosfato en $3' \text{ } 5'$ - cAMP , entonces el incremento de esta molécula activa a PRK y ésta a su vez activa a fosfatasa como la PPP2CA o PPP4C (Figura5) [30].

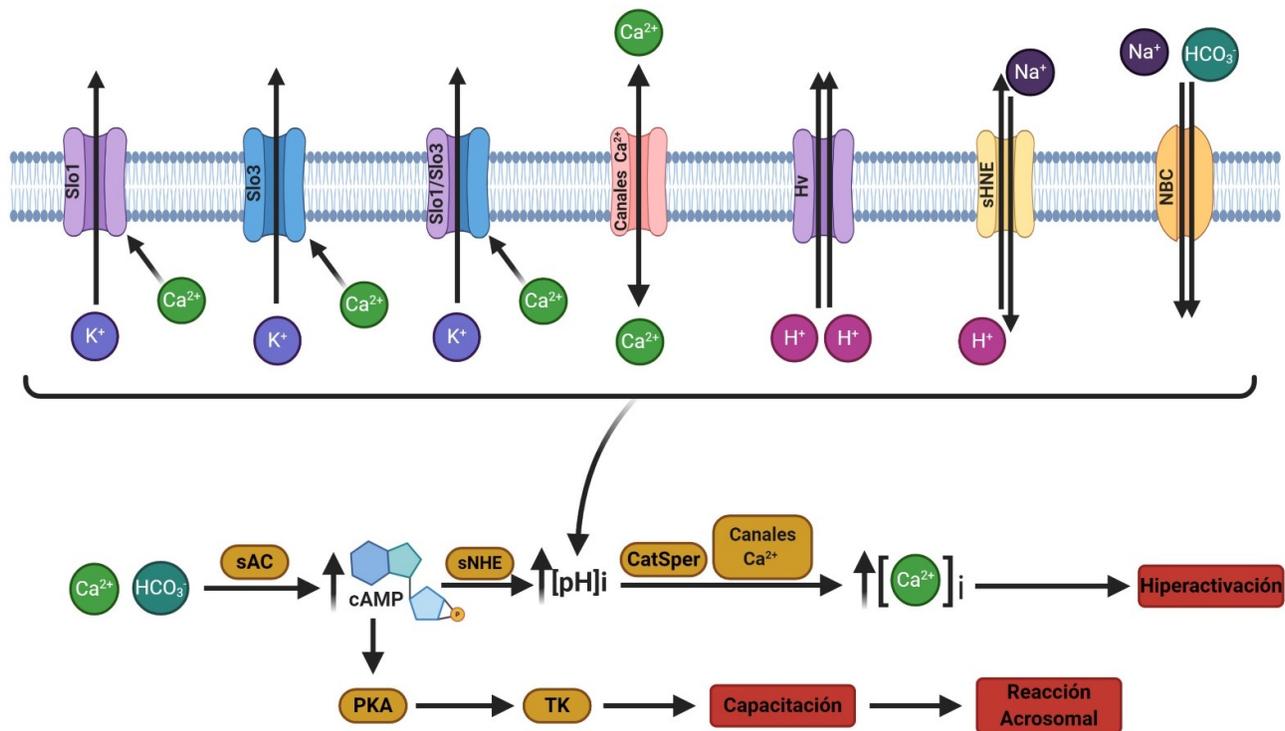


Fig. 5. Principales intercambiadores iónicos involucrados en la regulación del pH intracelular del espermatozoide en la generalidad de los mamíferos.

Para inducir y mantener la hiperactivación, se necesita un aumento de Ca^{2+} intracelular, el cual es mediado por el canal específico para el espermatozoide CatSper. La activación de este canal varía entre especies, pero este canal es específico a la alcalinización del medio y al voltaje [31]. A medida que los espermatozoides se encuentran con el entorno más alcalino del tracto reproductor femenino, los canales CatSper se activan por la concentración alterada de iones existen varios factores que pueden activar a CatSper, según la especie. En el ser humano, este canal es activado por la progesterona liberada por el ovocito y también es sensible al pH requiriendo un entorno de pH alto. CatSper juega un papel clave en la mediación de la motilidad hiperactiva antes de la fertilización, los espermatozoides quedan atrapados dentro de las proyecciones en forma de dedos de las microvellosidades del oviducto. Para que los espermatozoides fertilicen el ovocito, CatSper debe estar presente para iniciar la motilidad hiperactiva, permitiendo que los espermatozoides escapen de las microvellosidades y lleguen al ovocito para la fertilización [32-34]

VI. CONCLUSIÓN

EL pH se encuentra estrechamente relacionado con la conformación de las proteínas esenciales para la función espermática, lo cual le permite tener los cambios metabólicos necesarios para poder sobrevivir hasta que llegan al sitio de fertilización y poder llevar a cabo la función para la que están creados. Por lo tanto, este factor es uno de los principales a considerar durante el trabajo experimental con el gameto masculino.

