

운동으로 유발된 산화 스트레스와 마늘의 항산화 작용*

윤 군 애[§]

동의대학교 생활과학대학 식품영양학과

Antioxidant Effect of Garlic Supplement against Exercise-Induced Oxidative Stress in Rats*

Yoon, Gun-Ae[§]

Department of Food and Nutrition, Dongeui University, Busan 614-714, Korea

ABSTRACT

This study was to investigate lipid peroxidation, antioxidant enzyme activity and DNA damage after exercise, and the protective effect of garlic against exercise-induced oxidative stress. Male Sprague-Dawley rats (4 weeks old) were randomly divided into three groups of 6 rats each; control group (Con) without garlic and exercise, Ex group with exercise alone, and Ex-G group with 2% garlic and exercise. For 4 weeks, rats were given diets containing 15% corn oil and 1% cholesterol with or without garlic. The swimming was selected as a model for exercise performance. Rats swam for 40 min a day, for 5 days a week. Group Ex and Ex-G showed significant lowering in body weight gain and fat accumulation compared to control. No significant changes were observed in levels of plasma cholesterol and triglyceride among three groups, demonstrating that exercise and garlic had no effects on changes of blood lipid. This finding of blood lipid seems to be due to higher plant sterol content in corn oil. The DNA tail moment of lymphocytes showed greater tendency in Ex and Ex-G than in control, but garlic supplements failed to suppress DNA damages. Compared to control, Ex had higher plasma TBARS which was lowered to the control's level in Ex-G with 2% garlic supplementation ($p < 0.05$). Ex-G led to a higher hepatic superoxide dismutase (SOD) activity than control and Ex ($p < 0.05$). Activity of hepatic catalase was also increased in Ex-G, while in Ex it was significantly low ($p < 0.05$). It seemed that TBARS levels were related to the activities of SOD and catalase, and that garlic contributed to increasing the enzyme activities and led to decrease of TBARS. These results demonstrate that lipid peroxidation and DNA damage occur as a consequences of oxidative stress after exercise, and that antioxidant defense against oxidative stress could be enhanced by garlic supplementation through the induction of antioxidant enzymes. However, further investigations should be done on the garlic effect on DNA damage. (*Korean J Nutr* 2007; 40(8): 701~707)

KEY WORDS : garlic, oxidative stress, DNA damage, TBARS, antioxidant enzyme.

서론

생물체는 일생을 걸쳐 산화스트레스에 노출되고 축적되면서 만성질환의 위험에 이르게 된다. 과일, 야채, 허브, 식물유래 음료의 섭취는 역학적으로 만성질환의 위험 저하와 상관성이 있는 것으로 밝혀지고 있는데, 이들이 포함하는 피토케미칼이 항산화작용을 비롯하여 다양한 생화학적 특성을 갖기 때문이다.¹⁾ 특히, 약용으로 오랜 역사를 갖는 마늘의 효

능에 대해 광범위하게 연구가 이루어지고 있으며, 가장 유효한 예방차원 식품의 하나로서 건강상의 이점이 확인되고 있다.²⁾ 마늘은 암예방, 항혈전효과, 혈중 지질저하작용, 심장보호효과를 갖는 것으로 보고되고 있는데, 마늘이 강력한 항산화작용, 면역반응 증강, 프로스타노이드 합성의 조절능력 등을 보이기 때문이다.^{3,4)} 따라서 마늘 또는 마늘보충제는 여러 문화권에서 다양한 형태로 이용되고 있다. 마늘의 생리적 특성은 마늘에 포함된 독특한 유기황화합물에 의해 부여되고, 이 황화합물은 또한 냄새의 주성분이기도 하다.²⁾

ROS (reactive oxygen species)는 DNA, 단백질, 지질을 산화변형시켜 노화 및 심혈관질환, 퇴행성신경질환, 염증성질환, 암과 같은 질환에 관여한다.^{5,6)} ROS는 free radicals (superoxide radical, nitric oxide radical, hydroxyl radical) 과 nonradicals (hydrogen peroxide, singlet oxygen,

접수일 : 2007년 10월 11일

채택일 : 2007년 11월 14일

*This work was supported by grant from Dongeui University, 2006.

[§]To whom correspondence should be addressed.

E-mail : gayoon@dongeui.ac.kr

ozone)으로 구분된다.⁷⁾ ROS는 출처에 따라 흡연, 자외선, 오존, 공해, 약물, 탄음식에서 유래되는 외인성 산소활성종이 있을 뿐 아니라 세포에서 생성되는 내인성 산소활성종이 있다. 내인성 ROS는 정상적인 호흡과정에서도 형성되고, 만성 감염이나 염증, 스트레스로 대사가 항진된 상태에서 증가한다.⁸⁾ 강한 운동 동안에도 내인성 ROS가 증가되며 운동은 산화스트레스 유발을 기대할 수 있는 대표적인 모델이다.

