

STZ-당뇨쥐에서 운동부하가 골격근 및 간의 항산화효소 활성도에 미치는 영향

영남대학교 의과대학 생리학교실
석광호 · 이석강

Effect of Exercise on Antioxidant Enzyme Activities of Skeletal Muscle and Liver in STZ-diabetic Rats

Kwang Ho Seok, Suck Kang Lee

*Department of Physiology
College of Medicine, Yeungnam University, Taegu, Korea*

- Abstract -

Background: The purpose of the present study was to investigate the effect of exercise on the activities of antioxidant enzymes, superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase (GPX) and catalase(CAT) of skeletal muscle(gastrocnemius) and liver in streptozotocin(STZ) induced diabetic rats.

The malondialdehyde(MDA) concentration was also measured as an index of lipid peroxidation of the tissues by exercise-induced oxidative stresses in diabetic rats.

Material and Methods: Male Sprague-Dawley rats were randomly divided into control and STZ-induced diabetic rats. The STZ in citrate buffer solution was injected twice at 5 days intervals intraperitoneally(50, 70 mg/kg respectively). On the 28th day after the first STZ injection, the diabetic animals were randomly divided into pre- and post-exercise groups. The exercise was introduced to the rats of post-exercise group by treadmill running until exhaustion with moderate intensity (V_{O2max} : 50-70%) of exercise. The duration of average running time was 2 hours and 19 minutes.

Results: The blood glucose concentration was increased($p<0.001$) and plasma insulin concentration was decreased($p<0.001$) in the diabetic rats. The glycogen concentration in the muscle and liver was decreased by exhaustive exercise in the diabetic rats($p<0.001$).

In the skeletal muscle, the activities of GPX was increased($p<0.05$) and the activities of SOD and CAT were not changed in the diabetic rats compare to those of the control rats. The activities of GPX was not changed by exercise but the activities of SOD($p<0.01$) and CAT ($p<0.01$) were decreased by exercise in the diabetic rats. The concentration of MDA

was not changed by exercise in diabetic rats, and the values of pre-exercise and post-exercise diabetic rats were not different from the value those of control rats.

In the liver, the activities of SOD was decreased($p<0.01$), and the activities of GPX and CAT were not changed in diabetic rats compared to the values of control rats. The activities of SOD, GPX and CAT were not changed by exercise in diabetic rats but the activity of SOD seemed to decrease slightly. The MDA concentration was increased in the diabetic rats compared to the values of control rats($p<0.001$), but there was no change of MDA concentration by exercise in diabetic rats.

Conclusions: In summary, exhaustive physical exercise did not seem to impose oxidative stress on the skeletal muscle because of due to oxygen free radicals, regardless of the decrease in SOD and CAT in the diabetic rats. In liver tissue, the tissue damage by oxidative stress was observed in diabetic rats but the additional tissue damage by exhaustive physical exercise was not observed.

Key Words: Exercise, Antioxidant enzymes, Diabetic rats

서 론

운동이 생리적으로나 정신적으로 모든 사람들에게 유익하다는 것은 잘 알려진 사실이며 특히 제1형 및 제2형 당뇨병 환자의 치료에는 빼놓을 수 없는 중요한 치료 방법이기도 하다. 운동은 팔과 다리 등에 분포하고 있는 골격근의 수축에 의해서 이루어지며 우리 몸에 분포하고 있는 골격근은 체중의 약 40%나 되는 거대 장기이다.

골격근과 간은 체내 당대사의 중심적인 장기로 인정되고 있으며 특히 골격근은 운동중 산소소비량이 가장 많아서 이때 산화과정의 부산물로 생성되는 산소유리기(oxygen free radicals)에 의한 구조적인 혹은 기능적인 손상이 예측된다. 지속적인 운동이나 강한 운동시에는 근 수축에 의한 골격근의 기계적인 손상을 초래할 수 있으며, sarcoplasmic reticulum (Davis와 Goldberg, 1987; Byrd와 Korge, 1992)이나 미토콘드리아(Gollnick 등, 1990)의 기능적인 이상, 세포막지질(Alcossio 등, 1988), 핵산(Alcossio와 Culter, 1990) 및 각종 당대사에 관여하는 효소 등의 생화학적인 손상(Dohm 등, 1973; Bostrom 등, 1974; Ji 등, 1988)이 유발되는데 이와 같은 골격근의 기능적 손상의 한 원인으로 산소유리기의 역할이 중요하다는 많은 연구발표들이 있다(Jackson 등, 1985; Davis, 1988; Gohil 등,

1988; Pacifici와 Davis, 1990). 한편 조직에서 발생한 산소유리기는 지방, 단백질과 DNA 등에 작용하여 lipid peroxidation, protein oxidation과 oxidative DNA 손상 등을 유발한다고 한다. 특히 산소유리기는 세포막의 다불포화지방산과 반응하여 lipid peroxidation을 유발하며 결과적으로 세포막의 유동성이 감소되며 투과성이 증가된다고 한다. 이와 같은 세포손상은 산소유리기가 발생된 부위뿐만 아니라 다른 부위에서도 발견되는데 이것은 유리산소가 혈행을 따라서 이동하기 때문이다. 산소유리기에 의한 세포손상의 정도는 malondialdehyde(MDA)를 측정하므로써 평가할 수 있어서 많은 생체실험에서 lipid peroxidation의 척도로서 MDA의 측정법이 광범위하게 이용되고 있다(Haramaki와 Packer, 1994).

