

Oxidative Stress in Spermatozoa during Boar Semen Storage

Seunghyung Lee*

College of Animal Life Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Korea

Received May 31, 2023 / Revised July 5, 2023 / Accepted July 6, 2023

Oxidative stress is a critical factor affecting the quality and viability of sperm during boar semen storage. Oxidative stress is also a significant concern during the process of freezing semen. The process of semen storage involves exposing the sperm to various stressors, including temperature changes, cryoprotectants, and extended periods of incubation. In addition, oxidative stress can lead to the production of reactive oxygen species (ROS) within the sperm, resulting in oxidative damage to cellular components, such as lipids, proteins, and DNA. Striking a balance between ROS production and the antioxidant defense system is crucial for maintaining sperm viability and functionality during semen storage. Moreover, the prolonged storage of boar semen leads to an increase in ROS levels, which can impair sperm motility, membrane integrity, and DNA integrity. ROS-induced lipid peroxidation affects the fluidity and stability of sperm membranes, leading to decreased sperm motility. Moreover, oxidative damage to the DNA can result in DNA fragmentation, compromising the genetic integrity of the sperm. In conclusion, oxidative stress is a significant challenge in maintaining sperm quality during boar semen storage. Understanding the mechanisms underlying oxidative stress and their impacts on sperm function is crucial for developing effective strategies to minimize oxidative damage and improve sperm storage outcomes.

Key words : Boar, oxidative stress, semen storage, sperm damage, spermatozoa

서 론

포유류의 정자는 수정을 위한 생명체의 근원의 하나이며, 웅성의 생식 기관인 정소에서 발생되어 자성의 난소에서 성숙된 난자와 수정이라는 과정을 가지게 된다[15]. 정자의 생리와 기능을 밝혀내기 위한 연구는 지속적으로 진행되고 있으며, 현대사회에서 대두되고 있는 난임의 원인에 하나로 고령화와 산업화에 따른 웅성 생식기관의 정자의 형성과 기능의 저하로 인한 이유로 보고 있다[2]. 더욱이 기후의 변화와 산업의 환경이 급격하게 변화함으로써 인하여 동물뿐만 아니라 인간의 영역에서도 번식과 임신에 악영향을 미치고 있는 상태이다[35, 37]. 이러한 문제를 해결하기 위하여 정자를 보존하기 위한 방안과 정자의 생리적 현상에 영향을 미치고 있는 물질로부터 보호하기 위한 다양한 연구가 진행되고 있다.

정액의 동결은 정자의 기능을 유지시켜 수정의 능력을 보호하기 위한 목적과 동물의 개체를 유지하기 위한 목적

으로 영구적으로 사용하기 위하여 실시한다[8]. 정액을 동결하는 과정과 정액을 보관하는 과정에서 활성산소와 산화질소가 발생하여 산화스트레스를 유발하게 된다[40]. 이러한 원인으로 인하여 정액의 기능뿐만 아니라 정액의 운동성과 생존율이 낮아지게 된다. 일반적으로 동결된 정액의 생존율은 일반정액보다도 현저하게 떨어지는데, 이는 동결과정에서 발생하는 다양한 원인이 존재하기도 하지만, 활성산소와 산화질소의 발생이 정자에 영향을 미치고 있다는 많은 연구들이 보고되고 있다[23, 47]. 이러한, 활성산소와 산화질소가 정자에 미치는 영향을 알아보고 산화스트레스를 연구하는 것은 정자의 생존율과 기능의 손실을 방지하기 위해서 중요하다.

정액을 저장하는 동안 발생하는 활성산소종을 제거하기 위하여 다양한 항산화물질이 사용되고 있다[4, 32, 45]. 최근, 우리는 돼지의 정액과 동결정액에서 발생하는 산화물질로부터 정자의 성질을 유지하고 정자의 손실을 방지하기 위한 실험을 진행하였다[27, 28]. 또한, 항산화물질을 정액에 처리하여 정자의 생존율, 운동성, 막 지질 과산화, DNA 온전성 등의 연구를 실시하였다[25, 26]. 그 결과 항산화물질은 처리 농도와 시간에 따라 유의적으로 차이가 나타났다. 이는 적절한 항산화물질의 처리는 정자의 생존율을 유지하고 정자의 기능을 저해하는 요소를 제거하는데 도움이 되는 것으로 판단되었다. 그럼에도 불구하고, 정액의 동결과 융해 시 발생하는 산화스트레스로부터 정

*Corresponding author

Tel : +82-33-250-8637, Fax : +82-33-259-5572

E-mail : s.lee@kangwon.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

자를 보호하기 위한 최적의 방안은 미흡한 실정이다.