일반적으로 식품 속의 항산화제는 사용하기에 적절한 물질로서, 비타민 C, E, 플라보노이드, 카로티노이드는 가장 효과적인 자연 항산화제이며, 녹차나 마늘의 성분도 그 중요성이 인정되고 있다.⁹⁾ 마늘은 항산화 피토케미칼을 포함하고 있어 산화로부터의 손상을 막는다. AGE (aged garlic extract)는 ROS의 제거효과를 보이고, SOD, catalase, GSH-px의 활성을 높이고, 세포의 glutathione을 증가시켜 항산화작용을 나타낸다.¹⁰⁾ 지질, 특히 LDL의 산화는 심혈관과 뇌혈관 질환의 발병에 주요인자로 관여한다. 마늘성분은 지질산화를 억제하고, 산화 LDL이 순환되는 양을 낮춤으로써 콜레스테롤의 축적과 혈관에서 지방선조 (fatty streak)가 성장하는 것을 막으며, 산화물에 의해 혈관내피세포가 약화되지 않도록 보호한다.¹¹⁾ 지질의 산화산물인 peroxides와 aldehydes는 단백질과 핵산에 손상을 일으켜 발암작용을 나타낸다.

생물의 항산화방어기전은 항산화효소와 free radical scavenger의 통합으로 이루어진다. 세포는 ROS에 대해 생체분자를 보호하기 위해 항산화효소와 글루타치온과 같은 분자들을 포함하는 항산화방어기작을 발달시켰고, 항산화기능을 갖는 식이성 영양소를 취해 사용한다.⁸⁾ 최근 식물 유래 피토케미칼은 부가적으로 산화적 손상에 대해 중요한 방어효과를 갖는 것으로 연구되고 있다.

앞서 언급했듯이 인체는 오랜 기간 동안 산화스트레스에 노출되어 그 유해한 결과가 나타나게 되며, 이에 대한 예방수단으로 항산화영양소의 기능이 강조되고 있다. 본 연구는 산화스트레스에 대한 노출의 영향을 알아 보기위해 산화스트레스를 유발하는 모델로서 단기간 동안 운동을 부과하도록 하고, 운동으로 유도된 산화스트레스를 조절하는 마늘의 능력을 측정함으로써 피토케미칼을 포함하는 마늘의 항산화력을 검토하고자 한다.

연구방법

실험동물 사육 및 운동 부하

Sprague-Dawley 중 수컷을 사용하여, 고행사료를 공급하면서 5일간 환경에 적응 시킨 후, 그룹당 6마리씩 3그룹으로 구분하여 4주동안 실험식을 급여하였다. 각 실험군은 대

조군, 운동군 (운동부하), 마늘첨가군 (운동부하 + 2% 마늘)으로 구분하였다. 식이와 식수는 자유공급하였고, 체중은 매주 1회 일정한 시각에 측정하였다.

운동군의 동물은 하루에 40분씩, 매주 5일씩 수조에서 수영을 하도록 하였다. 수영을 하는 동안 물의 온도는 27~30°C로 유지되었다.

4주의 사육기간 종료 후, 실험동물을 12시간 절식시키고, diethyl ether로 마취하여 혈액과 조직을 채취하였다. 혈액은 1,000 × g에서 15분간 원심분리하여 혈장을 분리하였고, 간조직은 생리식염수로 세정한 후 -70°C에서 보관하였다.

실험식이 조성

실험식은 AIN-76에 기초하여, 옥수수유를 급원으로 지질함량을 15%로 조정하였고, 1%의 콜레스테롤을 첨가하였다 (Table 1). 각 실험식의 조성은 동일하며, 마늘첨가군의 경우는 2%의 마늘을 첨가하였다. 마늘은 분쇄하여 냉동 건조한 후 분말로 만들어 사용하였다.

간조직의 전처리

간조직에 0.25M sucrose와 0.5nM EDTA를 포함하는 50 mM 인산 완충용액 (pH 7.4)을 가하여, 저온상태에서 Potter-Elvehjem homogenizer를 사용하여 10% (w/v) 균질액을 만들었다. 균질액을 10,000 × g, 4°C에서 15분 동안 원심분리한 후 상층액을 취하여 일부는 지질과산화물 측정에 사용하였고, 나머지 상층액은 다시 10,000 × g, 4°C에서 15분간 원심분리하였다. 분리된 침전물을 취하여 재현탁하여 catalase의 활성 측정에 사용하였다. 상층액은 100,000 × g에서 1시간 동안 재원심분리하였고, 분리된 상층액을 SOD와 GSH-px 활성 측정을 위한 효소원으로 사용하였다.

지질 측정

혈장의 콜레스테롤과 HDL-C는 콜레스테롤 산화효소법을 이용한 분석 kit (영동계약)을 사용하여 비색정량하였다. LDL-

Table 1. Composition of experimental diets (g/kg diet)

Ingredients	Con	Ex	Ex-G
Corn starch	490	490	490
Casein	200	200	200
Sucrose	50	50	30
Soy bean oil	150	150	150
Salt mixture	35	35	35
Vitamine mixture	10	10	10
Cellulose	50	50	50
DL-Methionine	3	3	3
Choline barbiturate	2	2	2
Cholesterol	10	10	10
Garlic powder	-	-	20

Con (Control); Ex (swimming); Ex-G (swimming + 2% garlic)

C는 Fridewald 법에 따라 산출하였다.¹²⁾

지질과산화물 측정

지질과산화물은 Ohkawa 등의 방법에 기초하여 thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)를 측정하여 평가하였다.¹³⁾ TBARS 형성은 1,1,3,3-tetraethoxypropane을 표준물질로 하여 532 nm에서 흡광도를 측정하였고, nM MDA/g liver 또는 nM MDA/ml plasma로 표시하였다.

