

# 적혈구의 Manganese Superoxide Dismutase 활성은 경주마의 훈련강도를 나타낸다

최준영 · 박인경 · 임진택 · 고태송

건국대학교 동물생명과학부 영양생명과학실험실

## Erythrocyte Manganese Superoxide Dismutase Activity Indicates Training Intensity for Racing Horses

Jun Young Choi, In Kyung Park, Jin Taek Im and Tae Song Koh

Department of Animal Life Sciences, Laboratory of Nutrition and Biotechnology, Konkuk University,  
Seoul 143-701, Korea

### ABSTRACT

This study was aimed to investigate that training of horses is related with the activity of superoxide dismutase (SOD) in erythrocyte of racing horses. The SOD activity was assayed from erythrocyte of six Thoroughbred horses having final stage of training, about 21 month-old, 474~509 kg body weight for race training. During 7 weeks of training period from 24th Sep. to 6th Nov, horses were bled very carefully 4 times at 1st Oct, 16th Oct, 30th Oct. and 6th Nov. As the training period passed, erythrocyte of the horses have gradually increased the MnSOD activity ( $p < 0.05$ ) and lowered the CuZnSOD activity. The plasma ceruloplasmin and peroxidase activities, and lactate levels were reduced gradually while peroxide and glucose levels gradually increased. The calculated oxygen consumption (Eaton, 1995) for training of horses were linearly related with the MnSOD activity ( $r = 0.650$ ,  $n = 32$ ) but negatively with CuZnSOD activity in erythrocyte and lactate levels ( $r = -0.349$ ,  $n = 32$ ) in plasma. Also, peroxide levels in plasma of horses had positive relation with the MnSOD activity in erythrocyte ( $r = 0.616$ ,  $n = 48$ ).

In conclusions, as the training is progressed, the raised MnSOD activity in erythrocytes and peroxide levels in plasma indicated balances between oxidant and antioxidants for the protection from ROS during race of horses. The results showed that the MnSOD activity in erythrocyte and peroxide levels in plasma may be used as marker for the intensity of training racing horses.

(Key words : Manganese superoxide dismutase (MnSOD), Plasma peroxide, Training horses)

### I. 서론

호기성 생물 (Aerobes)이 섭취한 산소량 중에서 약 1~5%가 반응성 산소 (Reactive oxygen species : ROS)로 형성된다고 예측된다 (Halliwell 과 Gutteridge, 2000).

사람에 있어서는 운동중 체내 산소 소비량이 기초 수준에 비하여 10~15배까지 크게 증가한

다. 운동은 체내 총 부하 ROS를 엄청나게 증가시키고 운동중인 근육에는 더 많은 ROS가 작용한다. 이것은 근육의 산화적 손상, 특히  $Ca^{2+}$  대사 장애와 수축 손상의 원인이 된다고 예상된다 (Halliwell과 Gutteridge, 2000). 근육중의 superoxide dismutase (SOD:슈퍼옥사이드 이성화 효소), 촉매효소 (Catalase), 글루타치온 (GSH) 및 글루타치온 과산화물 분해효소 (GSH peroxidase)의

Corresponding author : T. S. Koh, Department of Animal Life Sciences, Konkuk University, Gwangjin-gu, Seoul 143-701, Korea

Tel : 82-02-450-3698 Fax : 82-02-455-1044 E-mail : tskoh@konkuk.ac.kr

활성은 체내 다른 조직보다 낮다. 골격근육은 또한 NO (Nitric oxide 이온)를 발생하며,  $O_2^-$  (슈퍼옥사이드이온)의 생산이 증가하면 NO는 ONOO<sup>-</sup> (Nitric peroxide 이온)으로 발전할 수 있다. 이렇게 생성된 ROS는 혈액으로 유출되므로 이를 처리하기 위해서는 혈액의 ROS 처리계 즉 항산화계의 균형이 필요하다 (Pansarasa 등, 2002).

한편 더러브렛 경주마의 유산소 에너지의 최대 섭취량 ( $VO_2$  max)은 사람의  $VO_2$  max의 두 배이다 (Rose 등, 1988). 장거리 육상 선수의  $VO_2$  max는 70~80 mL/kg/min이고 더러브렛의  $VO_2$  max는 160~200 mL/kg/min이다. Eaton 등 (1995)은 더러브렛 마필의 산소: 유산소 에너지의 사용 비율이 400m는 65:35, 1,000 m는 30:70, 1,600 m와 2,400 m는 10:90, 3,200 m는 5:95 그리고 80 km는 1:99이 된다고 하였다. 이와 같이 경주에 필요한 에너지는 유산소 에너지가 동원되어 무산소 에너지와 함께 사용된다 (Eaton, 1995). 마필이 200 m당 15초 이하의 빠른 속도로 전력 질주하는 경기 중에는 산소 사용량이 증가하므로 그 만큼 ROS가 많이 생산된다.