본 총설에서는 돼지의 정액을 저장하는 동안 정자의 특성에 영향을 미치는 산화스트레스 및 그 기전을 알아보고자 한다. 이는 또한, 동물의 개체 유지를 위한 번식의 연구와 인간의 난임 치료를 위한 연구의 자료로 활용될 것이다.

본 론

정액 저장에 의한 정자의 특성

돼지 정액은 ml 당 30억~40억 개의 정자를 가지고 있는 것이 특징이다. 이 정자 세포는 작고 둥근 머리와 긴 꼬리를 가지고 있기 때문에 난자와 수정하기가 용이하다 [24]. 그러나, 돼지의 정자는 생식기관 외부에서는 그 수명이 짧고, 생존시간 동안도 몇 시간에 불과하다. 이러한, 정자세포의 특성을 유지하고 장기간 보존하기 위하여 다양한 저장 방법에 관한 연구가 진행되고 있다[42]. 일반적으로 정액을 보존하기 위해서는 정자의 특성을 유지하기 위하여 보존용 희석액을 사용하고, 장기간 정액을 저장하기 위하여 동결보호제가 첨가된 동결액을 사용한다[19, 43]. 정액을 저장하는 순간부터 정자 세포는 생리적으로나 형태학적으로 변화가 발생하게 된다. 이러한, 보관 과정에는 적절한 온도, pH, 산소의 노출과 같은 요소에 의해 정자 세포가 손상하게 된다[10, 42]. 정자의 특성으로는 운동성, 생존율, 형태학적 변형, DNA 온전성 등등이 있다.

정자의 운동성은 정자를 보관하는 기간이 길수록 저하하게 된다. 이는 정자 세포의 에너지 비축량이 점차적으로 분해되고, 대사작용에 의한 이물질이 축적되기 때문이다[34]. 정자의 생존율도 정자를 보관하는 동안 점차적으로 감소하게 된다. 정자생존율은 활성산소의 증가와 세포사멸에 따른 원인이기 때문이다[42]. 정자의 형태학적 변화는 일반적인 기형이 발생하기도 하지만, 정액을 보관하는 중에도 형태적으로 변형될 수 있다[16]. 정자세포의 구부러진 꼬리, 부은 머리, 기형 등은 수정능 획득에 영향을 미칠 수 있다[41]. 정자의 DNA 온전성은 DNA의 손상에

의해 생식력이 감소되고 배아가 손실될 수 있는 위험성이 증가된다[12]. 이러한, 정액을 보관하는 동안 정자 세포의 손상을 최소화하기 위하여 적합한 희석제를 사용하거나, 정액의 동결시 발생할 수 있는 손실을 방지하기 위하여 동결보호제와 같은 배지를 처리한다.

정자의 생존율은 성공적인 동물과 인간의 번식을 위해서 필수적인 요소이다. 정자의 생존율은 원형질막, 침체 반응, 정자의 DNA 온전성에 의해 결정이 된다[12, 41]. 정액을 저장하는 동안 정자는 다양한 대사작용과 변화의 과정을 경험하게 되면서 정자의 생존력에 영향을 미치게 된다(Table 1). 정자의 생존율에 영향을 미치는 요소는 다양하게 존재하나, 그 중 대표적으로 정자의 운동성, 원형질막 온전성, 침체 온전성, DNA 온전성, 미토콘드리아 기능, 막지질 과산화, 수정능 획득, 항산화 능력, 활성산소의 적정수준, 세포사멸 등이 정자의 생존율과 연관이 있다. 정자의 운동성은 성공적인 수정을 위한 필수 요소이며, 정액의 보관 온도와 시간에 영향을 받는다[21]. 또한, 정자의 운동성은 산화스트레스와 대사작용의 변화로 인하여 정액을 보관하는 동안에 감소할 수 있다[38]. 정자의 원형질막은 정자 세포의 온전성을 유지하는데 중요한 역할을 한다. 이 또한 정액을 저장하는 동안 산화스트레스로 인해 정자의 원형질막이 손상되고 이로 인하여 정자의 생존율에 영향을 미치게 된다. 침체는 수정에 필요한 효소를 포함하는 정자의 특화된 소기관이다[41]. 침체의 온전성은 정액을 저장하는 중에 영향을 받으며, 이로 인한 정자의 수정 능력이 감소할 수 있다. DNA 온전성은 성공적인 수정 및 배아 발달에 필수적인 요소이다. 정액을 저장하는 동안 산화스트레스 및 대사작용의 변화로 인하여 DNA의 손상이 발생하게 된다[5, 9]. 미토콘드리아는 정자의 에너지를 생산하는데 중요한 역할을 하고 있다. 미토콘드리아의 기능 장애는 정자의 생존율 감소시키는 원인이기도 하다[22]. 막지질 과산화는 산화스트레스로 인해 발생하는 과정으로 정자의 원형질막의 온전성에 영향을 준다 [22]. 침체반응은 정자가 난자를 수정하는 능력을 얻기 위해 거치는 과정으로 정액을 저장하는 동안에 영향을 받을