간조직의 항산화효소 활성 측정

Superoxide dismutase (SOD)는 nitroblue tetrazolium (NBT)이 환원되는 정도를 측정하여 효소활성의 지표로 사용하였고, SOD의 활성은 NBT 환원을 50% 억제하는데 필요한 효소 수준을 1 unit로 산정하여 표시하였다.¹⁴⁾ Catalase의 활성은 Aebi 방법에 준하여 240 nm에서 5분 동안 감소하는 흡광도를 측정하였다.¹⁵⁾ Catalase 활성은 unit/protein으로 제시하였고, 1 unit은 1분간 소실되는 H₂O₂의 양에 해당한다.

Glutathione peroxidase (GSH-px)은 Flohe와 Gunzler의 방법에 준하여 산화형 GSH가 glutathione reductase와 NADPH에 의해 환원될 때 감소하는 흡광도를 340 nm에서 2분간 측정하였다.¹⁶⁾

효소활성 측정에 사용된 각 분석의 단백질 함량은 단백질 분석 kit를 이용하여 bovine serum albumin을 표준으로 하여 측정하였다.

백혈구의 DNA 손상 측정

DNA 손상은 single cell gel electrophoresis assay (comet assay)를 사용하여 측정하였다.¹⁷⁾ Lysis과정을 거친 후에 25 V/3003 mA의 전압을 걸어 20분간 전기영동을 실시하였다. Ethidium bromide로 nucleotide를 염색하고, comet image analyzing system을 통해 이미지분석을 실시하였다. 임파구DNA의 손상정도는DNA tail moment (tail length × % of DNA in the tail)를 측정하여 표시하였다.

통계분석

모든 자료는 SAS package를 이용하여 평균과 표준편차를 산출하였고, 각 실험군의 평균치 간의 유의성은 $\alpha = 0.05$ 수준에서 Duncan's multiple range test에 의해 검증하였다.

결 과

체중증가량 및 식이효율

실험식이 급여 4주 동안의 체중증가율은 대조군에서 48.85 ± 6.33 g/주로 가장 높은 증가율을 보였고, 운동군과 마늘

Table 2. Body weight gain and feed efficiency ratio

Variables	Con	Ex	Ex-G
Body weight gain (g/week)	48.85 ± 6.33 ^a	35.72 ± 6.37 ^b	39.31 ± 2.18 ^b
FER (ratio)	0.37 ± 0.22 ^a	0.27 ± 0.04 ^b	0.40 ± 0.02 ^a
Epididymal fat pad (g/100 g BW)	1.06 ± 0.23 ^a	0.67 ± 0.21 ^b	0.89 ± 0.07 ^{ab}

Values are mean ± SD. Values in a row with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test. Con (Control); Ex (swimming); Ex-G (swimming + 2% garlic). FER: feed efficiency ratio

Table 3. Plasma lipid profile in rats with garlic supplement or exercise (mg/dl)

Variables	Con	Ex	Ex-G
Triglyceride	72.41 ± 16.35 ^{NS}	60.67 ± 8.63	68.97 ± 9.65
Total cholesterol	77.71 ± 6.26 ^{NS}	78.94 ± 5.50	76.56 ± 12.53
HDL-C	35.57 ± 5.21 ^{NS}	40.04 ± 3.81	36.34 ± 4.71
LDL-C	26.77 ± 3.65 ^{NS}	26.33 ± 6.80	32.51 ± 12.11

Values are mean ± SD. Values in a row with different superscripts are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple range test. Con (Control); Ex (swimming); Ex-G (swimming + 2% garlic)

참가군은 대조군에 비해 모두 유의하게 낮은 수준이었다. (Table 2) 사료 효율은 대조군과 마늘참가군에서 높은 수치를 보였고, 운동군은 낮은 사료효율을 보였다. 100 g 체중 당의 부고환지방은 대조군에서 1.06 ± 0.23 g/100 g BW으로 가장 높았고 운동군은 0.67 ± 0.21 g/100 g BW로서 낮았다. 마늘참가군의 부고환지방은 0.89 ± 0.07 g/100 g BW로서 대조군에 비해 낮지만 운동군 만큼 낮아지는 경향은 보이지 않았다.

혈중 지질농도

Table 3은 혈장 내 중성지방과 콜레스테롤의 수준을 나타내고 있다. 혈장 중성지방은 운동부하로 다소 낮아지는 경향을 보이나 대조군과 차이가 없는 것으로 나타났다. 혈장 콜레스테롤 또한 각 그룹 사이에 차이가 없는 것으로 나타났다. HDL-C와 LDL-C 농도도 그룹에 따른 변화가 나타나지 않았다.

