

# Порушення іонтранспортивальних процесів у сперматозоїдах неплідних чоловіків

З.Я. Федорович, М.З. Воробець, Р.В. Фафула

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького;  
e-mail: roman\_fafula@ukr.net

*Велику різноманітність специфічно локалізованих іонних каналів, обмінників і АТФаз виявлено при дослідженні плазматичної мембрани сперматозоїдів та їх органел. Незважаючи на те, що активність іонних каналів і мембранних транспортерів детально досліджувалась, їх участь у механізмах, що призводять до дисфункції чоловічих статевих клітин, залишається недостатньо з'ясованою. Численні наукові праці показують, що відсутність певних транспортувальних систем плазматичної мембрани внаслідок генетичних мутацій або ж їх низька активність, призводить до зниження чи втрати рухливості сперматозоїдів, морфологічних змін, що погіршує якість сперми, та є причиною чоловічого непліддя. В огляді розглянуто деякі іонтранспортивальні системи, що забезпечують підтримання мембранного потенціалу спокою, а також гомеостаз іонів у процесі сперматогенезу. Зазначено можливість використання іонних каналів і мембранних транспортерів як маркерів для встановлення функціональності сперматозоїдів або ж як молекулярних мішеней для лікарських засобів при лікуванні чоловічого непліддя.*

*Ключові слова:* транспортування іонів; сперматозоїд; чоловіче непліддя.

## ВСТУП

Іонні транспортувальні системи сперматозоїдів є мішенями як для розробки контрацептивів, так і для лікування непліддя. З огляду на це надзвичайно важливим є розуміння функціонування іонтранспортивальних систем і сигнальних процесів, пов'язаних із дефектною функцією чоловічих статевих клітин не лише для розробки методів лікування, але й для оцінки загального стану здоров'я пацієнта. Сперматозоїди – це високоспеціалізовані клітини, які виконують унікальну біологічну функцію – доставку геному до яйцеклітини. Для того щоб відбулось запліднення, чоловічі статеві клітини повинні реагувати на зміни показників середовища, з якими вони контактують у процесі просування через жіночі репродуктивні шляхи, а також сигнали, які отримують із оболонки яйцеклітини. Таким чином, сперматозоїди відразу ж після

еякуляції до моменту запліднення зазнають просторово-часову регуляцію для отримання здатності до запліднення, що передбачає низку фізіологічних і біохімічних змін [1]. Основними іонами, які беруть участь у набутті сперматозоїдів потенціалу до запліднення, є  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{H}^+$  та  $\text{HCO}_3^-$ . Зазначають, що зміна концентрації іонів і підтримання їх балансу має важливе значення для рухливості, запліднювальної здатності сперматозоїдів [2] та кріотолерантності [3].

За фізіологічних умов регуляція іонного гомеостазу, об'єму клітини та передачі клітинного сигналу строго підтримуються функціонуванням енергозалежних та енергонезалежних іонтранспортивальних систем. Плазматична мембрана зрілих сперматозоїдів містить велике різноманіття іонних каналів, обмінників і активних транспортувальних систем, які виявляють різну афінність до іонів і специфічно локалізовані на її поверхні [4]. Зокрема, відомо, що іонтранспортивальні

системи сперматозоїдів відіграють провідну роль у запуску процесів, які є ключовими для здатності статевих клітин до запліднення, включно з гіперактивацією, капацитацією та акросомною реакцією [5]. Значна увага приділена вивченню іонних каналів і мембранних транспортерів, які розглядаються як молекулярні мішені для лікарських засобів [2]. Діяльність іонних транспортувальних систем має вирішальне значення для функціональної активності чоловічих статевих клітин, а їх дисфункції зумовлюють значні наслідки для запліднення. Вивчення іонних каналів і мембранних транспортерів може надати відповідь на важливі питання, що виникають у результаті останніх досліджень, їхньої ролі у фертильності чоловіків, та становить інтерес при терапії чоловічого непліддя.

### **Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФаза**

Серед Na-транспортувальних механізмів найбільш вивченим маркерним ензимом плазматичної мембрани є убаїнчутлива Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФаза, яка підтримує електрохімічні градієнти Na<sup>+</sup> та K<sup>+</sup>, тим самим регулює мембранний потенціал спокою. Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФаза – трансмембранний білок, що складається з каталітичної  $\alpha$ -субодиниці, що має чотири ізоформи:  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$  і  $\alpha 4$ , та глікозильованої  $\beta$ -субодиниці, що має три ізоформи:  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  і  $\beta 3$ . У чоловічих статевих клітинах ідентифіковано  $\alpha 1$ - та  $\alpha 4$ -ізоформи Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФази [6]. Ізоформа  $\alpha 1$  локалізується по всьому джутику сперматозоїда [6], тоді як  $\alpha 4$ -ізоформа Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФази експресується в зрілих сперматозоїдах і локалізована саме в основному фрагменті сперматозоїда [6, 7], середній частині сперматозоїда [6], головці та хвосту [8]. Крім того,  $\alpha 4$ -ізоформа Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФази відсутня в незрілих чоловічих статевих клітинах, однак її експресія збігається зі статевою зрілістю. Проте за результатами вестерн-блотингу її експресія є нижчою в групі неплідних чоловіків з астенозооспермією, ніж у чоловіків із

нормозооспермією [8]. Активність  $\alpha 4$ -ізоформи Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФази в основному підтримує [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub> у сперматозоїдах, сприяє встановленню мембранного потенціалу спокою, регулює рухливість і гіперактивацію сперматозоїдів, які відбуваються під час капацитації. Зниження рухливості та гіперактивації спостерігають у  $\alpha 4$ -нульових сперматозоїдах (делеція  $\alpha 4$ ). Такі сперматозоїди демонструють аномальну регуляцію іонів, про що морфологічно сигналізує характерний вигин джутика. Підвищена [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub> створює деполяризацію плазматичної мембрани сперматозоїдів з інгібованою чи відсутньою  $\alpha 4$ -ізоформою [9].

Зміни іонного балансу крізь мембрану сперматозоїда генерують мембранний потенціал. У процесі дозрівання статевої клітини, відразу після еякуляції, проходячи по статевих шляхах, до акросомної реакції, іонне оточення сперматозоїдів змінюється, що призводить до змін проникності іонних каналів, а, отже, мембранного потенціалу. Концентрація Na<sup>+</sup> у жіночих статевих шляхах зумовлює їх надходження у чоловічу статеву клітину та деполяризацію відповідно [10]. Незалежно від іонного складу середовища мембранні потенціали спокою сперматозоїдів неплідних чоловіків нижчі (від -35 до -10 мВ) порівняно з таким сперматозоїдів фертильних чоловіків (від -75 до -35 мВ), де мембрана завжди більш гіперполяризована [11, 12].

Ізоформа  $\alpha 4$  Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФази відіграє ключову роль у підтриманні мембранного потенціалу, осмотичної стабільності, трансмембранних концентрації Na<sup>+</sup> та K<sup>+</sup>, а також опосередковано бере участь у підтриманні рН та Ca<sup>2+</sup>-гомеостазу [8, 9]. Через натрій-кальцієвий обмінник вона функціонально пов'язана з регуляцією [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> сперматозоїдів. Обмінник використовує вторинний потік натрію, створений Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФазою для виходу кальцію. Внаслідок інгібування Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-АТФази зростає [Na<sup>+</sup>]<sub>i</sub>, що порушує транспортування кальцію

за допомогою натрій-кальцієвого обмінника, яке результує збільшенням  $[Ca^{2+}]_i$  [13].

Інгібування  $Na^+, K^+$ -АТФази убаїном призводить до зниження рухливості та знерухомлення сперматозоїдів [14]. Обробка сперматозоїдів пероксинітритом (ONOO-) зумовлювала значне зниження активності  $Na^+, K^+$ -АТФази плазматичної мембрани. Проте кореляційного зв'язку між активністю  $Na^+, K^+$ -АТФази та вмістом SH не виявлено, незважаючи на те, що загальний вміст сульфгідрилу у плазматичній мембрані сперматозоїдів суттєво знижувався [15]. Припускають, що концентрації ONOO<sup>-</sup> підвищені при станах, які спричиняють непліддя, зумовлюють пригнічення активності  $Na^+, K^+$ -АТФази плазматичної мембрани сперматозоїдів, і, як наслідок, результують втратою їх рухливості. Отже,  $\alpha 4$ -ізоформа  $Na^+, K^+$ -АТФази є специфічним для сперматозоїдів білком, локалізованим у джугутику, необхідним для фертильності чоловічої статевої клітини, та може бути потенційним біомаркером при встановленні чоловічого непліддя [7, 15, 16]. У наших попередніх дослідженнях виявлено пригнічення убаїнчутливої  $Na^+, K^+$ -АТФазної активності сперматозоїдів чоловіків з різними формами патоспермії. Найтісніший зв'язок встановлено між активністю іонтранспортувальних систем спермальних мембран і вмістом продуктів ліпопероксидації в олігота астеносооспермічних зразках [17].