Table 1. Characteristics of sperm viability in the storage of boar semen

| Characteristics | Functions |
|--------------------------------|--|
| Sperm motility | An essential factor for successful fertilization |
| Plasma membrane integrity | Maintaining the integrity of the sperm cell |
| Acrosome integrity | A specialized organelle in sperm |
| DNA integrity | Essential for successful fertilization and embryo development |
| Mitochondrial function | Play in energy production in sperm |
| Membrane lipid peroxidation | Affect the integrity of the sperm plasma membrane |
| Capacitation | Affect the fertilizing ability of sperm |
| Antioxidant capacity | Scavenge reactive oxygen species and protect sperm from oxidative stress |
| Reactive oxygen species levels | Oxidative stress and damage to sperm |
| Apoptosis | Decrease sperm viability and fertilizing ability |

수 있다[41]. 이는 정자의 수정능력을 감소시키는 원인이 된다. 항산화제는 활성산소를 제거하여 산화스트레스로부터 정자를 보호하는 중요한 역할을 수행한다[2]. 정자의 항산화 능력은 정액을 저장하는 동안 감소하며, 이로 인하여 활성산소의 수치는 증가하게 되고, 결국에는 정자가 손상을 입게 된다. 이와 같은 활성산소의 수준은 정자와 백혈구에 의해 생성되어 정액을 저장하는 동안 증가하게 된다. 활성산소의 증가는 산화스트레스를 유발하고 정자의 손상을 가져오게 된다[5]. 정자세포의 기능 손상과 항산화 능력의 저하, 과도한 활성산소의 증가는 세포사멸의 과정을 초래한다. 세포사멸은 정액을 저장하는 과정에 발생하는 산화스트레스와 대사작용의 변화로 인하여 정자에 발생할 수 있는 프로그램화된 세포사이다[11]. 이는 정자의 생존율을 감소시킬 뿐만 아니라, 정자의 수정능력까지 감소시키기 때문에 동물의 번식에 영향을 미치는 주요한 원인 중에 하나이다. 이러한 돼지 정액을 저장하는 동안 정자의 생존 능력은 다양한 복합적인 요인에 의해 영향을 받게 된다. 정액을 보관하고 저장하는 동안 정자의 생존율을 유지하기 위해서는 산화스트레스를 최소화하고 적절하고 적절한 방법으로 보관하고 취급하는 것이 중요하다.

정액을 동결하기 위해서는 몇 가지 고려해야 할 점이 있다. 첫째, 정액의 동결과 용해 시 발생하는 정자 세포를 보호하는데 사용되는 동결보호제이다[33, 36]. 동결보호제는 정자 세포에 손상을 줄 수 있는 얼음 결정이 정자 세포의 사이에 형성되는 것을 방지하는데 도움을 준다. 둘째, 동결 시 발생하는 얼음 결정의 형성에 영향을 미치는 동결 속도이다[43]. 느린 동결 속도는 더 많은 얼음 결정을 형성하여 정자 세포를 손상시킬 수 있는 반면, 빠른 동결 속도는 얼음 결정이 형성되는데 시간을 최소화하여 정자의 손상을 조금이나마 방지할 수 있다. 또한, 정액의 동결과 용해 과정에서 발생하는 삼투 스트레스, 산화 스트레스, 기계적 스트레스에 의해 정자 세포는 손상될 수 있다[18, 43]. 따라서, 동결과 용해의 과정은 정자에 미치는 영향이 크기 때문에 정자의 손상과 손실을 최소화하기 위해서 동결보호제의 처리와 처리과정에 관한 연구가 지속적으로 진행되고 있다. 이는 동물뿐만 아니라 인간의 정자를 동결하여 개체를 보호하고 특성을 유지하기 위한 기술은 인공수정 및 기타 생식 기술의 성공률을 높이는데 기여할 것이다.

