

남자 대학생의 적혈구 항산화 효소 활성 및 혈장 TRAP 수준에 대한 운동량 및 기타 관련 요인의 영향*

강 명 희[§] · 윤 지 숙

한남대학교 이과대학 식품영양학과

The Effects of Exercise and Other Relating Factors on the Activity of Erythrocyte Antioxidant Enzymes and Plasma TRAP Levles in Male College Students*

Kang, Myung-Hee[§] · Yun, Ji-Suk

Department of Food and Nutrition, Hannam University, Daejeon 306-791, Korea

ABSTRACT

This study was conducted to evaluate the effect of regular exercise and other relating factors on the activities of erythrocyte antioxidant enzymes and plasma total radical-trapping antioxidant potential (TRAP) in 61 healthy male college students. The study population were divided in two groups: small amount of exerciser (exercise time less than 30min/d) and moderate amount of exerciser (exercise time more than 30min/d) according to their physical exercise habits measured by a questionnaire. Dietary intake of vitamin C and vitamin E, plasma lipid profiles, erythrocyte superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) and catalase activities, as well as plasma TRAP levels were determined. Plasma TRAP level was significantly higher in moderate amount of exercisers than that in small amount of exercisers. No significant differences were observed in erythrocyte SOD, catalase and GSH-Px between the two groups. Mean exercise time was positively correlated with the plasma level of TRAP significantly, and amount of alcohol consumption was negatively correlated with the erythrocyte SOD activity. Dietary vitamin C and E intakes did not correlated with either erythrocyte enzyme activities or plasma TRAP levels. There were positive correlations between plasma HDL-cholesterol, and erythrocyte GSH-Px or plasma TRAP levels. Plasma vitamin C concentrations was negatively correlated with plasma TRAP levels and erythrocyte SOD activity, however plasma vitamin E concentration was positively correlated with erythrocyte GSH-Px activity. The results would suggest that regular moderate exercise, nonsmoking, high HDL-cholesterol and high plasma vitamin E concentration enhance antioxidant defences against reactive oxygen species and may increase the likelihood of a healthier life span. (*Korean J Nutrition* 35(1) : 30~36, 2002)

KEY WORDS: exercise, smoking, antioxidant enzymes, TRAP, vitamin C, vitamin E, HDL-cholesterol.

서 론

활성 산화 물질(reactive oxygen species, ROS)은 산소의 체내 대사 과정 중에 생성되는데 세포가 나이를 먹거나, 흡연, 자외선, 환경오염에 노출이 증가되든지 또는 부적절한 운동 등의 원인에 의해 그 생성속도가 높아진다.^{1,2)} ROS 농도가 증가하여 항산화계의 방어한계를 넘어서면 oxidative stress 현상이 일어나며 그 결과로 세포의 단백질, 탄수화물, 지질 뿐만 아니라 DNA까지 손상을 입혀 심

혈관계질환, 암 등의 질병에 이르게 된다.³⁾ ROS는 항산화 방어기전에 의해 제거되면서 균형을 유지하는데,⁴⁾ 세포 내 방어 기전은 ROS 제거 항산화 효소인 superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px), catalase 등에 의해 수행되며,⁵⁾ glutathione과 ascorbate도 세포 내 ROS의 독성을 중화시키는데 중요한 역할을 담당한다.⁶⁾ 세포 외 ROS 중화는 주로 혈장과 간질액에 고농도로 존재하는 비 효소계 방어 기전, 특히 ascorbate 및 지용성 항산화 비타민(vitamin E, carotenoids)들에 의해 이루어지고 있다.⁷⁾ 따라서 비타민 C, E와 같은 항산화 비타민 섭취가 부족하거나, SOD, GSH-Px와 같은 항산화 효소 합성의 저하, 혹은 흡연 등 항산화 물질이 너무 많이 소모되는 환경 등이 있으면 신체 내 항산화 방어체계가 결핍상태가 될 수 있다. 신체 내 selenium, manganese, copper,

접수일 : 2001년 12월 27일

채택일 : 2002년 1월 10일

*This research was supported by 2001 research grants from Hannam University.

