



4주 유산소 운동의 운동강도가 노령 생쥐의 심혈관질환위험인자, 활성산소, 항산화효소에 미치는 효과

김지현¹ · 전송희² · 정하진² · 전미양³

¹진주보건대학교 간호학과, ²전남대학교 의생명과학융합센터·의생명과학과, ³경상대학교 간호대학 · 건강과학연구원

The Effects of Different Intensity of Aerobic Exercise for Four Weeks on Cardiovascular Risk Factors, Reactive Oxygen, and Antioxidant Enzymes in Old Mice

Kim, Ji Hyun¹ · Jeon, Songhee² · Jeong, Ha Jin² · Jeon, Mi Yang³

¹Department of Nursing, Jinju Health College, Jinju; ²Department of Biomedical Sciences, Center for Creative Biomedical Scientist at Chonnam National University, Chonnam; ³College of Nursing-Institute of Health Science, Gyeongsang National University, Jinju, Korea

Purpose: The purpose of this study was to determine the effects of different intensity of aerobic exercise for four weeks on cardiovascular risk factors, reactive oxygen, and antioxidant enzymes in old mice. **Methods:** Eighteen male C57BL/6 mice age 18 months were randomly classified into the control group (n = 6), the moderate intensity exercise group (n = 6), and the low intensity exercise group (n = 6). The training groups performed the aerobic exercise twice daily for 20 minutes, five days weekly for four weeks. Data were analyzed using descriptive statistics, analysis of variance (ANOVA), the Chi-square test, and the Tukey's test with the SPSSWIN 21.0 program. **Results:** In this study, among the risk factors of cardiovascular disease, blood sugar (BS) (p = .023) and total cholesterol (TC) (p = .001) were significantly different between the moderate intensity exercise group and the control group. Additionally, there were significant differences in the reactive oxygen malondialdehyde (MDA) (p = .001), the antioxidant enzymes superoxide dismutase (SOD) (p < .001) and glutathione reductase (GR) (p = .015) between the moderate intensity exercise group and the control group. **Conclusion:** This finding suggests that moderate intensity aerobic exercise promotes the activity of antioxidant enzymes and lowers cardiovascular risk factors in older mice.

Key Words: Exercise; Glutathione Peroxidase; Malondialdehyde; Risk Factor; Superoxide Dismutase

국문주요어: 노령 생쥐, 운동, 심혈관위험인자, 활성산소, 항산화효소

서론

1. 연구의 필요성

최근 과학기술의 발달로 신체활동이 감소하였으며, 생활수준의

향상으로 동물성식품 및 가공식품의 섭취량이 증가하면서 비만, 고혈압, 당뇨병과 같은 심혈관질환위험인자가 증가하여 심혈관질환으로 인한 사망률이 꾸준히 증가하고 있다[1]. 2018년 우리나라의 주요 5대 사망원인은 암, 심장질환, 폐렴, 뇌혈관질환, 자살이며 이

Corresponding author: Jeon, Mi Yang

College of Nursing-Institute of Health Science, Gyeongsang National University, 15816 beon-gil, Jinju-daero, Jinju 52727, Korea
Tel: +82-55-772-8261 Fax: +82-55-772-8209 E-mail: myjeon68@gnu.ac.kr

*김지현과 전송희는 공동 제1저자임 (The first two authors Kim, Ji Hyun and Jeon, Songhee contributed equally to this work).

*This work was supported by the Institute of Health Science, Gyeongsang National University, 2015. IHS-GNU-2015-01.

Received: April 4, 2020 Revised: May 12, 2020 Accepted: May 26, 2020

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

중 순환계통의 질환으로 인한 사망률은 매년 증가하며 그 중에서 심혈관질환으로 인한 사망률은 28.4%이며, 심혈관질환을 유발할 수 있는 고혈압, 당뇨병 등으로 인한 사망자 수를 더하면 심혈관질환으로 인한 사망률은 더욱 증가한다[2].

연령이 증가하면서 심혈관질환의 발생률이 증가하는데 이는 근육량이 감소하여 지방대사 및 에너지 소비가 저하되면서[3] 체지방량이 증가하고 당 내성이 증가되기 때문이다[4]. 또한 노화에 의한 근육량 감소와 체지방량의 증가는 노인에게 근감소성 비만을 유발하며 이는 당뇨, 고혈압, 이상지질혈증 등을 유발한다[5]. 노인 인구의 증가와 함께 심혈관질환이 증가하면 노인의 의료비용을 증가시킬 수 있다. 2018년 노인 의료비는 31조 8,235억원으로 2011년에 비해 2.1배 증가하였다[6]. 이와 같은 노인의료비 증가는 건강보험제도의 재정을 악화시키고 가족뿐 아니라 국가에 부담이 될 수 있으므로 심혈관질환을 예방하거나 심혈관질환으로 인한 합병증을 예방하는 것이 필요하다.

유산소 운동은 간으로 포도당 유입을 증가시켜 혈당(blood sugar, BS)을 낮추고, 인슐린 저항성을 개선하며[7], 혈관의 내중막두께에 영향을 미치는 저밀도콜레스테롤(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)을 감소시키고 항동맥경화인자인 고밀도콜레스테롤(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)을 증가시켜 총콜레스테롤(total cholesterol, TC)을 감소시키며, 운동시 말초근육부위에서 중성지방의 흡수 증가와 더불어 지단백질지방분해효소(lipoprotein lipase)의 활성화 증가로 인해 중성지방(triglyceride, TG)이 감소한다[8]. 따라서 유산소 운동은 혈당과 혈중 콜레스테롤과 같은 심혈관 질환위험인자를 감소시킬 수 있는 중재방법이다[9].