제1형 및 제2형 당뇨병의 치료를 위하여 약물요법이나 식이요법과 더불어 운동요법이 시행되고 있다. 운동부하의 정도는 개개인의 신체조건이나 일상 생활의 습관에 따라 달리 해야하지만 일반적으로 운동의 강도는 최대산소소비량의 50-70% 수준의 유산소운동이 적합하며 운동 지속시간은 하루에 최소한 20-40분간, 1주일에 3일 이상 부하 하는 것이 적당하다(이석강, 1997)고 한다.

산화과정에 발생하는 산소유리기로는 superoxide anion (O_2^-), hydrogen peroxide (H_2O_2), hydroxyl

radical (OH·) 등이 있으며 체내에 존재하는 항산화제로는 비타민 C 및 E, betacarotene, glutathione 등 화학물질과 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GPX), catalase(CAT) 등의 항산화효소가 있으며 그 외 항산화효소를 보조하는 glutathione reductase(GR), glucose-6-phosphate dehydrogenase(G-6-PDH), glutathione S-transferase(GST) 등이 있다. 최근에는 이미 알려진 항산화물질외에도 식물조직에 광범위하게 분포하고있는 항산화물질인 flavonoids나 근육의 구성 성분인 anserine이나 carnosine 등의 관상동맥질환, 암 또는 당뇨병환자에 대한 치료효과와 투여방법 등에 관한 연구도 진행되고 있다(Candlish와 Das, 1996).

Ji(1993)는 비교적 낮은 강도로 완전피로에 이르는 운동을 부하하였을 때 골격근의 항산화효소 즉 SOD, GPX, CAT의 활성도가 증가하였고, 간에서는 SOD의 활성도만 증가하고 그 외 항산화효소에는 별 영향을 미치지 못한다고 하였다. Lawler 등(1993)도 유사한 결과를 발표한 바 있다. 또한 몇몇 연구자들(Alesio와 Goldfarb, 1988; Ji 등, 1988; Ji와 Fu, 1992)은 운동부하후 간 조직에서도 골격근에서와 같이 MDA가 증가한다고 하여 운동부하시 간이 산소유리기에 의한 조직손상의 하나의 표적장기가 될 수 있다고 하였으며 또한 간은 인체 내에서 항산화효소의 활성도가 가장 강한 장기(Ji, 1993)라고 하였다. 그러나 Calderera 등(1973)이 심근, 간 및 골격근의 CAT 활성도가 운동부하에 의해서 증가한다는 이 방면의 초기 연구결과 발표에도 불구하고 아직도 어떤 항산화 효소가 어떤 조직이나 환경에서 활성도가 변화하는지에 대한 견해가 학자들간에 일치되고 있지 않은 실정이다(Ji, 1993).

한편 당뇨병 자체에 의한 간 조직의 항산화효소 활성도에 관한 보고들이 많은데 SOD의 활성도가 감소하며 GPX와 CAT의 활성도는 증가한다고 한다. 또한 간 조직의 glutathione 농도도 감소한다고 한다. Loven 등(1986)은 streptozotocin(STZ)으로 유도한 당뇨 쥐에서 인슐린과 glutathione의 투여로 SOD의 활성도가 정상화된다고 하여 glutathione과 SOD의 활성도간의 상관관계를 강력히 암시하고 있다. 이러한 견지에서 운동과 당뇨병에 의한 간 조직

의 항산화효소 활성도 변화는 흥미로운 과제라 생각된다.

당뇨병의 주요 당대사 장애 장기는 골격근이며 또한 당뇨병 치료의 중요 원칙 중의 하나는 운동인 것을 감안할 때 산소유리기에 의한 운동근(working muscle)의 손상여부는 흥미로운 과제라 생각되나 이에 관한 연구는 비교적 드문 편이다. 또한 당뇨환자에서는 항산화제인 glutathione (Reed, 1990)과 항산화효소인 SOD의 활성도(Loven 등, 1986; Low와 Nickander, 1991)가 감소하여 이로 인해서 당뇨병의 혈관 및 신경합병증이 발생한다고 하지만 항산화제가 당뇨성 합병증의 치료에 효과적이나 하는데 대해서는 아직도 논란의 여지가 많다.

본 연구에서는 STZ 투여로 유도한 당뇨 쥐를 대상으로 중등도 강도의 운동을 부하하여 완전피로(exhaustion)에 이르게 한 후 골격근과 간의 항산화효소 활성도의 변화를 관찰하여 당뇨병 환자에서 운동에 의한 골격근과 간의 항산화효소 반응을 구명하고자 하였으며 또한 골격근 및 간의 MDA의 농도 변화를 측정하여 운동부하로 발생한 유리산소기에 의한 골격근과 간의 손상 여부를 판단하고자 하였다.

재료 및 방법

실험동물은 체중 150g 내외의 Sprague Dawley 수컷 쥐를 사용하였으며 대조군(n=7)과 당뇨군(n=14)으로 구분하였다. 당뇨군은 운동부하전군(n=7)과 운동부하후군(n=7)으로 세분하여 당뇨병 환자에서 운동으로 인한 산소유리기에 대한 반응을 평가하고자 하였다. 운동부하는 쥐용 트레이드밀에서 달리기운동을 하게 하였으며 완전피로에 이를 때까지 시행하였다. 이때 실험 쥐가 완전피로에 이르는 시간은 평균 2시간 19분이었다.