[§]To whom correspondence should be addressed.

zinc 등 미량영양소의 유용도가 떨어지면 항산화 효소 합성률은 감소한다.⁹⁾ 특히 격렬한 근육 운동을 할 경우 운동 시 산소 섭취량 증가에 따라 세포 내 ROS 생성이 증가하고 이로 인해 체내 항산화 방어체계에 손상이 온다.⁹⁾

비활동적인 생활습관을 가진 사람은 활동적인 사람보다 평균수명이 짧다.¹⁰⁾ 적절한 양의 운동은 ROS에 대한 체내 항산화 방어 능력을 향상시켜 운동으로 증가된 지질 과산화를 감소시키며,^{11,12)} 산화적 손상에 대한 내성을 증가시켜 65세 이전에 만성질환으로 인한 사망률을 85% 이상 예방할 수 있을 뿐 아니라 심혈관계 질환을 비롯하여 여러 종류의 암을 예방할 수 있다.^{13,14)} 규칙적인 운동을 하는 사람은 혈액 중의 비타민 C, 비타민 E 및 적혈구 항산화 효소활성이 높으며,¹⁵⁾ 산화적 스트레스를 덜 받으면서 강도 높은 일을 수행할 수 있다.

운동과 ROS, 항산화체계에 관해 수행된 연구는 대부분 운동선수들을 대상으로 또는 짧은 시간에 격렬한 운동을 시키고 난 뒤 변화를 관찰하는 것으로 한정되어 있으며 그 결과가 운동의 종류, 정도 및 조사대상자의 나이 등에 따라 다르게 나타나고 있다. 운동선수가 아닌 일반인 대상의 연구도 단기간 동안 운동을 시키고 운동전후의 항산화 수준을 측정된 연구 및 쉬는 상태에서 항산화 수준을 측정하여 평소 운동량에 따라 비교한 것이 몇 편 보고되었으나¹⁶⁻¹⁸⁾ 많지 않으며, 운동량이 항산화 효소 및 항산화능에 미치는 영향을 본 연구는 거의 없다.

따라서 본 연구는 젊은 남자 대학생을 대상으로 적혈구 항산화 효소인 SOD, GSH-Px 및 catalase 활성도와 혈장 총 유리기포집 항산화능 (TRAP) 수준을 측정하고 이에 대한 운동습관 및 식이를 통한 비타민 섭취, 혈장 지질 수준, 그리고 혈장 비타민 수준 등, 기타 관련요인들의 영향을 알아보기 위해 시도되었다.

연구대상 및 방법

1. 연구 대상자 선정 및 채혈

본 연구는 H대학교에 재학중인 18~26세의 건강한 남자 대학생 61명을 대상으로 1999년 11월부터 1999년 12월까지 수행되었다. 조사에 응했던 92명 중 설문조사 결과 운동량이 하루 2시간 이상인 사람을 제외한 61명을 최종 대상으로 선정하였다. 이들을 운동량에 따라 운동량이 하루 30분 미만인 저 운동군(small-amount exercisers, 29명)과 운동량이 하루 30분 이상인 적정 운동군(moderate-amount exercisers, 32명)으로 나누었다. 대상자들은 채혈 전 9시간 이상 음식을 먹지 않도록 지도하였으며, 이들로부

공복의 안정상태에서 헤파린이 처리된 시험관(vacutainer, Becton Dickinson Co.)을 사용하여 약 10mL의 혈액을 채취하였다. 채혈 즉시 상하로 천천히 12회 이상 흔든 후 ice box에 보관하였고, 1000rpm에서 15분간 원심 분리하여 상층의 PRP (platelet-rich plasma)를 취한 뒤 다시 3000rpm에서 30분간 원심 분리하여 상층의 PDP (platelet-deficient plasma)를 분리한 후, TRAP 분석 전까지 -80℃ 냉동고에 보관하였다. 적혈구는 isosmotic phosphate buffered saline으로 처리하여 적혈구 현탁액을 만들어 질소를 채운 후 항산화 효소의 분석을 위해 -80℃ 냉동고에 보관하였다.