간조직과 혈장의 지질과산화물 농도

체내 지질과산화물 형성 정도를 측정하기 위하여 혈장과 조직의 TBARS를 실험하였다. 대조군에서 혈장 TBARS는 2.30 ± 0.67 nM/ml으로 유의하게 낮은 반면, 운동군은 3.09 ± 0.53 nM/ml으로 크게 증가하였으며 마늘참가군은 대조군에 근접하는 2.50 ± 0.51 nM/ml의 수치를 보였다 (Fig. 1). 간조직에서의 TBARS 형성은 유의한 변화는 아니나 혈장의 TBARS와 유사한 양상을 보여 대조군의 TBARS 수치가 낮았고, 운동군에서 증가되었으나 마늘참가로 인해

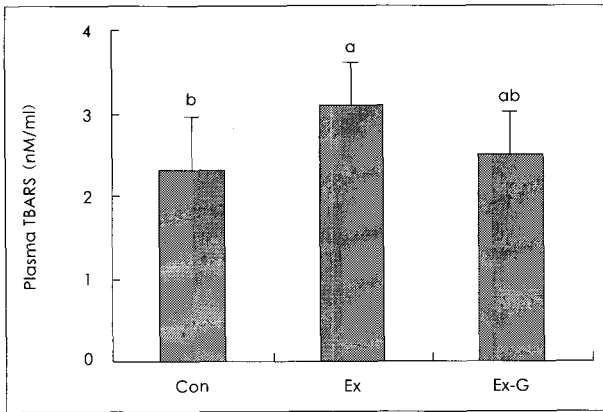


Fig. 1. Effect of garlic and exercise on plasma TBARS. Con (Control); Ex (swimming); Ex-G (swimming + 2% garlic). Bars with uncommon letters are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

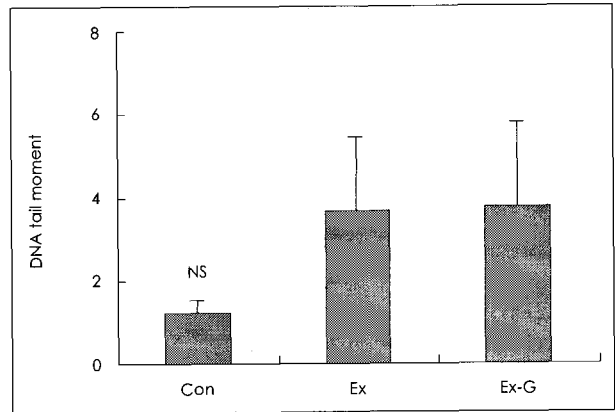


Fig. 3. Effect of garlic and exercise on DNA tail moment in peripheral lymphocyte. Con (Control); Ex (swimming); Ex-G (swimming + 2% garlic). NS indicates no significant difference at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

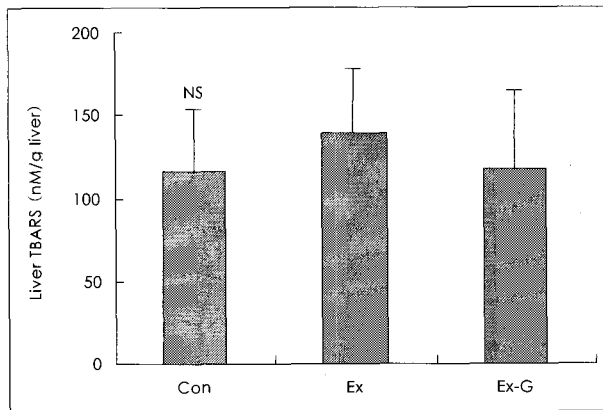


Fig. 2. Effect of garlic and exercise on TBARS in liver. Con (Control); Ex (swimming); Ex-G (swimming + 2% garlic). NS indicates no significant difference at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test.

Table 4. Antioxidant enzyme activities in rats with garlic supplement or exercise (unit/mg protein)

Variables	Con	Ex	Ex-G
SOD	0.64 ± 0.40 ^b	0.95 ± 0.26 ^b	1.55 ± 0.49 ^a
GSHpx	0.20 ± 0.14 ^{NS}	0.22 ± 0.02	0.21 ± 0.04
Catalase	221.46 ± 20.49 ^a	125.02 ± 22.40 ^b	183.78 ± 46.65 ^a

Values are mean ± SD. Values in a row with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Duncan's multiple range test. Con (Control); Ex (swimming); Ex-G (swimming + 2% garlic)

TBARS 형성은 대조군과 비슷한 값으로 저하되었다 (Fig. 2). 이는 운동에 의해 과산화지질이 증가함을 나타내며, 마늘의 첨가는 이러한 지질과산화물을 완화시키는 것으로 나타났다.

간조직의 항산화효소 활성

SOD의 활성은 그룹 사이에 차이를 보였는데 마늘첨가군 (1.55 ± 0.49 unit/mg protein)이 대조군과 운동군에 비해 유의하게 높은 값을 보였다 (Table 4). Catalase는 대조군과 마늘첨가군에 비해 운동군에서 뚜렷하게 낮게 나타

났고, 운동군에서 낮게 나타난 catalase의 활성이 마늘첨가군에서 유의하게 높아진 것으로 나타났다. 이러한 면에서 볼 때 마늘의 보충은 항산화효소활성을 조절함으로써 생체에서 증가되는 산화스트레스에 대처할 수 있는 작용이 있음을 시사한다. 그러나 GSH-px는 세 그룹 사이에 차이를 보이지 않았다.