당뇨병의 발생과 운동부하: 당뇨병의 발생은 절식 쥐에 체중 kg당 50mg의 streptozotocin (STZ in citrate buffer, pH 4.5, Sigma, USA)을 복강 내로 주사하고 5일 후 다시 체중 kg당 70mg의 STZ를 추가로 주사하여 유도하였다. 당뇨 발생의 여부는 두 번째 STZ 주사 3일 후에 당뇨검사용 종이 strip(Uropaper, Eiken Chem. Co., Japan)으

로 확인하였으며 매주 1회씩 당뇨를 추가로 확인하였다. 실험은 첫 STZ 주사 4주 후에 실시하였다. 실험동물은 실험 당일 오전 9시부터 절식시킨 후 오후 1시에 실험을 시작하였으며 운동부하는 쥐용 트레드밀(EXER-4, Columbus Instrument, USA)을 이용하여 속도 25~28m/min, 경사 6도에서 시행하였다.

시료의 채취 및 분석: 실험동물은 pentothal sodium (40 mg/kg)을 복강 내로 주사하여 마취한 후 개복 하여 복대동맥으로부터 혈액을 채취하여 혈당을 분석하였으며 나머지 혈액은 원심 분리하여 혈장을 얻어 deep freezer (-70℃)에 보관한 후 혈장 인슐린 농도를 측정하였다. 골격근(비복근)과 간 조직을 채취하여 당원 농도, 항산화효소의 활성도와 MDA 농도를 측정하였다.

적절한 조직은 절편으로 만들고 그 중 일정량을 측정량 후 4배량의 0.25 M sucrose 용액을 가하여 빙냉하에서 glass teflon homogenizer (Virtis, USA)로 마쇄균질액(20% W/V)을 만들어 MDA 함량 측정용 시료로 하였다. 이 균질액을 600×g에서 10분간 원심분리(Beckman, USA)하여 핵 및 미마쇄부분을 제거한 후 상층액을 10,000×g에서 20분간 원심 분리하여 여기서 얻은 상층액을 SOD와 GPX 활성도 측정 시료로 하였고 pellet은 0.25 M sucrose 용액에 현탁시켜 freezing & thawing 한 다음 CAT 활성도 측정용 시료로 하였다.

항산화효소 활성도와 MDA 측정: SOD의 활성도 측정은 hematoxylin 자동산화의 억제 정도를 관찰하는 Martin 등(1987)의 방법에 따라 0.1mM EDTA가 함유된 50mM 인산 완충액(pH 7.5)에 10μM hematoxylin 및 효소액을 첨가하여 25℃에서 반응시켜 생성된 hematcin을 560nm에서 흡광도를 측정하여 효소의 활성을 산정하였다. 활성도 단위는 효소액을 넣지 않고 반응시킨 액 중의 hematoxylin의 자동산화를 50% 억제하는 정도를 1unit로 나타내었다. GPX의 활성도 측정은 Paglia와 Valentine (1967)의 방법에 준하였으며 glutathione 기질과 조효소인 NADPH를 시료와 함께 25℃에서 5분 동안 반응시켜 340nm에서 흡광도의 변동을 측정하였으며, 활성도 단위는 시료 중에 함유된 단백질 1mg에서 1분 동안에 산화된 NADPH량을 nmole로 표시

하였다. CAT 활성도 측정은 H₂O₂를 기질로 하여 환원되는 정도를 240 nm에서 흡광도를 읽고 분자흡광계수(0.041mM⁻¹·cm⁻¹)를 이용하여 활성을 산출하는 Aebi(1974)의 방법에 준하였다. 활성도 단위는 단백질 1mg이 1분 동안에 반응하여 감소시킨 H₂O₂량을 μmole로 표시하였다. MDA의 측정은 Ohkawa 등(1979)의 방법에 따랐다. 즉 시료 속의 과산화지질을 산성 조건 하에서 thiobarbituric acid와 가열 반응시켜 생긴 물질을 532nm에서 흡광도를 측정하였으며 함량은 조직 g당 nmole로 표시하였다.

단백질 정량은 Lowry 등(1951)의 방법에 따라 bovine serum albumin(Sigma, USA)을 표준품으로 하여 측정하였다. 당원농도는 Lo 등(1970)의 방법으로, 혈당은 미국 YSI제품 1500 Sidekick 혈당분석기로 측정하였다. 혈장 인슐린은 방사면역법(Coat-A Count, USA)으로 측정하였다.

실험성적은 평균과 표준오차로 나타냈으며 통계 처리는 SPSS/PC+를 이용한 t-test를 실시하여 95%의 유의수준으로 평가하였다.

성 적

당뇨쥐에서 운동부하가 골격근 및 간 조직의 항산화효소 활성도와 MDA의 농도 변화에 미치는 영향을 관찰하였으며 또한 각 실험군에서 혈당, 인슐린 및 당원농도를 측정하였다.

Table 1. Comparisons of blood glucose and plasma insulin concentration in control and diabetic pre-and post-exercise groups in rats

	Blood glucose mg/dL	Plasmainsulin μU/mL
Control	117.0 ± 2.7	20.6 ± 1.4
Diabetes		
Pre-Ex	343.9 ± 14.8***	8.5 ± 0.5***
Post-Ex	255.0 ± 8.9***,##	9.6 ± 0.9***

Values are mean ± SE of 7 cases of each group. Ex means exercise in table 1-4. ***p<0.001 vs Control, ##p<0.01 vs Pre-Ex.