그러나 운동을 하면 세포 내의 미토콘드리아에서 산소를 소모하기 때문에 산소 유리기(free radical)가 발생하며 이것은 세포막을 파괴하거나 디옥시리보 핵산(deoxyribonucleic acid, DNA)을 손상시키는 등 산화작용을 일으켜 산화 스트레스에 의해 활성산소를 유발하는 것으로 알려져 있다[10]. 활성산소의 비특이적 반응으로 생성된 과산화지질(lipid peroxide)이 세포막을 공격할 때 화학반응이 일어나 지질이 분해되고 이 과정에서 말론디알데하이드(malondialdehyde, MDA)가 생성된다[10]. 그러나 인체는 외부자극에 대응하여 각 신체 조직 및 기관이 조화를 이루며 유기적인 상호작용을 통해 체내에서 항상성을 유지하려는 기능을 가지고 있기 때문에[11], 운동할 때 발생하는 산소 유리기를 제거하는 효소를 활성화시켜 신체세포의 손상을 줄인다[12]. 또한 체내 적정 수준의 활성산소는 인체 면역기전을 증진시키며 산화적 스트레스에 노출된 세포를 방어하기 위해 항산화 능력이 향상되어 과산화물불균화효소(superoxide dismutase, SOD), 카탈라아제(catalase, CAT), 글루타티온 과산화

효소(glutathione peroxidase, GPX), 글루타티온 환원효소(glutathione reductase, GR) 등의 항산화효소를 활성화시켜 산소 유리기로 인한 손상을 감소시키는 것으로 보고되었다[13].

유산소 운동이 심혈관위험인자에 미치는 효과를 규명한 연구 중 실험동물을 대상으로 한 연구를 중심으로 살펴보면 Lee 등[14]은 12개월의 노령 쥐를 대상으로 1일 40분씩, 주 5일 동안, 총 8주간 수영운동을 실시한 후 혈당이 감소하였다고 보고하였으며, Kang [15]은 20주령의 쥐를 대상으로 1일 30분, 주 5일 동안 총 8주간 중강도 유산소운동을 실시한 후 혈당이 감소하였다고 보고하였다. 또한 Kazeminasab 등[16]은 12-14주령의 쥐를 대상으로 1일 60분, 주 5일, 4주 동안 유산소 운동을 실시한 후 LDL-C, TC, TG가 감소한 것으로 보고하였으며, Kim과 Back [17]은 4주령의 쥐에게 1일 30분, 주 5회, 총 4주간 유산소 운동을 실시한 후, 운동군에서 TC, TG가 감소한 것으로 보고하였다. 선행연구[14-17]에서 유산소운동은 실험동물의 심혈관위험요인을 감소시키는 것으로 보고하였으나 노령 생쥐를 대상으로 한 연구는 미흡하였으며, 특히 운동강도에 따른 차이를 규명한 연구는 거의 없었다.

그리고 유산소 운동이 활성산소 및 항산화효소에 미치는 효과를 규명한 연구 중 실험동물을 대상으로 한 연구를 살펴보면, Yoon과 Kim [18]은 12개월의 쥐를 대상으로 1회 90분, 주 5회, 10주 동안 수영운동을 실시한 후 간조직에서 추출한 GPX와 GR의 활성도가 운동군이 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 높았다고 보고하였다. Okudan와 Belviranli [19]는 4개월의 젊은 쥐와 20개월의 노령 쥐를 대상으로 8주 동안 수영을 실시한 후 MDA와 SOD 농도 모두 증가하였으나 두 군간에는 유의한 차이가 없었다고 보고하였다. Song 등[20]은 4주령의 쥐를 대상으로 1일 30분간 주 5일, 총 4주간 유산소 운동을 실시한 후 운동군에서 혈중 MDA, SOD와 GPX 농도가 증가하였다고 보고하였다. 이는 유산소 운동이 젊은 쥐 뿐 아니라 노령 쥐의 활성산소와 항산화효소를 증가시키는 것을 의미한다. 그러나 운동강도에 따른 활성산소와 항산화효소의 차이를 규명한 연구는 미흡하였다. 적정강도의 유산소운동을 처방하기 위해서는 유산소운동의 운동강도가 심혈관위험인자, 활성산소 및 항산화효소에 미치는 효과를 규명하는 것이 필요하다.

이에 본 연구에서는 유산소 운동의 운동강도가 노령 생쥐의 심혈관질환위험인자, 활성산소 및 항산화효소에 미치는 효과를 규명하고 그 결과를 노인의 유산소 운동 처방지침을 개발하는데 자료로 활용하고자 한다.

2. 연구목적

본 연구의 목적은 4주 유산소 운동의 운동강도가 18개월 된 노령

생쥐의 심혈관질환위험인자, 활성산소 및 항산화효소에 미치는 효과를 검증하기 위함이며, 구체적인 목적은 다음과 같다.

- 1) 유산소 운동의 운동강도가 노령 생쥐의 심혈관질환위험인자(BS, TC, TG, food efficiency ratio [FER])에 미치는 효과를 규명한다.
- 2) 유산소 운동의 운동강도가 노령 생쥐의 활성산소(MDA)에 미치는 효과를 규명한다.
- 3) 유산소 운동의 운동강도가 노령 생쥐의 항산화효소(SOD, GPX, GR)에 미치는 효과를 규명한다.

연구 방법

1. 연구설계

본 연구는 4주 유산소 운동의 운동강도가 18개월 된 노령 생쥐의 심혈관질환위험인자, 활성산소 및 항산화효소에 미치는 효과의 차이를 검증한 순수 실험 연구로, 동등성 대조군 전후실험 설계이다.

2. 연구대상

본 연구는 생후 18개월 된 C57BL/6 계통의 수컷 생쥐 중, 체중 50 ± 5 g의 실험동물을 대상으로 하였다. 실험동물은 무작위 표본추출로 실험군(n=12)과 대조군(n=6)으로 분류하였으며, 실험군은 중강도운동군(n=6)과 저강도운동군(n=6)으로 분류하였다. 집단별 실험동물 수는 생명존엄성에 따른 실험동물 최소 사용이라는 생명윤리위원회의 규정에 따라 각 집단별로 6마리씩 배정하였다. 실험동물은 한국생명과학연구원 실험동물자원센터에서 구입한 후 청결한 사육케이(20×25×13 cm)에 넣어 D대학교의 청정동물실에서 실험기간 동안 사육하였다. 실험실 환경은 온도($21 \pm 1^\circ\text{C}$)와 습도($55 \pm 5\%$)를 자동조절하고 12시간 간격으로 낮과 밤을 교대시켰다. 실험동물이 실험실 환경에 적응할 수 있도록 실험 전 1주일 동안 실험이 진행될 동일한 환경에서 사육한 후에 실험을 실시하였다.

3. 연구도구

1) 체중

본 연구에서 실험동물의 체중은 체중계(MWH-2000H, CAS, Yangju, Korea)를 이용하여 매주 월요일 오전 10-12시 사이에 측정하였다.

