

Modificaciones postesticulares que experimentan los espermatozoides de vertebrados durante el proceso de maduración espermática

Edith Arenas Ríos^{1*}, Francisco Olvera², Ahiezer Rodríguez Tobón², Lorena Ruíz Valderrama¹, Daniel Uriostegui Escoto³, Gihovani Samano Barbosa³, Blanca López Trinidad¹, Ernesto Rodríguez Tobón¹, Ileri Frago¹, Jorge Haro¹, Normal Chavarín¹ y Arturo Salame Méndez¹

1. Departamento de Biología de la Reproducción, Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, C.P. 09310, Ciudad de México, México.
2. Departamento de Biología Universidad Autónoma Metropolitana unidad Iztapalapa, C.P. 09310, Ciudad de México, México.
3. Doctorado en Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana, Ciudad de México, México.

*** Autor de correspondencia:**

Edith Arenas-Ríos

editharenas2000@yahoo.com.mx

RESUMEN

Los vertebrados se reproducen de manera sexual, es decir, los gametos masculinos y femeninos tienen que interactuar para formar un nuevo individuo. Ahora bien, existe una diferencia en la morfología de los órganos de transporte y almacenamiento de espermatozoides, dependiendo de las diversas estrategias reproductivas, como la fertilización interna y la fertilización externa. La producción de espermatozoides se lleva a cabo en los testículos, en la mayoría de los peces y anfibios, contienen lóbulos seminíferos con espermatogénesis cística; y, en reptiles y mamíferos la espermatogénesis en los túbulos seminíferos es radial. La maduración de los espermatozoides de fertilización externa es adquirida en el trayecto dentro del conducto espermático, al ser liberado al ambiente externo; por otro lado, se ha propuesto que la maduración de los espermatozoides en mamíferos puede estar dividida en tres grandes eventos: a) espermiogénesis (testículo), b) maduración epididimaria y c) capacitación espermática (tracto reproductor femenino). En vertebrados superiores como los mamíferos, los espermatozoides que se encuentran en los túbulos seminíferos ya son morfológicamente similares a los que fertilizan al ovocito, pero aún no han adquirido su capacidad fertilizante. Por lo cual, deben recorrer el túbulo epididimario, que les permitirá fertilizar al ovocito, los cambios involucran modificaciones en el núcleo, el acrosoma, elementos del citoesqueleto, gota citoplásmica o membrana plasmática del espermatozoide; además presentarán una serie de cambios bioquímicos que secuencialmente modifican la fisiología del espermatozoide. En estudios realizados en nuestro grupo de trabajo, hemos encontrado que, los espermatozoides de anfibios, reptiles y mamíferos presentan modificaciones postesticulares importantes para adquirir su capacidad fertilizante, por ejemplo: fosforilación de tirosinas, migración de la gota citoplasmática y modificación en carbohidratos de membrana; por otro lado, en especies que presentan almacenamiento prolongado de espermatozoides, se hemos observado que, la maduración espermática depende del tiempo de almacenamiento y termina en la región caudal del epidídimo.

Palabras clave: Epidídimo, Espermatozoide, Maduración espermática, Reproducción, Testículo, Vertebrados.

ABSTRACT

Reproduction in vertebrates is sexual, that is, male and female gametes must interact to form a new individual. Now, there is a difference in the morphology of organ transport and sperm storage, depending on several reproductive strategies, such as internal fertilization and external fertilization. Sperm production takes place in the testes, in most fish and amphibians, they contain seminiferous lobes with cystic spermatogenesis; and in reptiles and mammals, spermatogenesis in the seminiferous tubules is radial. The maturation of externally fertilized sperm is acquired during the journey within the spermatic duct, upon being released to the external environment. On the other hand, it has been proposed that the maturation of sperm in mammals can be divided into three major events: a) Spermiogenesis (testis); b) Epididymal maturation and c) Sperm capacitation (female reproductive tract). In higher vertebrates such as mammals, the sperm found in the seminiferous tubules are already morphologically the same as those that fertilize the oocyte, however, they have not yet acquired their fertilizing capacity. Therefore, they must travel through the epididymal tubule, allowing them to fertilize the oocyte. The changes involve modifications in the nucleus, the acrosome, elements of the cytoskeleton, cytoplasmic droplet or plasmatic membrane of the sperm. They will also present a series of biochemical changes that sequentially modify sperm physiology. In studies carried out in the working group, we have found that the sperm of amphibians, reptiles and mammals present necessary post-testicular modifications to acquire their fertilizing capacity, for example: tyrosine phosphorylation, migration of the cytoplasmic droplet and modification of membrane carbohydrates. On the other hand, in species that present prolonged storage of sperm, it has been observed that sperm maturation depends on the storage time and ends in the caudal region of the epididymis.

Keywords: Epididymis, Reproduction, Sperm, Sperm maturation, Testis, Vertebrates.

INTRODUCCIÓN

La reproducción en vertebrados es del tipo sexual, es decir, un gameto masculino fertilizará a un gameto femenino, al unirse darán origen a un embrión unicelular o cigoto, que, al desarrollarse, generará un nuevo individuo asegurando así la perpetuación de la especie.

Los gametos se caracterizan por contar con una carga genética haploide, resultado de la reducción genética después de la división por meiosis de la célula germinal precursora, en los machos se denomina: espermatocito primario (Arenas-Ríos *et al.*, 2012). Cuando tiene lugar la interacción entre gametos se lleva a cabo el apareamiento del material genético proveniente del espermatozoide y el ovocito, siendo ésta la base de la variabilidad genética en una población, y la recuperación de la carga genética diploide (Arenas-Ríos *et al.*, 2012). La diferencia en la morfología de los órganos de transporte y almacenamiento de espermatozoides en los vertebrados depende de la especie, lo que conlleva a diversas estrategias reproductivas y sistemas de apareamiento a lo largo de la evolución (Emlen & Oring, 1977).

Los diversos vertebrados han desarrollado adaptaciones evolutivas para favorecer la fertilización bajo diferentes condiciones (Grassé, 1978), como ejemplo la fertilización interna, que es propia de los amniotas: reptiles, aves y mamíferos; los cuales presentan diversas características anatómicas, fisiológicas y comportamentales, que han conducido finalmente a una estrategia reproductiva que permite la sobrevivencia de los embriones hasta el estadio final del desarrollo embrionario (Villagrán Santacruz, 2013). En cambio, la fertilización externa es realizada por una gran cantidad de vertebrados acuáticos de los diferentes grupos de peces y anfibios.

La diversidad en los peces, tanto dulceacuícolas como marinos, los ambientes en los que habitan son tan distintos, que presentan una importante diversidad de estrategias adaptativas, estas se pueden identificar desde un enfoque morfológico, fisiológico, bioquímico y molecular (Grier *et al.*, 2009). Al igual que en

otros vertebrados, la producción de gametos se realiza en los órganos especializados, el ovario en la hembra y el testículo en el macho mediante el proceso conocido como gametogénesis. La generación de espermatozoides se le denomina espermatogénesis (Grier *et al.*, 2009).

ESPERMATOGÉNESIS CÍSTICA, SEMICÍSTICA Y TUBULAR

La espermatogénesis, proceso por el cual se producen los espermatozoides, de manera general consiste en 3 etapas: etapa proliferativa mitótica, etapa proliferativa meiótica y espermiogénesis; se lleva a cabo en los testículos, órgano cuya posición anatómica varía entre las especies, pero en general pueden estar localizados al interior de la cavidad abdominal, que la presentan todos los vertebrados inferiores, los reptiles, las aves y algunas especies de mamíferos, o pueden estar en posición externa, ya sea adosados a la cara ventral de las extremidades inferiores (posición inguinal) o bien, estar alejados del cuerpo (pendulares), en ambos casos, se les denomina escrotales (Coward *et al.*, 2002; Sanz-Ochotorena *et al.*, 2011).

En anfibios, los testículos pueden ser redondeados u ovoides, generalmente localizados en la pared dorsal de la cavidad visceral, pendientes del mesenterio dorsal (mesorquio). En la mayoría de peces, los testículos son órganos pareados, pueden ser lobulados o tubulares, sin embargo, algunas especies presentan asimetría morfo-funcional, ya que uno de los testículos es más pequeño que el otro y no es funcional (Coward *et al.*, 2002; Sanz-Ochotorena *et al.*, 2011).

El fotoperíodo y la temperatura son variables abióticas que inciden sobre la disponibilidad energética que los organismos destinan al proceso reproductivo, así como en la producción y liberación de hormonas esteroides por parte de las células de Leydig (Nakane & Yoshimura, 2019). Considerando el enfoque filogenético, de acuerdo con su organización tisular, el testículo en los grupos inferiores, como peces y anfibios, es de tipo lobular, mientras que en los superiores como el humano es tubular; en relación con la manera en que se lleva a cabo el proceso de la espermatogénesis, en los primeros es de tipo semiquística y en los segundos es del tipo radial, en donde el epitelio seminífero se encuentra concéntrico a un espacio luminal (Grier *et al.*, 2009). En las especies con testículos lobulares, la espermatogénesis se lleva a cabo en quistes separados y los espermatozoides son liberados a un espacio o lumen que los dirige al conducto eferente (Grier *et al.*, 2009).

En los vertebrados se reconocen dos tipos de fertilización de acuerdo con el sitio en donde ocurre, la externa que se presenta en el 94% de las especies de peces y en la mayoría de los anfibios anuros; la cual consiste en expulsar los gametos masculinos y femeninos a un medio externo con la finalidad de que fertilicen, donde el espermatozoide debe entrar por el micrópilo del ovocito (Patzner, 2008). Por otra parte, la fertilización interna está presente en un pequeño grupo de peces (el 6%), en la mayoría de los anfibios urodelos y en todos los amniotas (Patzner, 2008). Los gonopterigios y mixopterigios en peces óseos y claspers en cartilaginosos, son estructuras intromitentes con los que cuentan los condictios y teleósteos respectivamente, para depositar los espermatozoides en el tracto genital de la hembra, los espermatozoides se encuentran agrupados en espermatozeugmata (envoltura con características antimicrobianas, antiparasitarias y lubricante) (Herráez *et al.*, 2017; Reis, 2003; Rurangwa *et al.*, 2004; Wootton & Smith, 2014). En el caso de las especies con fecundación externa, es decir, la mayoría de los peces óseos, los espermatozoides se consideran modernos por su forma, conjunto de sistemas y elementos que los estructuran (Andrade *et al.*, 2001), ahora bien, en el caso de especies con fertilización

interna, por ejemplo, en peces teleósteos, los espermatozoides no presentan acrosoma, ya que no lo requieren (Andrade *et al.*, 2001).