마필의 혈액 중 젖산 농도 4 mmol/L는 유산소 에너지와 더불어 무산소 에너지를 이용하기 시작하는 변곡점으로 AT (Anaerobic Threshold) 강도라 하며, 200 m당 15초의 스피드가 이에

해당한다 (Bayly 등, 1987). 이때 심장, 폐, 혈액, 근육의 산소운반계가 최대한 작동하는 상태로 산소섭취량은 최대에 달한다. 따라서 마필의 훈련은 200 m당 15초 이하의 스피드로 달릴 때의 산소 이용능력을 키우는 것이나, 훈련정도를 평가하는 방법으로 AT 강도는 잘 알려져 있으나 유산소 에너지 이용과 관계가 있는 ROS를 처리하는 SOD 활성화와 마필훈련의 관계는 아직 성립되어 있지 않다. 본 연구는 마필의 훈련기간이나 훈련강도가 산소를 운반하는 적혈구내에서 SOD의 활성의 변화가 발생하는 정도를 평가하기 위하여 실시하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험 마필의 선정과 혈액 채취

본 시험에는 본 경주를 이삼 개월 앞두고 마무리 훈련을 시작하는 경주 후보마 6필을 사용하였다. 마필의 평균 연령은 Table 1에 보이고 있는 바와 같이 21월령 체중은 474~509 kg의 범위였다. 모든 마필은 훈련이 진행중인 경우 이외의 시간에 정해진 일정량의 관행 사료를 섭취하도록 하여 (정량 급여) 체중이 관리되었고, 물은 훈련이 실시되지 않으면 자유로 섭취하도록 하였다. 실험기간은 9월 24일부터 11월 13일까지의 7주간으로 출주를 위한 경주용 후

Table 1. Identification of individual horses and variation of the MnSOD and CuZnSOD activities in erythrocyte cytosols among 4 assay of individual horses during training period

ID	Birth	Sex	Age	BW	MnSOD	CuZnSOD
	Year-Month		Month	kg	U/mg	U/mg
A	2001-04	Male	21	474	26.9±11.3(42)	3.3±2.4(73)
F	2001-04	Male	21	479	23.1± 7.6(33)	2.7±1.2(44)
H	2001-04	Male	21	498	27.0± 8.7(32)	3.4±2.9(85)
M	2001-05	Male	21	475	27.8±16.2(58)	3.9±2.0(51)
O	2001-04	Male	21	509	22.4± 3.7(17)	5.9±3.6(61)
P	2001-04	Male	21	488	25.8± 9.5(37)	3.9±1.7(44)

Values are mean±standard deviation (coefficient of variance) of 4 assay. Blood of horses was taken 4 times at 1st Oct., 16th Oct., 30th Oct. and 6th Nov. from 24th Sep. to 6th Nov of physical training period for race.

ID: Identification of individual horses. BW: Body weight

MnSOD: Manganese superoxide dismutase, CuZnSOD: Copper zinc superoxide dismutase

보마로 사용하기 위하여 마무리 훈련이 시작된 마필이다. 이 기간 중에서 혈액을 각 마필에서 채취하였으며, 10월 1일, 10월 16일, 10월 30일, 및 11월 6일 네 번에 걸쳐서 6두의 마필에서 각각 채혈되었다. 혈액은 아침 훈련 후 약 3시간의 휴식이 지난 뒤 항상 일정한 시각에 채취되었다. 마필 관리 수의사가 마필이 스트레스를 받지 않도록 매우 조심스럽게 헤파린-처리 Vacutainer로 약 5~10 mL의 혈액을 경정맥에서 채취 하였다.