### Натрієві канали

Як було зазначено, сперматозоїди проходячи через жіночий статевий тракт зазнають дії  $Na^+$ , внаслідок чого мембрана клітин деполаризується, що зумовлено потоком натрію у клітину через натрієві канали. Зокрема, у чоловічих сперматозоїдах виявлені епітеліальні натрієві канали (ENaC) та потенціалзалежні натрієві канали (VGSC, Nav) [10]. ENaC, які локалізуються в головній частині джугутика, сприяють зміні мембранного потенціалу

сперматозоїдів у процесі їх дозрівання [18]. Вивчення ролі активації 5'-АМФ-активованої протеїнкінази у регуляції ENaC показало зменшення кількості ENaC, що призводило до зниження  $[Na^+]_i$  і посилення гіперполяризації плазматичної мембрани [19]. При інгібуванні ENaC значно підвищувалася рухливість сперматозоїдів як у нормозоо-, так і в астеноспермічних донорів, тому, припускають, що їх активність може впливати на рухливість клітин [20]. Активація VGSC залежить від деполаризації плазматичної мембрани сперматозоїда та транспортування натрію у клітини, що безпосередньо підтримує потенціал дії [21].

Nav, вератрадинчутливі натрієві канали, впливають на механізм, який опосередковує «активовану» або «лінійну» прогресивну рухливість сперматозоїдів, у той час як інгібування Nav-каналів є важливим для розвитку гіперактивації. Вважають, що зміни мембранного потенціалу сперматозоїдів, які спостерігаються у чоловіків із зниженою фертильністю, зумовлені порушенням роботи Nav-каналів. Останні змінюють вплив прогестерону,  $[Ca^{2+}]_i$  та інгібують прогестероніндуковану акросомну реакцію. Тому допускають, що ці канали запобігають передчасному розвитку прогестероніндукованої акросомної реакції в неадекватному місці [22].

### Калієві канали

Гіперполяризація плазматичної мембрани сперматозоїдів є важливою з огляду на процес запліднення, а визначення молекулярних механізмів, які лежать в основі зміни мембранного потенціалу всередині клітини до більш негативних значень, для виявлення причин ідіопатичного чоловічого непліддя та розробки нових методів контрацепції. З використанням селективного інгібітора VU0546110, встановлено, що єдиним  $K^+$ -каналом, відповідальним за гіперполяризацію плазматичної мембрани та таким, що суттєво сприяє запліднювальній здатності

сперматозоїдів чоловіків, є SLO3. VU0546110 повністю блокує гетерологічні струми, що йдуть через нього, та ендogenous струми  $K^+$  у сперматозоїдах. Це перешкоджає гіперполяризації і гіперактивній рухливості чоловічих статевих клітин, що необхідна для проходження через жіночі репродуктивні шляхи. Крім того, він унеможливує індуквану акросомну реакцію, потрібну для проникнення через зовнішні оболонки яйцеклітини, і заважає сперматозоїду виявляти ділянки для злиття з яйцеклітиною. Тому, як маркер для вивчення ідіопатичного чоловічого неплоддя або, як кандидат для розробки контрацептивів, може бути запропонований SLO3 [23]. Досліджено, що він активується підлужнюванням цитоплазми. Також цей канал на кілька порядків менш чутливий до  $Ca^{2+}$ , ніж SLO1, і функціонує у вузькому діапазоні напруг поблизу мембранного потенціалу спокою сперматозоїда [24]. Проте залишається незрозумілим точний механізм, що лежить в основі регуляції SLO3. Вважають, що він контролюється  $pH_i$ ,  $[Ca^{2+}]_i$  або ж обома чинниками [25, 26].

Мембранний потенціал сперматозоїдів є негативним, в основному підтримується через активність  $K^+$ -каналів. Як і в соматичних клітинах, у сперматозоїдах він змінює активність мембранних іонних каналів і транспортерів, включно з CatSper, і потенціалзалежним протонним каналом Hv1. Характеристика експресії та регуляції мембранних  $K^+$ -каналів є потенційно вирішальною для розуміння функцій сперматозоїдів як у стані норми, так і у чоловіків із зниженою фертильністю [27].

Калієві канали KCNQ1 беруть участь у гіперполяризації мембрани та регуляції іонного гомеостазу під час капацитації сперматозоїдів чоловіків. Вони регулюють іонний гомеостаз та впливають на акросомну реакцію, рухливість сперматозоїдів і фосфорилування білків за залишками тирозину під час капацитації сперматозоїдів. KCNQ1 локалізований головним чином у

ділянках головки та хвоста сперматозоїдів чоловіків, тоді як KCNE1 виявлено переважно у ділянках шиї та хвоста. Локалізація цих каналів у сперматозоїдах чоловіків до і після капацитації істотно не відрізнялася. Інгібування KCNQ1 зменшувало рухливість сперматозоїдів, швидкість акросомної реакції та фосфорилування білків за залишками тирозину, але не впливало на гіперактивацію. Окрім зазначених ефектів реєстрували збільшення  $[K^+]_i$ , мембранного потенціалу та  $[Cl^-]_i$ , одночасне зниження  $[Ca^{2+}]_i$  і  $pH_i$ . Пацієнти, у сперматозоїдах яких відсутні потоки іонів  $K^+$ , проявляють знижену фертильність [27]. Досліджуючи роль KCNQ1 у процесі капацитації сперматозоїдів чоловіків, використовували інгібітор хроманол 293В. Спостерігалось значне зниження акросомної реакції без впливу на життєздатність сперматозоїдів. Вважають, що інші типи калієвих каналів, як SLO1 і SLO3, відіграють компенсаторну роль, коли калієві канали KCNQ1 інгібовані. Дія хроманолу 293В спричиняла деполяризацію плазматичної мембрани сперматозоїдів. Таким чином, інгібування KCNQ1 зумовлювало підвищення  $[K^+]_i$ , як наслідок, результувало зростанням мембранного потенціалу. Таке зростання мембранного потенціалу запускало наступний каскад реакцій, оскільки деякі іонні канали в сперматозоїдах є потенціалзалежними. Зазначалось, що в процесі капацитації збільшувалась  $[Ca^{2+}]_i$  сперматозоїдів, тоді як при дії хроманолу 293В вона знижувалась. Отже, можна припустити, що інгібування KCNQ1, яке викликало збільшення мембранного потенціалу, зменшує електрорушійну силу для надходження  $Ca^{2+}$  у клітину. А оскільки кальцій може зв'язуватися з АТФ-азою моторного білка динеїну і тим самим регулювати кривизну джгутиків, то інгібування KCNQ1 впливає на моторику сперматозоїдів. Тому іонний гомеостаз у сперматозоїдах змінюється, включно з  $[Ca^{2+}]_i$  та  $pH_i$ , які є критичними у процесі капацитації. Підсумовуючи, канал KCNQ1

відіграє вирішальну роль під час формування сперматозоїдів. Для з'ясування участі KCNQ1 у чоловічому неплідді слід визначити активність цього каналу [28].

Дані нещодавніх досліджень свідчать про те, що кількість і механізми регуляції калієвих каналів змінюються протягом сперматогенезу. Встановлено, що калієві канали потрібні для регуляції об'єму сперматозоїдів під час дозрівання у придатку яєчка, та запобігання передчасній гіперполяризації плазматичної мембрани. рН-залежний  $K^+$ -струм через KSpet тісно пов'язаний з чоловічою фертильністю. Калієва провідність важлива для чоловічої фертильності не тільки під час капацитації, але протягом сперміогенезу та дозрівання у епідидимісі, тобто зміни, що відбуваються зі сперматозоїдами в придатку яєчка, які надають їм здатності до запліднення в жіночому тракті [29]. Дослідження  $K^+$ -каналів є необхідним для розуміння механізмів порушення функції сперматозоїдів та їх ролі у чоловічій репродуктивній системі. Подальші дослідження в цій галузі можуть призвести до розробки нових методів лікування непліддя та покращення репродуктивного здоров'я чоловіків.