En los peces y anfibios, los testículos contienen lóbulos seminíferos donde se lleva a cabo la espermatogénesis cística; y en reptiles y mamíferos la espermatogénesis tiene lugar en túbulos (túbulos seminíferos) la cual, se desarrolla dentro del lóbulo testicular se denomina cística, como ocurre en la mayoría de los peces (ej. Charácidos) y anfibios (ej. *Xenopus*) mientras que la espermatogénesis semicística sucede parcialmente fuera del lóbulo, por ejemplo: los teleósteos Charácidos y los *Hoplias malabaricus* también conocidos como moncholo (Billard, 1986; Grier *et al.*, 1980; Grier, 1981; Quagio-Grassiotto *et al.*, 2001) (Figura 1).

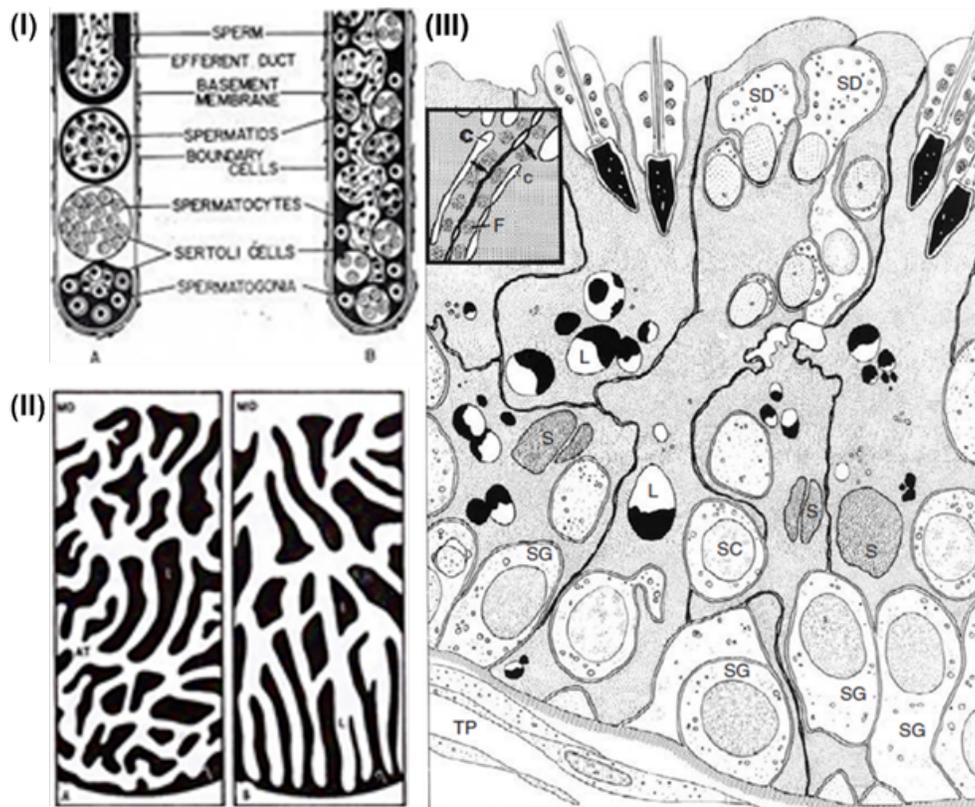


Figura 1. (I) Patrón filogenético de la distribución de arreglos testiculares en los teleósteos. Tubular anastomosado: teleósteos primitivos; lobular: teleósteos superiores. Tipo lobular restringido es un carácter diagnóstico en Atherinomorpha (Parenti & Grier, 2004). A) Testículo espermatogonial restringido y B) Testículo espermatogonial no restringido. (II) A) Testículo tubular anastomosado, en el que el compartimento germinal forma un sistema tubular continuo presente en especies primitivas. B) Testículo lobular, los lóbulos terminan en la periferia. AT. Túbulos anastomosados; L. lóbulos; MD. Ducto principal (Grier, 1993). (III) Célula de Sertoli en humanos, obsérvense las espermatogonias (SG), los espermatocitos primarios (SC), las espermatidas (SD), las células de Sertoli (S) y su citoplasma que contiene lípidos (L). Las uniones especializadas entre las células de Sertoli que es radial (Sanz Ochotorena *et al.*, 2021). En el recuadro se observa: C, cisternas; F, fibrillas. Figura modificada de (Kerr *et al.*, 2006).

La espermatogénesis es un proceso celular dinámico tanto en el espacio como en el tiempo, en el que ocurren los eventos involucrados en el desarrollo de las espermatogonias hasta convertirse en espermatozoides con ayuda de las células de Sertoli (Clermont, 1972). La espermatogénesis transcurre en tres fases:

- 1°. Etapa proliferativa mitótica. La cual consiste en la división y multiplicación de las espermatogonias donde, las células de Sertoli mantienen la potencialidad reproductiva regulando la entrada de nutrientes y factores de crecimiento necesarios para las espermatogonias, así como protección ante agentes dañinos (Herms et al., 2010).
- En mamíferos, particularmente en la rata, se han identificado: células tallo, células proliferantes, y células en diferenciación. El adecuado desarrollo de éstas es dependiente de un microambiente específico, conformado por las células de Sertoli y las células mioideas, favorecido por las células de Leydig (Herms et al., 2010).
- 2°. Etapa proliferativa meiótica de espermatocitos. La división celular en las espermatogonias cambia de mitosis a meiosis. Durante la meiosis los espermatocitos experimentan apareamiento de los cromosomas, sinapsis e intercambio genético, así como transformación en células haploides después de la meiosis (Herms et al., 2010). Las células meióticas forman entidades estructurales específicas como el complejo sinaptonémico (Griswold, 2016). En la meiosis 1 se dividen los espermatocitos primarios $2n$ (unidad espermatogénica) y dan lugar a los espermatocitos secundarios (n); los espermatocitos pasan por dos meiosis, el resultado de la meiosis 2, son las espermátidas, en este proceso los espermatocitos pierden del 80 al 90% de su tamaño, la cromatina se condensa, el nucleoplasma se incorpora al citoplasma y el resto del material es fagocitado (Herms et al., 2010).
- 3°. Espermiogénesis. Por último, las espermátidas se desarrollan en espermatozoides como resultado de una complicada metamorfosis, e involucra dramáticas modificaciones estructurales en la forma del núcleo, la compactación de la cromatina nuclear, la formación de un acrosoma, y el establecimiento de un flagelo que le permitirá eventualmente la movilidad (Herms et al., 2010). La espermatogénesis en consecuencia constituye la renovación y proliferación de espermatogonias indiferenciadas, la diferenciación espermatogonial, la meiosis de los espermatocitos, y la metamorfosis de las espermátidas para formar espermatozoides (Herms et al., 2010) (Figura 2).

La definición moderna de espermatogénesis contempla un cuarto componente, que es la apoptosis, proceso de eliminación fisiológica de células germinales que permite mantener un balance numérico entre las células germinales que incrementan en número por proliferación, respecto a la población de células de Sertoli que son terminales y no proliferan en la etapa adulta del individuo (Zakariah et al., 2022).

En mamíferos, a la liberación de los espermatozoides del epitelio seminífero, es conocido como: espermiación, se encuentra bajo el control sinérgico de la hormona folículo estimulante (FSH) y ausencia de testosterona (Narula et al., 2002).

Los factores que delimitan los procesos evolutivos en los niveles de organización y complejidad en la naturaleza son siempre los mismos. Así, los conceptos de medio ambiente externo a nivel de metazoarios o medio ambiente interno en células eucariontes, organelos o moléculas, reaccionan a presiones de selección de igual forma. La similitud de un modelo con ligeras variantes en un inicio se expone e inscribe

en un “continuum” de variabilidades, morfológicas, estructurales, metabólicas y electroquímicas, cuya funcionalidad o adaptación al medio ambiente macro, micro o molecular le darán la prevalencia durante cierto tiempo y a tal espacio; hasta que la suma de ciertas diferencias en comparación con el modelo inicial los aleja para ser funcionales o no (Andrade *et al.*, 2001; Grier, 1993; Grier, 1981; Mattei *et al.*, 1993; Schulz *et al.*, 2010).

Aunque en otros ambientes con temperatura, pH y iones de K^{2+} , Ca^{2+} , Mg^{+} y HCO_3^{-} y enzimas, presión osmótica y señalización para la acción tipos celulares, los haga aptos y tan distintos como para la fertilización externa o interna que dependerá de los tipos y formas de flagelos, como de la espermatogénesis quística o semiquística que los originó, o de los mecanismos quiescentes y cascadas de sucesos para la activación y la movilidad y, llegar a la fertilización en ocasiones dirigido por sustancias provenientes de los óvulos, en su conjunto de la evolución el comportamiento y la biología de los organismos (Andrade *et al.*, 2001; Grier, 1993; Grier, 1981; Mattei *et al.*, 1993; Schulz *et al.*, 2010).