## 2. 혈액의 관리 및 분석

채취된 혈액은 한 시간 이내에 실험실로 운반되었으며 즉시 원심 분리하여 혈장과 적혈구를 분리하였다. 혈장은 총과산화물(Total peroxide)과 총과산화물분해효소(Total peroxidase) 및 Ceruloplasmin의 활성을 그리고 포도당과 젖산 농도를 측정하기 위하여 실험 분석에 사용할 때까지  $-80^{\circ}\text{C}$ 에서 보관하였다. 적혈구 세포액의 Superoxide dismutase (SOD: 슈퍼옥사이드이산화효소) 활성과 혈장의 ceruloplasmin 활성은 Koh 등 (1996)이 측정한 방법과 같다. 적혈구는 상층의 백혈구 층을 제거한 다음에 탈이온수에 현탁하고 냉동 및 해동을 반복하여 세포막을 파괴한 후 원심 분리로 세포액을 얻었다. 적혈구 세포액은 클로로포름( $\text{CHCl}_3$ )으로 Manganese SOD (MnSOD) 활성을 불활화하고 CopperZinc SOD (CuZnSOD: EC1.15.1.1) 활성을 (Prohaska, 1983), 그리고 1 mM KCN으로 CuZnSOD를 불활화 하고 MnSOD (EC1.15.1.1) 활성을 Pyrogallol 자동산화 억제도 평가로 (Marklund와 Marklund, 1974) 각각 측정하였다. SOD 활성은 단백질 (Lowry 등, 1951) mg당 단위 (U)로 표시하였다. 그리고 혈장중 Ceruloplasmin 활성은 *o*-Diansidine dihydrochloride (Schonsinky 등, 1974)를 사용하여 정량하였다. 혈장 효소 활성은 mL당 값으로 표시하였다. 혈장중의 총과산화물과 과산화물분해효소의 활성은 이 등 (2005)의 방법과 동일하다. 총과산화물은 과산화수소( $\text{H}_2\text{O}_2$ )를 기준으로 그리고 과산화물 분해효소는 Horseradish peroxidase (HRP, Sigma)의  $\text{H}_2\text{O}_2$  분해 능력을 기

준으로 측정하였다. 시료에  $\text{H}_2\text{O}_2$ 를 첨가하여 배양한 3,3',5'-Tetramethylbenzidine (TMB, Sigma)의 과산화물 또는 과산화물분해효소의 작용으로 산화물을 만드는 정도에 따라 달라지는 발색도 (450 nm) 변화를 측정하여 혈장중의 과산화물농도 (ug/mL) 또는 과산화물 분해효소의 활성 (mU/mL)을 결정하였다 (Tatzber 등, 2003). 혈장중의 포도당과 젖산농도는 GLACT (YSI20300, USA, Yellow Institute)로 측정되었다.

## 3. 통계처리

실험 데이터는 훈련기간에 대한 일원배치 분산분석을 SAS (SAS Institute, Cary, NC) 프로그램의 GLM 법으로 상호관계를 조사하였다. 평균값 사이의 유의차는 Student's *t* 검정 또는 Duncan의 다중 검정법(LSD)을 이용하여 평가하였다.

## III. 결과 및 고찰

### 1. 적혈구와 혈장의 항산화 효소계 활성과 젖산 농도

마무리 훈련(출주 준비)중인 마필에서 채취한 혈액의 적혈구 세포액중의 MnSOD 또는 CuZnSOD 활성값이 개체차에서 유래하는지를 조사 하였다. 훈련 기간 중에 네 번 채혈하여 측정된 각 마필의 평균 MnSOD 및 CuZnSOD 활성은 마필간에 유의한 차이를 나타내지 아니하였다. 이것은 각 마필의 평균 MnSOD 및 CuZnSOD 활성에 대한 변동율(% CV) (Table 1)이 낮게는 17%에서부터 높게는 73%까지 변동율이 높게 나타난 때문으로 판단되었다. 이렇게 개체별 MnSOD와 CuZnSOD의 활성의 변동율이 높은 것은 운동량이 축적됨에 따라 적혈구와 혈장의 항산화계에 관한 값들이 달라지기 때문(Table 2 및 Table 3)이라는 것을 보이고 있다.

따라서 마필 6두의 혈액 적혈구중의 MnSOD와 CuZnSOD 활성과 혈장 Ceruloplasmin 활성 평균값에 미치는 훈련기간 경과에 의한 영향(Table

Table 2. Activity of MnSOD and Cu/ZnSOD in erythrocyte cytosols and ceruloplasmin in plasma of horses during physical exercise for race

Period	First	Second	Third	Fourth	P values period
MnSOD U/mg	18.0± 5.5 <sup>b</sup>	20.1± 5.2 <sup>b</sup>	30.0± 8.5 <sup>a</sup>	33.9± 7.5 <sup>a</sup>	0.005
CuZnSOD U/mg	6.6± 2.4 <sup>a</sup>	4.0± 1.7 <sup>ab</sup>	1.5± 0.5 <sup>c</sup>	3.3± 1.1 <sup>b</sup>	0.0003
Cp nmol/mL	40.1± 8.6 <sup>ab</sup>	53.7± 18.0 <sup>a</sup>	43.1± 12.5 <sup>ab</sup>	30.7± 13.0 <sup>b</sup>	0.09

Values are mean ± standard deviations of 6 horses. Blood of horses was taken 4 times at 1st Oct. (First), 16th Oct (Second), 30th Oct (Third), and 6th Nov (Fourth), from 24th Sep. to 6th Nov of physical training period for race.