2) 사료 섭취량

본 연구에서 실험동물이 섭취한 사료(5L79, OrientBio, Seongnam, Korea)량은 실험처치 첫날에 배급한 사료량에서 실험 종료 다음 날에 남아 있는 사료량을 뺀 값으로 산출하였다.

3) 혈당(blood sugar, BS)

본 연구에서 BS는 복부대동맥에서 채취한 혈액을 원심분리한 후 혈청을 이용하여 측정하였으며 효소법을 이용한 AM 201-K kit (Asan, Gimpo, Korea)로 분석하였다.

4) 총 콜레스테롤(total cholesterol, TC)

본 연구에서 TC는 복부대동맥에서 채취한 혈액을 원심분리한 후 혈청을 이용하여 측정하였으며 효소법을 이용한 AM 202-K kit (Asan, Gimpo, Korea)로 분석하였다.

5) 중성지방(triglyceride, TG)

본 연구에서 TG는 복부대동맥에서 채취한 혈액을 원심분리한 후 혈청을 이용하여 측정하였으며 효소법을 이용한 AM 157S-K kit (Asan, Gimpo, Korea)로 분석하였다.

6) 식이효율(food efficiency ratio, FER)

본 연구에서 FER은 실험기간에 증가한 체중(g)을 같은 기간 동안 섭취한 사료의 양(g)으로 나누어 산출하였다.

7) 과산화물불균화효소(superoxide dismutase, SOD)

본 연구에서 SOD의 농도는 SOD activity assay K335-100 kit (BioVision, Milpitas, USA)를 이용하여 분석하였다. 분석과정은 먼저 혈장을 인산칼륨 완충액으로 100배 희석하여 그 중의 100 μL 를 시험관에 넣고 여기에 증류수 500 μL , 시약 A (3mM hypoxanthine) 200 μL 및 시약 B [7.5 mU/ml xanthine oxidase (XOD) with 0.1 mM EDTA-2Na] 200 μL 를 넣고 vortex에서 잘 혼합한 다음, 37°C 수조에서 40분간 정치하였다. 반응액에 시약 C (300 mg of sulfanilic acid/5.0 mg N-1-naphthyl-ethylenediamine in 500 mL of 16.7% acetic acid) 2.0 mL를 넣어 잘 혼합하여 실온에서 20분간 정치한 다음 550 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 준하여 SOD의 농도를 혈청 1 mL당 U로 측정하였다.

8) 말론디알데하이드(malondialdehyde, MDA)

본 연구에서 간조직 내의 MDA의 농도는 MDA fluorometric assay K739-100 kit (BioVision, Milpitas, USA)를 이용하여 분석하였다. 먼저 1/12N H_2SO_4 와 10% 인텡스텐산(phosphotungstic acid)을 가하여 25°C 에서 5분간 사전배양(preincubation)한 후 원심분리하여 침전물인 혈청단백질만 취하였다. 이를 다시 1/12N와 10% 인텡스텐산을 가하여 원심분리한 후 침전물만을 취하였다. 증류수 1 mL와 0.67% 티오바르비투산(thiobarbituric acid)과 50% 아세트산을 가하여 95°C

에서 50분간 반응시켜 실온에서 냉각 후 n-BuOH을 5 mL를 첨가하여 10분간 원심분리 하여 생성된 홍색의 n-BuOH층을 취하였다. 이를 분광형광계를 사용하여 흡광도를 측정하여 표준곡선에서 MDA의 농도를 혈청 1 mL당 nmole로 표시하였다.

9) 글루타티온 과산화효소(glutathione peroxidase, GPX)

본 연구에서 간조직의 GPX 활성도는 GPX activity colorimetric assay K762-100 kit (BioVision, Milpitas, USA)를 이용하여 분석하였다. 먼저 0.75 mM 과산화수소(hydrogen peroxide), 6 mM NADPH 및 40 mM 글루타티온(glutathione)이 함유된 0.1 M Tris 완충액(pH 7.2)에 효소액을 첨가하여 파장 37°C, 340 nm에서 흡광도의 변화를 읽고 분자흡광계수 6.22mM⁻¹·cm⁻¹을 이용하여 GPX 활성도를 산정하였다. 효소활성의 단위는 1분당 1 mg 단백질이 분해하는 NADPH의 활성을 nmole로 표시하였다.

10) 글루타티온 환원효소(glutathione reductase, GR)

본 연구에서 간조직의 GR 활성도는 GR activity colorimetric assay K761-200 kit (BioVision, Milpitas, USA)를 이용하여 0.1 M 인산칼륨 완충액(pH 7.5)에 0.94 mM EDTA, 4.6 mM 산화형 글루타티온(oxidized glutathione), 0.16 mM NADPH 및 효소액(400-600 µg 단백질을 가한 후 37°C에서 10분 동안 반응시켜 감소되는 NADPH의 양을 340 nm에서 흡광도를 측정하고 표준검량선에서 산정하였다. 효소 활성의 단위는 1분당 1 mg 단백질이 생성하는 GR의 활성을 nmole로 표시하였다.

4. 실험처치

본 연구에서 유산소 운동은 소형 동물용 트레드밀에서 점증 부하운동을 실시하였다. 점증부하 운동을 위한 운동 프로토콜은 Kim 등[21]의 실험동물 운동 프로토콜(중강도 운동: 1일 1회, 1회 30분 중 8 m/min 속도로 5분, 11 m/min 속도로 5분, 22 m/min 속도로 20분 운동, 저강도 운동: 1일 1회, 1회 30분 중 8 m/min 속도로 5분, 11 m/min 속도로 5분, 14 m/min 속도로 20분 동안 운동)을 변형하여 진행하였다(Table 1). 변형된 운동 프로토콜에 대한 전문가 내용타

당도는 노령 생쥐를 대상으로 운동 실험을 실시한 경험 있는 운동 생리학과 교수 1인, 기초생리학 교수 1인, 간호학과 교수 2인에게 검증받았다.