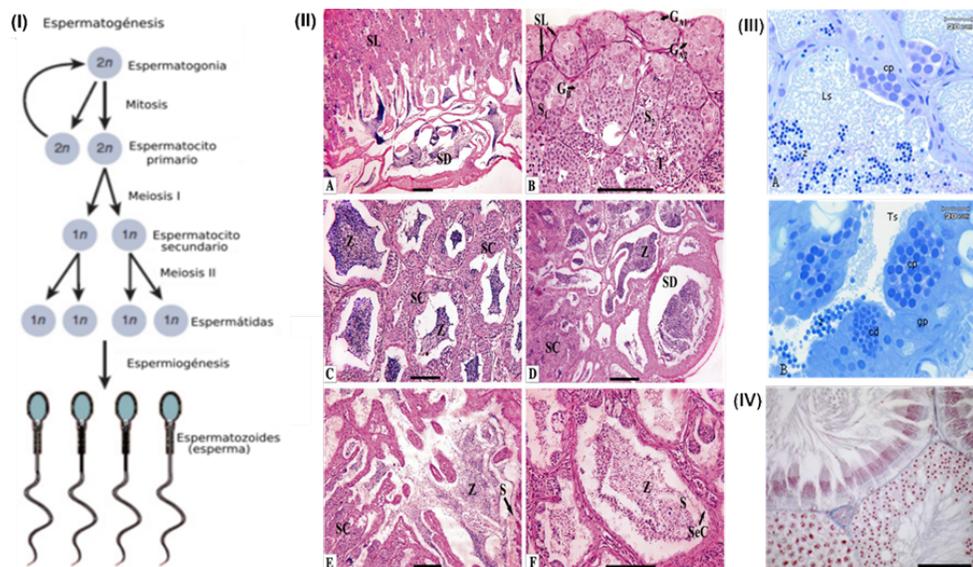


Figura 2. (I) Esquema general del proceso de espermatogénesis. (II) Cortes histológicos transversales teñidos con hematoxilina-eosina (A-F) de testículos de *O. niloticus*. A, testículo de tipo lobular, mostrando lóbulos seminíferos radiales (SL) que convergen al conducto espermático (SD). B, lóbulos con células espermatogénicas en la porción inferior del testículo. C, lóbulos que contenían células espermatogénicas en la porción central. D, lóbulos con células espermatogénicas en la porción superior. E, lóbulos con epitelio secretor y lumen amplio en la porción superior. F, detalle del lóbulo secretor en la porción superior. G_{A1} , espermatogonias A indiferenciadas; G_{A2} , espermatogonias A diferenciadas; G_B , espermatogonias B; S_1 , espermatocito primario; S_2 , espermatocito secundario; T, espermatida; Z, esperma; SC, células espermatogénicas; S, secreción acidófila; SeC, células secretoras. Barras de escala: 200 μm (A, D), 100 μm (B, C, E, F) (Melo *et al.*, 2016). (III) Gónadas de macho *Hemiancistrus subviridis*. A, estadio vacío. Túbulo seminífero (Ls), espermatozoides (z), cistos de espermatocitos primarios (cp). B, estadio en maduración. Túbulo seminífero (Ts), espermatozoides (z), espermatogonias primarias (gp), cistos de espermatocito primario (cp) y de espermatidas (cd) (Moreno & Landines, 2012). (IV)

Magnificación media de espermatocistos con células en diferentes grados de diferenciación en el testículo de *S. bonapartii*. Barra de escala = 75 μm . Tinción: Tricrómica de Masson (Galíndez, 2016).

ESPERMATOZOIDE DE ALGUNOS VERTEBRADOS

En la mayoría de los vertebrados, morfológicamente los espermatozoides, se pueden dividir en dos regiones: cabeza y flagelo; en la región del flagelo, se pueden distinguir: la pieza media, pieza principal y pieza final (Robaire *et al.*, 2006). Sin embargo, los espermatozoides en los peces se clasifican por su tamaño, forma de la cabeza, disposición y forma del núcleo, disposición y número de las mitocondrias y, forma y estructura del flagelo (9+2) (Claude Gagnon & Lamirande, 2006). También por su forma de fertilizar: aquaespermatozoides e introespermatozoides. Por otro lado, ciertos anguiliformes y elopiformes, presentan solo los nueve pares periféricos del axonema, otros carecen de flagelo (desplazamiento amiboideo) y, la membrana plasmática o flagelar en algunos peces, desarrollan aletas para mejorar el desplazamiento en medio líquido, también se incluyen las estructuras y patrones de movilidad para la clasificación (Cosson *et al.*, 1999). Por ejemplo, en cíclidos, pueden ser biflagelados, acuaesperma por el medio al que son liberados y anacrosomales (Cosson *et al.*, 1999).

Relacionado con la funcionalidad y movilidad de los espermatozoides de peces, participa el flagelo, estructurado por el complejo del axonema y, las mitocondrias ubicadas de forma helicoidal en la pieza media (Critser & Noiles, 1993) que producen variados patrones ondulatorios: de rollo en la anguila, en otros peces producen ondulaciones más comunes. La forma de la onda del flagelo puede ser afectada por la concentración iónica, osmolaridad y CO_2 (Cosson *et al.*, 2000).

Los espermatozoides en anfibios (eleuterodactílicos) poseen la cabeza con un acrosoma característico y flagelo alargado donde destaca una membrana ondulante. Presentan la esencia morfológica y funcional del flagelo en el axonema, que presenta el patrón de microtúbulos 9+2, aunque entre los dobletes no existe en este género brazos de dineína, lo que propicia poca movilidad espermática, debido a la corta distancia que recorren los espermatozoides hasta el ovocito (Saenz-de-Juano *et al.*, 2019).

En los mamíferos también hay variaciones, el espermatozoide del murciélago *Corynorhinus mexicanus* presenta una cabeza en forma de espátula con una longitud total de $73 \pm 6.4 \mu\text{m}$: $2 \pm 0.1 \mu\text{m}$ de ancho y $5.2 \pm 0.5 \mu\text{m}$ de largo, se observa la región subacrosomal, el perforatorium y es evidente el segmento ecuatorial, así mismo, se observa el centriolo proximal y plato basal, con un cuello muy estrecho, el flagelo tiene una extensión de $67.7 \pm 6.4 \mu\text{m}$ con la típica conformación de microtúbulos descrita en este grupo de vertebrados (Rodríguez-Tobón *et al.*, 2010) (Figura 3).

MADURACIÓN DEL ESPERMATOZOIDE

Se ha propuesto que la maduración de los espermatozoides en mamíferos puede estar dividida en tres grandes eventos: a) espermiogénesis (testículo), b) maduración epididimaria y c) capacitación espermática (tracto reproductor femenino) (Cervantes *et al.*, 2008; Crichton & Krutzsch, 2000; Cuasnicú *et al.*, 2002; Dacheux & Dacheux, 2014; Darszon, 2008; Gervasi & Visconti, 2016; Stival *et al.*, 2016). Durante la espermiogénesis, las células avanzan desde la lámina basal del túbulo seminífero hasta la luz, modificando su morfología, los cambios que involucran son: condensación del núcleo, formación del acrosoma y flagelo,

así como reducción del citoplasma (Cervantes *et al.*, 2008; Crichton & Krutzsch, 2000; Cuasnicú *et al.*, 2002; Dacheux & Dacheux, 2014; Darszon, 2008; Gervasi & Visconti, 2016; Stival *et al.*, 2016).

La capacitación y maduración de los espermatozoides de peces es adquirida en el trayecto dentro del conducto espermático, cuyo fluido o plasma seminal que genera un ambiente de pH básico y rico en bicarbonato en el que las células se ven sometidas a estímulos ácido-base (Hamamah & Gatti, 1998). Terminada la espermatogénesis, los espermatozoides permanecen inmóviles y con gasto energético bajo, lo que evita la oxidación y el daño de las membranas. La duración de este estado quiescente está en función de la estacionalidad de la reproducción de los peces (Hamamah & Gatti, 1998). Al ser liberado el semen al ambiente externo, hay un choque hiposmótico, los espermatozoides se activan, el metabolismo y la movilidad se inicia (Hamamah & Gatti, 1998), mostrando dos características, potencia y velocidad, que son requeridas para lograr la fertilización antes que el micrópilo se cierre, como consecuencia de la hidratación del ovocito (Hamamah & Gatti, 1998). Sin embargo, estos cambios presentes en los espermatozoides de peces, no se considera un proceso de maduración epididimaria como en los mamíferos, ya que los espermatozoides una vez que abandonan el testículo ya se encuentran listos para fertilizar, solo experimentan un proceso de ambientación que les activa el metabolismo, movilidad y otros aspectos fisiológicos (Hamamah & Gatti, 1998).

En los mamíferos, los espermatozoides que se encuentran en la luz de los túbulos seminíferos ya son morfológicamente iguales a los que fertilizan al ovocito, pero estas células aún no han adquirido su capacidad fertilizante (Achikanu *et al.*, 2018; De Jonge *et al.*, 2006; Gadella & Visconti, 2006; Lishko *et al.*, 2012). Por lo cual, deben recorrer el túbulo epididimario, órgano en el que los gametos masculinos llevarán a cabo un proceso de maduración que les permitirá fertilizar al ovocito (Cuasnicú *et al.*, 2002; Dacheux & Dacheux, 2014).

MADURACIÓN ESPERMÁTICA EPIDIDIMARIA

Los cambios que sufre el espermatozoide relacionado con su paso por el epidídimo involucran una gran cantidad de mecanismos para madurar, que pueden ser tan diversos, que pudieran llevarse a cabo en el núcleo, el acrosoma, elementos del citoesqueleto, gota citoplásmica o membrana plasmática del espermatozoide (Cooper, 1999).

Durante el paso por el epidídimo, morfológicamente los espermatozoides presentan algunos cambios, como: la reducción del área total de la cabeza, el tamaño del acrosoma y el diámetro mitocondrial (Briz *et al.*, 1995), reportando que el porcentaje de espermatozoides con las anteriores características aumenta cuando maduran (Cooper, 1999). Lo que se puede explicar por un aumento en la compactación nuclear por la formación de puentes disulfuro (S-S) intracelulares durante el tránsito por el epidídimo (Bedford, 1975; Cooper & Yeung, 2006; Hinton *et al.*, 1981).

Otro de los cambios morfológicos que acompañan a la mayoría de los espermatozoides durante su tránsito por el epidídimo, es la migración de la gota citoplásmica, remanente asociado con la espermiogénesis, que se desliza de la base de la cabeza del espermatozoide a la pieza media del mismo, antes de desprenderse finalmente, ya sea, en la *cauda* del epidídimo o después de ser eyaculado; reportándose que el porcentaje de espermatozoides con gota citoplasmática disminuye cuando éstos avanzan por este órgano (Gatti *et al.*, 2004). La membrana de la gota citoplasmática es contigua al resto de la célula, aproximándose a la vaina mitocondrial (Cooper, 1999). Sin embargo, no se ha determinado si esta

migración afecta a la dinámica de lípidos en las mitocondrias (Cooper, 1999), aunque muchas patologías se han relacionado con problemas en la migración de la gota citoplásmica (Bonet et al., 1992), y este fenómeno es directamente proporcional al aumento en la movilidad (Cooper, 1999), también, en espermatozoides de musaraña (cuyos testículos y epidídimos no descienden) la gota del espermatozoide permanece en el cuello de esta célula (Robaire et al., 2006). Respecto a lo anterior, a la gota citoplasmática de los espermatozoides se le han atribuido funciones de protección, por ejemplo, se ha observado que presenta tolerancia al estrés térmico (Schulze & Waberski, 2022), así como la presencia de acuaporinas, las cuales pueden favorecer las condiciones osmóticas durante el almacenamiento (Chen et al., 2011), además de ser considerada como enzimáticamente activa y ser fuente de energía durante la maduración espermática epididimaria (Dott & Dingle, 1968; Zhang et al., 2015).