Cp : Ceruloplasmin

<sup>a-c</sup> : Means within a row with no common superscript differ significantly at  $p < 0.05$ .

Table 3. Peroxidase activity, and levels of total peroxide, glucose and lactate in plasma of horses during physical exercise for race

Period	First	Second	Third	Fourth	P values period
Peroxidase mu/mL	31.2 ± 18.1 <sup>b</sup>	86.7 ± 54.2 <sup>a</sup>	27.2 ± 19.0 <sup>b</sup>	21.5 ± 8.4 <sup>b</sup>	0.01
Total Peroxide ug/mL	51.5 ± 18.4 <sup>b</sup>	50.8 ± 22.5 <sup>b</sup>	98.5 ± 22.8 <sup>a</sup>	140.7 ± 42.0 <sup>a</sup>	0.0001
Glucose mg/dL	70.0 ± 5.9 <sup>b</sup>	80.5 ± 9.1 <sup>ab</sup>	86.0 ± 13.7 <sup>a</sup>	88.0 ± 12.7 <sup>a</sup>	0.06
Lactate mmol/L	1.57 ± 0.26 <sup>ab</sup>	1.68 ± 0.17 <sup>a</sup>	1.40 ± 0.28 <sup>ab</sup>	1.27 ± 0.27 <sup>b</sup>	0.08

Values are mean ± standard deviations of 6 horses. Blood of horses was taken 4 times at 1st Oct., 16th Oct., 30th Oct. and 6th Nov. from 24th Sep. to 6th Nov of physical training period for race.

<sup>a-b</sup> : Means within a row with no common superscript differ significantly at  $p < 0.05$ .

2)을 평가 하였다. 마필의 훈련기간의 경과에 따라, 점차 MnSOD 활성 ( $p=0.005$ )은 유의하게 상승하나, CuZnSOD의 활성 ( $p=0.0003$ )은 유의하게 감소하였고, 혈장중의 Ceruloplasmin 활성은 점차 감소하는 경향( $p=0.09$ )을 보였다.

한편, 마필의 훈련기간이 경과하면서 운동량이 축적됨에 따라 혈장의 총 과산화물 농도는 점차 유의하게 ( $p < 0.0001$ ) 증가하나, 과산화물분해효소 활성은 점차 유의하게 ( $p=0.01$ ) 감소하였고, 혈장의 포도당 농도는 높아지는 경향 ( $p=0.06$ ) 그리고 젖산농도는 점차 낮아지는 경향 ( $P=0.08$ )을 보였다 (Table 3).

## 2. 기온 저하와 SOD 활성

적혈구 MnSOD는 마필의 훈련기간이 경과하면서 유의하게 ( $p=0.005$ ) 증가하였다 (Table 2). 본 연구에서 SOD 활성을 측정할 시기는 10월 1일부터 11월 6일까지이다. 이 기간은 우리나라에서 기온이 점차 낮아지는 환절기이다. 따라

서 적혈구 MnSOD 활성증가가 기온 저하와 관계가 있는지 검토할 필요가 있다.

Sprague-Dawley 쥐를 4°C와 25°C에서 3일간 운동을 시키면 심장의 MnSOD 활성은 사육온도와 관계없이 상승한다 (Hamilton 등, 2001). 젖소에서 봄철에서 여름철로 접어드는 환절기의 영향을 관찰하기 위하여 조사한 여름철 적혈구 SOD 활성은 봄철보다 높았다 (Bernabucci, 2002). 이상과 같이, MnSOD 활성이 쥐에서 (Hamilton 등, 2001) 운동량의 증가로 그리고 젖소에서 (Bernabucci, 2002) 여름철의 서열 스트레스로 증가 한다는 것은 본 연구에서 우리나라 10월부터 11월에 걸친 훈련기간 중의 기온저하가 마필 적혈구의 MnSOD 활성 증가와는 관계가 없을 것이라는 것을 나타낸다. 따라서 본 연구의 마필 훈련기간의 경과에 따른 적혈구 MnSOD 활성의 증가는 산소 소비량의 처리능력 증가에 의한 운동량의 축적 또는 스트레스 증가와 관계 있는지 검토할 필요가 있을 것이다.