정자에 영향을 미치는 산화스트레스

산화스트레스는 활성산소종의 생산과 항산화제의 중화작용이 세포 내에서 불균형을 초래하여 발생하는 현상을 의미한다[5]. 이러한 상태는 단백질, 지질 및 DNA와 같은 세포 구조의 손상으로 이어지며, 이는 정자 세포의 기능 및 생존 능력을 저해시키는 주 요인으로 작용하게 된다. 정자에서 산화스트레스는 동물의 번식 장애와 난임의 원인이 된다[29]. 활성산소종은 세포대사의 과정에서 발생하는 부산물로 자연적으로 생성되고, 정자의 수정능력 및 침체반응 등의 생리적 기능과 과정에서 중요한 역할을 한다[41]. 그러나, 과도하게 발생된 과잉 활성산소종의 생성과 불충분한 항산화의 기능은 산화스트레스로 이어지게 된다. 특히, 정자는 고도의 불포화 지방산 함량이 높고, 항산화 물질의 수준이 낮기 때문에 산화스트레스에 취약하다. 그 원인을 살펴보면 다양한 요소에 의해서 산화스트레스의 발생 빈도가 증가하게 된다(Table 2). 인간의 경우 산화스트레스는 난임의 흔한 원인이며 연령, 생활습관, 감염 및 염증, 정맥류, 동결보존 등 다양한 요인으로 인해 발생하게 된다[2]. 이는 건강한 체력관리 시스템과 유해물질이나 독소로부터의 노출을 피하고 기저질환을 치료하게 되면 산화스트레스를 줄이고 정자의 질과 수정능력을 향상시키는데 도움이 될 수 있다. 돼지의 경우, 독소에 많이 노출된 환경, 감염원, 열 스트레스, 동결보존 등 다양한 요인으로 인하여 산화스트레스가 발생하게 된다. 특히, 동결보존 시 동결 및 용해 과정에서 발생하는 활성산소종으로 인해 산화스트레스가 발생된다[17]. 이는 동결보호제, 저온 충격 및 동결 시 발생하는 얼음 결정의 형성에 대한 노출은 활성산소종의 생성과 정자의 손상으로 이어지게 된다. 정자의 산화스트레스를 최소화하기 위한 방법으로 유해 환경, 독소 및 감염 인자로부터 노출을 감소하고, 사양관리 및 영양을 개선하며 동결 보존을 위한 최적화된 시스템과 매뉴얼을 사용해야 한다. 이러한 산화스트레스의 발생을 방지하기 위하여 항산화제를 사용하는데, 대표적으로 비타민 C, 비타민 E, 셀레늄과 같은 항산화 보충제를 사용하여 활성산소종을 제거한다[1, 17]. 이는 활성산소로 인한 정자의 산화적 손상을 예방하는데 도움이 된다. 또한, 초산화물 불균등화 효소(SOD, superoxide dismutase) 및 카탈라아제와 같은 항산화 효소의 사용도 산화스트레스로부터 정자를 보호하고 수정능력을 높이는데 기여한다[1, 13].

Table. 2. Factors of oxidative stress in normal and cryopreservation

| Normal | Cryopreservation |
|--------------------------------|--|
| Age and lifestyle factors | ROS production during freezing and thawing |
| Environmental factors | Cryoprotectant toxicity |
| Infections and inflammation | Ice crystal formation |
| Varicocele and genetic factors | Ischemia-reperfusion injury |

정자의 동결 보존은 인공수정 및 생리작용의 연구를 목적으로 정자를 장기간 보관하는데 사용된다. 그러나, 동결과 용해과정에서 발생하는 산화스트레스는 정자의 기능 손상과 세포의 구조를 변화시켜 생식력을 감소시키는 주요한 원인이다[14, 17, 43]. 정자를 동결하는 동안 발생하는 산화스트레스에 관하여 살펴보면, 첫째, 동결보호제이다. 동결보호제는 정자 세포를 보호하는 데 사용되는 화학물질로 일부의 동결보호제는 독성을 가지며, 정자에서 활성산소종의 생성 및 산화스트레스를 증가시킨다. 둘째, 얼음 결정의 형성이다. 정자를 동결하는 동안 정자 세포 내에는 얼음 결정이 형성되는데, 이는 세포의 구조에 물리적으로 손상을 일으키게 되고 산화스트레스를 증가시키게 된다. 셋째, 허혈-재관류의 손상이다. 정자 세포를 용해하고 재가열하게 되면 산소가 부족한 조직으로 혈류가 회복되면서 발생하는 허혈-재관류 손상이다. 이 또한, 활성산소종의 발생을 유발하여 산화스트레스를 증가시키는 원인이다. 따라서, 정자가 동결되는 동안 산화스트레스를 줄이기 위해서 활성산소종을 중화하는 데 도움이 되는 항산화제를 동결보존액에 첨가한다. 또한, 적절한 동결보호제와 동결 프로토콜의 사용은 동결과정에서 정자 세포에 미치는 손상을 최소화하여 산화스트레스를 줄이고 정자의 질을 유지하는 데 도움이 될 수 있다.