당뇨군에서의 운동부하전 혈당은 343.9 ± 14.8 mg/dL(이하 동일단위)로서 대조군의 117.0 ± 2.7 보다 약 3배 높았다($p < 0.001$). 이때 인슐린 농도는 당뇨군에서 8.5 ± 0.5 μ U/mL(이하 동일단위)로서 대조군의 20.6 ± 1.4 보다 유의하게 낮았다($p < 0.001$). 당뇨군에서 운동부하후 혈당은 운동부하전의 약 74%로 감소하였다($p < 0.01$). 당뇨군에서 인슐린농도는 운동부하에 의해서 변화를 보이지 않았다(표 1).

운동의 정도를 정량적으로 평가하기 위해서 골격근과 간에서 측정된 당원농도는 다음과 같다. 당뇨군에서 운동부하전 골격근의 당원농도는 4.4 ± 0.3 mg/100g wet wt. (이하 동일단위)로서 대조군의 3.3 ± 0.2 보다 높았으며($p < 0.05$) 운동부하후에는 1.0 ± 0.1 로 감소($p < 0.001$)하였다. 간의 당원농도는 운동부하전 당뇨군에서는 16.4 ± 1.8 로서 대조군의 27.2 ± 2.7 보다 유의하게 낮았으며($p < 0.05$) 당뇨군에서 운동부하후 당원농도는 운동부하전과 비교하여 약 47%로 유의하게 감소하였다 ($p < 0.01$, 표 2).

Table 2. Effect of exercise on glycogen concentration of muscle and liver in diabetic rats

	Glycogen concentration, mg/100g wet wt.	
	Muscle	Liver
Control	3.3 ± 0.2	27.2 ± 2.7
Diabetes		
Pre-Ex	$4.4 \pm 0.3^*$	$16.4 \pm 1.8^*$
Post Ex	$1.0 \pm 0.1^{*** \#\#}$	$7.7 \pm 0.8^{*** \#\#}$

Values are mean \pm SE of 7 cases of each group.
 $*$ $p < 0.05$, $***$ $p < 0.001$ vs Control, $\#\#$ $p < 0.01$,
 $\#\#\#$ $p < 0.001$ vs Pre-Ex.

당뇨군에서 항산화효소 즉 SOD, GPX, CAT의 활성도를 측정된 결과는 다음과 같다.

SOD 활성도(unit/mg protein)는 골격근에서 대조군은 6.3 ± 0.2 였으며 당뇨군의 운동전에는 대조군과 차이가 없었으나 운동부하후에는 대조군과 운동부하전 당뇨군보다 유의하게 감소하였다($p < 0.001$, $p < 0.01$). 간의 SOD 활성도는 대조군이 11.3 ± 0.2 였으며 운동부하전 당뇨군에서는 9.6 ± 0.3 로서 대조군보다 유의하게 감소($p < 0.01$)하였으며 운동부하후에는 대조군보다 유의하게 감소($p < 0.001$)하

였으나 운동부하전과 비교하였을 때는 유의한 차이가 없었다.

GPX 활성도(nmol/min/mg protein)는 골격근에서 당뇨군의 운동부하전에는 2.3 ± 0.2 , 운동부하후에는 1.8 ± 0.1 로서 대조군의 1.6 ± 0.0 보다 유의하게 높았다($p < 0.05$, $p < 0.05$). 간에서는 대조군에서 6.7 ± 0.2 였으며 당뇨군의 운동전후의 활성도는 양군에서 차이가 없었다.

CAT의 활성도(μ mol/min/mg protein)는 골격근에서 대조군은 6.3 ± 0.7 이였으며 당뇨군의 운동부하전과 차이가 없었으나 운동부하후에는 대조군과 당뇨군의 운동전보다 유의하게 감소하였다($p < 0.05$, $p < 0.01$). 간에서는 대조군이 40.6 ± 2.9 였으며 당뇨군의 운동전후에는 대조군과의 사이에 차이가 없었다(그림 1).

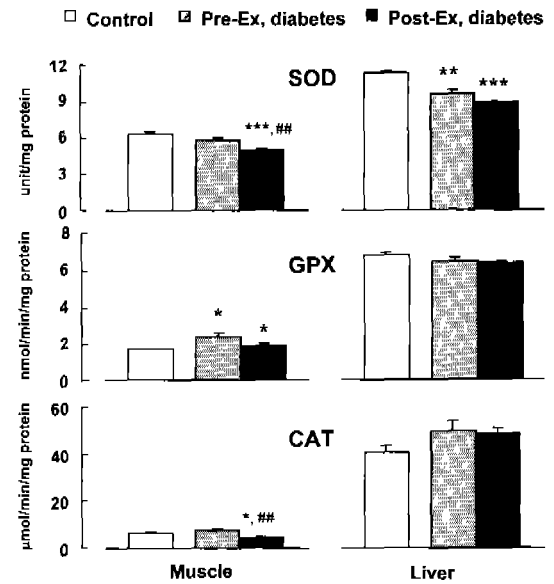


Fig. 1. Effect of exercise on the activities of antioxidant enzymes of muscle and liver in diabetic rats. SOD, GPX, and CAT mean superoxide dismutase, glutathione peroxidase and catalase, respectively. Ex means exercise. Values are mean \pm SE of 7 cases of each group. $*$ $p < 0.05$, $**$ $p < 0.01$ and $***$ $p < 0.001$ vs Control, $\#\#$ $p < 0.01$ vs Pre-Ex.