### 3. SOD 활성과 운동량

본 연구에서 훈련기간이 경과하면서 훈련강도(운동량)가 높아짐에 따라 적혈구의 MnSOD 활성이 유의하게 증가하였다(Table 2). 쥐를 운동시키면 운동시간의 경과에 따라 간장의 SOD 활성이 증가하였다(Vani 등, 1990). 사람에서도 육체적 활동 직후는 적혈구 SOD의 활성이 증가하나 그 후 30~60분간의 휴식으로 점차 감소하였다(Elosua, 2003). 본 연구에서 훈련기간의 경과에 따른 마필의 적혈구중의 MnSOD 활성의 증가는 운동(훈련)량의 증가에 의한 결과로서 운동량의 증가로 쥐의 간장과 사람의 적혈구의 SOD 활성 상승과 비슷한 경향이라고 생각되었다. 한편 쥐를 운동 훈련시키면 훈련 강도가 높아짐에 따라 심장 근육의 MnSOD와 CuZnSOD의 활성이 증가하였다(Husain 등, 2003). 본 연구의 MnSOD와 CuZnSOD 활성을 나누어 측정된 값을 상기 Husain 등(2003)의 쥐의 심장 근육 성적과 비교하면, 운동 후의 적혈구중의 MnSOD 활성은 증가하여 조직이 심장근육과 적혈구로 달라도 일치하고 있으나, CuZnSOD 활성은 낮아져서 Husain 등(2003)의 성적과 달랐다. 이러한 성적의 차이는 MnSOD와 CuZnSOD의 생리적 작용이 심장근육과 적혈구 사이에 차이를 나타내는 것인지 알 수가 없었다. 또는 공시동물이 쥐와 말로서 동물 사이에 이들 활성의 생리적 차이 또는 실험방법의 차이도 달라지는 원인이 될 것이다.

### 4. 훈련중 산소소비량 증가와 SOD 활성 및 젖산농도

훈련강도에 따라 산소 소비량이 많아지므로 Eaton 등(1995)의 회귀식으로 계산한 산소 소비량과 적혈구 MnSOD 활성의 관계(Fig. 1)를 조사 하였다. Eaton 등(1995)은 더러브렛 마필의 체중(kg) 및 분(min)당 산소 소비량(mL)과 달리는 속도(m/s: 초당m)의 관계식: 속도(m/s) =  $0.076 \times VO_2$  (mL · min<sup>-1</sup> · kg<sup>-1</sup>) + 0.003을 발표하였다. 말의 평보, 속보 및 구보 훈련(조교)은 분당 100, 220 및 550 m를 달리는 것으로,

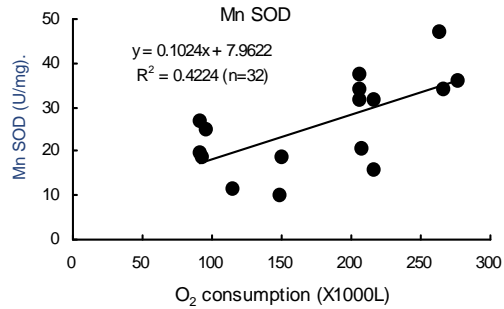


Fig. 1. Interaction of MnSOD activity (Table 2) in erythrocyte cytosol with the calculated respiratory O<sub>2</sub> consumptions (Table 4) at bleeding day during training period.

이는 초당 속도(m/s)는 각각 1.67, 3.67 및 9.17 m가 된다(한국마사회, 1997). 따라서 본 연구에서 혈액을 채취한 날의 이러한 훈련 내용을 초당속도(m/s)로(한국마사회, 1997) 환산한 값과 Table 1의 체중을 Eaton 등(1995)의 회귀식에 대입하여 운동량(산소소비량)을 계산하여 Table 4에 체중 및 운동거리(D)와 함께 나타내었다. 이때 혈액 채취 시에 휴식 중인 마필 O와 P는 계산에서 제외하였다.

계산된 산소 소비량에 대한 SOD 활성, 과산화물의 농도 또는 젖산 농도와와의 상호 연관성을 평가하였다. 계산된 산소 소비량의 증가에 따라 적혈구 세포액중의 MnSOD의 활성( $r = 0.650^{**}$ ,  $n = 32$ )은 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 증가하고(Fig. 1) CuZnSOD 활성( $r = -0.349^*$ ,  $n = 32$ )과 혈장의 젖산 농도( $r = -0.337$ ,  $n = 32$ )는 유의하게 ( $p < 0.05$ ) 낮아졌다. 한편 훈련 기간중의 혈장 젖산 농도는 MnSOD의 활성이 높아짐에 따라 유의하게 감소( $r = -0.388^*$ ,  $n = 32$ )하였다. 이와 같이 마필 훈련시의 운동량을 나타내는 산소 소비량의 증가와 적혈구 미토콘드리아의 MnSOD 활성 증가 또는 적혈구 세포액의 CuZnSOD 활성 감소와 그리고 혈장 젖산농도의 감소하는 상호작용이 유의하였다. 이러한 상호작용의 유의성은 산소 소비량의 증가에 따른 항상성(스트레스)을 유지하는 메커니즘이 작동한다는 것을 시사하고 있다. 이와 같은 산소 소비량 증