산화스트레스의 기전

정자의 동결과 용해 과정에서 발생하는 효소의 활성화와 세포막의 파괴로 인하여 정자의 활성산소가 증가된다. 이는 지질과산화물을 일으켜 정자의 세포막을 손상시키고 정자의 운동성과 생존율을 감소하게 한다. 세포막에서 과불포화지방산의 과산화를 유도하는 연쇄반응을 발생시켜 지질 이중 층을 손상시키게 되어 막의 유동성, 투과성 및 이온 수송의 변화로 이어지게 되기 때문이다[3, 39]. 또한, 활성산소종은 정자 세포의 DNA를 직접적으로 공격하여 산화적 DNA 손상 및 DNA 온전성에 영향을 미친다[29]. 이는 DNA의 단일 가닥 또는 이중 가닥의 절단, 염기의 변화 및 교차 연결이 발생하기 때문에 DNA에 영향을 미치게 된다. 그리고, 정자세포의 미토콘드리아를 손상시

켜 ATP의 생산에 영향을 미치고 미토콘드리아 막의 잠재적 능력을 변경시켜 정자의 운동성에 손상을 유발하게 된다. 마지막으로 단백질의 산화이다. 활성산소종은 단백질의 아미노산 잔기를 변형시켜 단백질의 기능과 구조를 변화시킨다. 이로 인한 효소의 활동이 감소되고, 단백질의 변성 및 응집이 발생되어 정자의 기능장애로 이어지게 된다.

정자에서의 산화스트레스는 정액의 동결과 용해과정에서 발생하는 활성 산소 종 및 온도 변화와 삼투 스트레스와 같은 요인에 의해 발생된다. 이 산화스트레스는 정자 세포의 다양한 신호 경로에 의해 유발되어 유전자 발현 및 세포의 성장과정에 변화를 일으킬 수 있다(Table 3). 정자세포에서 산화스트레스에 의해 활성화되는 주요 신호전달경로 중 하나는 Nuclear factor-kappa B (NF-kB) 경로이다[1, 3]. NF-kB는 염증, 세포사멸 및 세포생존에 관여하는 유전자의 발현을 조절하는 전사인자이다. 이는 산화스트레스에 반응하여 NF-kB가 활성화되고, 핵으로 이동하여 특정 DNA 서열에 결합하여 표적 유전자의 전사를 조절한다.

그 외에도 정자 세포의 산화스트레스에 의해 활성화되는 신호경로로는 Mitogen-activated protein kinase (MAPK) 경로와 Phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K)/Akt 경로가 있다[20, 30]. 이러한 경로는 세포증식, 세포생존 및 세포사멸과 같은 신호 경로 과정을 조절하는데 관여한다(Fig. 1). MAPK의 경로의 경우, c-Jun N-terminal Kinase (JNK)와 p38 MAPK 경로는 정자가 동결되는 동안 활성화되어 세포사멸을 유도하여 정자의 질을 손상시킨다. Protein kinase B (Akt) 경로는 정자의 산화스트레스 동안 Akt 경로의 활성화는 세포생존을 촉진하고 세포사멸을 방지한다[31]. Caspase 경로는 세포사멸에 관여하는 핵심적인 경로이다 [7]. 이 caspase의 활성화는 정자의 산화스트레스에 대한 반응으로 프로그램화된 세포사멸로 이어진다. 그리고 Heat shock protein (HSP)는 단백질 폴딩, 분해 및 세포의 스트레스 반응 조절에 관여하는 단백질 계열로 정자가 동결되는 동안 산화스트레스는 HSP 경로를 활성화하여 HSP 발현을 증가시키고 정자의 생존율을 향상시킨다[44].

Table 3. Oxidative stress-regulated signaling pathways

| Signaling pathways | Functions |
|--|---|
| Nuclear factor-kappa B (NF-kB) | A pro-inflammatory pathway and cell survival |
| Mitogen-activated protein kinase (MAPK) | Sperm motility and viability, cell growth, survival |
| Phosphatidylinositol-3 kinase (PI3K)/Akt | Protect sperm, cellular survival, and growth |
| c-Jun N-terminal Kinase (JNK) | Induce apoptosis and impair sperm quality |
| p38 MAPK | Sperm motility and viability during freezing |
| Protein kinase B (Akt) | Promote cell survival and protect against apoptosis |
| Caspase | Programmed cell death in oxidative stress |
| Heat shock protein (HSP) | Protect cells from stress-induced damage |
| Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) | A protective pathway regulates antioxidant genes |

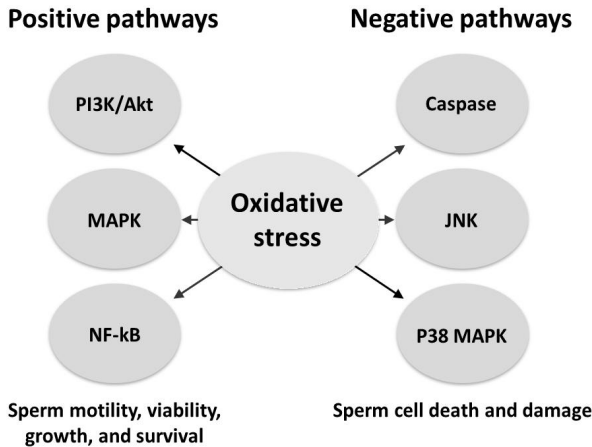


Fig. 1. Positive and negative pathways in oxidative stress. Sperm motility, viability, growth, and survival regulate PI3K/AKT, MAPK, and NF-kB signaling pathways. Caspase, JNK, and P38 MAPK signaling pathways are activated in sperm cell death and damage.