백혈구의 DNA 손상

산화스트레스와 항산화력을 나타내는 지표의 하나로 전혈을 사용하여 백혈구의 DNA tail moment를 측정하여 DNA 손상 정도를 조사하였다. DNA tail moment는 대조군에 비해 운동군과 마늘첨가군에서 높아지는 현상을 보였다 (Fig. 3). 운동군과 마늘첨가군을 비교할 때, 서로 유사한 수치를 보임으로써 마늘의 보충이 DNA tail moment에 영향을 주지 않은 것으로 나타났다.

고 찰

운동은 고열량식이나 정적인 생활양식에서 비롯되는 비만이나 심혈관계질환 등을 예방하는데 도움이 된다.¹⁸⁾ 운동이 체중증가와 에너지섭취량에 주는 영향은 운동기간에 따라 다른데 4.5 kcal/g의 식이를 섭취하는 흰쥐가 일주일에 2일 수영한 경우는 체중변화에 영향이 없으나 운동기간이 5일인 동물에서 체중증가가 성공적으로 감소되었다.¹⁹⁾ 본 실험기간 동안 4.3 kcal/g의 식이를 공급받은 동물들의 체중증가량은 대조군에 비해 일주일에 5일간 수영을 실시한 운동군과 마늘첨가군에서 유의하게 낮은 값을 보였고, 부고환지방량 또한 대조군에 비해 운동군에서 뚜렷하게 낮았으며 마늘첨가군에서도 낮은 양상을 보였다. 이러한 변화로 볼 때 운동은 체중저하 효과 및 체지방을 낮추는 효과가 있음을 나타내고 있

다. 그러나 마늘의 첨가가 체중감량이나 체지방 저하에 부가적인 효과를 주지는 않은 것으로 나타났다.

마늘이나 마늘조제품이 혈장지질에 영향을 주는 기작은 충분히 설명되어 있지 않다. 그러나 여러 동물실험에 의해 마늘의 보충은 간에서 지질합성과 콜레스테롤합성에 관여하는 효소들, 즉 malic enzyme, fatty acid synthase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase의 활성을 억제하는 것으로 밝혀져 있다.²⁰⁾ 여러 황화합물을 포함하는 마늘 추출물이 효과적으로 혈중 콜레스테롤을 저하시키는 것이 관찰되었으며, allicin, ajoene, S-allylcysteine, diallyl disulfide, S-methylcysteine sulfoxide, S-allylcysteine sulfoxide 등이 효능을 나타내는 물질로 알려져 있다.^{20,21)} 그러나 콜레스테롤 저하 효과는 사용된 마늘제품의 황화합물조성이나 함량에 따라 상이한 결과를 보이는 것으로 판단된다. Yeh 등은 20% fat 함량의 식이에 2 g/100 g AGE (aged garlic extract, 숙성마늘추출물. 15~20%의 에탄올에서 마늘절편을 20개월 숙성한 후, 저온·저압에서의 추출 및 농축 과정을 통해 조제)를 보충한 흰쥐에서 총콜레스테롤과 중성지방이 보충하지 않은 그룹에 비해 각기 15%와 30% 낮았음을 관찰하였다.²⁰⁾ 본 실험의 조건과 동일하되 지방급원을 달리하여 15% 우지를 포함한 식이에 2%의 냉동건조 마늘가루를 첨가한 식이는 흰쥐에서 총콜레스테롤을 저하하는 효과를 보였다.²²⁾ 그러나 본 연구에서 15%의 옥수수유를 포함한 식이에서는 마늘의 이러한 효과가 나타나지 않았다. 우지급원의 식이 (중성지방 105~138 mg/dl, 콜레스테롤 162~200 mg/dl)와는 달리 옥수수유를 사용한 경우는 (60~72 mg/dl, 77~79 mg/dl) 혈중 지질농도 자체가 낮았다. 이는 포화지방급원 식이와 불포화지방급원 식이에 따라 마늘첨가가 혈중 지질농도저하에 미치는 효과가 다를 수 있음을 시사한다.