Table 4. Estimated value of increased oxygen consumption due to exercises at bleeding day of horses during physical training period for race

Horses	Period												
	First			Second			Third			Fourth			
ID	BW	Speed	D	O <sub>2</sub>	Speed	D	O <sub>2</sub>	Speed	D	O <sub>2</sub>	Speed	D	O <sub>2</sub>
		m/s	m	L×10 <sup>3</sup>	m/s	m	L×10 <sup>3</sup>	m/s	m	L×10 <sup>3</sup>	m/s	m	L×10 <sup>3</sup>
A	474	3.67	4000	91	3.67	5000	114	3.67	4000	206	3.67	4000	206
		8.0	1000		8.0	2000		8.0	2000		8.0	2000	
F	479	3.67	4000	150	3.67	5000	92	3.67	4000	208	3.67	4000	266
		8.0	1000		8.0	2000		8.0	2000		8.0	3000	
H	498	3.67	4000	216	3.67	4000	96	3.67	4000	216	3.67	4000	276
		8.0	2000		8.0	2000		8.0	2000		8.0	3000	
M	475	3.67	4000	149	3.67	5000	92	3.67	4000	206	3.67	4000	264
		8.0	2000		8.0	2000		8.0	2000		8.0	3000	
O	509	Rest	—	—	Grazing	—	—	3.67	4000	221	Rest	—	—
P	488	1.67	3000	32	Rest	—	—	Grazing	—	—	1.67	3000	32

Oxygen (O<sub>2</sub>) intake during physical training of the horses was estimated by the regression equation between speed (m/s) and O<sub>2</sub> consumption of horses during physical training:  $m/s=0.076 (mL \cdot kg^{-1} \cdot m^{-1}) + 0.003$  (Eaton, 1995). ID: Identification of horses. D: Distance. m/s: meter/second. L: liter Blood of horses was taken 4 times at 1st Oct., 16th Oct., 30th Oct. and 6th Nov. from 24th Sep. to 6th Nov of physical training period.

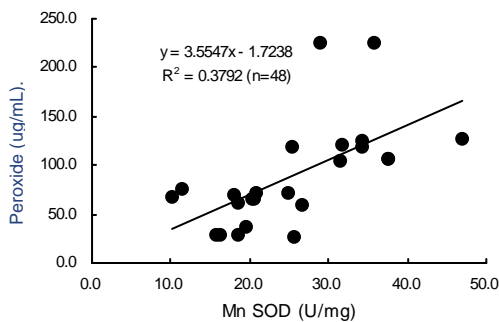


Fig. 2. Interaction of plasma peroxide levels (Table 3) with MnSOD activity (Table 2) in erythrocyte at bleeding day during training period.

가에 따른 혈액내 항산화 유지 메커니즘의 존재는 혈액중의 과산화물 (Peroxide) 농도가 높아짐에 따라 적혈구 세포액내의 MnSOD 활성은 유의하게 ( $r=0.616^{**}$ ,  $n=48$ ) 증가하는 상호작용 (Fig. 2)의 존재로 부터도 증명된다. 혈장중의 과산화물 농도는 적혈구내 미토콘드리아의 MnSOD 활성과 상호 작용하고 있다는 것을 나타내고 있기 때문이다.

한편 적혈구 세포액내에서는 MnSOD 활성과 CuZnSOD 활성이 부의 상관관계 ( $r=-0.418^{**}$ ,  $n=48$ )를 보이고 있다. 이와 같이 산소 이용량의 증가에 따른 MnSOD와 CuZnSOD 활성 반응이 달랐다. MnSOD는 미토콘드리아에 존재하고 CuZnSOD는 세포질속에서 작용하므로 (McCord와 Fridovich, 1969) 미토콘드리아와 세포질속에서 항산화계와 산화계의 균형에 MnSOD와 CuZnSOD는 각각 다른 역할을 하는 것 같다. MnSOD와 산소 소비량 또는 과산화물 또는 CuZnSOD와의 상관관계가 유의하다는 것은 훈련에 적응해감에 따른 혈액내의 항산화계와 산화계의 밸런스의 적응을 나타내는 것이라 생각된다. 다시 말하면 적혈구 미토콘드리아 내의 MnSOD의 활성 증가는 에너지 생산에 산소를 필요로 하는 미토콘드리아가 산소 소모량 (운동량의 축적)이 많아짐에 따른 항산화 효소의 활성이 증가해가는 적응과정이라 생각된다.