### Регуляція кислотно-лужної рівноваги

Встановлено, що у чоловічих статевих клітинах регулювання  $pH_i$  забезпечується роботою  $Na^+/H^+$ -обмінників (NHE), протонним потенціалзалежним іонним каналом та системою транспортування бікарбонату. Окрім цього,  $pH_i$  опосередковано контролюється  $Na^+, K^+$ -АТФазою. Механізм, який регулює концентрацію протонів у клітинах здійснюється з використанням створеного  $Na^+, K^+$ -АТФазою трансмембранного градієнта іонів натрію. Вважають, що вплив на зміну рН, очевидно, опосередковується через NHE [9].

NHE є гілкою надродини транспортерів катіонно-протонного антипортера (CPA), які знаходяться в мембранах багатьох клітин. Основними їх функціями є регуляція  $pH_i$ , гомеостазу  $Na^+$  та об'єму клітин

[30]. Ці обмінники виявлено на плазматичній мембрані вищих еукаріотних клітин, експортують внутрішньоклітинний протон, використовуючи енергію, що зберігається в електрохімічному градієнті  $Na^+$ , спрямованого всередину клітини, створеного  $Na^+, K^+$ -АТФазою, тож відіграють важливу роль як регулятори внутрішньоклітинного рН і впливають на чоловічу фертильність [31].

Ідентифіковано ізоформи NHE, які експресуються в сперматозоїдах чоловіків, а саме: NHE1, NHE5, NHE8, NHA2, NHE11 (NHA1), NHE10/sNHE [32]. NHE1 регулює  $pH_i$  та об'єм клітини, тоді як NHE5-ізоформа регулює  $[H^+]_i$ , до того ж вона спільно локалізована з  $\alpha 4$ -ізоформою  $Na^+, K^+$ -АТФази [33, 34]. NHE8 забезпечує утворення акросоми сперматозоїдів мишей. Однак наразі немає даних про експресію NHE8 у сперматозоїдах чоловіків або про роль цієї ізоформи у запліднювальній здатності сперматозоїдів [35–38].

Специфічний для сперматозоїдів NHE10/sNHE експресується в головному відділі хвостика, є важливими для нормальної рухливості сперматозоїдів і капацитації. Встановлено, що дефект експресії NHE10/sNHE в сперматозоїді чи гомозиготна мутація в гені SLC9C1, що кодує sNHE, є причиною астенозооспермії у чоловіків [36]. NHA1 важливий для рухливості сперматозоїдів і, отже, чоловічої фертильності, але досі не був пов'язаний із захворюваннями людини [39]. Методом мас-спектроскопії виявлено ізоформу  $Na^+/H^+$ -обмінника NHA2 у головному відділі хвостика сперматозоїда. Наслідком дефіциту NHA2 як і NHA1 у сперматозоїдах мишей є зниження  $pH_i$  та виникнення дефекту їхньої нерухомості, що швидше за все зумовлено пригніченням синтезу цАМФ. Проте участь ізоформи NHA2 у фертилізації чітко не з'ясована [37].

NHE11 (або NHA1, або SLC9B1) є єдиним знайденим NHE, який локалізується в ділянці акросомальної шапочки головки зрілих сперматозоїдів. Хоча фізіологічна його роль не визначена, проте припуска-

ють, що обмінник може модулювати  $\text{pH}_i$  головки сперматозоїда у відповідь на зміни мембранного потенціалу та концентрації циклічних нуклеотидів [40]. Таким чином, експресія NHE змінюється у сперматогенезі. NHE локалізуються в різних субклітинних структурах сперматозоїдів у процесі їх розвитку, тому вони сприяють численним аспектам фізіології сперматозоїдів і чоловічої фертильності, включаючи правильний розвиток/морфогенез, рухливість, життєздатність і акросомну реакцію. Оскільки  $\text{pH}_i$  є чутливим до активності цього обмінника, то передбачають, що чоловіче непліддя викликане інгібуванням NHEs характеризується нижчою експресією sAC і внутрішньоклітинного цАМФ, що підтверджує взаємний зв'язок із сигнальним шляхом цАМФ [36].

Разом з NHE протонний потенціалзалежний іонний канал (Hv1) відіграє важливу роль у регуляції  $\text{pH}_i$ . Виявлений лише у сперматозоїдах чоловіків, він контролює внутрішньоклітинну лужність сперматозоїдів через специфічний зовнішній протонний потік крізь плазматичну мембрану. Причиною відкриття Hv1 є деполаризація плазматичної мембрани, фосфорилування РКА, позаклітинне підлучення ендоканабіноїдом анандамідом та інгібування низькою концентрацією цинку [41]. Hv1 локалізовані у головному відділі хвостика сперматозоїдів близько до CatSper-каналів. Таке розташування Hv1 робить їх ідеальними у процесі активації рН-залежного білка аксонемі та, як наслідок, контролю рухливості сперматозоїдів [42].

Третім чинником, який здійснює регулювання  $\text{pH}_i$ , є наявність бікарбонату у чоловічих статевих клітинах. Окрім цього,  $\text{HCO}_3^-$ -транспорт забезпечує процес капітації сперматозоїда. Транспортери  $\text{HCO}_3^-$  представлені двома основними групами:  $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^-$  – котранспортером – NBCs, що належить до сімейства SLC4, та групою SLC26, яку складають 11 електрогенних аніонних каналів, з яких лише 5 здатні до транспортування

бікарбонату через плазматичну мембрану сперматозоїда. Основними функціями  $\text{HCO}_3^-$  є ініціація рухливості сперматозоїдів одразу після еякуляції та активація сперматозоїдів у репродуктивному тракті жінки [43]. Інший спосіб збільшення концентрації бікарбонату у клітині це реакція між  $\text{CO}_2$  та  $\text{H}_2\text{O}$  у клітині з утворенням протона та бікарбонату. Порушення рівноваги  $\text{HCO}_3^-$  та  $\text{H}^+$  зумовлює зміни концентрації внутрішньоклітинних месенджерів: цАМФ і  $\text{Ca}^{2+}$ . Активація розчинної аденілатциклази, наступне збільшення цАМФ, підлучення внутрішнього середовища та гіперполяризація мембрани зумовлена зміною концентрації  $\text{HCO}_3^-$  [44, 45].

### Кальцієві канали

Відомо, що  $\text{Ca}^{2+}$  як вторинний месенджер, відіграє важливу роль у функціонуванні не лише соматичних клітин, а й у чоловічих статевих клітин, насамперед у процесі запліднення, рухливості, хемотаксисі, капітації та акросомній реакції. Підтримання внутрішньоклітинної концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  у межах концентрацій 100–200 нмоль/л, що значно менше, ніж у позаклітинному середовищі, у період дозрівання сперматозоїдах здійснюється системами активного та пасивного транспортування [46]. Нині ідентифіковано чотири основні кальцієві канали, які пов'язані з рухливістю сперматозоїдів: катіонний канал сперматозоїдів (CatSper), потенціалзалежний кальцієвий канал (VGCC), транзиторий ванілоїдний рецептор (TRPV) і депокерований кальцієвий канал (SOCC) [47].

Зростанню внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію внаслідок його транспортування із позаклітинного середовища та внутрішньоклітинного депо, сприяють потенціалкеровані  $\text{Ca}^{2+}$ -канали: CatSper та потенціалзалежні  $\text{Ca}^{2+}$ -канали. Джерелами  $\text{Ca}^{2+}$  у соматичних клітинах є ендоплазматичний ретикулум (ER), апарат Гольджі та мітохондрії, тоді як у

зрілих сперматозоїдах практично немає ендоплазматичного ретикулума або апарату Гольджі. Вважається, що  $[Ca^{2+}]_i$  в сперматозоїдах ссавців запасується у цитоплазматичній краплі, надлишковій ядерній оболонці та мітохондріях у середній частині клітини [48–50]. Зменшення концентрації  $Ca^{2+}$  у клітині регулюється  $Ca^{2+}$ -АТФазами та натрій-кальцієвими обмінниками. До виявлення та дослідження CatSper-каналів вважали, що потенціалзалежні  $Ca^{2+}$ -канали  $Ca_v$  сприяли передачі сигналу бікарбонат-цАМФ у процес, що регулюється протеїнкіназою А і кальмодуліном, зумовлювали зростання  $[Ca^{2+}]_i$  та гіперактивацію, а також були основними при акросомній реакції [51]. У наших попередніх дослідженнях показано, що за умов патології порушуються механізми прогестеронзалежної активації  $Ca^{2+}$  входу та функціонування потенціалкерованих  $Ca^{2+}$ -каналів плазмалеми, також не спостерігається зростання  $[Ca^{2+}]_i$  у разі  $K^+$ -деполяризації (за наявності інгібіторів) [52].