유사한 경향을 보인 Chetty 등²³⁾의 연구에 의하면 1%의 콜레스테롤을 함유하면서 옥수수유를 급원으로 한 식이를 공급받은 흰쥐는 혈장 콜레스테롤이 증가하지 않았고, 같은 식이조건에 2%의 마늘을 첨가한 식이를 급여한 동물에서도 콜레스테롤 수치가 마늘을 포함하지 않은 식이와 비슷한 결과를 보여 마늘의 첨가효과가 관찰되지 않았다. LDL-C과 HDL-C의 수준에도 마늘의 첨가는 효과를 나타내지 않았다. 반면에 1% 콜레스테롤과 함께 올리브유를 급원으로 한 식이에서는 혈중 콜레스테롤이 크게 증가하였으며, 마늘의 보충은 상승된 콜레스테롤과 LDL-C를 50% 저하시키는 효과를 나타냈고, HDL-C는 18% 증가시키는 결과를 보였다.²³⁾ 이와 같이 콜레스테롤의 농도가 상승되었는가 그리고 첨가물에 의해 상승되었던 콜레스테롤에 강하효과가 있었는가에 관한 상

이한 결과는 지질의 특성과 관련이 있는 것으로 보인다. 즉 옥수수유는 식물성스테롤의 함량이 높아서 콜레스테롤의 흡수를 낮추고 배설시키기 때문에 혈중 콜레스테롤이 증가하지 않은 것으로 본다. 반면에 올리브유는 콜레스테롤의 전구체인 squalene의 함량이 높아 흡수 시에 콜레스테롤 합성이 증가되어 혈중 콜레스테롤을 높이는 것으로 생각되며, 이 경우 마늘이 첨가되면 squalene monooxygenase에 작용하여 콜레스테롤의 합성을 억제하는 것으로 추정하고 있다.^{24,25)}

이상의 결과들로 볼 때, 콜레스테롤 대사가 식이지방조성과 콜레스테롤 함량에 따라 다르다고 알려져 있는 바와 같이,²⁶⁾ 마늘의 보충효과 또한 식이지방 종류나 식이 콜레스테롤 존재에 따라 상이할 수 있을 것으로 판단된다.

산화스트레스 동안에 생성되는 ROS는 세포에서 신호분자로 작용하여 세포에서 일어나는 일을 변조하는 역할을 한다.²⁷⁾ 라디칼의 생성이나 이에 노출되는 경로는 다양한 산화제와 항산화제의 균형을 잃으면 결과적으로 라디칼의 큰 반응성 때문에 단백질의 기능변화, DNA손상, 세포막 손상을 통해 세포의 기능장애를 일으키게 된다.²⁸⁾ 라디칼은 운동 동안에 골격근육 등의 조직에서 생성이 증가되고, 생체는 과산화작용으로부터 조직의 손상을 최소화하기 위하여 항산화 방어기작을 작동시킨다.²⁹⁾ 이러한 관점에서 볼 때 생성된 라디칼은 항산화효소활성을 상향조절하는 강한 요인이 될 수 있으리라 가정할 수 있는데,³⁰⁾ 동물에 일정 기간 유산소운동을 수행하도록 한 결과 SOD, GSH-px, catalase의 활성이 증가됨으로써 운동의 산화스트레스에 대한 적응능력이 생기는 것으로 평가하였다.³¹⁾ 그러나 이와는 달리 일부 연구는 8주간의 유산소운동에서 오히려 항산화효소가 저하되는 결과를 보여 항산화방어체계가 충분히 향상되지 못함을 시사하였다.³²⁻³⁴⁾

본 연구의 대조군, 운동군, 마늘첨가군의 TBARS 수치를 비교해 볼 때, 운동군에서 혈장 TBARS이 가장 큰 것은 운동수행과 함께 항산화제 부족이 요인인 것으로 보인다. 즉, 항산화제의 부족이 운동으로 유발되는 산화스트레스의 증대를 억제시키지 못한 것으로 보이며, 마늘첨가군에서 마늘은 항산화제로서 작용하여 운동으로 유발된 산화스트레스를 대조군 수준으로 저하시킨 것으로 볼 수 있다. TBARS 수치를 항산화효소의 활성과 비교할 때, 마늘첨가군은 운동군에 비해 SOD와 Catalase의 활성이 유의하게 증가됨으로써 마늘에 의한 상승효과를 얻은 것으로 판단되나 운동군은 산화스트레스에 적응될 만큼 효소활성을 매개로 하는 방어기작이 충분하지 않은 것으로 나타났다. 결과적으로 본 실험조건을 전제로 할 때 운동은 생성된 ROS에 의한 지질손상과 항산화방어기전 사이의 균형에 혼란을 야기하는 것으로 나타났고, 따라서 운동 수행시 부가적인 항산화물질이 요구됨을 제시하였다.

AGE는 TBARS 형성을 31~89% 저하하고,³⁵⁾ ROS를 소거하며 LDL의 산화를 막아 산화LDL에 의한 혈관내피세포의 손상을 억제하는 것으로 나타났다.¹¹⁾ 마늘유 (garlic oil)의 보충은 catalase, SOD, glutathione peroxidase과 GSH (glutathione)를 증가시켜 지질과산화를 저하하는 것으로 나타났다.³⁶⁾ AGE의 존재는 소의 동맥내피세포를 산화제에 노출시킬 때 SOD, catalase, GSH-px의 수준을 증가시켰고, AGE의 함량과 시간이 경과함에 따라 superoxide radical과 hydrogen peroxide의 생성이 억제되었다.¹⁰⁾