본 연구에서 중강도운동군은 1주 5일, 1일 2회, 1회 10분, 총 4주간 동물용 트레드밀 운동을 실시하였다. 1일째는 트레드밀에서 경사도 0°에서 8 m/min 속도로 1회 10분 동안 운동시켰고, 2일-2주는 경사도 0°에서 8 m/min 속도로 1회 10분, 총 2회, 3주-4주는 경사도 0°에서 20 m/min 속도로 1회 10분, 총 2회 운동시켰다. 저강도운동군은 1주 5일, 1일 2회, 1회 10분, 총 4주간 트레드밀 운동을 시켰다. 1일째는 트레드밀에서 경사도 0°에서 4 m/min 속도로 1회 1회, 1회 10분 동안 운동시켰고, 2일-4주는 경사도 0°에서 4 m/min 속도로 1회 2회, 1회 10분간 운동시켰다. 대조군은 특별한 운동처치 없이 사육케이지에서 4주간 사육하였다(Figure 1).

5. 자료 수집

1) 사전조사

(1) 체중

본 연구에서 실험처치 전 실험동물의 체중은 실험처치 첫날 오전 10-12시에 체중계(MWH-2000H, CAS, Yangju, Korea)를 이용하여 측정하였다. 체중계의 영점을 확인하고 실험동물을 넣을 네모상자를 체중계 위에 올린 후에 다시 영점을 조절하였다. 영점을 맞춘 네모상자 안에 실험동물을 중강도운동군, 저강도운동군 및 대조군 순서로 한 마리씩 올려놓고 체중을 측정하였다.

2) 사후조사

(1) 체중

본 연구에서 실험처치 후 실험동물의 체중은 실험처치가 종료된 다음날 오전 10시 30분에 체중계(MWH-2000H, CAS, Yangju, Korea)를 이용하여 사전조사와 동일한 방법으로 측정하였다.

(2) 사료 섭취량

실험처치 첫날에 새로 배급한 사료량에서 실험 종료 후에 남아 있는 사료량을 뺀 값으로 산출하였다.

Table 1. Exercise Protocol

Intensity	Slope (0°)	Speed (m/min)	Duration (day)	Time spent running (min)	Exercise interval (time/day)	Exercise frequency (day/week)
Moderate	0	8	1	10	2	5
	0	8	2-14	20	2	5
	0	20	15-28	20	2	5
Low	0	4	1	10	2	5
	0	4	2-28	20	2	5

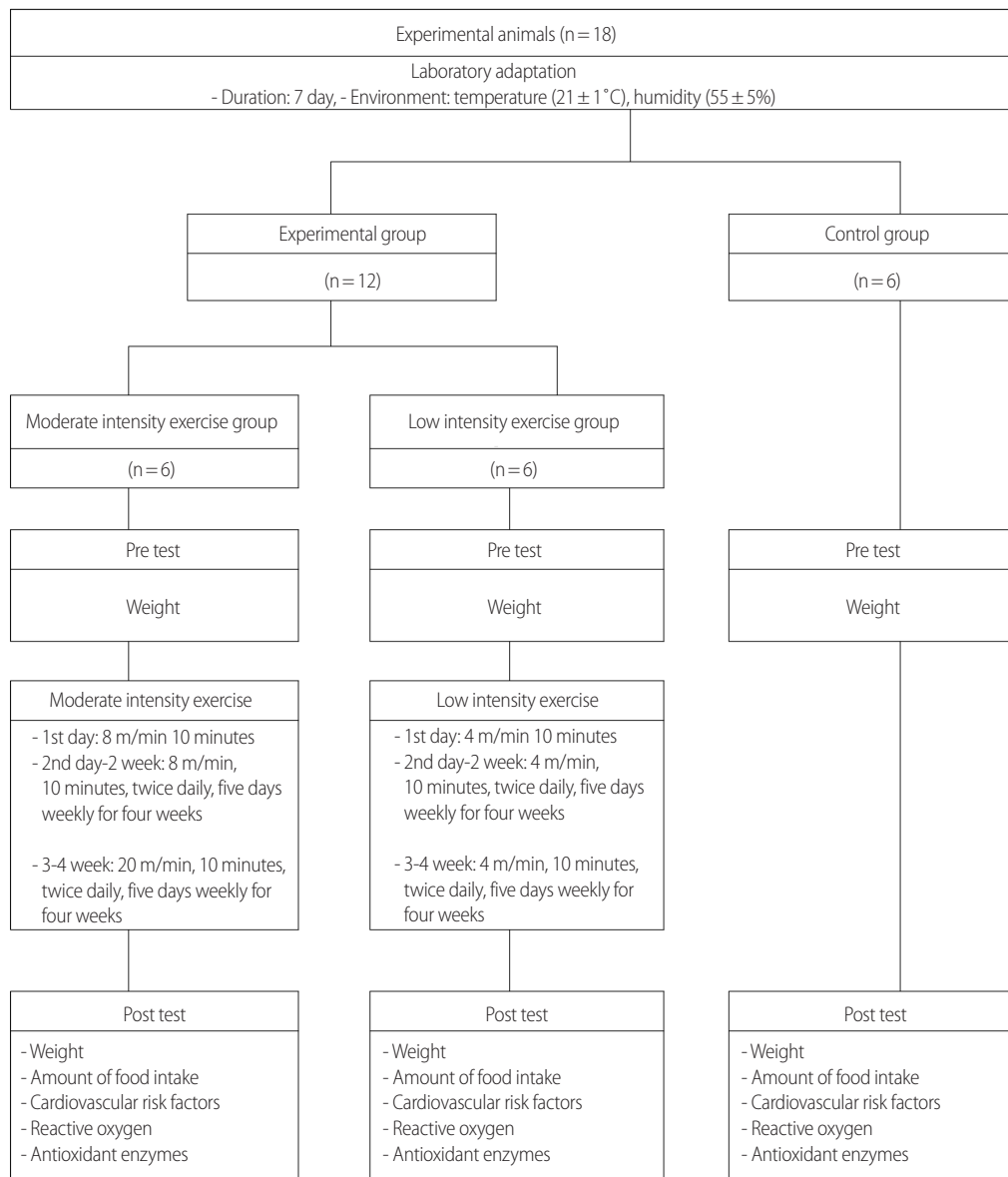


Figure 1. Research procedure.

(3) 혈청검사

본 연구에서는 혈청검사를 실시하기 위해 4주 운동 후 실험동물을 CO₂ gas로 마취시킨 후 복부 정중선을 따라 개복하여 복부 대동맥으로부터 10 mL의 혈액을 채취하였다. 채취한 혈액은 항응고제로 처리된 tube에 넣은 후, 3,000 rpm으로 10분간 원심분리하여 혈장을 분리시켜 심혈관질환인자 중 BS, TC 및 TG와 항산화효소인 SOD를 분석하였다.