CatSper є специфічним кальцієвим каналом сперматозоїдів, що ідентифікований у мембрані головного відділу хвостика сперматозоїда. У чоловічих сперматозоїдах він активується внутрішньоклітинним залужненням, яке може бути забезпечено Hv1. Крім того, CatSper є  $Ca^{2+}$ -проникним після активації прогестероном та простагландинами – жіночими факторами, надзвичайно чутливим до рН і залежним від низького мембранного потенціалу [4, 53]. CatSper містить пороутворюючі білки CATSPER1-4 та кілька допоміжних субодиниць, включно з CatSper  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$  і EFCAB91,3-9 [54]. Для того щоб канал CatSper функціонував, як і Hv1, необхідною умовою є деполяризація плазматичної мембани сперматозоїда, отже, калієві потоки повинні бути інгібованими [55]. Таким чином, синергетична взаємодія CatSper, Hv1, та NOX5 результує процесом капацитації.

Зростання  $[Ca^{2+}]_i$  через CatSper активує NOX5, генеруючи  $O_2^-$ , який разом із бікар-

бонатом і кальцієм стимулює аденілілциклазу та зумовлює зростання концентрації цАМФ. Функціонування NOX5 потрібне для створення оптимальної активності Hv1. Відбувається підлучнення внутрішнього середовища клітини, окиснення та вихід холестерину, що супроводжує капацитацію [56]. З іншого боку, припускають, що CatSper-канали характеризуються полімодальністю до багатьох хімічних речовин. Встановлено, що такі ліганди, як одоранти, або мембранопроникні аналоги циклічних нуклеотидів здатні безпосередньо активувати CatSper-канали оминаючи G-білкові рецептори та цАМФ, а також безпосередньо через позаклітинний сайт [57]. Одночасна дія стероїдів та простагландинів зумовлює відкриття CatSper і, таким чином, підвищують  $[Ca^{2+}]_i$  до значень, які не досягаються при впливі кожного ліганду окремо. CatSper також контролюється мембранним потенціалом і  $pH_i$ . Однак взаємодія трьох чинників: мембранного потенціалу,  $pH_i$  та лігандів для контролю CatSper під час запліднення невідома [58]. Зазначають, що функціонування  $K^+$ -каналів сперматозоїдів, а саме SLO3, впливає на мембранний потенціал і, таким чином, може регулювати ворітні механізми CatSper [27].

При визначенні причин нез'ясованого (ідіопатичного) чоловічого непліддя виявлено, що 1,7% припадає на мутації в генах CatSper та дефектну функцію каналу. CatSper-канали з порушеною функціональністю зменшують зростання  $[Ca^{2+}]_i$  у сперматозоїді, що супроводжується нездатністю спонтанно гіперактивуватися, мігрувати у в'язкому середовищі та досягти місця запліднення [54, 59]. Виявлено особу з нормальними параметрами сперми, проте сперматозоїди показали порушення здатності до проникнення, недостатню гіперактивацію та не реагували на прогестерон посиленням моновалентного струму, збільшенням  $[Ca^{2+}]_i$  та індукцією акросомної реакції. Встановлено зниження кількості протеїнів CatSper2 у сперматозоїдах

людини. Тобто чоловік мав нормальні параметри сперми, його сперматозоїди характеризувалися дисфункцією, що може пояснити індивідуальне ідіопатичне неплоддя [60].

Субодиниці CatSper утворюють функціональний канал. Втрата функції, що є наслідком мутації, впливає на функцію каналу і отже, здатність сперми до запліднення. Дані, одержані при обстеженні неплодних чоловіків, корелюють з астенотератозооспермією, тому гени, що кодують субодиниці CatSper, є однаково важливими кандидатами для скринінгу у неплодних пацієнтів будь-якої з субодиниць, проте виявлення таких дефектів є непростим завданням. З іншого боку, втрата фертильності може спостерігатися в результаті дрібних змін у транспортуванні іонів, а також можливого зниження або відсутності рухливості сперматозоїдів [61].

Таким чином, для регулювання функцій сперматозоїдів CatSper співфункціонує з іншими іонними каналами, обмінниками та транспортерами статевої клітини. Зважаючи на вплив на такі важливі функції сперматозоїдів, як регулювання  $[Ca^{2+}]_i$ , швидкості руху сперматозоїдів і прогресування клітин, CatSper є ключовим фактором чоловічої фертильності. Порушення їх функції може призвести до зниження рухливості сперматозоїдів, проблем з заплідненням та неплоддя. Таким чином, CatSper-канали можна розглядати як потенційну мішень для лікування чоловічого неплоддя, а також розробки негормональних контрацептивів.

Сперматозоїди чоловіків демонструють повністю функціональну ендоканабіноїдну систему, пов'язану з анандамідом (AEA). Цей мембранний рецептор може брати участь у складних механізмах, які роблять сперматозоїди здатними запліднювати оцити під час процесу капацитації в жіночих статевих шляхах [62]. SOCC – це група потенціалнезалежних каналів у плазматичній мембрані, що активуються через внутрішньоклітинне зв'язування  $Ca^{2+}$  з

каналом. Інгібітори SOCC зменшують асиметричні та поворотні рухи сперматозоїдів асцидії, тоді як блокування SOCC у спермі чоловіків сильно пригнічує їх рухливість, підкреслюючи функціональне значення каналу в мобільності [63] та залученні у сигнальний шлях, що призводить до акросомної реакції [64].

На голівках чоловічих сперматозоїдів методом patch-clamp виявлено  $Ca^{2+}$ -залежний Cl<sup>-</sup>-потік (CaCC), а застосування ніфлумової кислоти, показало наявність  $Ca^{2+}$ -залежних Cl<sup>-</sup>-каналів. Струми CaCC активно беруть участь в акросомній реакції. Їх інгібування ефективно зменшує акросомну реакцію, індуковану солюбілізованим рекомбінантним протеїном зони пелюцида [65]. Відкриття CaCC спричинить деполаризацію плазматичної мембрани. Тож можна припустити, що активація CaCC може сприяти відкриттю CatSper-каналів через деполаризацію мембранного потенціалу. Допускають, що дисфункціональна сперма з незвичайно деполаризованим відкриттям CaCC-каналів спричинить гіперполяризацію, що може допомогти у заплідненні при IVF. Незрозуміло, чим спричинений надзвичайно високий вміст  $[Ca^{2+}]_i$  у стані спокою сперматозоїдів пацієнтів: підвищеною базальною провідністю CatSper чи неоптимальною екструзією [66].

### **Ca<sup>2+</sup>-АТФази**

Механізм активного транспортування, що забезпечує регулювання кальцієвої концентрації представлений у сперматозоїдах  $Ca^{2+}$ -АТФазами. У чоловічих статевих клітинах визначено такі ізоформи  $Ca^{2+}$ -АТФази, як  $Ca^{2+}$ -АТФаза плазматичної мембрани (ізоформа PMCA),  $Ca^{2+}$ -АТФаза саркоплазматичного/ендоплазматичного ретикулаума (SERCA) і  $Ca^{2+}$ -АТФаза секреторного шляху (SPCA) [67]. Літературні дані щодо концентрації  $Ca^{2+}$  у сперматозоїдах вище фізіологічної норми зустрічаються рідко, проте встановлено, що такий їх



вміст пригнічує рухливість сперматозоїдів. Результати експериментів із використанням тапсигаргіну та кверцетину, інгібіторів SERCA та PMCA, показували значне зниження рухливості сперматозоїдів, що відповідало підвищенню  $[Ca^{2+}]_i$ , яка має пригнічувальний вплив на рухливість [68].