유리산소기에 의한 각 조직의 손상정도를 평가하기 위해서 측정된 MDA의 농도(nmol/g)는 골격근

에서 대조군과 당뇨병군의 운동전후 사이에 유의한 차이를 보이지 않았다. 간에서는 대조군이 24.8 ± 0.9 이었으며 당뇨병군의 운동전에는 38.5 ± 1.3 , 운동후에는 38.3 ± 0.9 로서 대조군에 비해 다같이 유의하게 높았다($p < 0.001$, $p < 0.001$, 그림 2).

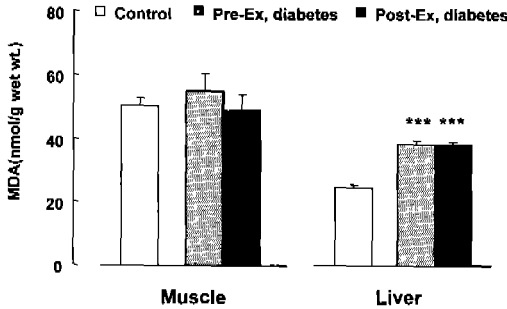


Fig. 2. Effect of exercise on the concentration of malondialdehyde (MDA) of muscle and liver in diabetic rats. Ex means exercise. Values are mean \pm SE of 7 cases of each group. *** $P < 0.001$ vs Control.

고 찰

생체 내에서 ATP 합성과정 즉 조직 호흡시 산소의 공급은 필수적이며 이때 극소량의 반응성이 강한 산소유리기가 발생한다. 산소유리기는 생체 내에서 세포손상은 물론 세포를 사멸시키기까지 할 수 있는 강한 독성을 가지지만 정상적인 생체내 환경에서는 이와 같은 독성에 대한 방어기전이 잘 발달되어 있는데 특히 항산화효소의 역할이 크다. 최근 당뇨병과 산소유리기의 관계에 대한 관심이 많은 학자들에 의해서 제기되고 있으며 특히 항산화제가 당뇨합병증을 억제 내지 방지할 수 있는지에 대한 찬반 양론이 엇갈리고 있는 실정이다.

이 연구에서는 쥐를 대상으로 하여 STZ로 당뇨를 유발시킨 후 당뇨병 자체가 골격근과 간의 항산화효소 활성도와 산소유리기에 의한 조직손상에 미치는 영향을 관찰하고, 또 완전 피로에까지 이르는 운동을 시킨 후 운동에 의한 골격근과 간의 항산화효소 반응과 산소유리기에 의한 조직손상 여부를 관찰하였다. 이 연구에서 STZ에 의한 당뇨발생의 정도는 혈당의 증가와 혈장 인슐린 농도의 감소로

평가하였으며 운동부하의 정도는 골격근과 간의 당원농도 감소로 확인하였다.

당뇨군에서 골격근의 항산화효소 중 GPX의 활성도는 대조군보다 증가하였으나 SOD 및 CAT의 활성도는 차이가 없었다. 또한 MDA 농도도 대조군과 비교하여 차이가 없었다. 이 결과를 분석하면 SOD나 CAT의 활성도가 대조군과 비교하여 차이가 없는 것은 당뇨병에서 산소유리기의 발생이 이상적으로 증가하지 않는다는 간접적인 증거라 할 수 있으나, GPX의 활성도가 대조군과 비교하여 유의하게 증가한 것은 반대로 골격근에서 과도하게 발생한 산소유리기에 대한 적응과정의 결과라 할 수 있을 것이다. 이 실험에서 산소유리기에 의한 조직손상의 정도를 평가하기 위해서 측정된 MDA 농도는 대조군과 비교할 때 유의한 차이를 보이지 않았으며 이것은 GPX의 활성도가 증가된 결과 유리산소기 특히 peroxide에 대한 체내 방어기전이 항진된 것이 하나의 원인으로 작용된 것이 아닌가 생각된다. 당뇨병환자나 당뇨실험동물의 간, 신장, 적혈구, 단핵구 등 다양한 조직에서 측정된 항산화효소 (Saleh와 David, 1987; 유병전 등, 1993; 고재준 등, 1994; 조희충 등, 1994)는 대부분 감소되거나 변화가 없다고 하였으나 이 연구 결과에서는 SOD와 CAT의 활성도는 대조군과 차이가 없었으나 GPX는 오히려 활성도가 증가하여 다른 양상을 보이고 있다. 이는 타 연구자들은 골격근에서는 측정하지 않았으며 골격근이 산화스트레스에 대한 항산화효소계의 적응능력이 다른 장기에 비해서 강하다는 Ji(1993)의 보고를 감안한다면 설명이 가능할 것으로 생각된다. 또한 당뇨병군에서 운동부하전에 비해서 운동부하후 SOD와 CAT의 활성도는 감소하였으며 GPX의 활성도는 운동부하전에 비해서 통계적으로는 유의한 차이가 없었으나 감소하는 경향을 보였다. 이때 MDA 농도는 대조군과 비교하여 차이가 없었다. 정상 골격근은 운동부하에 의해서 항산화효소의 활성도가 증가한다(Calderera 등, 1973; Alessio 등, 1988; Ji, 1993)고 하였으나 당뇨쥐를 대상으로 완전 피로에 이르는 운동을 부하한 본 연구결과는 항산화효소의 활성도가 감소하거나 변화가 없었다. 당뇨쥐에서도 운동부하시 산소유리기의 발생이 증가할 것으로 가정한다면 당뇨에 의한 SOD

와 CAT의 활성도 감소는 골격근의 손상으로 이어질 가능성을 추정할 수 있으나 이 연구에서 측정된 MDA 농도는 변화가 없었다.