마지막으로, 항산화작용에 작용하는 기전으로는 Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) 경로가 있다[46]. 이 경로는 산화스트레스의 반응에 관여하는 유전자의 발현을 조절하는 중요한 항산화 방어 기전이다. 정자가 동결되는 동안 산화스트레스는 Nrf2 경로를 활성화하여 항산화 유전자의 발현을 증가시키고 정자의 생존율을 증가시킨다. 또한, 정자세포에서 산화스트레스에 의해 조절되는 특정 유전자와 단백질이 슈퍼옥사이드 디스뮤타아제, 글루타티온 퍼옥시다제, 카탈라아제와 같은 항산화 효소의 발현을 유도하기도 한다. 따라서, 이러한 산화스트레스와 관련된 신호 경로와 이들이 조절하는 유전자 및 단백질을 이해하게 되면 산화스트레스에 미치는 영향을 완화하고 동결 보존된 정자의 수정능력을 향상시키기 위한 연구를 수행하는데 도움이 될 것이다.

결론

본 총설에서는 정액을 저장하는 동안 정자의 생존율과 운동성을 유지하고 증가시키기 위한 지속적인 연구가 필요할 것으로 판단된다. 비록 정자의 특성을 유지하기 위하여 정액의 동결과 저장이라는 과정에서 발생하는 산화물질에 의한 산화스트레스는 완전하게 회복될 수는 없지만, 적절한 항산화물질의 사용과 관련된 신호 경로의 연구는 정자의 기능을 유지하며 정자의 생존율을 높이기 위한 최적의 수단이라 볼 수 있다. 따라서, 앞으로 더욱 더 많은 관련된 연구가 진행되어 정자의 기능을 보호하고 정자의 생존율을 증가시킴으로써 동물의 번식 장애를 해결하고 인간의 난임과 같은 질환을 치료하기 위한 자료로 널리 활용될 것으로 판단된다.

감사의 글

이 논문은 2022년도 강원대학교 대학회계의 지원을 받아 수행한 연구임.

The Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no conflicts of interest with the contents of this article.

References

1. Agarwal, A., Mulgund, A., Alshahrani, S., Mourad, A., Abuzenadah, A. M., Sharma, R. and Sabanegh, E. 2014. Reactive oxygen species and sperm DNA damage in infertile men presenting with low-level leukocytospermia. *Reprod. Biol. Endocrinol.* **12**, 126.
2. Agarwal, A., Mulgund, A., Hamada, A. and Chyatte, M. R. 2015. A unique view on male infertility around the globe. *Reprod. Biol. Endocrinol.* **13**, 37.
3. Agarwal, A., Virk, G., Ong, C. and du Plessis, S. S. 2014. Effect of oxidative stress on male reproduction. *World J. Mens Health* **32**, 1-17.
4. Agarwal, A., Saleh, R. A. and Bedaiwy, M. A. 2003. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil. Steril.* **79**, 829-843.
5. Aitken, R. J. and Krausz, C. 2001. Oxidative stress, DNA damage and the Y chromosome. *Reproduction* **122**, 497-506.
6. Aitken, R. J., Gibb, Z., Baker, M. A. and Drevet, J. R. 2012. The importance of oxidative stress in determining the functionality of mammalian spermatozoa: a two-edged sword. *Antioxid. Redox Signal.* **16**, 1111-1134.
7. Aitken, R. J. and Roman, S. D. 2008. Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Oxid. Med. Cell Longev.* **1**, 15-24.
8. Darr, C. R., Moraes, L. E., Strobele, C. K., Siqueira, A. P., Deschamps, J. C. and Martins, C. F. 2014. The effects of different cryopreservation protocols on post-thaw parameters and in vitro fertilization using bovine semen. *Andrologia* **46**, 983-987.
9. De Lamirande, E. and Gagnon, C. 1995. Impact of reactive oxygen species on spermatozoa: a balancing act between beneficial and detrimental effects. *Hum. Reprod.* **10**, 15-21.
10. Didion, B. A., Johnson, L. A., Johnson, D. L., Lucas, J. J. and Sybesma, W. 1991. Effect of diluent composition, extender osmolality, and semen storage time on boar sperm cryosurvival. *J. Anim. Sci.* **69**, 574-579.
11. Esteves, S. C. and Agarwal, A. 2017. Impact of oxidative stress on male fertility. *Andrologia* **49**, e12664.
12. Evenson, D. P. and Wixon, R. 2008. Data analysis of two in vivo fertility studies using sperm chromatin structure assay-derived DNA fragmentation index vs. pregnancy