인체를 대상으로 한차례의 지질 때까지의 극심한 운동 (tread mill)을 수행한 24시간 후에 백혈구를 취해 comet assay로 DNA 손상을 측정 한 결과, DNA tail moment는 운동 전에 비해 크게 증가하였다. 반면에 운동 전후에 비타민 E (3 × 800 mg)을 보충하거나 운동전 14일 동안 매일 비타민 E (1200 mg)를 공급받은 대상자는 운동 24시간 후에 DNA tail moment의 작은 증가를 보임으로써 극도의 운동에 수반되는 DNA손상을 비타민 E가 효과적으로 막을 수 있었다.³⁷⁾ Hartman 등에 의하면 tread mill의 속도를 증가시키면서 극도의 강도까지 달리게 한 후에 DNA tail moment는 증가하였고, 운동 후 72시간이 경과하면서 운동 전의 수준으로 저하되었다. 그러나 운동방법을 달리하여 같은 대상자를 일정한 속도로 45분간 달리도록 한 후에는 DNA tail moment가 변화하지 않는 것으로 보아 DNA손상은 유산소대사의 한계를 넘는 운동강도에서 일어나는 것으로 보고하였다.³⁸⁾ 본 연구의 운동을 실시한 운동군에서 유의한 수준의 증가는 아니나 DNA tail moment가 증가하는 양상을 보였다. 이는 운동 강도가 극도로 강하지 않았기 때문으로 생각되며, 따라서 마늘의 효과를 보기에는 DNA 손상정도가 충분하지 않았던 것으로 판단된다. 운동강도에 따라 운동에 의해 DNA 손상이 우려되나 마늘의 첨가가 DNA 손상을 낮출 수 있는지는 더 연구되어야 할 부분이라 여겨진다.

요약 및 결론

본 연구는 운동을 ROS를 유발하는 모델로 하여 운동에서 오는 산화스트레스의 크기를 측정하고, 이에 대한 항산화 보강수단으로서 마늘의 항산화작용을 검토하고자 흰쥐에게 1주일에 5일간의 수영과 2%의 마늘보충식이를 4주간 실시하였다.

5일간의 규칙적인 운동은 체중과 체지방저하효과를 보였으며, 2%의 마늘 보충은 체중조절에 영향을 나타내지 않았다. 마늘은 혈장 총콜레스테롤이나 중성지질의 저하효과를 나타내지 않았는데 이는 실험에 사용한 식물성스테롤 함량이 높

은 옥수수유가 콜레스테롤의 배설을 증가시켜 혈중 지질농도를 낮은 상태로 유지하고 있었기 때문으로 추정된다. 운동 결과 TBARS가 유의하게 증가하였고 DNA tail moment가 높아지는 양상을 보였는데, 이는 산화제의 생성이 항산화기능의 한계를 초월했음을 의미하며 항산화물질이 부족한 상태를 반영한다. 반면에 운동군에 2%의 마늘첨가는 TBARS를 대조군의 값과 비슷하게 낮은 수준으로 저하시키는 효과를 보임으로써 산화스트레스를 뚜렷이 희석시키는 작용이 있었다. 운동부하에 따른 항산화효소체계는 TBARS 생성과 일치하는 양상을 보였다. 운동군에서 항산화효소활성은 산화스트레스에 대응할 정도로 증대되지 못하였으나 마늘의 첨가는 SOD와 catalase의 활성을 유의하게 증가시켜 운동에서 유래되는 TBARS 형성을 하향조절하는 기작을 보였다. 이상에서 보듯이 본 실험조건을 전제로 할 때, 운동은 자유라디칼생성을 증대시킴으로써 항산화방어체계에 대한 균형을 파괴하여 지질의 과산화를 촉진하는 것으로 나타났다. 이러한 산화스트레스 상황에서 마늘의 적절한 사용은 부족한 항산화기능을 강화시키는 물질로서의 역할이 있음이 분명하나, 마늘이 DNA손상에 주는 영향력은 더 검토가 이루어져야 할 것으로 본다.

Literature cited

- 1) Amagase H, Petesch BL, Matsuura H, Kasuga S. Intake of Garlic and its bioactive compounds. *J Nutr* 2001; 131: 955S-962S
- 2) Block E. The chemistry of garlic and onion. *Sci Am* 1985; 252: 114-119
- 3) Neil H, Sigali C. Garlic, its cardioprotective properties. *Curr Top Lipodol* 1994; 5: 6-10
- 4) Ali M, Thomson M. Consumption of garlic clove a day could be beneficial in preventing thrombosis. *Prostaglandins Leukotr Essential Fatty Acids* 1995; 53: 211-212
- 5) Borek C. Free radical processes in multistage carcinogenesis. *Free Radic Res Commun* 1991; 12: 745-750
- 6) Borek C. Antioxidants and cancer. *Sci Med* 1997; 4: 51-62
- 7) Gutteridge JMC. Free radicals in disease processes: a compilation of cause and consequence. *Free Radic Res Commun* 1993; 19: 141-158
- 8) Borek C. Antioxidant health effects of aged garlic extract. *J Nutr* 2001; 131: 1010S-1015S
- 9) Stavric B. Role of chemopreventers in human diet. *Clinical Biochemistry* 1994; 27: 319-332
- 10) Wei Z, Lau BHS. Garlic inhibits free radical generation and augments antioxidant enzyme activity in vascular endothelial cells. *Nutr Res* 1998; 18: 61-70
- 11) Ide N, Lau BHS. Garlic compounds protect vascular endothelial cells from oxidized low density lipoprotein-induced injury. *J Pharm Pharmacol* 1997; 49: 908-911
- 12) Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of concen-