2. 조사내용 및 방법

1) 일반사항, 운동량 조사 및 신체계측 조사

일반사항 및 운동량에 대한 조사는 설문지를 사용하여 조사하였다. 일반사항으로는 나이, 영양제 복용 여부, 흡연여부, 흡연량, 흡연력, 금연기간, 알코올 섭취 여부, 알코올의 종류와 섭취량 등을 조사하였으며, 운동량은 운동의 규칙성, 운동 횟수, 운동량, 운동강도 및 종류 등에 대한 내용을 조사하였다. 신장은 신장계, 체중은 체중계로 측정하였고, BMI (body mass index)는 신장과 체중으로부터 계산하였다.

2) 식이 섭취 조사

식이 섭취 조사는 24시간 회상법을 사용하여 1대 1 면담하는 방식으로 실시하였다. 면담은 사전에 훈련을 받은 조사원들에 의해 실시되었으며, 대상자들이 분량을 회상하는데 도움을 주기 위하여 food model을 제시하여 섭취한 모든 음식의 종류와 섭취량이 가능한 정확하게 조사되도록 하였다. 조사 결과로부터 한국영양학회 부설 영양정보센터에서 제작한 CAN program과 한국인 영양권장량(6차 개정)¹⁹⁾을 이용하여 영양소 섭취량을 구하였다.

3) 적혈구 내 항산화 효소활성 측정

적혈구내 SOD, GSH-Px, catalase 등의 항산화효소의 분석은 UV/VIS spectrometer에 의해 측정하였다. SOD는 적혈구 현탁액을 증류수로 용혈시킨 후 ethanol과 chloroform을 가하고 이를 3000U/min, 2분간 원심 분리하였다. 그 상층액을 여러 농도로 나누어 37℃에서 10분간 배양한 후 20μl의 pyrogallol를 첨가한 후 320nm에서 180초간 측정하였다. 적혈구내 SOD의 활성은 pyrogallol의 자동산화를 50% 억제하는 antioxidant capacity로 정의하였다.²⁰⁾ GSH-Px는 과산화물(t-butylhydroperoxide)에 의해 glutathione이 산화되는 반응을 촉매한다. 이 때 산화된 glu-

tathione은 glutathione reductase와 NADPH의 존재하에 다시 glutathione으로 환원되고 NADPH는 NADP로 산화된다. 이를 이용해 용혈된 적혈구에 glutathione, glutathione reductase, NADPH를 첨가하고 37°C, 10분간 배양한 뒤 t-butylhydroperoxide를 넣어 반응시켰으며 이때 감소된 NADPH농도를 340nm에서 90초간 측정함으로써 GSH-Px의 항산화 정도를 측정하였다.²¹⁾ Catalase의 활성은 용혈된 적혈구에 50mM phosphate buffer(pH 7)와 hydrogen peroxide를 첨가한 후 hydrogen peroxide의 감소량을 240nm에서 30초간 측정하였다.²²⁾

4) 혈장 TRAP 측정

혈장 중 TRAP은 Rice-Evans and Miller²³⁾의 inhibition assay 법에 따라 분석하였다. 이 방법은 ABTS(2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline 6-sulfonate), 150µM)와 metmyoglobin (2.5µM)을 H₂O₂(75µM)로 활성화시킴으로써 생성된 ferryl myoglobin radical species와의 상호 작용에 의해 형성된 ABTS radical cation의 absorbance를 측정하는데 기초를 두고 있으며 그 absorbance의 억제 정도는 sample (0.84% plasma)에 들어 있는 antioxidant capacity에 비례하게 된다. Sample을 6분 동안 30°C에서 배양한 후 UV/VIS spectrometer로 740nm의 파장에서 absorbance를 측정하였다. 혈장의 TRAP 농도는 trolox의 calibration curve를 이용하여 계산하였으며 TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity, mM)로 표현하였다.

5) 혈장 비타민 C, α-tocopherol 및 γ-tocopherol 수준 측정

혈장 vitamin C 수준은 0.75 M metaphosphoric acid로 채혈 당일에 분리한 PRP 혈장의 단백질을 제거한 후 2,4-dinitrophenylhydrazine method²⁴⁾를 이용하여 520nm에서 Spectrophotometer (Shimadzu UV-1601)로 측정하였다. 혈장 α-tocopherol 및 γ-tocopherol은 ethanol로 PDP 혈장의 단백질을 제거하고 n-Hexane으로 지방을 추출한 후 rotary evaporator로 hexane을 증발시키고, mobile phase에 녹여 295nm에서 HPLC로 측정하였다.²⁵⁾ 분석에 사용한 HPLC column은 Merck, LiChrosper 100 RP-18 (5µm), pump는 Shimadzu LC-10AT, integrator는 Shimadzu C-R6A Chromatopac을 사용하였으며, flow rate는 0.8mL/min, mobile phase는 methanol: dichloromethane = 85: 15, wavelength는 295nm에서 측정하였다.