$Ca^{2+}$ -АТФаза плазматичної мембрани (PMCA) здійснює випомповування  $Ca^{2+}$  у позаклітинне середовище. В плазматичній мембрані сперматозоїдів експресуються дві ізоформи PMCA, а саме PMCA1 та PMCA4, серед яких друга є домінуючою. Основна функція PMCA полягає у підтриманні базального вмісту  $[Ca^{2+}]_i$  на наномолярному рівні, як наслідок, впливає на рухливість та гіперактивність сперматозоїдів [8]. Встановлено, що розподіл ізоформи PMCA4 неоднаковий у зразках сперматозоїдів чоловіків із нормо- та астенозооспермією. В першому випадку спостерігали менш ущільнений розподіл PMCA4 у голівці та хвості сперматозоїда, тоді як при патології розташування  $Ca^{2+}$ -АТФази плазматичної мембрани ущільнене [8, 69]. Встановлено, що PMCA4 розташовується поряд із NOS на задньому з'єднанні голівка/шия у сперматозоїдах. З підвищенням  $[Ca^{2+}]_i$  зростає продукція NO, забезпечення якої здійснює ензим NOS. Різке зростання концентрації NO, як і її зменшення негативно впливає на клітини [70, 71].

При високій концентрації кальцію у чоловічих статевих клітинах між PMCA4, eNOS та nNOS спостерігається протеїн-протеїнові взаємодії, тим самим зменшуючи вміст NO для запобігання пероксидного окиснення ліпідів, причому у таку взаємодію залучається значно більше молекул nNOS, ніж eNOS [71]. Таким чином, PMCA4 регулює вміст NO, підвищення якого призводить до астенозооспермії. Такі дані підтверджено дослідженнями на PMCA4 нульових сперматозоїдах та Jam-A, де активність PMCA4 значно знижена. Визначено, що активність NOS була приблизно вдвічі вищою за норму [72].

$Ca^{2+}$ -АТФаза SERCA – основний іонний

транспортер, що доставляє цитоплазматичний  $Ca^{2+}$  в ЕР. Її виявлено у всіх типах соматичних клітин, проте вперше – в акросомі та середній частині сперматозоїдів чоловіків, миші та бика методами вестерн-блотингу та непрямой імунофлюоресценції [73]. Припускають, що локалізація SERCA2 у середній частині сперматозоїда може відігравати певну роль у їх рухливості, акросомі – у акросомній реакції. Встановлено, що дія тапсигаргіну індукує гіперактивацію сперматозоїдів великої рогатої худоби сприянням вивільненню  $Ca^{2+}$  із надлишкових ядерних оболонок, керованих рецептором інозитол-3-фосфату ( $IP_3$ ). Проте залишається невідомим, чи ця структура все ще є у фракції голівки/середини чоловічої статевої клітини, де був ідентифікований SERCA2 [73]. Вважають, що ізоформа SERCA2 відповідає, принаймні частково, за вивільнення  $Ca^{2+}$  під час капацитації [73]. Дозозалежне пригнічення рухливості сперматозоїдів чоловіків спостерігали при наявності тапсигаргіну, інгібітора SERCA, у середовищах інкубації [74]. Тож функції SERCA2 у середній частині сперматозоїда потребують подальшого дослідження.

Іншою системою, що накопичує  $Ca^{2+}$  у клітинному депо, а саме структурах Гольджі та структурах, похідних від Гольджі, є  $Ca^{2+}$ -АТФаза у разі секреторного шляху (SPCA) [75]. Експресія SPCA1 секреторного шляху сперматозоїдів чоловіків виявлена методом вестерн-блотингу протеїнів. SPCA1 локалізований в ділянці шийки сперматозоїдів чоловіків у місці, де розташована надлишкова ядерна оболонка та везикули, що містять калретикулін [76]. Вважають, що він є внутрішньоклітинною АТФазою, що експресується в сперматозоїдах чоловіків. Припускається, що основною функцією SPCA1 є накопичення кальцію у надлишкової ядерній оболонці, оскільки коливання  $[Ca^{2+}]_i$  в сперматозоїдах чоловіків не генеруються  $IP_3$ -чутливим акросомним депо кальцію, а індукованою кальцієвою мобілізацією  $Ca^{2+}$  [77]. Встановлення функції(й) SPCA1 у

сперматозоїдах чоловіків вимагає подальших досліджень. Таким чином, причиною дисфункції сперматозоїдів через пошкодження структури є порушення активності  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФази [8].

### Натрій-кальцієвий обмінник

Натрій-кальцієвий обмінник відіграє вирішальну роль у підтриманні балансу  $\text{Ca}^{2+}$  у внутрішньоклітинному середовищі, експортуючи один його іон із клітини та три іони натрію у клітину. Інгібування NCX бепридилом, DCB (3',4'-дихлорбензаміл гідрохлорид) і KB-R7943 спричиняло знеурюхнення сперматозоїдів чоловіків залежно від дози та часу інкубації, підвищення  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  та зниження  $[\text{Na}^+]_i$ . Зростання  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  відбувалась через потік  $\text{Ca}^{2+}$  із внутрішньоклітинних депо та/або  $\text{Ca}^{2+}$  надходження через  $\text{Ca}^{2+}$ -канали, з одночасним зниженням  $[\text{Na}^+]_i$  припиненням надходження  $\text{Na}^+$  через інгібування натрій-кальцієвого обмінника, при цьому випомповування  $\text{Na}^+$  через  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФазу не змінюється [74, 78]. На активність натрій-кальцієвого обмінника впливають  $\text{Na}^+$  і  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{pH}_i$ , метаболічні сполуки, АТФ, PIP2, PKA та PKC та активні форми кисню [78].

### Потенціалзалежний протонний канал

Підвищення  $\text{pH}_i$  і  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  регулює рухливість сперматозоїдів, хемотаксис, капациацію та акросомну реакцію, а також, відіграє важливу роль у здатності сперматозоїдів досягати і запліднювати яйцеклітину. У сперматозоїдах чоловіків джгутиковий потенціалзалежний протонний канал Hv1 є основним шляхом виштовхування  $\text{H}^+$ , який контролює внутрішньоклітинний рН сперматозоїдів, а залежний від рН джгутиковий  $\text{Ca}^{2+}$ -канал CatSper забезпечує надходження  $\text{Ca}^{2+}$ . Канали Hv1 і CatSper спільно локалізовані в головному відділі хвостика сперматозоїда. Hv1 призначений для екструзії протонів із хвостика. Він активується деполаризацією плазматичної мембрани,

лужним позаклітинним середовищем, ендоканабіноїдом анандамідом і видаленням позаклітинного цинку, потужного блокатора Hv1. Канал CatSper сильно потенціюється внутрішньоклітинним залужненням. Оскільки канали Hv1 і CatSper розташовані в одному субклітинному домені, екструзія протонів через канали Hv1 повинна індукувати внутрішньоджгутикове залужнення та активувати іонні канали CatSper. Таким чином, комбінована активність каналів Hv1 і CatSper у сперматозоїдах чоловіків може підвищувати як внутрішньоклітинний рН, так і концентрацію  $\text{Ca}^{2+}$ , що потрібно для активації сперматозоїдів у жіночому репродуктивному тракті [42].

Слід зазначити, що  $\text{HCO}_3^{3-}$  в основному утворюється через дифузію  $\text{CO}_2$  у клітини та змінює рівновагу  $\text{CO}_2/\text{HCO}_3^{3-}/\text{H}^+$ . Тож Hv1 може служити однонаправленим клапаном, який пригнічує підкиснення, що виникає в результаті синтезу  $\text{HCO}_3^{3-}$  та виштовхує  $\text{H}^+$ . Підкиснення внутрішньоклітинного середовища постійно пригнічується роботою NHE через SLC9B або SLC9C [45].

### Аквапорини

Як зазначалось, одним із шляхів зростання кількості бікарбонату у клітині є його утворення за участі  $\text{CO}_2$  та  $\text{H}_2\text{O}$ . У плазматичній мембрані соматичних клітин, а також у мембранах стетевих клітин виявлено специфічні каналні протеїни аквапорини, завдяки яким здійснюється транспортування води та невеликих розчинених речовин. Зазначають, що аквапорини виконують низку ключових функцій, зокрема, забезпечують регуляцію водного та іонного гомеостазу клітини. Згідно з дослідженнями, вони регулюють механізми, які лежать в основі чоловічого непліддя [79]. Так, у яечку регуляція рідини має важливе значення для сперматогенезу та транспорту сперматозоїдів у придаткові протоки, підтримуючи належні іонні потоки для їх дозрівання та зберігання. Зміни в експресії аквапоринів

або їхня дисфункція пов'язані з чоловічою субфертильністю/непліддям. Таким чином, аквапорини є важливими для чоловічого репродуктивного здоров'я [80].