(4) 간조직 검사

본 연구에서 간조직 검사를 위해 4주 운동 후에 실험동물의 간

을 제거한 후 0.9% 생리식염수로 간장을 관류시켜 간조직 내 혈액을 제거하고 혈액 및 기타 부착물질을 평량하였다. 간조직 1g당 4배량의 0.1 M 인산칼륨 완충액(potassium phosphate buffer, pH 7.5)을 가하여 빙냉하에서 간조직을 마쇄기(K749540-0000, AS ONE, Osaka, Japan)로 마쇄하였다. 이 마쇄액을 600×g에서 10분간 원심분리하였다. 핵 및 미마쇄부분을 제거한 상등액을 10,000×g에서 20분간 원심분리하여 105,000×g에서 1시간 동안 초원심분리기(VX-200 vortex mixer, Labnet, Edison, USA)로 재원심 분리하여 얻어진 상등액은 시토졸(cytosol)로 분획하여 활성산소인 MDA와 항산화효소인 GPX, GR을 측정하기 위한 효소원으로 사용하였다.

6. 자료 분석 방법

자료는 SPSSWIN 21.0 프로그램을 이용하여 다음과 같이 분석하였다.

- 1) 실험동물의 일반적 특성은 빈도, 백분율, 평균, 표준편차로 분석하고, 실험동물의 일반적 특성 및 연구변수의 동질성검정은 Chi-square test, ANOVA로 분석하였다.
- 2) 연구변수의 정규성은 Shapiro-Wilk test로 검정하였다.
- 3) 실험동물의 운동효과를 검증하는 가설은 ANOVA를 이용하여 검증하였으며, 사후검증은 Tukey 방법으로 검정하였다.

7. 윤리적 고려

본 연구는 G시 소재의 D대학교 동물실험윤리위원회로부터 연구의 목적, 방법, 대상 등에 대한 심의를 거쳐 연구 승인(IRB No. 201603147)을 받았다. 집단분류는 무작위 표본추출 방법으로 분류하였으며 집단별 실험동물 수는 생명존엄성에 따른 실험동물 최소 사용이라는 생명윤리위원회의 규정에 따라 각 군당 6마리로 선정하였다. 실험 종료 시 안락사 방법은 신속한 의식소실 및 사망을 유발하기 위해 조건부 허용인 경추탈골을 이용하였고, 실험동물 사체는 위탁 처리하였다.

연구 결과

1. 실험동물의 일반적 특성에 대한 동질성 검정

실험동물의 일반적 특성의 동질성을 검정한 결과, 실험동물의 성별은 모두 수컷이며, 연령은 18개월로 모두 동일하였다. 실험동물의 실험 전 체중은 중강도운동군 51.42±5.57 g, 저강도운동군 46.90±6.60 g, 대조군 47.98±4.88 g으로 세 군 간에 유의한 차이가 없어 세 군은 동질하였다(F=0.83, p=.459)(Table 2).

2. 운동강도에 따른 심혈관질환위험인자의 차이

본 연구에서 BS는 중강도운동군 193.83±12.89 mg/dL, 저강도운동군 184.86±13.39 mg/dL, 대조군 163.15±19.69 mg/dL로 세 군간에 통계적으로 유의한 차이가 있었다(F=5.09, p=.025). 세군간의 차이를 확인하기 위해 Tukey 방법으로 사후검증을 실시한 결과, 중강도운동군은 대조군과 유의한 차이가 있었다(p=.023). TC는 중강도운동군 57.65±11.97 mg/dL, 저강도운동군 95.26±13.37 mg/dL, 대조군 176.12±51.81 mg/dL로 세 군간에 유의한 차이가 있었다(F=14.42, p=.001). 중강도운동군은 대조군과 통계적으로 유의한 차이가 있었고(p=.010), 저강도운동군은 대조군과 통계적으로 유의한 차이가 있었다(p=.001). TG는 중강도운동군 166.66±34.13 mg/dL, 저강도운동군 188.41±26.25 mg/dL, 대조군 203.92±54.66 mg/dL로 세 군간에 유의한 차이가 없었다(F=1.09, p=.369). FER은 중강도운동군

Table 2. Homogeneity Verification of General Characteristics

(N=18)

Variables	Moderate intensity group (n=6)	Low intensity group (n=6)	Control group (n=6)	F	p
	n (%) or Mean ± SD				
Gender (male)	6 (100.0)	6 (100.0)	6 (100.0)		
Month (m)	18.00	18.00	18.00		
Weight (g)	51.42 ± 5.57	46.90 ± 6.60	47.98 ± 4.88	0.83	.459

SD = Standard deviation.

Table 3. Comparisons of Cardiovascular Risk Factors, Reactive Oxygen, and Antioxidant Enzymes according to Exercise Intensities

(N=18)

Variable		Moderate intensity group (n=6)	Low intensity group (n=6)	Control group (n=6)	F	p	Tukey
		Mean ± SD					
Cardiovascular risk factor	BS (mg/dL)	193.83 ± 12.89 ^a	184.86 ± 13.39 ^b	163.15 ± 19.69 ^c	5.09	.025	a > c
	TC (mg/dL)	57.65 ± 11.97 ^a	95.26 ± 13.37 ^b	176.12 ± 51.81 ^c	14.42	.001	a < c, b < c
	TG (mg/dL)	166.66 ± 34.13	188.41 ± 26.25	203.92 ± 54.66	1.09	.369	
	FER (%)	-10.74 ± 5.94	-9.12 ± 6.52	-3.32 ± 8.11	1.59	.244	
Reactive oxygen	MDA (nmol/mL)	604.97 ± 35.88 ^a	328.31 ± 61.10 ^b	321.48 ± 71.91 ^c	38.49	<.001	a > c, a > b
Antioxidant enzymes	SOD (U/mL)	77.35 ± 1.49 ^a	54.86 ± 4.40	50.23 ± 2.68 ^c	109.46	<.001	a > c
	GPX (nmol/min/mL)	17.68 ± 5.50 ^a	11.36 ± 2.60	9.60 ± 2.54 ^c	6.22	.014	a > c
	GR (nmol/min/mL)	0.0090	0.0076	0.0072	2.11	.164	

BS = blood sugar; FER = food efficiency ratio; GPX = glutathione peroxidase; GR = glutathione reductase; MDA = malondialdehyde; SD = Standard deviation; SOD = superoxide dismutase; TC = total cholesterol; TG = triglyceride.