한편 미토콘드리아는 호흡쇄를 통하여 산소를 이용하여 에너지를 생산하는 세포내 기관이다. 따라서, 본성적인 산소 이용성에 따라 생성되는 ROS (Halliwell과 Gutteridge, 2000)의 처리

를 위한 MnSOD 활성도 동시에 변한다는 것을 나타내고 있다. 그리고 Gorecka 등 (2002)은 마필에서 효소적 항산화계와 비효소적 항산화계 사이에는 상관관계가 유의하다고 하였다. 이와 같은 사실은 경주 마필의 훈련은 미토콘드리아 내에서의 ROS의 처리능력의 향상을 위한 것이라는 것을 암시하고 있다.

따라서 본 연구는 결론적으로 마필의 훈련강도가 높아지면 과산화물의 축적이 많아지나, 적혈구의 MnSOD 활성을 높여서 혈액의 친산화계와 항산화계의 균형을 유지한다는 것을 나타내고 있다. 본 성적은 적혈구의 SOD 활성과 혈장의 과산화물 함량이 마필의 훈련정도의 평가 지표로 사용가능 하다는 것을 보이고 있다.

## VI. 요약

적혈구는 산소를 운반하는 세포이므로 본 연구는 마필의 훈련과정에 적혈구내 SOD 활성을 포함한 혈액내 항산화 효소계의 활성변화와 상호작용이 있는지 조사하였다. 마무리 훈련중인 경주 후보마 6두, 21월령, 체중 474 kg~509 kg을 2001년 9월 24일부터 11월 13일 경주후보 발주 검사시 까지 7주의 훈련기간 조사하였다.

마필에서 10월 1일, 10월 16일, 10월 30일, 및 11월 6일 네 번 각각 채혈되었고, 아침 훈련후 약 3시간의 휴식후 일정시간에 마필이 스트레스를 느끼지 않게 매우 조심하여 헤파린 처리 Vacutainer로 약 5~10 mL가 채혈 되었다. 혈액은 적혈구의 MnSOD와 CuZnSOD의 활성, 혈장의 Ceruloplasmin 활성과 그리고 혈장의 과산화물과 과산화물 분해효소 활성 및 포도당과 젖산의 농도 측정에 사용되었다.

훈련기간의 경과에 따라, 마필 적혈구의 MnSOD 활성과 혈장의 과산화물 수준은 점차 유의하게 높아지고, CuZnSOD 활성과 혈장의 Ceruloplasmin과 과산화물 분해효소의 활성은 점차 낮아졌다. 마필의 계산된 산소 소비량의 증가에 따라 MnSOD 활성은 직선적으로 증가하나 ( $r=650$ ,  $n=32$ ) CuZnSOD 활성은 감소하였다. 그리고 적혈구의 MnSOD 활성은 혈장의 과산화물 함량과 양의 상관관계 ( $r=616$ ,  $n=48$ )를

그리고 혈장 젖산농도와 부의 상관관계를 나타내었다.

본 성적은 훈련량이 많아짐에 따라 과산화물은 축적되나, 적혈구의 MnSOD 활성이 높아지는 것은 혈액의 항산화계와 산화계의 균형을 위한 적응을 나타내고 있다.

적혈구의 SOD 활성과 혈장의 과산화물함량은 혈장의 젖산농도와 함께 마필의 훈련정도 평가의 지표로 사용할 수 있다는 것을 보였다.

**핵심단어** : Manganese superoxide dismutase (MnSOD), 혈장 과산화물, 운동, 마필 훈련

## V. 사 사

본 연구는 2004년도 건국대학교 학술진흥연구비에 의하여 실시되었으며, 연구비 지원에 감사를 드립니다. 그리고 본 연구의 진행을 위한 한국마사회의 신우철 조교사와 임병만 수의사 및 직원 여러분들의 도움에 감사 드립니다.