- outcome. *Fertil. Steril.* **90**, 1229-1231.
13. Fraser, L. and Strzezek, J. 2010. The impact of oxidative stress on the freeze ability of boar semen. *Anim. Reprod. Sci.* **98**, 145-156.
 14. Fraser, L. and Strzezek, J. 2010. The impact of oxidative stress on the quality of rabbit semen supplemented with different antioxidants. *Reprod. Biol.* **10**, 227-244.
 15. Gadella, B. M. 2008. Sperm membrane physiology and relevance for fertilization. *Anim. Reprod. Sci.* **107**, 229-236.
 16. Guthrie, H. D., Welch, G. R., Long, J. A., Garrett, W. M. and Aponte, P. M. 1994. Morphological changes in bovine spermatozoa following extended culture *in vitro*. *J. Androl.* **15**, 550-559.
 17. Guthrie, H. D. and Welch, G. R. 2012. Effects of reactive oxygen species on sperm function. *Theriogenology* **78**, 1700-1708.
 18. Holt, W. V. and Lloyd, R. E. 2010. Sperm storage in the female reproductive tract in pigs. *Reprod. Domest. Anim.* **45**, 50-57.
 19. Holt, W. V., van Look, K. J. W., Bagunanska, J., Dostalova, Z., Nascimento, A. and Sansegundo, M. 2005. Cryopreservation of domestic animal sperm cells. *Vet. Med.-Czech* **50**, 343-357.
 20. Iuchi, Y., Okada, F., Tsunoda, S., Kibe, N., Shirasawa, N. and Ikawa, M. 2017. Peroxiredoxin 4 knockout results in elevated spermatogenic cell death via oxidative stress. *Biochem. J.* **474**, 4027-4041.
 21. Johnson, L. A. 1997. Fertility of boar semen stored at 5C. *J. Anim. Sci.* **44**, 860-865.
 22. Koppers, A. J., de Iuliis, G. N., Finnie, J. M., McLaughlin, E. A. and Aitken, R. J. 2008. Significance of mitochondrial reactive oxygen species in the generation of oxidative stress in spermatozoa. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **93**, 3199-3207.
 23. Kumar, A., Singh, A., Kaur, G., Jalali, S. and Thakur, N. 2015. Role of oxidative stress in male reproductive dysfunctions with reference to male infertility. *Reprod. Biol. Endocrinol.* **13**, 121.
 24. Knox, R. V. 2016. Artificial insemination in pigs today. *Theriogenology* **85**, 83-93.
 25. Lee, A., Lee, S. H., Lee, S. and Yang, B. K. 2018. Effect of tunicamycin on sperm viability, mitochondrial activity and motility in boar semen. *Ann. Anim. Resour. Sci.* **29**, 11-17.
 26. Lee, A., Lee, S. H., Lee, S. and Yang, B. K. 2019. Characteristics of phthalate esters-exposed boar sperm during boar semen storage. *J. Life Sci.* **29**, 395-401.
 27. Lee, S., Lee, Y. S., Lee, S. H., Yang, B. K. and Park, C. K. 2016. Effect of methyl-beta-cyclodextrin on the viability and acrosome damage of sex-sorted sperm in frozen-thawed bovine semen. *J. Biol. Res.* **23**, 5.
 28. Lee, Y. S., Lee, S., Lee, S. H., Yang, B. K. and Park, C. K. 2015. Effect of cholesterol-loaded-cyclodextrin on sperm viability and acrosome reaction in boar semen cryopreservation. *Anim. Reprod. Sci.* **159**, 124-130.
 29. Lewis, S. E. and Aitken, R. J. 2005. DNA damage to spermatozoa has impacts on fertilization and pregnancy. *Cell Tissue Res.* **322**, 33-41.
 30. Li, D. J., Huang, F., Ni, M., Fu, H., Zhang, L. L., Shen, F. M. and Li, L. 2017. Inhibition of p38 MAPK-mediated Bcl-2 and Bcl-xL phosphorylation contributes to Snail-dependent apoptosis in gastric cancer cells. *Mol. Med. Rep.* **16**, 8355-8362.
 31. Manning, B. D. and Toker, A. 2017. AKT/PKB signaling: navigating the network. *Cell* **169**, 381-405.
 32. Martins, V. E. D., Pinto, S. C. C., Chaves, R. M., Barros Filho, A. K. D., Laskoski, L. M. and Souza, F. A. 2020. Antioxidant effect on viability of boar semen cooled to 15C. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* **72**, 145-152.
 33. Mazur, P. 1970. Cryobiology: the freezing of biological systems. *Science* **168**, 939-949.
 34. Mortimer, S. T. 1997. A critical review of the physiological importance and analysis of sperm movement in mammals. *Hum. Repro. Update* **3**, 403-439.
 35. Patankar, S. S. and Dobrinski, I. 2018. The impact of environmental toxins on male reproductive health. *Curr. Opin. Toxicol.* **7**, 22-27.
 36. Purdy, P. H. 2006. A review on goat sperm cryopreservation. *Small Ruminant Res.* **63**, 215-225.
 37. Rahman, M. S., Kwon, W. S. and Pang, M. G. 2018. Climate change: a potential threat to male fertility. *Repro. Sci.* **25**, 1137-1138.
 38. Rath, D. and Johnson, L. A. 2008. Sperm motility in fresh and stored boar semen. *Anim. Reprod. Sci.* **107**, 249-257.
 39. Saleh, R. A., Agarwal, A., Sharma, R. K., Said, T. M., Sikka, S. C. and Thomas, A. J. 2003. Evaluation of nuclear DNA damage in spermatozoa from infertile men with varicocele. *Fertil. Steril.* **80**, 1431-1436.
 40. Szkutnik, K. and Szwaczkowski, T. 2016. Impact of cryopreservation on post-thaw sperm DNA integrity in bulls with different fertility indexes. *Reprod. Biol.* **16**, 225-230.
 41. Visconti, P. E., Krapf, D., de la Vega-Beltran, J. L., Acevedo, J. J. and Darszon, A. 2011. Ion channels, phosphorylation and mammalian sperm capacitation. *Asian J. Androl.* **13**, 395-405.
 42. Vyt, P., Maes, D., de Kruijff, A. and Van Soom, A. 2004. Effect of long-term storage of boar semen on its *in vitro* capacitation ability and penetration rate into oocytes. *Theriogenology* **62**, 155-167.
 43. Watson, P. F. 2000. The causes of reduced fertility with cryopreserved semen. *Anim. Reprod. Sci.* **60-61**, 481-492.
 44. Xu, W., Zhang, H., Li, H., Lv, Y., Yu, L. and Fan, X. 2017. Heat shock protein 70 inhibits reactive oxygen species-induced apoptosis of spermatogenic cells via the mitochondria-dependent pathway in mice. *J. Cell. Physiol.* **232**, 1553-1564.
 45. Zasiadczyk, L., Piasecka, M. and Fraser, L. 2014. The effects of supplementation of the extender with antioxidants on selected oxidative stress parameters in boar semen. *Reprod. Domest. Anim.* **49**, 62-68.
 46. Zhang, X., Yang, S., Wang, L., Zhang, X. and Bai, X. 2019.