-10.74±5.94%, 저강도운동군 -9.12±6.52%, 대조군 -3.32±8.11%로 세 군 간에 유의한 차이가 없었다($F=1.59$ $p=.244$)(Table 2).

3. 운동 강도에 따른 활성산소의 차이

본 연구에서 간조직에서 추출한 MDA 농도는 중강도운동군 604.97±35.88 nmol/mL, 저강도운동군 328.31±61.10 nmol/mL, 대조군 321.48±71.91 nmol/mL으로 세 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 있었다($F=38.49$ $p<.001$). 중강도운동군은 대조군과 유의한 차이가 있었고($p=.001$), 중강도운동군과 저강도운동군은 유의한 차이가 있었다($p<.001$)(Table 2).

4. 운동 강도에 따른 항산화효소의 차이

본 연구에서 혈중 SOD 활성도는 중강도운동군 77.35±1.49 U/mL, 저강도운동군 54.86±4.40 U/mL, 대조군 50.23±2.68 U/mL으로 세 군간에 통계적으로 유의한 차이가 있었다($F=109.46$, $p<.001$). 중강도운동군은 대조군과 유의한 차이가 있었다($p<.001$). 간조직에서 GPX 활성도는 중강도운동군 17.68±5.50 nmol/min/mL, 저강도운동군 11.36±2.60 nmol/min/mL, 대조군 9.60±2.54 nmol/min/mL으로 세 군간에 유의한 차이가 있었다($F=6.22$, $p=.014$). 중강도운동군은 대조군과 유의한 차이가 있었다($p=.015$). 간조직에서 GR 활성도는 중강도운동군 0.0090 nmol/min/mL, 저강도운동군 0.0076 nmol/min/mL, 대조군 0.0072 nmol/min/mL으로 세 군 간에 유의한 차이가 없었다($F=2.11$, $p=.164$)(Table 3).

논 의

본 연구는 4주 유산소 운동의 운동강도가 노령 생쥐의 심혈관질환위험인자, 활성산소 및 항산화효소에 미치는 효과를 규명하고 심혈관위험인자와 활성산소를 감소시키고 항산화효소를 증가시키는 적정 운동강도를 제시하고자 시도되었다. 본 연구에서 활용한 실험동물은 18개월된 C57BL/6 계통의 수컷 생쥐이다. 본 연구에서 18개월 생쥐를 노령 생쥐로 정의한 것은 Flurkey 등[22]이 18개월 생쥐를 노령 생쥐로 정의한 것을 근거로 하였다.

본 연구에서 4주 유산소 운동의 운동강도가 노령 생쥐의 심혈관 위험인자에 미치는 효과를 확인하기 위해 중강도운동군, 저강도운동군, 대조군의 차이를 비교한 결과 BS는 세 군 간에 통계적으로 유의한 차이가 있었고 중강도운동군이 저강도운동군보다 높은 수치를 나타냈다. 이는 운동강도가 높으면 운동 시에 산소소모량이 증가하여 세포내 스트레스가 더 많이 발생하게 되고, 이로 인해 근육에서 인슐린저항성이 생기게 되어 췌장의 β 세포 기능을 저하시키

기 때문에 설명할 수 있다[23]. 그러나 Lee 등[14]이 12개월 노령 쥐를 대상으로 매일 40분씩, 주당 5일, 8주간 수영운동을 실시한 후 혈당이 감소하였다고 보고한 결과와 Kang [15]이 20주령 쥐를 대상으로 매일 30분씩, 주당 5일, 총 8주간 트레드밀을 이용한 중강도 유산소 운동을 실시한 후 혈당이 감소하였다고 보고한 결과와는 차이가 있었다. 선행연구[14,15] 결과는 유산소 운동이 대사를 증가시켜 근육과 간조직에서 포도당을 효율적으로 이용하기 때문에 설명할 수 있다[24]. 그러나 운동에 따른 혈당의 변화에 대해서는 일관적이지 않는 결과가 보고되고 있으므로 추후 운동종류, 운동기간 및 운동강도를 비교한 연구를 통해 유산소 운동에 의한 혈당 변화를 규명하는 연구가 필요하다.

본 연구에서 TC와 TG는 세 군 간 통계적으로 유의한 차이가 있었고, 실험군(중강도운동군, 저강도운동군)이 대조군보다 낮았다. 이는 4주령의 쥐에게 1일 1회 30분, 주당 5일, 4주간 유산소 운동을 실시한 후, 운동군에서 TC가 감소한 것으로 보고한 Kim과 Baek [17]의 연구결과와 4주령의 쥐를 대상으로 1일 30분, 주 5일, 2주 동안 유산소 운동을 실시한 후 TC가 감소한 것으로 보고한 Baek과 Lee [25]의 연구결과와도 일치한다. 본 연구와 선행연구[17,25]에서 유산소 운동이 혈청 TC의 수치를 낮춘 것은 유산소 운동으로 간 및 근육의 글리코겐이 소비되면서 순환되는 혈액 중의 지방이 에너지원으로 이용되기 때문이다[26]. 본 연구에서 중강도운동군의 TG는 166.66 mg/dL, 저강도운동군은 188.41 mg/dL, 대조군은 203.92 mg/dL로, Yin 등[27]이 본 연구에서 실험동물로 사용된 C57BL/6 생쥐의 TG 정상치를 130 mg/dL로 제시한 것과 비교하면 세군 모두 정상치 보다 높았다. 이는 선행연구에서는 실험동물 종별 정상치를 제시하였으나 본 연구에서는 18개월 노령 생쥐를 대상으로 하였기 때문에 판단된다. 그러나 실험동물의 개월에 따른 TG의 변화를 제시하고 있지 않기 때문에 TG 수치의 차이를 직접 비교하기 어려운 제한점이 있다. 그러나 본 연구에서 중강도운동군이 대조군보다 낮았다. 이는 운동이 지방으로부터 에너지 동원을 가능하게 하는 지질 단백질 가수 분해 효소 활성(lipoprotein lipase activity, LPLA)을 더욱 촉진시키고, 간에서 TG 합성을 유발하는 간성 트리아실글리세롤지질가수분해효소 활성(hepatic triglyceride lipase activity, HTGLA)을 억제하여 혈중 TG 농도를 낮추기 때문에 설명할 수 있다 [28].