3. 자료의 처리

모든 자료는 MS의 excel database system을 이용하여

입력한 후 SPSS-PC+ 통계 package (version 7.0)를 사용하여 처리하였다. 각 항목에 따라 백분율과 평균치 ± 표준오차(SE)를 구하였으며 운동량에 따라 나눈 두 그룹간의 평균치에 대한 유의적인 차이는 Student t-test로 검증하였다. 각 군간의 표본 분포의 비교는 χ^2 -test에 의해 알아보고 변수들 간의 관계를 검증하기 위해 Pearson's correlation coefficient와 multiple linear regression 분석을 이용하였다.

결 과

총 61명의 대상자들 중 운동을 전혀 하지 않거나 운동시간이 하루 30분 미만인 저운동군은 29명, 하루 30분 이상

Table 1. General characteristic of the subjects

	Small-amount exerciser (n=29)	Moderate-amount exerciser (n=32)	p-value
Age(years)	23.1 ± 0.4	21.2 ± 0.4 ¹⁾	0.002 ²⁾
Height(cm)	170.6 ± 1.1	174.9 ± 1.1	0.009
Weight(kg)	64.4 ± 1.5	70.0 ± 1.5	0.012
BMI(kg/m ²)	22.1 ± 0.5	22.9 ± 0.4	NS ³⁾
WHR ⁴⁾	0.8 ± 0.0	0.8 ± 0.0	NS
% Body fat	17.7 ± 0.9	15.5 ± 0.6	NS
% Abdominal fat ⁵⁾	82.0 ± 0.0	80.9 ± 0.0	NS
Exercise habits			
Amount(min/day)	12.0 ± 0.0	60.0 ± 0.1	0.000
None	10(34.5%)	-	
≤ 30min/day	19(65.5%)	-	
31 - 60min/day	-	21(65.6%)	
61 - 119min/day	-	11(34.4%)	
Frequency			0.001 ⁶⁾
≥ 5/week	6(20.7%)	19(59.4%)	
3 - 4/week	4(13.8%)	6(18.8%)	
1 - 2/week	9(31.0%)	7(21.9%)	
None	10(34.5%)	0(0.0%)	
Smoking habits			
Smoker	17(58.6%)	19(59.4%)	NS
Pack years ⁷⁾	4.5 ± 0.9	2.3 ± 0.5	0.030
Drinking habits			
Drinker	23(79.3%)	27(84.4%)	NS
Amount(drink ⁸⁾ /day)	0.7 ± 0.2	2.8 ± 0.5	0.001

1) Mean ± SE

2) p-values by Student t-test

3) Not significant

4) Circumference of Waist/Circumference of Hip

5) (Abdominal fat/Body fat) × 100

6) p-values by Chi-square test

7) Pack years = (Cigarettes smoked/day × Years smoked)/20

8) One drink is a dose of alcoholic beverage that delivers 14 g of pure alcohol

운동을 하는 적정운동군은 32명이었다(Table 1). 평균나이는 저운동군이 23.1세, 적정운동군이 21.2세로 저운동군의 나이가 더 많았다. 신장과 체중은 적정운동군이 저운동군에 비해 높았으나 BMI는 차이가 없었다. 대상자들의 평균 운동량은 저 운동군이 하루에 12분, 적정 운동군이 하루에 60분이었으며, 저 운동군의 경우 운동을 하지 않는 사람의 비율이 34.5%이고, 주 5회 이상 규칙적으로 운동하는 사람의 비율은 20.7%인데 비해, 적정 운동군은 모두 운동을 하고 있었고, 주 5회 이상 규칙적으로 운동하는 사람의 비율이 59.4%를 보여 두 군의 운동 습관에 유의적인 차이를 보였다. 저운동군과 적정운동군의 흡연자 비율은 각각 58.6%와 59.4%로 차이가 없었으나 흡연력은 적정운동군에 비해 저 운동군에서 유의적으로 더 높았다. 음주자 비율도 두 그룹간의 차이가 없었으나 음주량은 저운동군에 비해 적정운동군에서 더 많았다.