결과적으로 골격근에서 MDA 농도가 당뇨군과 당뇨운동부하군에서 다같이 증가하지 않은 것은 항산화효소의 방어기전이 강화된 결과이거나 산소유리기의 발생이 증가하지 않았을 것으로 추정된다. 그러나 당뇨군에서 GPX 활성도는 증가하였으나 SOD와 CAT의 활성도는 변화가 없었으며 운동부하에 의해서는 SOD와 CAT 활성도가 당뇨군에 비해서 감소하는 것으로 보아서 산소유리기의 과도한 발생이 있었을 것으로 생각되어 근육에는 유리산소에 대한 GPX의 활성도 강화와 그 외 다른 항산화효소계의 방어기전이 동시에 작동한 것이 아닌가 생각된다. 그러나 최대운동부하 후 2-6일에 비로소 골격근의 손상 근거로 측정된 betagluconidase가 증가하고 이때 lipid peroxidation의 속도가 증가한다는 Salminen과 Vihko(1983)의 보고를 감안한다면 운동부하후 MDA의 측정 시기도 고려되어야 할 것으로 생각된다.

당뇨쥐의 간에서 측정된 항산화효소 중 SOD의 활성도는 감소하였으나 GPX와 CAT의 활성도는 다같이 대조군과 비교하여 통계적으로 유의한 차이가 없었다. Saleh와 David(1987)는 STZ투여 당뇨쥐에서 간의 SOD와 CAT의 활성도가 감소한다고 하였으나 Kakkar 등(1995)은 SOD와 CAT 활성도는 증가한 반면 GPX의 활성도는 변화가 없었다고 하였다. 또한 조희충 등(1994)은 당뇨환자에서 적혈구의 항산화효소 활성도를 측정된 결과 SOD는 감소하였으나 CAT는 변화가 없었다고 하였으며 이 결과는 Bruno 등(1983)의 연구결과와 일치한다고 하였다. 위의 연구결과들과 이 연구결과를 비교하여 볼 때 당뇨상태에서 각 항산화효소의 반응이 연구자간에 약간의 차이가 있는 것을 발견할 수 있었으나 당뇨쥐에서 SOD의 활성도가 억제되는 경향이 높은 것으로 생각된다. 이 연구에서 동시에 측정된 MDA 농도는 대조군과의 비교시 유의한 증가를 보여 Kakkar 등(1995)의 연구결과와 일치함으로써 당뇨쥐에서 산소유리기에 의한 간의 손상을 암시하고 있다. 이는 SOD의 활성도 감소에 의한 결과인지 혹은 다른 기전이 관여하고 있는지에 대해서는

본 연구결과만으로 결론적인 언급을 하기에는 어려움이 있다. 다만 간은 인체 내에서 가장 강력한 항산화작용이 있어서 주 해독기관으로 알려져 있는 점을 감안한다면 SOD의 활성도 감소가 간 손상의 원인으로 작용하였을 가능성도 배제할 수 없을 것으로 생각된다. 그러나 이 연구결과는 당뇨병 자체가 산소유리기의 발생에 의한 간 손상을 일으킬 수 있을 것이라는 중대한 추정도 가능한 점을 감안한다면 앞으로 더 많은 연구를 통해서 확인할 필요가 있는 것으로 생각된다. 당뇨흰쥐에서 운동을 부하 하였을 때 SOD의 활성도는 운동부하전과 비교하여 감소하는 경향을 보였으나 GPX와 CAT의 활성도는 차이를 보이지 않았으며 MDA 농도도 운동부하전과 비교하여 차이가 없었다. 이와 같은 결과는 당뇨환자에서는 운동부하에 의해서 간에서 유리산소기의 발생이 특별한 변화를 보이지 않은 것으로 평가할 수 있으나 운동부하에 의해서 산소유리기의 발생이 증가한다는 다른 연구자들의 결과와 비교하여 볼 때 앞으로 더 많은 연구를 통해서 확인할 필요가 있다고 생각된다. 특히 운동부하에 의해서 골격근과 간에서 다같이 MDA의 농도가 증가한다는 Ji와 Fu(1992)의 보고를 참고로 하였을 때 당뇨쥐에서 운동부하후 골격근과 간에서 다같이 MDA의 농도가 증가하지 않는 것은 앞으로 더 구명되어야 할 흥미로운 과제로 생각된다.