## ВИСНОВОК

Важливість іонної рівноваги у репродуктивних клітинах продемонстрована продовж останніх років. Для нормального функціонування чоловічих статевих клітин і запліднення критично важливим є підтримання гомеостазу іонів кальцію, натрію, калію, хлору, бікарбонату, що регулюється іонними транспортерами, специфічно локалізованими в ділянках головки та хвостика сперматозоїда. Деякі їх ізоформи специфічні лише для сперматозоїдів і характеризуються унікальними властивостями. Зазначено, що інгібування одних іонних каналів може компенсуватись функціонуванням інших. Застосування специфічних інгібіторів іонтранспортувальних систем сприяє розумінню сигнальних процесів, які пов'язані з порушенням функціонування чоловічих статевих клітини, як рухливості, гіперполяризації, морфології та їх кількості. Обговорено значення використання іонтранспортувальних систем як маркерів для визначення дисфункції сперматозоїдів, що є надзвичайно важливим для оцінки загального стану здоров'я пацієнта та розробки методів лікування непліддя.

*Стаття публікується за підтримки іменної стипендії Верховної Ради України для молодих учених - докторів наук на виконання наукової (науково-технічної) роботи: «Біофізико-хімічні механізми зниження фертилізаційного потенціалу сперматозоїдів та розробка нових прогностичних маркерів діагностики інфертильності чоловіків» (Постанова Верховної Ради України "Про призначення у 2023 р. іменних стипендій Верховної Ради України для молодих учених - докторів наук").*

*The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.*

**Z. Ya. Fedorovych, M. Z. Vorobets R. V. Fafula**

## INTERRUPTION OF ION TRANSPORT PROCESSES IN SPERMATOZOA OF INFERTILE MEN

*Danylo Halytsky Lviv National Medical University;  
e-mail: roman\_fafula@ukr.net*

During the study of the plasma membrane of spermatozoa and its organelles, a great variety of specifically localized ion channels, exchangers, and ATPases was discovered. Although the activity of ion channels and membrane transporters has been studied in detail, their involvement in the mechanisms leading to the dysfunction of male germ cells remains insufficiently elucidated. Numerous scientific works show that the absence of certain transport systems of the plasma membrane due to genetic mutations or their low activity leads to a decrease or loss of sperm motility, morphological changes that worsen the quality of sperm, and is the cause of male infertility. The review examines some ion transport systems that maintain resting membrane potential and ion homeostasis in spermatogenesis. It notes the possibility of using ion channels and membrane transporters as markers to establish the functionality of spermatozoa or as molecular targets for drugs in the treatment of male infertility.

Key words: transport of ions; spermatozoon; male infertility

## REFERENCES

1. Austin CR. Observations on the penetration of the sperm into the mammalian egg. *Austr J Biol Sci.* 1951;4(4):581-96.
2. Ramal-Sanchez M, Bernabò N, Valbonetti L, Cimini C, Taraschi A, Capacchietti G, Machado-Simoes J, Barboni B. Role and modulation of TRPV1 in mammalian spermatozoa: An updated review. *Int J Mol Sci.* 2021 Apr 21;22(9):4306.
3. Delgado-Bermúdez A, Mateo-Otero Y, Llanvera M, Bonet S, Yeste M, Pinart E. HVCN1 but not potassium channels are related to mammalian sperm cryotolerance. *Int J Mol Sci.* 2021 Feb 6;22(4):1646.
4. Miller MR, Mansell SA, Meyers SA, Lishko PV. Flagellar ion channels of sperm: similarities and differences between species. *Cell Calcium.* 2015 Jul 1;58(1):105-13.
5. Wang H, McGoldrick LL, Chung JJ. Sperm ion channels and transporters in male fertility and infertility. *Nat Rev Urol.* 2021 Jan;18(1):46-66.

6. Sanchez G, Nguyen AN, Timmerberg B, Tash JS, Blanco G. The Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$ 4 isoform from humans has distinct enzymatic properties and is important for sperm motility. *Mol Human Reproduct*. 2006 Sep 1;12(9):565-76.
7. Hlivko JT, Chakraborty S, Hlivko TJ, Sengupta A, James PF. The human Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase alpha4 isoform is a ouabain-sensitive alpha isoform that is expressed in sperm. *Mol Reproduct Dev: Incorp Gamete Res*. 2006 Jan;73(1):101-15.
8. Lestari SW, Miati DN, Seoharso P, Sugiyanto R, Pujianto DA. Sperm Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$ 4 and plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPase (PMCA) 4 regulation in asthenozoospermia. *Syst Biol Reproduct Med*. 2017 Sep 3;63(5):294-302.
9. Jimenez T, Sánchez G, Blanco G. Activity of the Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$ 4 isoform is regulated during sperm capacitation to support sperm motility. *J Androlog*. 2012 Sep 10;33(5):1047-57.
10. Pinto FM, Odriozola A, Candenás L, Subirán N. The role of sperm membrane potential and ion channels in regulating sperm function. *Int J Mol Sci*. 2023 Apr 10;24(8):6995.
11. Calzada L, Tellez J. Defective function of membrane potential ( $\psi$ ) on sperm of infertile men. *Arch Androlog*. 1997 Jan 1;38(2):151-5.
12. Molina LC, Gunderson S, Riley J, Lybaert P, Borrego-Alvarez A, Jungheim ES, Santi CM. Membrane potential determined by flow cytometry predicts fertilizing ability of human sperm. *Front Cell Dev Biol*. 2020 Jan 21;7:387.
13. Jimenez T, Sánchez G, Wertheimer E, Blanco G. Activity of the Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase A4 isoform is important for membrane potential, intracellular Ca<sup>2+</sup>, and Ph to maintain motility in rat spermatozoa. *Reproduction*. 2010;139(5):835-45.
14. Da Costa R, Botana D, Pinero S, Proverbio F, Marín R. Cadmium inhibits motility, activities of plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPase and axonemal dynein-ATPase of human spermatozoa. *Andrologia*. 2016 May;48(4):464-9.
15. Peralta-Arias RD, Vivenes CY, Camejo MI, Pinero S, Proverbio T, Martinez E, Marín R, Proverbio F. ATPases, ion exchangers and human sperm motility. *Reproduction*. 2015 May 1;149(5):475-84.
16. Larsen K, Henriksen C, Kristensen KK, Momeni J, Farajzadeh L. Molecular cloning and characterization of porcine Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase isoform  $\alpha$ 4. *Biochimie*. 2019 Mar 1;158:149-55.
17. Fafula RV, Vorobets ZD. The relationships between changes in main biochemical parameters in sperm cells of infertile men. *Studia Biol*. 2019 June;13(1):39-50.
18. Molina LC, Pinto NA, Torres NI, González-Cota AL, Luque GM, Balestrini PA, Romarowski A, Krapf D, Santi CM, Treviño CL, Darszon A. CFTR/ENaC-dependent regulation of membrane potential during human sperm capacitation is initiated by bicarbonate uptake through NBC. *J Biol Chem*. 2018 Jun 1;293(25):9924-36.
19. Gündoğdu AÇ, Kaplanoğlu GT, Ören S, Baykal B, Korkmaz C, Gümüşlü S, Karabacak RO. Impact of 5'-AMP-activated protein kinase (AMPK) on Epithelial Sodium Channels (ENaCs) in human sperm. *Tissue Cell*. 2022 Oct 1;78:101896.
20. Kong XB, Ma HG, Li HG, Xiong CL. Blockade of epithelial sodium channels improves sperm motility in asthenozoospermia patients. *Int J Androlog*. 2009 Aug;32(4):330-6.
21. Chauhan DS, Swain DK, Shah N, Yadav HP, Nakade UP, Singh VK, Nigam R, Yadav S, Garg SK. Functional and molecular characterization of voltage gated sodium channel Nav 1.8 in bull spermatozoa. *Theriogenology*. 2017 Mar 1;90:210-8.
22. Candenás L, Pinto FM, Cejudo-Román A, González-Ravina C, Fernández-Sánchez M, Pérez-Hernández N, Irazusta J, Subirán N. Veratridine-sensitive Na<sup>+</sup> channels regulate human sperm fertilization capacity. *Life Sci*. 2018 Mar 1;196:48-55.
23. Lyon M, Li P, Ferreira JJ, Lazarenko RM, Kharade SV, Kramer M, McClenahan SJ, Days E, Bauer JA, Spitznagel BD, Weaver CD. A selective inhibitor of the sperm-specific potassium channel SLO3 impairs human sperm function. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2023 Jan 24;120(4):e2212338120.
24. Christoph B, Zhou Y, Astrid M, Echeverry FA, Christian T, Ansgar P, Xiao-Ming X, Wolfgang B, Lingle CJ, Benjamin KU, Timo S. The Ca<sup>2+</sup>-activated K<sup>+</sup> current of human sperm is mediated by Slo3. *eLife*. 2014;3.
25. Geng Y, Ferreira JJ, Dziku V, Butler A, Lybaert P, Yuan P, Magleby KL, Salkoff L, Santi CM. A genetic variant of the sperm-specific SLO3 K<sup>+</sup> channel has altered pH and Ca<sup>2+</sup> sensitivities. *J Biol Chem*. 2017 May 26;292(21):8978-87.
26. Wijerathne TD, Kim JH, Kim MJ, Kim CY, Chae MR, Lee SW, Lee KP. Onion peel extract and its constituent, quercetin inhibits human Slo3 in a pH and calcium dependent manner. *Korean J Physiol Pharm*. 2019 Sep 1;23(5): 381-92.
27. Brown SG, Publicover SJ, Mansell SA, Lishko PV, Williams HL, Ramalingam M, Wilson SM, Barratt CL, Sutton KA, Da Silva SM. Depolarization of sperm membrane potential is a common feature of men with subfertility and is associated with low fertilization rate at IVF. *Human Reproduct*. 2016 Jun 1;31(6):1147-57.
28. Gao T, Li K, Liang F, Yu J, Liu A, Ni Y, Sun P. KCNQ1 potassium channel expressed in human sperm is involved in sperm motility, acrosome reaction, protein tyrosine phosphorylation, and ion homeostasis during capacitation. *Front Physiol*. 2021 Oct 22;12:761910.
29. Delgado-Bermúdez A, Yeste M, Bonet S, Pinart E. Physiological role of potassium channels in mammalian germ cell differentiation, maturation, and capacitation. *Andrology*. 2024 Mar 4;1-18.
30. Pedersen SF, Counillon L. The SLC9A-C mammalian Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger family: molecules, mechanisms, and physiology. *Physiol Rev*. 2019 Sep 11;99(4):2015-113.
31. Bell SM, Schreiner CM, Schultheis PJ, Miller ML, Evans RL, Vorhees CV, Shull GE, Scott WJ. Targeted disruption of the murine Nhe1 locus induces ataxia, growth retardation, and seizures. *Am J Physiol-Cell Physiol*. 1999 Apr 1;276(4):C788-95.
32. Gardner CC, James PF. Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> Exchangers (NHEs) in mammalian sperm: Essential contributors to male fertility. *Int J Mol Sci*. 2023 Oct 7;24(19):14981.