Una vez que el espermatozoide alcanza la *cauda* del epidídimo, será almacenado por diferentes periodos de tiempo dependiendo la especie, en el humano puede ser hasta por 11 días (Cooper, 2011; Cooper & Yeung, 2006) y los espermatozoides que son almacenados tienen una capacidad fertilizante superior al 40% (Cooper, 2011; Cooper & Yeung, 2006).

Se ha descrito que, las diferentes regiones epididimarias cambian en tamaño cuando son comparadas entre ellas, siendo un órgano andrógeno dependiente, la castración genera una reducción en el peso y tamaño del epidídimo, es decir, una disminución del diámetro de la luz del túbulo y las células que conforman el epitelio (Patrão et al., 2009; Robaire et al., 2007); se puede llegar a afectar la expresión de genes, particularmente en el *corpus* y *cauda*, la secreción/absorción de moléculas se ve comprometida, se induce la apoptosis comenzando en la región cefálica y avanzando progresivamente hasta la región caudal del epidídimo (Patrão et al., 2009; Robaire et al., 2007).

En especies estacionales como *C. mexicanus* (murciélago con reproducción estacional donde más se ha estudiado el proceso de maduración epididimaria), la región caudal del epidídimo incrementa en tamaño de agosto a octubre, debido a que en noviembre ocurren los apareamientos y los espermatozoides se encuentran almacenados en la *cauda* (Rodríguez-Tobón et al., 2010). El proceso de maduración y de almacenamiento epididimarios, es favorecido por los diversos tipos celulares que conforman el tejido epitelial (Rodríguez-Tobón et al., 2010). En *C. mexicanus* se ha establecido la presencia de células principales a lo largo de todo el epidídimo, y en el momento en que son liberados los espermatozoides del testículo e ingresan al epidídimo (proceso que sucede en septiembre), se registró en el *caput* la presencia de células basales, claras, estrechas y halo; en la región del *corpus*, solamente células basales; y en la *cauda*, células basales, claras y halo (Rodríguez-Tobón et al., 2010). Después de un mes de almacenamiento (octubre), encontramos células apicales y basales en la región corporal, y células basales en la *cauda*. Durante el periodo de cópulas (diciembre), se observaron células basales en la región cefálica y cuerpo del epidídimo. Cinco meses después de que los espermatozoides llegaron a la región caudal del epidídimo (febrero), encontramos células apicales en la región del *caput* y células claras en la región caudal (Rodríguez-Tobón et al., 2010).

En el proceso de maduración epididimaria, además de los cambios morfológicos ya mencionados, conforme los espermatozoides se desplazan de la región cefálica a caudal del epidídimo, presentarán una serie de cambios bioquímicos que secuencialmente modifican la fisiología del espermatozoide (Robaire et al., 2006). Entre los cambios se encuentran: el aumento en la carga negativa de la membrana plasmática e incremento del movimiento progresivo, cambios en el proteoma del espermatozoide (Cuasnicú et al.,

2002; Gervasi & Visconti, 2016; Sullivan & Saez, 2013) y la estabilización de la membrana por el colesterol. Lo anterior, le conferirá al espermatozoide, el potencial para capacitarse y para llevar a cabo la reacción acrosomal, y finalmente fertilizar el ovocito (Cuasnicú *et al.*, 2002; Darszon *et al.*, 2011; Gervasi & Visconti, 2016; Robaire *et al.*, 2006).

Los cambios que le ocurren a los espermatozoides en el epidídimo se deben a que, en cada región, las células epiteliales expresan diferentes genes y sintetizan diversas proteínas que, junto con otras sustancias (aminoácidos, iones, fosfatos, etc.) son liberadas al lumen y en conjunto con la absorción del líquido epididimario se crean distintos gradientes de concentración, que favorecen las características microambientales particulares de cada región epididimaria, y que al entrar en contacto directo con este microambiente luminal específico se favorecerán las modificaciones necesarias para su maduración (Crabo, 1965; Dacheux & Dacheux, 2014).

Las proteínas presentes en el fluido luminal del epidídimo, se ha reportado un amplio repertorio, en el que se incluye: enzimas, factores de crecimiento, lipoproteínas, metaloproteínas, proteínas encargadas de la unión de gametos, transportadores, etc. (Cooper & Yeung, 2006; Robaire *et al.*, 2006). La concentración de estas moléculas cambia desde los túbulos seminíferos, hacia el *rete testis*, *caput*, *corpus* y *cauda* del epidídimo (Cooper & Yeung, 2006; Robaire *et al.*, 2006). Se han reportado que, los solutos orgánicos que se encuentran en el fluido epididimario son: glutamato, taurina, L-carnitina, mioinositol, glicerilfosforilcolina, fosforilcolina, ácidos siálicos y otros aminoácidos; que al igual que las proteínas, presentan un aumento progresivo desde los túbulos seminíferos (10 - 20 mM), *caput* (100 - 150 mM) hasta la *cauda* (200 mM) (Cooper & Yeung, 2006; Robaire *et al.*, 2006).

En el caso de los iones, se ha reportado la presencia de potasio, fósforo, calcio, magnesio, sodio y cloro; a diferencia de las proteínas o solutos orgánicos, el ambiente iónico está dividido en dos: los iones como el potasio y el fósforo, que aumentan en concentración conforme el espermatozoide avanza del *caput* a la *cauda* y el caso de los iones que disminuyen de manera progresiva como el calcio, magnesio, sodio y cloro, esto permite que el pH luminal también disminuya progresivamente desde 7.3 en los túbulos seminíferos hasta 6.5 en la *cauda*, impidiendo de esta manera, la movilidad espermática, ya que la acidificación del fluido luminal mantiene quiescentes a los espermatozoides hasta que estos maduran (Cooper & Yeung, 2006; Robaire *et al.*, 2006).

La interacción del fluido del lumen del epidídimo con los espermatozoides es lo que determinará esos cambios obtenidos para llevar a buen término la maduración, algunos de los cambios representativos son:

- A) Compactación de la cromatina, por la sustitución de las histonas por protaminas (Cooper, 1999);
- B) Cambios en composición de lípidos, que se traduce en un aumento en la fluidez de membrana y reorganización de lípidos, que puede ser a través de las balsas lipídicas (Cooper, 1999; Cooper, 1995; Cooper, 2011);
- C) Reorganización en las proteínas de membrana (Cooper, 1999; Cooper, 2011; Cooper & Yeung, 2006; Gatti *et al.*, 2004; Toshimori & Ito, 2003);
- D) Modificación de proteínas de la superficie de membrana, que puede ser a través del plegamiento, fosforilación, proteólisis y/o formación de puentes disulfuro (S-S), como se mencionó antes (Cooper, 1999; Cooper, 1995);
- E) Incremento de la carga negativa total (Cooper, 1999; Cooper & Yeung, 2006);

F) Modificación en los carbohidratos de membrana (Cooper, 1999; Cooper, 2011; Cooper & Yeung, 2006; Gatti *et al.*, 2004; Toshimori & Ito, 2003).

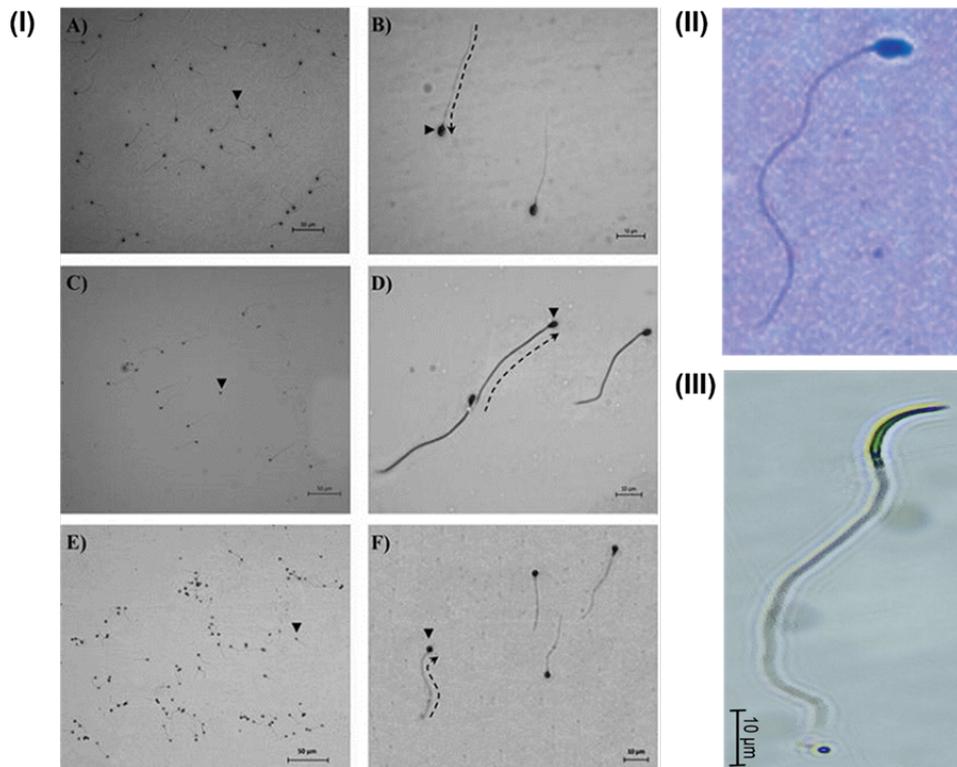


Figura 3. (I) Espermatozoides de distintas especies de peces a 12.5X y 50X. Bagre tropical *Rhamdia laticauda* (A, B), pejelagarto tropical *Atractosteus tropicus* (C, D), mojarra del Nilo *Oreochromis niloticus* (E, F), mostrando con un triángulo sólido (▼) la cabeza espermática y la trayectoria flagelar con una flecha en línea discontinua (López-Hernández *et al.*, 2018). (II) Espermatozoide de *Brycon henni* (Pisces Characidae) X 100. Mostrando la estructura típica de los teleósteos (Tabares *et al.*, 2005). (III) espermatozoides de *S. megalepidurus* X400. Barra = 10 µm (Quintero-Pérez *et al.*, 2023; Uriostegui-Escoto, 2021).