대상자를 운동량, 흡연여부 및 음주여부에 따라 나누어 각각 적혈구내 항산화 효소활성 및 혈장 총 유리기 포집 항산화능(TRAP) 수준을 본 결과는 Table 2에 제시하였다.

Table 2. The effect of exercise on erythrocyte SOD, GSH-Px, catalase and plasma TRAP levels of the subjects¹⁾

	Small amount of exercisers (n = 29)	Moderate amount of exercisers (n = 32)
SOD (U/gHb) ²⁾	1978.7 ± 30.9	1915.4 ± 35.4
GSH-Px (U/gHb) ³⁾	19.8 ± 0.7	19.9 ± 0.9
Catalase (U/gHb)	20.5 ± 0.6	19.3 ± 0.7
TRAP (mmol/l) ⁴⁾	2.05 ± 0.1	2.18 ± 0.0*

1) Mean ± SE
 2) Superoxide dismutase
 3) Glutathione peroxidase
 4) Total radical-trapping antioxidant potential
 *: p < 0.05

적혈구 SOD, GSH-Px와 catalase의 활성은 운동량 뿐 만 아니라 흡연여부나 음주여부에 따라서도 유의적인 차이를 보이지 않았다. 그러나 혈장 내 총 항산화 능력을 측정하는 TRAP 수준은 적정운동군(2.18 ± 0.0mmol/l)이 저 운동군(2.05 ± 0.1mmol/l)보다, 흡연군(2.23 ± 0.04mmol/l)이 비흡연군(2.07 ± 0.04 mmol/l)보다 유의적으로 높았다. 대상자의 음주 여부에 따른 혈장 TRAP 수준의 차이는 볼 수 없었다.

대상자들을 운동량에 따라 두 군으로 나눈 후, 다시 흡연 및 음주 여부에 따라 나누어서 적혈구 항산화 효소활성 및 혈장 TRAP 수준을 본 결과는 Table 3과 같다. 저 운동군의 적혈구 SOD 활성은 비흡연군에서 흡연군보다 유의적으로 높게 나타났으며(p < 0.01), 음주에 의한 차이는 볼 수 없었다. 적정운동군의 경우 흡연 여부에 따른 적혈구 SOD, GSH-Px 및 catalase 활성은 유의적인 차이를 보이지 않았으나, 비흡연군의 혈장 TRAP 수준은 흡연군보다 유의적으로 높았다(p < 0.05). 적정운동군을 다시 음주여부에 따라 나누었을 때 음주자의 적혈구 GSH-Px 효소 활성도가 비음주자에 비해 높았다(p < 0.05).

대상자들의 나이, BMI, 운동시간, 흡연량, 음주량, 혈장 HDL-cholesterol 수준과 적혈구내 항산화 효소 활성 및 혈장 TRAP 수준과의 상관관계를 본 결과는 Table 4와 같다. 나이, BMI, 흡연력(pack years)은 각 변수들과 아무런 상관관계를 보이지 않았으며 하루 평균 운동시간과 혈장 TRAP 수준 사이에 유의적인 양의 상관관계를(r = 0.280, p = 0.015), 음주량과 적혈구 SOD 활성 사이에 음의 상관관계를 보였다(r = -0.323, p = 0.021). 적혈구 GSH-Px 활성(r = 0.278, p = 0.035) 및 혈장 TRAP 수준(r = 0.511, p = 0.000)은 혈장 HDL-cholesterol 수준과 각각

Table 3. Erythrocyte SOD, GSH-Px, catalase and plasma TRAP levels of the subjects by amount of exercise and alcohol consumption