## VI. 인용 문헌

1. Bayly, W. M., Grant, B. D. and Pearson, R. C. 1987. Lactate concentrations in Thoroughbred horses following maximal exercise under field conditions. In: Equine Exercise Physiology 2. Eds. J. R. Gillespie and N. E. Robinson, ICEEP Publicatins. Davis, California. pp 427-437.
2. Bernabucci, U., Ronchi, B., Lacetera, N. and Nardone, A. 2002. Markers of oxidative status in plasma and erythrocytes of transition dairy cows during hot season. J. Dairy Science, 85(9):2173-2179.
3. Eaton, M. D., Evans, D. L., Hodgson, D. R. and Rose, R. J. 1995. Maximal accumulated oxygen deficit in Thoroughbred horses. J. App. Physiol. 78(4) : 1564-1568.
4. Elosua, R., Molina, L., Fito, M., Arquer, A., Sanchez-Quesada, J. L., Covas, M. I., Ordonez-Llanos, J. and Marrugat. 2003. Response of oxidative stress biomarkers to a 16-week aerobic physical activity program, and to acute physical

- activity, in healthy young men and women. *Atherosclerosis* (Shannon, Ireland), 167(2):327-334.
5. Halliwell, B., John, M. and Gutteridge, C. 2000. Exercise : an oxidative stress. In 'Free Radicals in Biology and Medicine' Third Ed. Oxford University press, New York.
  6. Hamilton, K. L., Powers, S. K., Sugiura, T., Kim, Sunjoo, Lennon, S., Tumer, N. and Mehta, J. L. 2001. Short-term exercise training can improve myocardial tolerance to I/R without elevation in heat shock proteins. *American J. Physiology*, 281(3, Pt. 2) : H1346-H1352.
  7. Husain, K. 2003. Interaction of physical training and chronic nitroglycerin treatment on blood pressure, nitric oxide, and oxidants / antioxidants in the rat heart. *Pharmacological Research*, 48(3):253-261.
  8. Koh, T. S., Peng, R. K. and Klasing, K. C. 1996. Dietary copper level affects copper metabolism during lipopolysaccharide-induced immunological stress in chicks. *Poultry Sci.*, 75(7):867-872.
  9. Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. 1954. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193:265-275.
  10. Marklund, S. and Marklund, G. 1974. Involvement of the superoxide anion radical in the autooxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J. Biochem*, 47:469-474.
  11. McCord, J. M. and Fridovich, I. 1969. Superoxide dismutase. An enzyme function for erythrocyte (hemocuperin). *J. Biol. Chem.* 244:6049-6055.
  12. Pansarasa, O., D'Antona, G., Gualea, M. R., Marzani, B., Pellegrino, M. A. and Marzatico, F. 2002. "Oxidative stress": effects of mild endurance training and testosterone treatment on rat gastrocnemius muscle. *European Journal of Applied Physiology*, 87(6):550-555.
  13. Prohaska, J. R. 1983. Changes in tissue growth, concentration of copper, iron, cytochrome oxidase and superoxide dismutase subsequent to dietary or genetic copper deficiency in mice. *J. Nutr.* 113 :2148-2158.
  14. Rose, R. J., Hdgson, D. R., Kelso, T. B., NacCucheon, L. J., Reid, T. A., Bayly, W. M. and Gollnick, P. D. 1988. Maximum O<sub>2</sub> uptake, debt and deficit, and muscle metabolites of Thouroubred horses. *J. Appl. Physiol.* 64(2):781-783.
  15. SAS Institute Inc. 1990. SAS/STAT User's guide version 6, fourth ed. volume 2, Cary NC : SAS Institute Inc., 891 pp.
  16. Tatzber, F., Griebenow, S., Wonisxh, W. and Winker, R. 2003. Dual method for the determination of peroxidase activity and total peroxidase-iodide leads to a significant increase of peroxidase activity in human sera. *Analytical Biochemistry* 316:147-153.
  17. Vani, M., Reddy, G. P., Reddy, G. R. and Thyagaraju, K. R. 1990. Glutathione-S-transferase, superoxide dismutase, xanthine oxidase, catalase, glutathione peroxidase and lipid peroxidation in the liver of exercised rats. *Biochemistry International*, 21(1):17-26.
  18. 한국마사회. 1997. 조교사 면허시험 교재(상, 하). 한국마사회 (韓國馬事會 : Korea Racing Association) 발행 (비매품).
  19. 이해정, 박인경, 임진택, 최도열, 최준영, 최종배, 이홍구, 최윤재, 고태송. 2005. 타고난 면역 반응이 활성화한 육계 병아리의 항산화 균형에 미치는 사료 중 미역제품 수준의 영향. *동물자원과학회지* 47(1):29-38.
- (접수일자 : 2008. 6. 10. / 수정일자 : 2008. 8. 17. / 채택일자 : 2008. 8. 20.)