REFERENCIAS

- [1] 1. Boron, W.F., "Regulation of intracellular pH". *Adv Physiol Educ*, 2004. 28(1-4): p. 160-79.
- [2] 2. Hoffmann, E.K. and L. Simonsen, "Membrane mechanisms in volume and pH regulation in vertebrate cells". *Physiological reviews*, 1989. 69(2): p. 315-382.
- [3] 3. De Jonge, C., "Biological basis for human capacitation—revisited". *Human reproduction update*, 2017. 23(3): p. 289-299.
- [4] 4. De Jonge, C.J. and C. Barratt, "The sperm cell: production, maturation, fertilization, regeneration." 2006: Cambridge University Press.
- [5] 5. Fiñana, I.T., A.G. Cejudo, and E. Fernández, "pH y amortiguadores: Tampones fisiológicos". *Amortiguadoras*, 2001. 3: p. 1-11.
- [6] 6. Hamamah, S. and J.-L. Gatti, "Role of the ionic environment and internal pH on sperm activity". *Human reproduction*, 1998. 13(suppl_4): p. 20-30.
- [7] 7. Díaz, A.P. and A. Pena, "Bioquímica". 2002: Editorial Limusa; p. 200-2001
- [8] 8. del Riesgo, L., "Estructura Y Funcion de Biomoleculas: Con Los Conceptos de Quimica Necesarios Para Una Mejor Comprension de la Bioquimica". 2010: Universidad del Rosario.
- [9] 9. Atkins, P.W. and L. Jones, "Principios de química: los caminos del descubrimiento". 2006: Ed. Médica Panamericana: p. 372-374.
- [10] 10. Zhou, H.-X. and X. Pang, "Electrostatic interactions in protein structure, folding, binding, and condensation". *Chemical reviews*, 2018. 118(4): p. 1691-1741.
- [11] 11. Rogers, K., "The cell". 2010: Britannica Educational Publishing: p. 35
- [12] 12. Nicolson, G.L., "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*, 2014. 1838(6): p. 1451-1466.

- [13] 13. Menéndez, J.T. "Los poros y los canales iónicos regulan la actividad celular". in *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. 2004.
- [14] 14. Bañó, C., et al., "Fundamentos de bioquímica". Vol. 96. 2007: Universitat de València.
- [15] 15. Madshus, I.H., "Regulation of intracellular pH in eukaryotic cells. *Biochemical journal*", 1988. 250(1): p. 1-8.
- [16] 16. Seifter, J.L. "Body Fluid Compartments, Cell Membrane Ion Transport, Electrolyte Concentrations, and Acid-Base Balance. in *Seminars in Nephrology*". 2019. Elsevier.
- [17] 17. Saíenz Menéndez, B., "Alteraciones del equilibrio ácido básico". *Revista cubana de cirugía*, 2006. 45(1): p. 0-0.
- [18] 18. Kim, A.B. and W.K. Milsom, "pH regulation in hibernation: Implications for ventilatory and metabolic control". *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2019: p. 110536.
- [19] 19. Skoog, D.A., et al., "Química analítica". 2001: McGraw-Hill México^ eD. F D. F.
- [20] 20. Mercado, F., R. Vega, and E. Soto, "Canales iónicos sensibles a la concentración extracelular de protones: estructura, función, farmacología y fisiopatología". *Rev Neurol*, 2005. 41(11): p. 667-75.
- [21] 21. de Paula, J.M.P., et al., "Alteraciones del equilibrio ácido-base. *Diálisis y Trasplante*", 2012. 33(1): p. 25-34.
- [22] 22. Ritagliati, C., et al., "Regulation mechanisms and implications of sperm membrane hyperpolarization". *Mech Dev*, 2018. 154: p. 33-43.
- [23] 23. Lishko, P.V., et al., "The Control of Male Fertility by Spermatozoan Ion Channels". *Annual Review of Physiology*, 2012. 74(1): p. 453-475.
- [24] 24. Vyklicka, L. and P.V. Lishko, "Dissecting the signaling pathways involved in the function of sperm flagellum". *Current Opinion in Cell Biology*, 2020. 63: p. 154-161.
- [25] 25. Chavez, J.C., et al., "Quantitative Intracellular pH Determinations in Single Live Mammalian Spermatozoa Using the Ratiometric Dye SNARF-5F". *Front Cell Dev Biol*, 2019. 7: p. 366.
- [26] 26. Shum, W.W., et al., "Establishment of cell - cell cross talk in the epididymis: control of luminal acidification". *Journal of andrology*, 2011. 32(6): p. 576-586.
- [27] 27. Nishigaki, T., F. Romero, and Y. Sánchez-Guevara, "CatSper, el canal de Ca²⁺ que regula el batido flagelar del espermatozoide en eucariontes". 2016.
- [28] 28. Zhou, J., et al., "The Semen pH Affects Sperm Motility and Capacitation. *PLoS One*", 2015. 10(7): p. e0132974.
- [29] 29. Gadella, B.M. and P.E. Visconti, "Regulation of capacitation". *The Sperm Cell*, 2006: p. 134-169.
- [30] 30. Freitas, M.J., S. Vijayaraghavan, and M. Fardilha, "Signaling mechanisms in mammalian sperm motility". *Biology of Reproduction*, 2017. 96(1): p. 2-12.
- [31] 31. Stival C., Puga Molina L.C., Paudel B., Buffone M.G., Visconti P.E., Krapf D. (2016) Sperm Capacitation and Acrosome Reaction in Mammalian Sperm. In: Buffone M. (eds) *Sperm Acrosome Biogenesis and Function During Fertilization*. *Advances in Anatomy, Embryology and Cell Biology*, vol 220. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-30567-7_5.
- [32] 32. Carlson, A.E., et al., "CatSper1 required for evoked Ca²⁺ entry and control of flagellar function in sperm. *Proceedings of the National Academy of Sciences*", 2003. 100(25): p. 14864-14868.
- [33] 33. Qi, H., et al., "All four CatSper ion channel proteins are required for male fertility and sperm cell hyperactivated motility". *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2007. 104(4): p. 1219-1223.
- [34] 34. Sun, X.-h., et al., "The Catsper channel and its roles in male fertility: a systematic review". *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2017. 15(1): p. 1-12.