- tration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502
- 13) Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979; 95: 351-358
 - 14) Fidanza F. Erythrocyte superoxide dismutase. In: Nutritional status assessment, p.398-401, Chapman & Hall, 1991
 - 15) Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU, ed. Methods of enzymatic analysis, Chemie, Weinheim, FRG p.673-684, 1974
 - 16) Flohe L, Gunzler WA. Assays of glutathione peroxidase. In: Packer L, ed. Methods in enzymology vol 105, p.114-121, Academic press, 1984
 - 17) Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. A simple technique for quantification of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 1988; 175: 184-191
 - 18) Burneiko RCM, Diniz YS, Faine LA, Galhardi CM, Padovani CR, Novelli ELB, Cicogna AC. Impact of training program on lipid profile and cardiac health. *Biological Research* 2004; 37: 53-59
 - 19) Burneiko RCM, Diniz YS, Galhardi CM, Rodrigues HS, Ebaid GMX, Faine LA, Padovani CR, Cicogna AC, Novelli ELB. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. *Food Chem Toxicology* 2006; 44: 1167-1172
 - 20) Yeh YY, Liu L. Cholesterol-lowering effect of garlic extracts and organosulfur compounds: Human and animal studies. *J Nutr* 2001; 131: 989S-993S
 - 21) Yeh YY, Yeh SM. Garlic reduces plasma lipids by inhibiting hepatic cholesterol and triacylglycerol synthesis. *Lipids* 1994; 29: 189-193
 - 22) Yoon GA. Effect of garlic supplement and exercise on plasma lipid and antioxidant enzyme system in rats. *Korean J Nutr* 2006; 39(1): 3-10
 - 23) Chetty KN, Calahan L, Harris KC, Dorsey W, Hill D, Chetty S, Jain SK. Garlic attenuates hypercholesterolemic risk factors in olive oil fed rats and high cholesterol fed rats. *Pathophysiol* 2003; 9: 127-132
 - 24) Liu L, Yeh YY. Inhibition of cholesterol biosynthesis by organosulfur compounds derived from garlic. *Lipids* 2000; 35: 197-203
 - 25) Takeuchi H, Kato T, Ikegami H, Imai H, Takeuchi HI. Regulation of plasma and liver total cholesterol levels by dietary oleic acid in rats fed a high cholesterol diet. *J Nutr Sci Vitaminol* 1999; 45: 63-77
 - 26) Lin EC, Fernandez ML, McNamara DZ. Dietary fat type and cholesterol quantity interact to affect cholesterol metabolism in guinea pig. *J Nutr* 1992; 122: 2019-2022
 - 27) Astley SB. Dietary antioxidants-past, present and future? *Trends in Food Science and Technology* 2003; 14: 93-98
 - 28) Jenkins RR. Free radical chemistry: relationship to exercise. *Sports Med* 1988; 5: 156-170
 - 29) Zebra E, Komorowski TE. Free radical injury to skeletal muscle of young adult and old mice. *Am J Physiol* 1990; 258: S429-S435
 - 30) Ji LL, Dillon D, Wu E. Alteration of antioxidant enzymes with aging in rat skeletal muscle and liver. *Am J Physiol* 1990; 258: R918-R923
 - 31) Buczynski A, Kedziora J, Tkaczewski W, Wachowicz B. Effect of submaximal physical exercise on antioxidative protection of human blood platelets. *In J Sports Med* 1991; 12: 52-54
 - 32) Laughlin MH, Simpson T, Sexton WL, Brown OR, Smith JK, Korthuis RJ. Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes and exercise training. *J Appl Physiol* 1990; 68: 2337-2343
 - 33) Shin MS, Kim WS, Kim YS, Kim SS. Exercise and oxidative stress. *Korean J Exercise Nutr* 1998; 2: 1-23
 - 34) Criswell D, Powers S, Dodd S. High intensity training-induced in skeletal muscle antioxidant enzyme activity. *Med Sci sports Exercise* 1993; 25: 1135-1140
 - 35) Yamasaki Y, Li L, Lau BHS. Garlic compounds protect vascular endothelial cells from hydrogen peroxide-induced oxidant injury. *Phytother Res* 1994; 8: 408-412
 - 36) Helen A, Rajasree CR, Krishnakumar K, Augusti KT, Vijayammal PL. Antioxidant role of oils isolated from garlic (*Allium sativum* Linn) and onion (*Allium cepa* Linn) on nicotine-induced lipid peroxidation. *Vit Hum Toxicol* 1999; 41: 316-319
 - 37) Hatman A, NieB AM, Grunert-Fuchs M, Poch B, Speit G. Vitamin E prevents exercise-induced DNA damage. *Mutation Res* 1995; 346: 195-202
 - 38) Hartman A, Plappert U, Raddatz K, Grunert-Fuchs M, G Speit. Does physical activity induce DNA damage? *Mutagenesis* 1994; 9: 269-272