Por último, además de lo que se ha mencionado, y aun cuando los espermatozoides son incapaces de sintetizar proteínas, estos participan activamente en el proceso de maduración, por su capacidad de generar especies de oxígeno reactivas (ERO), las cuales, se ha documentado que participan regulando el proceso de capacitación espermática, a través de la oxidación de moléculas tan importantes en procesos fisiológicos (Rodríguez-Tobón *et al.*, 2021), por su relación con la fosforilación de tirosina (Aitken *et al.*, 1998), y en el desarrollo del movimiento coordinado de los espermatozoides (Tash, 1989; Tash & Bracho, 1994).

MODIFICACIONES POSTESTICULARES EN VERTEBRADOS

Como hemos descrito, en mamíferos, los espermatozoides diferenciados en los túbulos seminíferos necesitan pasar a través del epidídimo para adquirir la capacidad fertilizante. Sin embargo, en vertebrados

inferiores como los anfibios anuros, no existe una estructura anatómica de maduración espermática, como el epidídimo, lo cual había sugerido que en este grupo de vertebrados no se llevaban a cabo modificaciones postesticulares en los espermatozoides (Ogielska & Bartmańska, 2009).

Sin embargo, en nuestro grupo de trabajo, después de realizar estudios morfológicos y bioquímicos en espermatozoides obtenidos de testículo y cloaca de *Xenopus laevis* encontramos que, hubo un recambio de GlcNAc/NeuAc, D-manosa y L-fucosa en diferentes regiones de la membrana plasmática de los espermatozoides donde se señala la importancia de éstos carbohidratos en la fisiología de los espermatozoides, como: el reconocimiento, unión y fusión de los gametos producto de una maduración espermática posterior a abandonar el testículo (Fragoso-Hernández, 2017). En relación con la ultraestructura de los espermatozoides de *X. laevis*, si bien, nuestro grupo de trabajo no encontró diferencias significativas, se registró reducción en el área del núcleo de los espermatozoides obtenidos de cloaca con respecto a los espermatozoides obtenidos de testículo, así mismo, no se encontraron diferencias en al área de la región del anillo mitocondrial de los espermatozoides obtenidos de cloaca en relación con espermatozoides obtenidos de testículo (Fragoso-Hernández, 2017). Con los resultados obtenidos en el área de la cromatina, se puede concluir que los espermatozoides de *X. laevis*, que si bien, es un vertebrado que carece de epidídimo, se puede estar llevando a cabo un proceso de maduración postesticular que favorezca la modificación de la estructura del espermatozoide, que impide que el producto hipercondensado (cromatina), sufra una descondensación precoz, lo que propicia una reducción en el área del núcleo debido al incremento del grado de condensación, muy similar a lo que ocurre en vertebrados superiores (Fragoso-Hernández, 2017).

Durante mucho tiempo se consideró que, el proceso de maduración espermática epididimaria en reptiles no era un requisito para adquirir su capacidad fertilizante, sin embargo, trabajos en lagartijas que apuntan a que, la maduración espermática parece llevarse a cabo y ser determinante para que el espermatozoide adquiera su capacidad fertilizante (Retana-Sandoval, 2016). También en nuestro grupo de trabajo utilizando a la lagartija *Sceloporus siniferus* como modelo (Retana-Sandoval, 2016), al estudiar algunos indicadores de maduración encontramos: cambios en la P-Tyr de las proteínas y en la distribución de los carbohidratos de la membrana plasmática (DCHOS) de los espermatozoides durante su tránsito por el epidídimo.

Ahora bien, para determinar la posible relación con el proceso de maduración espermática epididimaria se evaluó la movilidad de espermatozoides extraídos de testículo y de cada una de las regiones del epidídimo (*caput*, *corpus* y *cauda*), también se determinaron los cambios en DCHOS en la membrana plasmática de los espermatozoides, en conjunto con los cambios en la P-Tyr de las proteínas, observando que los espermatozoides epididimarios del *caput*, presentaron menos de 2 % de movilidad, misma que, aumentó en aquellos obtenidos del *corpus* y siguieron aumentando en los espermatozoides obtenidos de la *cauda*. En los carbohidratos de la membrana plasmática del espermatozoide (CHOS), N-acetil glucosamina y/o ácido siálico mostraron un aumento cuando estos transitaban por la región del *corpus* durante el periodo de reproducción (mayo-julio), lo anterior también se observó en estudios realizados bajo citometría de flujo. No obstante, no fue detectada la presencia de fucosa en espermatozoides usando microscopía de fluorescencia, sin embargo, por citometría de flujo se encontró en cantidades menores respecto al resto de los CHOS. La P-Tyr determinada por microscopía de fluorescencia, observado en la región de la cabeza y región acrosomal un aumento cuando los espermatozoides fueron obtenidos del

corpus del epidídimo, así como un aumento de N-acetilglucosamina y/o ácido siálico y la P-Tyr, que a su vez se relaciona con un aumento en la movilidad espermática a partir de dicha región. Las determinaciones bioquímicas nos llevan a sugerir que, los cambios producidos en los espermatozoides de *S. siniferus* pueden considerarse como un proceso de maduración espermática epididimaria (Retana-Sandoval, 2016). Por otro lado, en *C. mexicanus*, murciélago de reproducción estacional, se estudió la capacitación espermática *in vitro* con espermatozoides de las tres regiones del epidídimo (*caput*, *corpus* y *cauda*), observando que: el porcentaje de espermatozoides capacitados *in vitro* es dependiente del tránsito de los espermatozoides por el epidídimo y aumenta dependiendo del tiempo de almacenamiento en la cauda epididimaria (Cervantes et al., 2008). Es decir, al inicio de septiembre, solo el 6% de los espermatozoides obtenidos de la región del corpus del epidídimo se capacitaron y 16% en el caso de la *cauda*, valores que aumentaron en octubre (mes correspondiente al almacenamiento de espermatozoides) a 19.4% y 33.2% respectivamente (Cervantes et al., 2008).

También, se ha reportado que los espermatozoides de la región caudal del epidídimo capacitados *in vitro* durante la primera mitad del período de almacenamiento (11 de septiembre) muestran un porcentaje bajo de capacitación (15%), aumentando 40% en la segunda mitad del periodo de almacenamiento (22 de octubre), lo que sugiere que la capacitación es dependiente del tiempo de almacenamiento espermático en el epidídimo (Rodríguez-Tobón et al., 2016). Sin embargo, al analizar el número de espermatozoides epididimarios que presentan P-Tyr (indicador de la capacitación espermática) (Rodríguez-Tobón et al., 2016; Visconti et al., 2011), se encontró que el mayor nivel de fosforilación en proteínas fue en los espermatozoides obtenidos de la región caudal a finales de septiembre, en comparación con los del mes de octubre, lo que indica la activación de proteínas encontradas en el flagelo de los espermatozoides que participan en la adquisición de la movilidad progresiva (Rodríguez-Tobón et al., 2016).

También se ha reportado que, en el momento que los espermatozoides ingresan en el epidídimo presentan una distribución de N-acetilglucosamina y/o ácido siálico, que se modifica después de un mes de almacenamiento en la región de la *cauda* (octubre) (Rodríguez-Tobón et al., 2020). Asimismo, los residuos de manosa se encuentran en todo el espermatozoide y conforme transcurre el tiempo de almacenamiento se localizan hacia la parte postacrosomal y vaina mitocondrial, llegando a posicionarse a nivel del acrosoma finalmente. Por otro lado, el análisis bajo citometría de flujo que se realizó en nuestro grupo observamos que, los residuos de N-acetilglucosamina y/o ácido siálico disminuyen a medida que los espermatozoides ingresan y permanecen en la región *cauda* del epidídimo (Rodríguez-Tobón et al., 2020).

Otra de las funciones del epidídimo, es el almacenamiento de espermatozoides, y en el caso particular de almacenamiento prolongado como sucede en el murciélago *C. mexicanus* (hasta 5 o 6 meses) (León-Galván et al., 2005; López-Wilchis, 1989), se ha reportado que los espermatozoides permanecen viables por varios meses antes de que se lleven a cabo las cópulas (León-Galván et al., 2005; López-Wilchis, 1989). Dentro de los mecanismos propuestos en otras especies para la eliminación de espermatozoides se ha reportado que puede ocurrir junto con la orina o por eyaculación espontánea, esta última, ocasionada por la ausencia de estimulación sexual, así como por eventos de ansiedad o estrés (Otani, 2014; Redmond et al., 1983). Otro mecanismo propuesto es la ubiquitinación en la membrana de los espermatozoides defectuosos, que funcionaría como la señal necesaria para que sean fagocitados por las células epididimarias principales (Sutovsky et al., 2001). Sin embargo, observaciones histológicas del epitelio epididimario propone que la fagocitosis es un mecanismo poco probable para la eliminación de gran

cantidad de espermatozoides (Cooper *et al.*, 2002). También se han sugerido e identificado procesos celulares que ocurren durante la apoptosis (muerte celular programada), que pudieran estar participando para su eliminación (Saleh & Agarwal A, 2002; Shen *et al.*, 2002). No obstante, mecanismos asociados a la apoptosis se han asociado también con otros procesos posttesticulares, tal es el caso de la externalización de fosfatidilserina (EPS) que, si bien se ha establecido de manera general se utiliza como un indicador de muerte celular, se ha demostrado también que tiene un papel en la fertilización, la cual determinaron por la observación de su exposición en la región del *caput* en espermatozoides vivos y móviles de ratón, y, que además aumenta progresivamente durante su tránsito por el epidídimo (Rival *et al.*, 2019).

Son pocos los estudios en donde se han analizado marcadores apoptóticos en espermatozoides, López-Trinidad y colaboradores (2017) analizaron espermatozoides epididimarios de ratas envejecidas reportando que: las caspasas 3 y 7 pueden participar en el proceso de maduración espermática epididimaria, sugiriendo que las caspasas pueden desempeñar funciones no letales, siempre y cuando se mantengan en niveles que se opongan a la actividad que desencadena la apoptosis (Aram *et al.*, 2017).