이상의 결과를 요약하면 당뇨병 자체에 의해서 골격근은 유리산소기의 발생에 의한 손상은 없었으며, 운동부하에 의해서는 SOD와 CAT의 활성도 감소에도 불구하고 골격근의 손상은 없었다. 또한 간 조직에서는 운동부하전후에 다같이 SOD의 활성도는 감소하고 GPX와 CAT의 활성도는 변화가 없었으며 MDA 농도는 운동부하전후에 다같이 증가하여 당뇨병시 유리산소기의 발생에 의한 간 손상의 가능성을 시사하였지만 운동부하에 의해서는 특별한 반응이 없었다.

요 약

당뇨쥐에서 운동부하가 골격근과 간의 항산화효소 활성도에 미치는 영향과 산소유리기에 의한 조직

손상 여부를 관찰한 연구 결과를 요약하면 다음과 같다.

Streptozotocin으로 유도한 당뇨병의 혈당농도 (mg/dL)는 344 ± 14.8 로서 대조군의 117 ± 2.7 보다 높았으며 ($p < 0.001$) 운동부하에 의해서 유의하게 감소하였다 ($p < 0.01$). 혈장 인슐린 농도 ($\mu\text{U/mL}$)는 당뇨병에서 8.5 ± 0.5 로서 대조군의 20.6 ± 1.4 보다 유의하게 낮았으며 ($p < 0.001$) 운동부하후에는 운동부하전과 비교하여 차이가 없었다. 당뇨병에서 실제 운동부하의 정도를 평가하기 위해서 측정된 운동부하후 골격근과 간의 당원농도 (mg/100 g wet wt.)는 각각 1.0 ± 0.1 과 7.7 ± 0.8 로서 운동부하전과 비교시 모두 유의하게 감소하였다 ($p < 0.001$, $p < 0.01$).

당뇨군의 골격근과 간의 항산화효소 즉 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase (GPX) 및 catalase(CAT)의 활성도는 운동부하에 의해서 각기 다른 반응을 보였다.

골격근의 SOD 활성도 (unit/mg protein)는 대조군에서 6.3 ± 0.2 였으며 당뇨병에서는 5.8 ± 0.2 로서 대조군과의 사이에 유의한 차이를 발견할 수 없었으나 운동부하후에는 5.0 ± 0.1 로서 대조군과 운동부하전 당뇨병보다 유의하게 감소하였다 ($p < 0.001$, $p < 0.01$). GPX 활성도 (nmol/min/mg protein)는 당뇨병에서 운동부하전후에 각각 2.3 ± 0.2 와 1.8 ± 0.1 로서 대조군의 1.6 ± 0.0 보다 다같이 높았으나 ($p < 0.05$, $p < 0.05$) 운동부하에 의해서 영향을 받지 않았다. CAT 활성도 ($\mu\text{mol/min/mg protein}$)는 당뇨병에서 7.6 ± 0.7 로서 대조군의 6.3 ± 0.7 과 비교하여 차이가 없었으나 운동부하후에는 4.6 ± 0.3 으로서 대조군보다 감소하였으며 ($p < 0.05$) 당뇨병의 운동부하전보다도 감소하였다 ($p < 0.01$). 당뇨병의 MDA 농도는 대조군과 비교하여 차이가 없었으며 당뇨병에서 운동부하에 의한 영향도 받지 않았다.

간의 SOD 활성도는 대조군에서 11.3 ± 0.2 였으며 운동부하전 당뇨병에서는 9.6 ± 0.3 으로서 유의하게 감소하였다 ($p < 0.01$). 당뇨병에서 운동부하전 후 측정된 SOD 활성도는 대조군과 비교하여 다같이 감소하였으나 ($p < 0.01$, $p < 0.001$), 운동부하에 의한 영향은 없었다. 당뇨병의 GPX와 CAT의 활성도는 대조군과 비교하여 유의한 차이가 없었으며 당뇨병에서 운동부하에 의한 변화도 없었다. 운동부

하전 당뇨병의 MDA 농도 (nmol/g wet wt.)는 38.5 ± 1.3 로서 대조군의 24.8 ± 0.9 에 비해서 유의하게 증가하였으며 ($p < 0.001$) 운동부하에 의해서는 대조군보다는 높았으나 ($p < 0.001$) 운동부하전과 비교하여서는 차이가 없었다.

이상의 결과를 종합하면 당뇨병에서 골격근은 운동부하로 인한 산화 스트레스에 대한 적응과정을 통해서 손상이 없었으나, 간 조직은 당뇨병 자체로 인한 산소유리기의 발생으로 손상의 위험이 있었으나 운동부하에 의한 더 이상의 손상은 없었다.

참 고 문 헌

- 고재준, 신권수, 오태근, 전재석, 박경수, 김성연, 조보연: 당뇨병환자 단핵구의 Manganese superoxide dismutase(Mn-SOD) 활성도에 관한 연구. 당뇨병 18: 330-336, 1994.
- 유병진, 배학연, 이병래: 당뇨병환자의 적혈구에서 항산화 효소 활성도의 변화. 대한내과학회잡지 44: 766-772, 1993.
- 이석강: 당뇨병의 운동치료법. 영남의대학술지 14: 269-273, 1997.
- 조희충, 김미자, 서정철, 조영호, 안기완, 정정훈, 박찬국: 인슐린 비의존성당뇨병 환자의 적혈구에서 당농도에 따른 항산화효소활성도의 변화. 당뇨병 18: 337-343, 1994.
- Aebi H: Catalase : In Bergmeyer HU: Methods of enzymatic analysis. Academic Press, New York, 1974, Vol 2, pp 673-684.
- Alessio HM, Culter RG: Evidence that DNA damage and repair cycle activity increases following marathon race (Abstract). Med Sci Sports Exerc 22: S126, 1990.
- Alessio HM, Goldfarb AH: Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise: adaptive response to training. J Appl Physiol 64: 1333-1336, 1988.
- Alessio HM, Goldfarb AH, Culter RG: MDA content increases in fast and slow-twitch skeletal muscle with intensity of exercise in a rat. Am J Physiol 255 (Cell Physiol 24): C874-C877, 1988.
- Bostrom S, Fahlen M, Hjalmarson A, Johansson R: Activities of muscle enzymes after acute