33. Woo AL, James PF, Lingrel JB. Roles of the Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$ 4 isoform and the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger in sperm motility. *Mol Reproduct Dev: Incorporat Gamete Res.* 2002 Jul;62(3):348-56.
34. Liu T, Huang JC, Zuo WL, Lu CL, Chen M, Zhang XS, Li YC, Cai H, Zhou WL, Hu ZY, Gao F. A novel testis-specific Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger is involved in sperm motility and fertility. *Front Biosci (Elite edition)*. 2010 Jan 1;2(2):566-81.
35. Oberheide K, Puchkov D, Jentsch TJ. Loss of the Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger NHE8 causes male infertility in mice by disrupting acrosome formation. *J Biol Chem.* 2017 Jun 30;292(26):10845-54.
36. Zhang Z, Yang Y, Wu H, Zhang H, Zhang H, Mao J, Liu D, Zhao L, Lin H, Tang W, Hong K. Sodium-hydrogen-exchanger expression in human sperm and its relationship with semen parameters. *J Ass Reproduct Genet.* 2017 Jun;34:795-801.
37. Chen SR, Chen M, Deng SL, Hao XX, Wang XX, Liu YX. Sodium-hydrogen exchanger NHA1 and NHA2 control sperm motility and male fertility. *Cell Death Dis.* 2016 Mar;7(3):e2152.
38. Cavarocchi E, Whitfield M, Chargui A, Stouvenel L, Lorès P, Coutton C, Arnoult C, Santulli P, Patrat C, Thierry-Mieg N, Ray PF. The sodium/proton exchanger SLC9C1 (sNHE) is essential for human sperm motility and fertility. *Clin Genet.* 2021 May;99(5):684-93.
39. Anderegg MA, Gyimesi G, Ho TM, Hediger MA, Fuster DG. The less well-known little brothers: the SLC9B/NHA sodium proton exchanger subfamily—structure, function, regulation and potential drug-target approaches. *Front Physiol.* 2022 May 25;13:898508.
40. Gardner CC, James PF. The SLC9C2 gene product (Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> exchanger isoform 11; NHE11) is a testis-specific protein localized to the head of mature mammalian sperm. *Int J Mol Sci.* 2023 Mar 10;24(6):5329.
41. Lishko PV, Botchkina IL, Fedorenko A, Kirichok Y. Acid extrusion from human spermatozoa is mediated by flagellar voltage-gated proton channel. *Cell.* 2010 Feb 5;140(3):327-37.
42. Lishko PV, Kirichok Y, Ren D, Navarro B, Chung JJ, Clapham DE. The control of male fertility by spermatozoan ion channels. *Annu Rev Physiol.* 2012 Mar 17;74:453-75.
43. Bernardino RL, Carrageta DF, Sousa M, Alves MG, Oliveira PF. pH and male fertility: Making sense on pH homeodynamics throughout the male reproductive tract. *Cell Mol Life Sci.* 2019 Oct 1;76:3783-800.
44. Chen WY, Xu WM, Chen ZH, Ni Y, Yuan YY, Zhou SC, Zhou WW, Tsang LL, Chung YW, Höglund P, Chan HC. Cl<sup>-</sup> is required for HCO<sup>3-</sup> entry necessary for sperm capacitation in guinea pig: involvement of a Cl<sup>-</sup>/HCO<sup>3-</sup> exchanger (SLC26A3) and CFTR. *Biol Reproduct.* 2009 Jan 1;80(1):115-23.
45. Grahn E, Kaufmann SV, Askarova M, Ninov M, Welp LM, Berger TK, Urlaub H, Kaupp UB. Control of intracellular pH and bicarbonate by CO<sub>2</sub> diffusion into human sperm. *Nat Commun.* 2023 Sep 5;14(1):5395.
46. Wennemuth G, Westenbroek RE, Xu T, Hille B, Babcock DF. CaV2. 2 and CaV2. 3 (N-and R-type) Ca<sup>2+</sup> channels in depolarization-evoked entry of Ca<sup>2+</sup> into mouse sperm. *J Biol Chem.* 2000 Jul 14;275(28):21210-7.
47. Nowicka-Bauer K, Szymczak-Cendlak M. Structure and function of ion channels regulating sperm motility—an overview. *Int J Mol Sci.* 2021 Mar 23;22(6):3259.
48. Costello S, Michelangeli F, Nash K, Lefievre L, Morris J, Machado-Oliveira G, Barratt C, Kirkman-Brown J, Publicover S. Ca<sup>2+</sup>-stores in sperm: their identities and functions. *Reproduction (Cambridge)*. 2009 Sep;138(3):425.
49. Jaldety Y, Breitbart H. ERK1/2 mediates sperm acrosome reaction through elevation of intracellular calcium concentration. *Zygote.* 2015 Oct;23(5):652-61.
50. Rossi A, Pizzo P, Filadi R. Calcium, mitochondria and cell metabolism: A functional triangle in bioenergetics. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Mol Cell Res.* 2019 Jul 1;1866(7):1068-78.
51. Darszon A, Nishigaki T, Beltran C, Treviño CL. Calcium channels in the development, maturation, and function of spermatozoa. *Physiol Rev.* 2011 Oct;91(4):1305-55.
52. Fafula RV, Danylovyh GV, Besedina AS, Melnyk OV, Vorobets ZD. Responsiveness to progesterone and potassium channel blockers 4-aminopyridine, tetraethylammonium and free Ca(2+) concentration in spermatozoa of patients with oligozoospermia/leucocytospermia. *Ukr Biochem J.* 2018 Jan-Feb;90(1):48-57.
53. Kirichok Y, Navarro B, Clapham DE. Whole-cell patch-clamp measurements of spermatozoa reveal an alkaline-activated Ca<sup>2+</sup> channel. *Nature.* 2006 Feb 9;439(7077):737-40.
54. Lin S, Ke M, Zhang Y, Yan Z, Wu J. Structure of a mammalian sperm cation channel complex. *Nature.* 2021 Jul 29;595(7869):746-50.
55. Zeng XH, Yang C, Kim ST, Lingle CJ, Xia XM. Deletion of the Slo3 gene abolishes alkalization-activated K<sup>+</sup> current in mouse spermatozoa. *Proc Natl Acad Sci.* 2011 Apr 5;108(14):5879-84.
56. Seredenina T, Demareux N, Krause KH. Voltage-gated proton channels as novel drug targets: From NADPH oxidase regulation to sperm biology. *Antioxid Redox Sign.* 2015 Aug 10;23(5):490-513.
57. Brenker C, Goodwin N, Weyand I, Kashikar ND, Naruse M, Krähling M, Müller A, Kaupp UB, Strünker T. The CatSper channel: a polymodal chemosensor in human sperm. *EMBO J.* 2012 Apr 4;31(7):1654-65.
58. Brenker C, Rehfeld A, Schiffer C, Kierzek M, Kaupp UB, Skakkebaek NE, Strünker T. Synergistic activation of CatSper Ca<sup>2+</sup> channels in human sperm by oviductal ligands and endocrine disrupting chemicals. *Human Reproduct.* 2018 Oct 1;33(10):1915-23.
59. Young S, Schiffer C, Wagner A, Patz J, Potapenko A, Herrmann L, Nordhoff V, Pock T, Krallmann C, Stallmeyer B, Röpke A. Unexplained infertility is frequently caused by defective CatSper function preventing sperm from penetrating the egg coat. *MedRxiv.* 2023:2023-03.
60. Luo T, Chen HY, Zou QX, Wang T, Cheng YM, Wang HF,