Respecto a lo anterior, en *C. mexicanus* también se analizaron diferentes marcadores apoptóticos durante el periodo de almacenamiento prologado, encontrando la presencia de caspasas 3 y 7 previo y durante el periodo de cópulas, así como la EPS durante la etapa de cópulas, sugiriendo su participación en la maduración epididimaria y fecundación respectivamente (Samano-Barbosa, 2021).

El proceso de maduración espermática en el epidídimo es importante para la adquisición de la fertilidad (Cornwall, 2009), sin embargo, la fisiología del proceso de maduración en el epidídimo ha sido poco estudiado. No obstante, un ejemplo de su importancia, son los trabajos publicados en nuestro grupo de trabajo, donde se observa cómo es afectada por el envejecimiento, la obesidad y la hipertermia, esta última, producto del calentamiento global.

Lo común en los 3 ejemplos mencionados es la disminución de testosterona, así como, durante el envejecimiento, se han encontrado alteraciones histológicas en el epidídimo y disminución de la síntesis proteica (López-Trinidad *et al.*, 2021). Esto podría afectar el proceso de maduración de los espermatozoides. La concentración de testosterona disminuyó un 34% en los animales viejos en comparación con los jóvenes. La distribución de manosa, ácido siálico y N-acetilglucosamina en el glucocálix de la membrana espermática de los animales viejos fue diferente a la de los animales jóvenes. Lo mismo ocurrió con la externalización de fosfatidilserina y la fosforilación de proteínas en los residuos de tirosina. La histología del epidídimo en animales viejos mostró degeneración tubular y celular. Nuestros resultados sugieren que el envejecimiento afecta la maduración, probablemente debido a alteraciones en el epidídimo como resultado de la disminución de testosterona asociada con el envejecimiento (López-Trinidad *et al.*, 2021).

Por otro lado, muchos aspectos de la reproducción masculina pueden verse afectados por los desórdenes metabólicos, como la obesidad. Por lo que nos pareció importante permanecer en constante estudio que permita dar respuesta a otros aspectos de la reproducción, como lo es la maduración espermática epididimaria.

Se había reportado con anterioridad que, la obesidad puede causar estrés oxidante sistémico (Baumber *et al.*, 2000) en los testículos y el epidídimo, reduciendo la síntesis de testosterona, la espermatogénesis y la funcionalidad óptima del espermatozoide (Dastig *et al.*, 2011; Yaeram *et al.*, 2006), pudiendo verse afectada la maduración nuclear del espermatozoide, dando como resultado un exceso de puentes

disulfuro, entrecruzamiento de proteínas nucleares y, finalmente, rupturas del ADN (solo cuando se produce oxidación por estrés severo) (Asadi *et al.*, 2017; Kang, 2013; Schwaab *et al.*, 1995).

Recientemente publicamos un artículo referente a lo anterior (Ruiz-Valderrama *et al.*, 2022), donde se confirma que, el sobrepeso y la obesidad disminuyen las concentraciones de testosterona libre y parecen disminuir el contenido de proteínas, lo que provoca una mala calidad de los espermatozoides. Un aumento de la grasa escrotal en estas condiciones fomenta un aumento de ERO, pero el aumento de la actividad de GPX y CAT parece evitar el aumento del estrés oxidativo en los espermatozoides sin dañar su ADN; lo que corrobora que, los problemas causados por la obesidad se deben principalmente a la disminución de testosterona y no al estrés oxidante.

También, se observó un aumento de la grasa escrotal en estos modelos de sobrepeso y obesidad. Al ser mayor en las ratas obesas que en el grupo de sobrepeso, se piensa que de acuerdo con lo reportado anteriormente puede aumentar la temperatura escrotal en las zonas que rodean los testículos y los epidídimos, condiciones que generan hipertermia escrotal, que es un factor de riesgo para la fertilidad masculina y tiene un efecto deletéreo sobre la espermatogénesis (Agarwal & Allamaneni, 2004; Valeri *et al.*, 1993).

Incluso, otros estudios han sugerido que esta presencia excesiva de grasa alrededor de los testículos y epidídimos en modelos animales de obesidad y humanos pueden alterar la temperatura de estos órganos, desencadenando un aumento del tejido adiposo que recubre el plexo pampiniforme y afecta el sistema de enfriamiento testicular (Lue *et al.*, 1999). Este aumento de la temperatura escrotal induce una serie de alteraciones a nivel testicular que se asocian con un aumento de la apoptosis y una disminución del número de espermatogonias en el epitelio germinal (Pasquali, 2006; Zhu *et al.*, 2004).

En *S. siniferus*, se reveló la posibilidad de un efecto negativo en la maduración espermática dada por la retención de gota citoplasmática (GC), en donde la temperatura ambiental registrada en los diferentes años de colecta podía influir directamente a este defecto en la maduración, llegando a ser hasta de un 40% de espermatozoides con GC encontrados en la zona terminal del epidídimo. Esto sugirió una posible relación entre la temperatura alta y su influencia en la maduración espermática en reptiles (Retana-Sandoval, 2016).

CONCLUSIÓN

La reproducción sexual de los vertebrados presenta diversas adaptaciones evolutivas para favorecer la fertilización bajo diferentes condiciones, como en la fertilización externa o la fertilización interna. Previamente se ha planteado que, en la fertilización externa, los espermatozoides no presentaban modificaciones postesticulares, debido a que una vez liberados del testículo son capaces de fertilizar al ovocito, pero ahora se ha propuesto, gracias a investigaciones recientes generadas en nuestro grupo de trabajo, que existen diversos cambios postesticulares en el espermatozoide, los cuales sugieren adaptaciones necesarias para favorecer el éxito reproductivo.

REFERENCIAS

Achikanu, C., Pendekanti, V., Teague, R., & Publicover, S. J. H. R. (2018). Effects of pH manipulation, CatSper stimulation and Ca²⁺-store mobilization on [Ca²⁺]_i and behaviour of human sperm. *33*(10), 1802-1811.

- Agarwal, A., & Allamaneni, S. S. (2004). Role of free radicals in female reproductive diseases and assisted reproduction. *Reproductive biomedicine online*, 9(3), 338-347.
- Aitken, R. J., Gordon, E., Harkiss, D., Twigg, J. P., Milne, P., Jennings, Z., & Irvine, D. S. (1998). Relative impact of oxidative stress on the functional competence and genomic integrity of human spermatozoa. *Biol Reprod*, 59(5), 1037-1046.
- Andrade, R., Bazzoli, N., Rizzo, E., Sato, Y. J. T., & Cell. (2001). Continuous gametogenesis in the neotropical freshwater teleost, *Bryconops affinis* (Pisces: Characidae). 33(5), 524-532.
- Aram, L., Yacobi-Sharon, K., & Arama, E. (2017). CDPs: caspase-dependent non-lethal cellular processes. *Cell Death & Differentiation*, 24(8), 1307-1310.
- Arenas-Ríos, E., León-Galván, M., & Rosado-García, A. J. S. R.-M., Avances en la Biología de la Reproducción. (2012). Espermatogénesis, maduración y almacenamiento epididimario de espermatozoides en mamíferos. 12-42.
- Asadi, N., Bahmani, M., Kheradmand, A., & Rafieian-Kopaei, M. (2017). The impact of oxidative stress on testicular function and the role of antioxidants in improving it: a review. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*, 11(5), IE01.
- Baumber, J., Ball, B. A., Gravance, C. G., Medina, V., & Davies-Moresl, M. C. (2000). The effect of reactive oxygen species on equine sperm motility, viability, acrosomal integrity, mitochondrial membrane potential, and membrane lipid peroxidation. *J Androl*, 21(6), 895-902.
- Bedford, J. J. H. o. p. (1975). Maturation, transport and fate of spermatozoa in the epididymis. 303-318.
- Billard, R. J. R. N. D. (1986). Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. 26(4), 877-920.
- Bonet, S., Briz, M., Fradera, A., & Egozcue, J. J. H. R. (1992). Origin, development and ultrastructure of boar spermatozoa with folded tails and with two tails. 7(4), 523-529.
- Briz, M., i Marull, S. B., Pinart, E., Camps, R., & Fradera, A. J. S. g. (1995). Determinación de la motilidad, la concentración y la morfología del esperma eyaculado de un verraco estéril. 29-37.
- Cervantes, M. I., Arenas-Rios, E., Leon-Galvan, M. A., Lopez-Wilchis, R., Ambriz, D., & Rosado, A. (2008). Spermatozoa epididymal maturation in the Mexican big-eared bat (*Corynorhinus mexicanus*). *Syst Biol Reprod Med*, 54(4-5), 196-204. <https://doi.org/10.1080/19396360802334466>
- Chen, Q., Peng, H., Lei, L., Zhang, Y., Kuang, H., Cao, Y., Duan, E. (2011). Aquaporin3 is a sperm water channel essential for postcopulatory sperm osmoadaptation and migration. *Cell Res*, 21(6), 922-933. <https://doi.org/10.1038/cr.2010.169>
- Claude Gagnon, & Lamirande, E. d. (2006). Controls of sperm motility. In Christopher J. De Jonge & C. L. R. Barratt (Eds.), *The Sperm Cell: Production, Maturation, Fertilization, Regeneration* (Cambridge University Press ed., pp. 108-133).
- Clermont, Y. J. P. r. (1972). Kinetics of spermatogenesis in mammals: seminiferous epithelium cycle and spermatogonial renewal. 52(1), 198-236.
- Cooper, T. (1999). Epididymis. In J. D. N. E. Knovil (Ed.), *Encyclopedia of reproduction* (Vol. 2, pp. 1-17).
- Cooper, T. G. (1995). Role of the epididymis in mediating changes in the male gamete during maturation. *Adv Exp Med Biol*, 377, 87-101.
- Cooper, T. G. (2011). The epididymis, cytoplasmic droplets and male fertility. *Asian J Androl*, 13(1), 130.
- Cooper, T. G., & Yeung, C.-H. (2006). Computer-aided evaluation of assessment of "grade a" spermatozoa by experienced technicians. *Fertil Steril*, 85(1), 220-224.
- Cooper, T. G., Yeung, C.-H., Jones, R., Orgebin-Crist, M.-C., & Robaire, B. (2002). Rebuttal of a role for the epididymis in sperm quality control by phagocytosis of defective sperm. *Journal of cell science*, 115(1), 5-7.
- Cornwall, G. A. (2009). New insights into epididymal biology and function. *Hum Reprod Update*, 15(2), 213-227. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmn055> %J Human Reproduction Update
- Cosson, J., Billard, R., Cibert, C., Dreanno, C., & Suquet, M. J. T. m. g. f. b. s. t. c. a. (1999). Ionic factors regulating the motility of fish sperm. 161-186.
- Cosson, J., Linhart, O., Mims, S., Shelton, W., & Rodina, M. J. J. o. F. B. (2000). Analysis of motility parameters from paddlefish and shovelnose sturgeon spermatozoa. 56(6), 1348-1367.
- Coward, K., Bromage, N., Hibbitt, O., Parrington, J. J. R. i. F. B., & Fisheries. (2002). Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. 12, 33-58.
- Crabo, B. (1965). Studies on the composition of epididymal content in bulls and boars. *Acta Vet Scand*, 5, 1-94.