- exercise. *Acta Physiol Scand* 90: 544-554, 1974.
- Bruno H, Stefan I.M, Gosta H: Cu, Zn superoxide dismutase, Mn superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in lymphocytes and erythrocytes in insulin dependent diabetic children. *Acta Endocrinol* 102: 235-239, 1983.
- Byrd SK, Korge P: Sulfhydryl oxidation during exercise alters calcium uptake by the sarcoplasmic reticulum (Abstract). *Med Sci Sports Exerc* 24: S41, 1992.
- Calderera CM, Guarnierri C, Lazzari F: Catalase and peroxidase activity in cardiac muscle. *Boll Soc Ital Biol Sper* 49: 72-77, 1973.
- Candlish JK, Das NP: Antioxidants in food and chronic degenerative disease. *Biomed Environ Sci* 9: 117-123, 1996.
- Davis KJA: Proteolytic system as secondary antioxidant defenses. In Chow CK: Cellular Antioxidant defense systems. Boca Raton, FL, CRC, 1988, Vol 2, pp 25-67.
- Davis KJA, Goldberg AL: Proteins damaged by oxygen radicals are rapidly degraded in extracts of red blood ccl. *J Biol Chem* 262: 8227-8234, 1987.
- Dohm IG, Huston RL, Askew FW, Fleshood HL: Effects of exercise, training and diet muscle citric acid cycle enzyme activity. *Can J Biochem* 51: 849-854, 1973.
- Gohil K, Viguie C, Stanley WC, Brooks GA, Packer L: Blood glutathione oxidation during human exercise. *J Appl Physiol* 64: 115-119, 1988.
- Gollnick PD, Berticci LA, Kelso TB, Witt EH, Hodgson DR: The effect of high intensity exercise on the respiratory capacity of skeletal muscle. *Fluegers Arch* 415: 407-413, 1990.
- Haramaki N, Packer L: Oxidative stress indices in exercise. In Sen CK, Packer L, Hanninen O: Exercise and oxygen toxicity. Elsevier, Amsterdam, 1994, pp 77-87.
- Jackson MJ, Edwards RHT, Symons MCR: Electron spin resonance studies of intact mammalian skeletal muscle. *Biochem Biophys Acta* 847: 185-190, 1985.
- Ji LL: Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med Sci Sports Exerc* 25: 225-231, 1993.
- Ji LL, Stratman FW, Lardy HA: Enzymatic downregulation with exercise in rat skeletal muscle. *Arch Biochem Biophys* 263: 137-149, 1988.
- Ji LL, Fu R: Responses of glutathione system and antioxidant enzymes to exhaustive exercise and hydroperoxide. *J Appl Physiol* 72(2): 549-554, 1992.
- Kakkar R, Kalra J, Mantha SV, Prasad K: Lipid peroxidation and activity of antioxidant enzymes in diabetic rats. *Mol Cell Biochem* 151(2): 113-119, 1995.
- Lawler JM, Powers SK, Visser T, Dijk HV, Kordus MJ, Ji LL: Acute exercise and skeletal muscle antioxidant and metabolic enzymes: Effects of fiber type and age. *Am J Physiol* 34: R1344-1350, 1993.
- Lo S, Russel JC, Taylor AW: Determination of glycogen in small tissue sample. *J Appl Physiol* 28(2): 234-236, 1970.
- Loven D, Schedl H, Wilson H, Dabees TT, Stegink LD, Diekus M, Oberly L: Effects of insulin and oral glutathione on glutathione levels and superoxide dismutase activities in organs of rats with streptozotocin induced diabetes. *Diabetes* 35: 503-507, 1986.
- Low PA, Nickander KK: Oxygen free radical effects in sciatic nerve in experimental diabetes. *Diabetes* 40: 873-877, 1991.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193: 265-275, 1951.
- Martin JP, Dailey M, Sugarman E: Negative and positive assay of superoxide dismutase based on hematoxylin autooxidation. *Arch Biochem Biophys* 255: 329-336, 1987.
- Ohkawa H, Ohish N, Yaki K: Assay for lipid peroxide in animal tissue by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 95: 351-355, 1979.
- Pacifici RE, Davis KJA: Protein degradation as an index of oxidative stress. *Methods Enzymol* 186: 485-500, 1990.

- Paglia ED, Valentine WN: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocytes glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 70: 158-169, 1967.
- Reed DJ: Glutathion: toxicological implication. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 30: 603-631, 1990.
- Salch AW, David VG: Alteration in free radical tissue defense mechanism in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Diabetes* 36: 1014-1018, 1987.
- Salminen A, Vihko V: Lipid peroxidation in exercise myopathy. *Exp Mol Pathol* 38(3): 380-388, 1983.