- Wang F, Jin ZL, Chen Y, Weng SQ, Zeng XH. A novel copy number variation in CATSPER2 causes idiopathic male infertility with normal semen parameters. *Human Reproduct*. 2019 Mar 1;34(3):414-23.
61. Singh AP, Rajender S. CatSper channel, sperm function and male fertility. *Reproduct Biomed Online*. 2015 Jan 1;30(1):28-38.
  62. Francavilla F, Battista N, Barbonetti A, Vassallo MR, Rapino C, Antonangelo C, Pasquariello N, Catanzaro G, Barboni B, Maccarrone M. Characterization of the endocannabinoid system in human spermatozoa and involvement of transient receptor potential vanilloid 1 receptor in their fertilizing ability. *Endocrinology*. 2009 Oct 1;150(10):4692-700.
  63. Cooray A, Kim JH, Chae MR, Lee S, Lee KP. Perspectives on potential fatty acid modulations of motility associated human sperm ion channels. *Int J Mol Sci*. 2022 Mar 28;23(7):3718.
  64. Sosa CM, Zanetti MN, Pocognoni CA, Mayorga LS. Acrosomal swelling is triggered by cAMP downstream of the opening of store-operated calcium channels during acrosomal exocytosis in human sperm. *Biol Reproduct*. 2016 Mar 1;94(3):57-1.
  65. Orta G, Ferreira G, José O, Treviño CL, Beltrán C, Darszon A. Human spermatozoa possess a calcium-dependent chloride channel that may participate in the acrosomal reaction. *J Physiol*. 2012 Jun 1;590(11):2659-75.
  66. Brown SG, Publicover SJ, Barratt CL, Martins da Silva SJ. Human sperm ion channel (dys) function: implications for fertilization. *Human Reproduct Update*. 2019 Nov 5;25(6):758-76.
  67. Calamera J, Buffone M, Ollero M, Alvarez J, Doncel GF. Superoxide dismutase content and fatty acid composition in subsets of human spermatozoa from normozoospermic, asthenozoospermic, and polyzoospermic semen samples. *Mol Reproduct Dev: Incorporat Gamete Res*. 2003 Dec;66(4):422-30.
  68. Williams KM, Ford WC. Effects of Ca-ATPase inhibitors on the intracellular calcium activity and motility of human spermatozoa. *Int J Androlog*. 2003 Dec;26(6):366-75.
  69. Schuh K, Cartwright EJ, Jankevics E, Bundschu K, Liebermann J, Williams JC, Armesilla AL, Emerson M, Oceandy D, Knobloch KP, Neyses L. Plasma membrane Ca<sup>2+</sup> ATPase 4 is required for sperm motility and male fertility. *J Biol Chem*. 2004 Jul 2;279(27):28220-6.
  70. Du Plessis SS, McAllister DA, Luu A, Savia J, Agarwal A, Lempiao F. Effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> exposure on human sperm motility parameters, reactive oxygen species levels and nitric oxide levels. *Andrologia*. 2010 Jun;42(3):206-10.
  71. Andrews RE, Galileo DS, Martin-DeLeon PA. Plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPase 4: interaction with constitutive nitric oxide synthases in human sperm and prostasomes which carry Ca<sup>2+</sup>/CaM-dependent serine kinase. *MHR: Basic Sci Reproduct Med*. 2015 Nov 1;21(11):832-43.
  72. Olli KE, Li K, Galileo DS, Martin-DeLeon PA. Plasma membrane calcium ATPase 4 (PMCA4) co-ordinates calcium and nitric oxide signaling in regulating murine sperm functional activity. *J Cell Physiol*. 2018 Jan;233(1):11-22.
  73. Lawson C, Dorval V, Goupil S, Leclerc P. Identification and localisation of SERCA 2 isoforms in mammalian sperm. *Mol Human Reproduct*. 2007 May 1;13(5):307-16.
  74. Krasznai Z, Krasznai ZT, Morisawa M, Bazsáné ZK, Hernádi Z, Fazekas Z, Trón L, Goda K, Márián T. Role of the Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> exchanger in calcium homeostasis and human sperm motility regulation. *Cell Motil Cytoskelet*. 2006 Feb;63(2):66-76.
  75. Dode L, Andersen JP, Raeymaekers L, Missiaen L, Vilsen B, Wuytack F. Functional comparison between secretory pathway Ca<sup>2+</sup>/Mn<sup>2+</sup>-ATPase (SPCA) 1 and sarcoplasmic reticulum Ca<sup>2+</sup>-ATPase (SERCA) 1 isoforms by steady-state and transient kinetic analyses. *J Biol Chem*. 2005 Nov 25;280(47):39124-34.
  76. Correia J, Michelangeli F, Publicover S. Regulation and roles of Ca<sup>2+</sup> stores in human sperm. *Reproduction*. 2015 Aug 1;150(2):R65-76.
  77. Harper C, Wootton L, Michelangeli F, Lefièvre L, Barratt C, Publicover S. Secretory pathway Ca<sup>2+</sup>-ATPase (SPCA1) Ca<sup>2+</sup> pumps, not SERCAs, regulate complex [Ca<sup>2+</sup>] i signals in human spermatozoa. *J Cell Sci*. 2005 Apr 15;118(8):1673-85.
  78. Singh AP, Rajender S. CatSper channel, sperm function and male fertility. *Reproduct Biomed Online*. 2015 Jan 1;30(1):28-38.
  79. Ribeiro JC, Alves MG, Yeste M, Cho YS, Calamita G, Oliveira PF. Aquaporins and (in) fertility: More than just water transport. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Mol Basis Dis*. 2021 Mar 1;1867(3):166039.
  80. Carrageta DF, Bernardino RL, Soveral G, Calamita G, Alves MG, Oliveira PF. Aquaporins and male (in) fertility: Expression and role throughout the male reproductive tract. *Arch Biochem Biophys*. 2020 Jan 15;679:108222.

*Матеріал надійшов  
до редакції 15.07.2024*