- Crichton, E. G., & Krutzsch, P. H. (2000). *Reproductive biology of bats*. Academic Press.
- Critser, J., & Noiles, E. (1993). Bioassays of sperm function. *Seminars in reproductive endocrinology*,
- Cuasnicú, P. S., Cohen, D. J., Ellerman, D. A., Busso, D., Da Ros, V. G., & Morgenfeld, M. M. (2002). Changes in specific sperm proteins during epididymal maturation. *The Epididymis: From Molecules to Clinical Practice: A Comprehensive Survey of the Efferent Ducts, the Epididymis*, 389-403.
- Dacheux, J.-L., & Dacheux, F. J. R. (2014). New insights into epididymal function in relation to sperm maturation. *147(2)*, R27-R42.
- Darszon, A. (2008). Canales, iones y cómo el espermatozoide interpreta los mensajes del óvulo. *Biotecnología*, *14*, 31-33.
- Darszon, A., Nishigaki, T., Beltran, C., & Trevino, C. L. (2011). Calcium channels in the development, maturation, and function of spermatozoa. *Physiol Rev*, *91(4)*, 1305-1355. <https://doi.org/10.1152/physrev.00028.2010>
- Dastig, S., Nenicu, A., Otte, D. M., Zimmer, A., Seitz, J., Baumgart-Vogt, E., & Lüers, G. H. (2011). Germ cells of male mice express genes for peroxisomal metabolic pathways implicated in the regulation of spermatogenesis and the protection against oxidative stress. *Histochemistry and cell biology*, *136*, 413-425.
- De Jonge, C., Barratt, C. L. J. F., & sterility. (2006). Gamete donation: a question of anonymity. *85(2)*, 500-501.
- Dott, H., & Dingle, J. J. E. C. R. (1968). Distribution of lysosomal enzymes in the spermatozoa and cytoplasmic droplets of bull and ram. *52(2-3)*, 523-540.
- Emlen, S. T., & Oring, L. W. J. S. (1977). Ecology, sexual selection, and the evolution of mating systems. *197(4300)*, 215-223.
- Fragoso-Hernández, I. A. (2017). *Distribución de carbohidratos en la membrana plasmática y modificaciones ultraestructurales de los espermatozoides de la rana xenopus laevis como indicadores de una posible maduración espermatológica en anfibios anuros* Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa]. CDMX.
- Gadella, B. M., & Visconti, P. E. J. T. s. c. P., maturation, fertilization, regeneration. (2006). Regulation of capacitation. 134-169.
- Galíndez, E. J. (2016). Reproducción de peces cartilagosos. *Revista Ciencias Morfológicas*, *18*.
- Gatti, J.-L., Castella, S., Dacheux, F., Ecroyd, H., Metayer, S., Thimon, V., & Dacheux, J.-L. (2004). Post-testicular sperm environment and fertility. *Anim Reprod Sci*, *82*, 321-339.
- Gervasi, M. G., & Visconti, P. E. (2016). Chang's meaning of capacitation: A molecular perspective. *Mol Reprod Dev*, *83(10)*, 860-874. <https://doi.org/10.1002/mrd.22663>
- Grassé, P. P. (1978). *Zoología: reproducción, biología, evolución y sistemática: agnatos, peces, anfibios y reptiles. Vertebrados*. Toray-Masson.
- Grier, H. (1993). Comparative organization of Sertoli cells including the Sertoli cell barrier. *The Sertoli Cell*, 703-739.
- Grier, H., Horner, J., & Mahesh, V. J. T. o. t. A. M. S. (1980). The morphology of enclosed testicular tubules in a teleost fish, *Poecilia latipinna*. 268-276.
- Grier, H. J., Uribe-Aranzábal, M. J. R. b., & fishes, p. o. (2009). The testis and spermatogenesis in teleosts. *8*, 119-142.
- Grier, H. J. A. Z. (1981). Cellular organization of the testis and spermatogenesis in fishes. *21(2)*, 345-357.
- Griswold, M. D. (2016). Spermatogenesis: The Commitment to Meiosis. *Physiol Rev*, *96(1)*, 1-17. <https://doi.org/10.1152/physrev.00013.2015>
- Hamamah, S., & Gatti, J.-L. J. H. r. (1998). Role of the ionic environment and internal pH on sperm activity. *13(suppl_4)*, 20-30.
- Hermo, L., Pelletier, R.-M., CYR, D. G., & Smith, C. E. (2010). Surfing the Wave, Cycle, Life History, and Genes/Proteins Expressed by Testicular Germ Cells. Part 1: Background to Spermatogenesis, Spermatogonia, and Spermatoocytes. *Microscopy research and technique*, *73*, 243-278.
- Herráez, M. P., Ausió, J., Devaux, A., González-Rojo, S., Fernández-Díez, C., Bony, S.,...Robles, V. J. A. (2017). Paternal contribution to development: sperm genetic damage and repair in fish. *472*, 45-59.
- Hinton, B., Pryor, J., Hirsh, A., & Setchell, B. J. I. j. o. a. (1981). The concentration of some inorganic ions and organic compounds in the luminal fluid of the human ductus deferens. *4(1-6)*, 457-461.
- Kang, H.-Y. (2013). Beyond the male sex hormone: deciphering the metabolic and vascular actions of testosterone. *Journal of Endocrinology*, *217(3)*, C1-C3.

- Kerr, J. B., Loveland, K. L., O'Bryan, M. K., & Kretser, D. M. d. (2006). Cytology of the Testis and Intrinsic Control Mechanisms. In J. D. Neill (Ed.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction* (3 era ed.).
- León-Galván, M. A., López-Wilchis, R., Hernández-Pérez, O., Arenas-Ríos, E., Rosado, A., & Edwards, C. (2005). Male reproductive cycle of mexican big-eared bats, *corynorhinus mexicanus* (chiroptera: vespertilionidae). *The Southwestern Naturalist*, 50(4), 453-460. [https://doi.org/10.1894/0038-4909\(2005\)050\[0453:MRCOMB\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1894/0038-4909(2005)050[0453:MRCOMB]2.0.CO;2)
- Lishko, P. V., Kirichok, Y., Ren, D., Navarro, B., Chung, J.-J., & Clapham, D. E. J. A. r. o. p. (2012). The control of male fertility by spermatozoan ion channels. 74, 453-475.
- López-Hernández, J. C., Osorio-Pérez, A., Jiménez-Félix, S. A., Páramo-Delgadillo, S., Márquez-Couturier, G., Yasui, G. S., & Arias-Rodríguez, L. (2018). Artículo de Revisión: La calidad espermática en peces y los métodos de evaluación. *Journal of Marine Coastal Sciences*, 67-96.
- López-Trinidad, B., Vigueras-Villaseñor, R., Konigsberg, M., Ávalos-Rodríguez, A., Rodríguez-Tobón, A., Cortés-Barberena, E.,...Dunleavy, J. (2021). Alterations in epididymal sperm maturation caused by ageing. *Reproduction, Fertility and Development*, 33(18), 855-864.
- López-Trinidad, B. P. (2017). *Marcadores apoptóticos en espermatozoides epididimarios de rata y su relación con el envejecimiento* Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa].
- López-Wilchis, R. (1989). *Biología de Plecotus mexicanus (Chiroptera: Vespertilionidae) en el estado de Tlaxcala, México* [Doctoral, UAM]. México.
- Lue, Y.-H., Sinha Hikim, A. P., Swerdloff, R. S., Im, P., Taing, K. S., Bui, T.,...Wang, C. (1999). Single exposure to heat induces stage-specific germ cell apoptosis in rats: role of intratesticular testosterone on stage specificity. *Endocrinology*, 140(4), 1709-1717.
- Mattei, X., Siau, Y., Thiaw, O., & Thiam, D. J. J. o. F. B. (1993). Peculiarities in the organization of testis of Ophidian sp.(Pisces Teleostei). Evidence for two types of spermatogenesis in teleost fish. 43(6), 931-937.
- Melo, R. M. C., Ribeiro, Y. M., Luz, R. K., Bazzoli, N., & Rizzo, E. (2016). Influence of low temperature on structure and dynamics of spermatogenesis during culture of *Oreochromis niloticus*. *Anim Reprod Sci*, 172, 148-156. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2016.07.013>
- Nakane, Y., & Yoshimura, T. (2019). Photoperiodic Regulation of Reproduction in Vertebrates. *Annu Rev Anim Biosci*, 7, 173-194. <https://doi.org/10.1146/annurev-animal-020518-115216>
- Narula, A., Gu, Y.-Q., O'Donnell, L., Stanton, P. G., Robertson, D. M., McLachlan, R. I.,...Metabolism. (2002). Variability in sperm suppression during testosterone administration to adult monkeys is related to follicle stimulating hormone suppression and not to intratesticular androgens. 87(7), 3399-3406.
- Ogielska, M., & Bartmańska, J. (2009). Spermatogenesis and male reproductive system in Amphibia Anura. *Reproduction of amphibians*, 4, 34-99.
- Otani, T. (2014). Editorial Comment to Silodosin improved spontaneous ejaculation induced by mental strain. *International Journal of Urology*, 21(8), 841-842.
- Parenti, L. R., & Grier, H. J. (2004). Evolution and Phylogeny of Gonad Morphology in Bony Fishes1. *Integrative and Comparative Biology*, 44(5), 333-348. <https://doi.org/10.1093/icb/44.5.333>
- Pasquali, R. (2006). Obesity, fat distribution and infertility. *Maturitas*, 54(4), 363-371.
- Patrão, M. T., Silva, E. J., & Avellar, M. C. (2009). Androgens and the male reproductive tract: an overview of classical roles and current perspectives. *Arquivos Brasileiros de Endocrinologia*, 53, 934-945.
- Patzner, R. A. (2008). Reproductive strategies of fish. In *Fish reproduction* (pp. 325-364). CRC Press.
- Quagio-Grassiotto, I., Negrão, J., Carvalho, E., & Foresti, F. J. J. o. F. B. (2001). Ultrastructure of spermatogenic cells and spermatozoa in *Hoplias malabaricus* (Teleostei, Characiformes, Erythrinidae). 59(6), 1494-1502.
- Quintero-Pérez, R. I., Méndez-de la Cruz, F. R., Miles, D. B., Vera Chávez, M. C., López-Ramírez, Y., Arenas-Moreno, D. M., & Arenas-Ríos, E. (2023). Trade-off between thermal preference and sperm maturation in a montane lizard. *Journal of Thermal Biology*, 113, 103526.
- Redmond, D., Kosten, T. R., & Reiser, M. (1983). Spontaneous ejaculation associated with anxiety: Psychophysiological considerations. *The American journal of psychiatry*.
- Reis, R. E. (2003). *Check list of the freshwater fishes of South and Central America*. Edipucrs.