본 연구에서 간조직의 MDA 농도는 중강도운동군이 저강도운동군과 대조군보다 높았다. 본 연구는 간조직에서 MDA 농도를 측정하였으나 간조직에서 MDA 농도를 측정된 선행연구는 없어 혈중 MDA 농도를 측정된 연구와 비교하고자 한다. 4주령 쥐를 대상으로 점증적인 부하 운동방법으로 1회 30분간 주 5회, 4주간 유산소

운동을 실시한 후 운동군에서 혈중 MDA 농도가 증가하였다고 보고한 선행연구[20]와 일치하였다. 이처럼 본 연구와 선행연구[20]에서 실험군이 대조군보다 MDA 농도가 높게 나타난 것은 유산소 운동이 에너지 대사를 촉진하고 산소소모량을 증가시켜 산화적 스트레스를 촉진하므로 MDA 발현량이 증가한 것으로 설명할 수 있다[10].

본 연구에서 혈중 SOD 활성도는 중강도운동군이 대조군보다 높았다. 이는 Kim 등[29]이 60주령의 노령 쥐를 저강도운동군과 고강도운동군으로 분류하고 주 5회, 총 8주간 유산소 운동을 실시한 결과, 혈중 SOD 농도는 저강도운동군이 가장 높았고, 고강도운동군은 대조군보다 낮았다고 보고한 연구결과와 유사하다. 이는 유산소 운동을 하면 항산화효소의 생성이 증가하여 인체를 보호하기 때문으로 판단된다. 그러나 본 연구에서는 저강도운동군보다는 중강도운동군에서, 선행연구에서는 고강도운동군보다 저강도운동군에서 SOD 농도의 활성이 증가한 것은 차이가 있으므로 추후 운동강도가 항산화효소에 미치는 영향을 반복연구할 것을 제안한다.

본 연구에서 간조직의 GPX 활성도는 중강도운동군과 저강도운동군 두 군 간에 유의한 차이는 없으나, 중강도운동군이 대조군보다 높게 나타났다. 이는 12개월된 쥐를 대상으로 1회 90분, 주 5회, 10주 동안 수영운동을 실시한 후 간조직에서 추출한 GPX 활성도가 실험군이 대조군에 비하여 통계적으로 유의하게 높았다고 보고한 선행연구[18]와 일치한다. GPX는 과산화지질을 분해하는 glutathione의 활성을 촉진하는 요소로[20], 세포 내에서 GR과 관련이 있다[29]. Yoon과 Kim [18]의 연구에서는 1회 30분간, 주 5회, 8주간의 유산소 운동을 실시 후 중강도운동군에서 GPX 활성도가 가장 높았다고 보고한 결과와 유사하다. 본 연구에서 간조직의 GR 활성도는 세 군 간에 유의한 차이가 없었지만 실험군(중강도운동군, 저강도운동군)이 대조군보다 높았다. 이는 12개월된 쥐를 대상으로 1회 90분, 주 5회, 10주 동안 수영운동을 실시한 후 간조직에서 추출한 GR 활성도가 운동군이 대조군에 비하여 유의하게 높았다고 보고한 결과와 일치한다[30]. 본 연구와 선행연구[30]의 결과는 유산소 운동으로 항산화 효소가 증가하는 것을 의미한다. 그러나 본 연구는 운동강도에 따른 차이를 규명하고자 시도하였으므로 추후 운동기간, 운동강도를 달리한 반복연구가 필요하다. 또한 본 연구는 실험동물을 활용하여 운동강도에 따른 유산소운동의 효과를 혈청뿐 아니라 간조직의 활성산소와 항산화효소에서 규명하기 위해 연구하였는데 의의가 있다. 그러나 생명윤리위원회 규정으로 최소한의 동물을 사용하여 연구하였기 때문에 연구결과를 일반화 하는데 제한점이 있으므로 반복연구가 필요하다.

결론

본 연구는 4주 유산소 운동의 운동강도가 노령 생쥐의 심혈관질환 위험인자, 활성산소 및 항산화효소에 미치는 영향을 규명하기 위해 18개월된 C57BL/6 계통의 수컷 생쥐를 대상으로 실험군(중강도운동군[n=6], 저강도운동군[n=6]), 대조군(n=6)으로 나누어 1회 10분, 1일 2회, 주 5일 총 4주간 트레드밀을 이용한 유산소 운동을 실시하였다. 본 연구에서 심혈관질환 위험인자 중 BS, TC, 활성산소인 MDA와 항산화효소인 SOD과 GR은 대조군과 중강도운동군 간에 유의한 차이가 있었다.

본 연구의 결과는 노령 생쥐의 심혈관질환 위험인자를 감소시키고 활성산소를 감소시키며 항산화효소를 증가시키기 위해 중강도운동이 적절함을 의미하며 추후 노인을 위한 운동지침을 개발하기 위해서는 운동강도에 따른 효과를 비교하는 연구를 반복할 것을 제안한다.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declared no conflict of interest.

AUTHORSHIP

JSH and JMY contributed to the conception and design of this study; KJH and JHJ collected data; JSH performed the statistical analysis and interpretation; KJH drafted the manuscript; JSH and JMY critically revised the manuscript; JMY supervised the whole study process. All authors read and approved the final manuscript.

REFERENCES

1. Ministry of health and welfare. Press kitInternet. Sejong: Ministry of health and welfare; 2015 cited 2020 Mar 17. Available from: http://www.mohw.go.kr/react/al/sal0301vw.jsp?PAR_MENU_ID=04&MENU_ID=0403&CONT_SEQ=324926
2. Statistics Korea. Annual report on the causes of death statisticsInternet. Daejeon: Statistics Korea; 2018 cited 2020 Feb 9. Available from: http://www.index.go.kr/potal/main/EachDtlPageDetail.do?idx_cd=1012
3. Chau D, Cho LM, Jani P, St Jeor ST. Individualizing recommendations of weight management in the elderly. *Current Opinion in Clinical Nutrition Metabolic Care*. 2008;11(1):27-31. <http://doi.org/10.1097/MCO.0b013e3282f31744>
4. Sakuma K, Yamaguchi A. Sarcopenic obesity and endocrinal adaptation with age. *International Journal of Endocrinology*. 2013;2013:204164. <http://doi.org/10.1155/2013/204164>