Nrf2: A promising target for regulating the reactive oxygen species in cardiovascular diseases. *Oxidative Med. Cell. Longev.* **2019**, 1-20.

47. Zribi, N., Feki Chakroun, N., El Euch, H., Gargouri, J.,

Bahloul, A. and Ammar Keskes, L. 2010. Effects of cryopreservation on human sperm deoxyribonucleic acid integrity. *Fertil. Steril.* **93**, 159-166.

초록 : 돼지 정액을 저장하는 동안 정자에 미치는 산화스트레스

이승형*

(강원대학교 동물생명과학대학)

돼지 정액을 저장하는 동안 산화스트레스의 발생은 정자의 질과 생존에 영향을 미치는 중요한 인자이다. 정액의 저장은 온도 변화, 동결보호제 등의 다양한 스트레스 인자에 노출되어 있다. 이러한 정자 내에서의 산화스트레스는 활성산소종의 생성에 의해 발생되며, 이는 지질, 단백질, DNA와 같은 세포를 구성하는 물질에 산화적으로 손상을 일으킨다. 활성산소종과 항산화물질의 균형있는 체계는 정자의 생존과 그 기능을 유지하는 데 중요한 역할을 한다. 정액을 장기간 보존하게 되면 활성산소종의 수준이 증가하여 정자의 운동성, 막 온전성, DNA 온전성에 영향을 미치게 된다. 또한, 활성산소종에 의해 유도된 지질과산화 반응은 정자막의 유동성과 안정성에 영향을 미쳐 정자의 운동성을 감소시킨다. 그리고, DNA의 산화적 손상은 DNA 단편화를 일으켜 정자의 DNA 온전성을 손상시킬 수 있다. 결론적으로, 정액을 보관하는 동안 발생하는 산화스트레스는 정자의 질과 기능을 유지하는 데 중요하다. 따라서, 산화스트레스의 기본적인 메커니즘과 정자의 기능에 미치는 영향을 이해하는 것은 산화스트레스로부터의 손상을 최소화하고, 효율적이고 기능적인 정자의 저장 방법을 개선하기 위한 효과적인 전략과 연구 개발을 위해 중요할 것으로 판단된다.