- Retana-Sandoval, F. M. (2016). *DETERMINACIÓN DE INDICADORES DE MADURACIÓN EPIDIDIMARIA EN ESPERMATOZOIDES DE LA LAGARTIJA Sceloporus siniferus (Sauria: Phrynosomatidae)* Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa]. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa.
- Rival, C. M., Xu, W., Shankman, L. S., Morioka, S., Arandjelovic, S., Lee, C. S.,...Isakson, B. E. (2019). Phosphatidylserine on viable sperm and phagocytic machinery in oocytes regulate mammalian fertilization. *Nature communications*, 10(1), 4456.
- Robaire, B., Barry, T. H., & Marie-Claire, O.-C. (2006). The Epididymis. In J. D. Neill (Ed.), *Knobil and Neill's Physiology of Reproduction* (3 era ed.).
- Robaire, B., Seenundun, S., Hamzeh, M., & Lamour, S. A. (2007). Androgenic regulation of novel genes in the epididymis. *Asian J Androl*, 9(4), 545-553.
- Rodríguez-Tobón, A., Arena-Ríos, E., & León-Galván, M. A. (2010). El almacenamiento prolongado de espermatozoides en el epidídimo, adaptación que permite sincronizar el periodo de apareamientos en murciélagos. *Contactos*, 78, 58-64.
- Rodríguez-Tobón, A., Fierro, R., León-Galván, M. A., Rosado, A., Cortés-Barberena, E., & Arenas-Ríos, E. (2016). Tyrosine phosphorylation as evidence of epididymal cauda participation in the sperm maturation process of *Corynorhinus mexicanus* bat. *Acta Zoologica*, 97(3), 310-318. <https://doi.org/10.1111/azo.12124>
- Rodríguez-Tobón, A., Fierro, R., León Galván, M. A., Rosado, A., Cortés Barberena, E., & Arenas-Ríos, E. (2020). Changes in membrane carbohydrates distribution associated to epididymal sperm maturation during the prolonged sperm storage period of *Corynorhinus mexicanus* bat (Chiroptera: Vespertilionidae). *Acta zoológica mexicana*, 36.
- Rodríguez-Tobón, E., Fierro, R., González-Márquez, H., García-Vázquez, F. A., & Arenas-Ríos, E. (2021). Boar sperm incubation with reduced glutathione (GSH) differentially modulates protein tyrosine phosphorylation patterns and reorganization of calcium in sperm, in vitro fertilization, and embryo development depending on concentrations. *Res Vet Sci*, 135, 386-396. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2020.10.020>
- Ruiz-Valderrama, L., Posadas-Rodríguez, J., Bonilla-Jaime, H., Tarragó-Castellanos, M. d. R., González-Márquez, H., Arrieta-Cruz, I.,...Morales-Méndez, J. G. (2022). Sperm Dysfunction in the Testes and Epididymides due to Overweight and Obesity Is Not Caused by Oxidative Stress. *International Journal of Endocrinology*, 1(1).
- Rurangwa, E., Kime, D., Ollevier, F., & Nash, J. J. A. (2004). The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *234*(1-4), 1-28.
- Saenz-de-Juano, M. D., Ivanova, E., Romero, S., Lolicato, F., Sánchez, F., Van Ranst, H.,...Andrews, S. J. H. R. (2019). DNA methylation and mRNA expression of imprinted genes in blastocysts derived from an improved in vitro maturation method for oocytes from small antral follicles in polycystic ovary syndrome patients. *34*(9), 1640-1649.
- Saleh, R. A., & Agarwal A, H. (2002). Oxidative stress and male infertility: from research bench to clinical practice. *J Androl*, 23(6), 737-752.
- Samano-Barbosa, G. A. (2021). *Marcadores apoptóticos en espermatozoides epididimarios durante el almacenamiento prolongado en el murciélago Corynorhinus mexicanus* [Maestría, UAM]. México.
- Sanz-Ochotorena, A., Segura-Valdés, M. d. L., Rodríguez-Gómez, Y., Lara-Martínez, R., & Jiménez-García, L. F. J. T. R. e. e. c. q.-b. (2011). Pigmentos en los testículos de cinco anfibios endémicos de Cuba (*Eleutherodactylus turquinensis*, *E. cuneatus*, *E. glamyrus*, *Bufo longinasus longinasus* y *B. longinasus cajalbanensis*). *14*(1), 30-37.
- Schulz, R. W., de França, L. R., Lareyre, J.-J., LeGac, F., Chiarini-Garcia, H., Nobrega, R. H.,...endocrinology, c. (2010). Spermatogenesis in fish. *165*(3), 390-411.
- Schulze, M., & Waberski, D. (2022). Compensability of Enhanced Cytoplasmic Droplet Rates in Boar Semen: Insights of a Retrospective Field Study. *Animals (Basel)*, 12(20). <https://doi.org/10.3390/ani12202892>
- Schwaab, V., Baud, E., Ghyselinck, N., Mattei, M. G., Dufaure, J. P., & Drevet, J. R. (1995). Cloning of the mouse gene encoding plasma glutathione peroxidase: organization, sequence and chromosomal localization. *Gene*, 167(1-2), 25-31.
- Shen, H.-M., Dai, J., Chia, S.-E., Lim, A., & Ong, C.-N. (2002). Detection of apoptotic alterations in sperm in subfertile patients and their correlations with sperm quality. *Human Reproduction*, 17(5), 1266-1273.

- Stival, C., Puga Molina, L. d. C., Paudel, B., Buffone, M. G., Visconti, P. E., & Krapf, D. (2016). Sperm Capacitation and Acrosome Reaction in Mammalian Sperm. In M. G. Buffone (Ed.), *Sperm Acrosome Biogenesis and Function During Fertilization* (pp. 93-106). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-30567-7_5
- Sullivan, R., & Saez, F. J. R. (2013). Epididymosomes, prostasomes, and liposomes: their roles in mammalian male reproductive physiology. *146*(1), R21-R35.
- Sutovsky, P., Moreno, R., Ramalho-Santos, J., Dominko, T., Thompson, W. E., & Schatten, G. (2001). A putative, ubiquitin-dependent mechanism for the recognition and elimination of defective spermatozoa in the mammalian epididymis. *Journal of cell science*, *114*(9), 1665-1675.
- Tabares, C. J., Tarazona, A. M., & Ángel, M. O. (2005). Fisiología de la activación del espermatozoide en peces de agua dulce Spermatozoa activation physiology in freshwater fish.
- Tash, J. S. (1989). Protein phosphorylation: the second messenger signal transducer of flagellar motility. *Cell Motil Cytoskeleton*, *14*(3), 332-339. <https://doi.org/10.1002/cm.970140303>
- Tash, J. S., & Bracho, G. E. (1994). Regulation of sperm motility: emerging evidence for a major role for protein phosphatases. *J Androl*, *15*(6), 505-509.
- Toshimori, K., & Ito, C. (2003). Formation and organization of the mammalian sperm head. *Archives of histology and cytology*, *66*(5), 383-396.
- Uriostegui-Escoto, D. (2021). *Efecto de la temperatura en la calidad espermática de la lagartija Sceloporus megalepidurus* [Tesis de investigación experimental, Universidad Autónoma Metropolitana - Unidad Iztapalapa]. México.
- Valeri, A., Mianné, D., Merouze, F., Bujan, L., Altobelli, A., & Masson, J. (1993). Scrotal temperature in 258 healthy men, randomly selected from a population of men aged 18 to 23 years old. Statistical analysis, epidemiologic observations, and measurement of the testicular diameters. *Progres en Urologie: Journal de L'association Francaise D'urologie et de la Societe Francaise D'urologie*, *3*(3), 444-452.
- Villagrán Santacruz, M. (2013). El huevo amniota y la evolución de los vertebrados. (007).
- Visconti, P. E., Krapf, D., de la Vega-Beltran, J. L., Acevedo, J. J., & Darszon, A. (2011). Ion channels, phosphorylation and mammalian sperm capacitation. *Asian J Androl*, *13*(3), 395-405. <https://doi.org/10.1038/aja.2010.69>
- Wootton, R. J., & Smith, C. (2014). *Reproductive biology of teleost fishes*. John Wiley & Sons.
- Yaeram, J., Setchell, B., & Maddocks, S. (2006). Effect of heat stress on the fertility of male mice in vivo and in vitro. *Reproduction, Fertility and Development*, *18*(6), 647-653.
- Zakariah, M., Molele, R. A., Mahdy, M. A. A., Ibrahim, M. I. A., & McGaw, L. J. (2022). Regulation of spermatogenic cell apoptosis by the pro-apoptotic proteins in the testicular tissues of mammalian and avian species. *Anim Reprod Sci*, *247*, 107158. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2022.107158>
- Zhang, M. H., Shi, Z. D., Yu, J. C., Zhang, Y. P., Wang, L. G., & Qiu, Y. (2015). Scrotal heat stress causes sperm chromatin damage and cysteinyl aspartate-specific proteinases 3 changes in fertile men. *J Assist Reprod Genet*, *32*(5), 747-755. <https://doi.org/10.1007/s10815-015-0451-0>
- Zhu, P., Ma, Y., & Huang, Y. (2004). Role of sperm DNA integrity in male infertility. *Zhonghua nan ke xue= National Journal of Andrology*, *10*(3), 222-226.