5. Bellanger TM, Bray GA. Obesity related morbidity and mortality. *Journal of the Louisiana State Medical Society*. 2005;157(1):42-49.
6. National health insurance service. 2018 national health insurance statistical yearbook Internet. Gangwon: 2019 cited 2020 Mar 17. Available from: <https://www.nhis.or.kr/bbs7/boards/B0039/32879>
7. Park MH. *Gerontological nursing*. 4th ed. Seoul: Hakji branch; 2018. p. 252-253.
8. Marniemi J, Peltonen P, Vuori I, Hietanen E. Lippoprotein lipase of human postheparin plasma and adipose tissue in relation to physical training. *Acta Physiologica Scandinavica*. 1980;110(2):131-135. <https://doi.org/10.1111/j.1748-1716.1980.tb06642.x>.
9. Madden KM, Lockhart C, Cuff D, Potter TF, Meneilly GS. Short-term aerobic exercise reduce arterial stiffness in older adults with type 2 diabetes, hypertension, and hypercholesterolemia. *Diabetes Care*. 2009;32(8):1531-1535. <https://doi.org/10.2337/dci09-0149>
10. Reiter RJ. Oxygen radical detoxification processes during aging: the functional importance of melatonin. *Aging Clinical and Experimental Research*. 1995;7(5):340-351. <https://doi.org/10.1007/BF03324344>
11. Knez WL, Jenkins DG, Coombes JS. Oxidative stress in half and full Ironman triathletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*. 2007;39(2):283-288. <https://doi.org/10.1249/01.mss.0000246999.09717.0c>
12. Powers SK, Jackson MJ. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. *Physiological Reviews*. 2008;88(4):1243-1276. <https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2007>
13. Miyazaki H, Oh-ishi S, Ookawara T, Kizaki T, Toshinai K, Ha S, et al. Strenuous endurance training in humans reduces oxidative stress following exhausting exercise. *European Journal Applied Physiology*. 2001;84(1-2):1-6. <https://doi.org/10.1007/s004210000342>
14. Lee J, Sim CH, Sim YT, Yoo JY, Kim JR, Kim WK. Change of AMPK & GLUT-4 protein expression by swim exercise in fat tissue of ageing mice. *Korean Journal of Sport Science*. 2007;18(4):64-73. <https://doi.org/10.24985/kjss.2007.18.4.64>
15. Kang EB. Effects of treadmill exercise on ER stress and insulin resistance in the hippocampus of high-fat fed rats. *Exercise Science*. 2015;24(2):143-154. <https://doi.org/10.15857/ksep.2015.24.2.143>
16. Kazeminasab F, Marandi M, Ghaedi K, Esfarjani F, Moshtaghian J. Effects of a 4-week aerobic exercise on lipid profile and expression of LXRs in rat liver. *Cell Journal*. 2017;19(1):45-49. <https://doi.org/10.22074/cellj.2016.4871>
17. Kim SH, Baek YH. Effects of aerobic exercise and black garlic intake on blood lipids, lipid peroxidation and BAP in rats. *Journal of Life Science*. 2011;21(7):1025-1031. <https://doi.org/10.5352/JLS.2011.21.7.1025>
18. Yoon JH, Kim YP. The effects of exercise intensity difference on cell proliferation and antioxidant enzymes in dentate gyrus of hippocampus in aging F344 rats. *Journal of Physical Growth and Motor Development*. 2004;12(2):25-39.
19. Okudan N, Belviranli M. Effects of exercise training on hepatic oxidative stress and antioxidant status in aged rats. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2016;122(4):180-185. <https://doi.org/10.1080/13813455.2016.1199574>
20. Song GS, Kwon SJ, Kwon SO. The effect of low intensity treadmill exercise and full spectrum irradiation on antioxidant enzyme in rats. *Exercise Science*. 2014;23(2):159-169. <https://doi.org/10.15857/ksep.2014.23.2.159>
21. Kim YB, Kim HB, Jang MH, Lim BV, Kim YJ, Kim H, et al. Magnitude- and time-dependence of the effect of treadmill exercise on cell proliferation in the dentate gyrus of rat. *International Journal of Sports Medicine*. 2003;24(2):114-117. <https://doi.org/10.1055/s-2003-38202>
22. Flurkey K, Curren JM, Harrison DE. The mouse in aging research. In: Fox JG et al, editors. 2nd Ed. Burlington, MA: Elsevier; 2007. p. 637-672.
23. Oscai LB, Gorski J, Miller WC, Palmer WK. Role of the alkaline TG lipase in regulating intramuscular TG content. *Medicine and Science in Sports and Exercise*. 1988;20(6):539-544. <https://doi.org/10.1249/00005768-198812000-00004>
24. McTiernan A, Sorensen B, Irwin WL, Morgan A, Yasui Y, Rudolph RE, et al. Exercise effect on weight and body fat in men and women. *Obesity*. 2007;15(6):1496-1512. <https://doi.org/10.1038/oby.2007.178>
25. Baek YH, Lee SH. The effect of aerobic exercise and allium tuberosum intake on blood lipids, MDA and antioxidant enzyme in rats. *Journal of Life Science*. 2010;20(2):245-252.
26. Schokman CP, Rutishauser LH, Wallace RJ. Pre- and postgame macronutrient intake of a group of elite Australian football player. *Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*. 1999;9(1):60-69. <https://doi.org/10.1123/ijns.9.1.60>
27. Yin W, Carballo JE, McLaren DG, Mendoza VH, Gagen K, Geoghagen NS, et al. Plasma lipid profiling across species for the identification of optimal animal models of human dyslipidemia. *Journal of Lipid Research*. 2012;53(1):51-65. <https://doi.org/10.1194/jlr.M019927>
28. Ruderman N, Prentki M. AMP kinase and malonyl-CoA: targets for therapy of the metabolic syndrome. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2004;3(4):340-351. <https://doi.org/10.1038/nrd1344>
29. Kim JH, Jeon YK, Kim JW, Lee JY, Cho WJ. Influence of antioxidant enzyme and apoptotic factor by different according to intensities regular aerobic exercise in older rats. *Korean Journal of Sport Science*. 2011;20(4):911-921.
30. Venditti P, Di Meo S. Effects of training on antioxidant capacity, tissue damage and endurance of adult male rats. *International Journal of Sports Medicine*. 1997;18(7):497-502. <https://doi.org/10.1055/s-2007-972671>