	SOD ¹⁾ (U/gHb)	GSH-Px ²⁾ (U/gHb)	Catalase (U/gHb)	TRAP ³⁾ (mmol/l)
Small-amount exercisers (n = 29)				
Smokers (n = 17)	1908 ± 36 ⁴⁾	20.4 ± 1.0	21.3 ± 0.7	2.01 ± 0.1
Nonsmokers (n = 12)	2709 ± 41** ⁵⁾	19.0 ± 1.0 ^{NS6)}	19.2 ± 1.0 ^{NS}	2.12 ± 0.1 ^{NS}
Drinkers (n = 23)	1993 ± 35	19.5 ± 0.8	20.8 ± 0.7	2.03 ± 0.1
Nondrinkers (n = 6)	1924 ± 62 ^{NS}	20.9 ± 1.2 ^{NS}	19.1 ± 1.4 ^{NS}	2.16 ± 0.1 ^{NS}
Moderate-amount exercisers (n = 32)				
Smokers (n = 19)	1891 ± 35	19.7 ± 1.2	18.8 ± 0.8	2.12 ± 0.1
Nonsmokers (n = 13)	1951 ± 72 ^{NS}	20.0 ± 1.3 ^{NS}	20.2 ± 1.1 ^{NS}	2.28 ± 0.0* ⁷⁾
Drinkers (n = 27)	1896 ± 40	20.6 ± 0.9	19.4 ± 0.7	2.19 ± 0.0
Nondrinkers (n = 5)	2020 ± 47 ^{NS}	15.9 ± 1.4*	19.1 ± 1.5 ^{NS}	2.14 ± 0.14 ^{NS}

1) Superoxide dismutase
 2) Glutathione peroxidase
 3) Total radical-trapping antioxidant potential
 4) Mean ± SE
 5) **: p < 0.01, significantly different from smokers within small-amount exercisers by Student t-test
 6) Not significant
 7) *: p < 0.05, significantly different from smokers within moderate-amount exercisers by Student t-test

Table 4. Pearson correlation coefficients between age, BMI, life style factors or plasma HDL-cholesterol level and erythrocyte antioxidant-enzyme activities or plasma TRAP levels in the subjects

	Age	BMI	Daily amount of exercise	Smoking pack years ¹⁾	Alcohol consumption ²⁾	Plasma HDL-cholesterol
SOD ³⁾	0.011	-0.074	-0.139	-0.013	-0.318*	0.008
GSH-Px ⁴⁾	0.158	0.147	0.048	0.077	0.200	0.276*
Catalase	0.197	-0.074	-0.068	0.189	0.087	-0.110
TRAP ⁵⁾	-0.080	-0.162	0.314*	-0.162	0.047	0.511**

1) Calculated by multiplying the number of packs smoked per day the years smoked, n = 36

2) n = 50

3) Superoxide dismutase

4) Glutathione peroxidase

5) Total radical-trapping antioxidant potential

*: p < 0.05

**: p < 0.01

Table 5. Pearson correlation coefficients between antioxidative vitamin status and erythrocyte antioxidant-enzyme activities or plasma TRAP levels in the subjects

	Intakes of vitamin C	Intakes of vitamin E	Plasma vitamin C	Plasma α -tocopherol	Plasma γ -tocopherol
SOD ¹⁾	-0.098	0.034	-0.356**	0.031	-0.137
GSH-Px ²⁾	0.089	-0.167	0.168	0.278*	-0.119
Catalase	-0.125	0.049	-0.254	-0.117	0.024
TRAP ³⁾	-0.076	0.111	-0.289*	0.200	0.120

1) Superoxide dismutase

2) Glutathione peroxidase

3) Total radical-trapping antioxidant potential

*: p < 0.05, **: p < 0.01

유의적인 양의 상관관계를 보였다.

대상자의 항산화 영양상태와 적혈구 항산화 효소활성도 및 혈장 TRAP 수준과의 상관관계를 본 결과는 Table 5와 같다. 적혈구 항산화 효소활성도 및 혈장 TRAP 수준과 비타민 C 및 E 섭취량과는 아무런 상관관계가 나타나지 않았으나, 적혈구 SOD 활성도 및 혈장 TRAP 수준은 혈장 비타민 C와 음의 상관관계를 보였고, 적혈구 GSH-Px 활성도는 혈장 α -tocopherol 수준과 양의 상관관계를 보였다. 위 결과로부터 적혈구 항산화 효소 활성 및 혈장 TRAP 수준을 종속변수로, 나머지 요인들을 독립변수로 하여 다중회귀분석을 실시했을 때 적혈구 SOD 및 GSH-Px 활성도 및 혈장 TRAP 수준은 각각 다음과 같은 관계식으로 설명될 수 있었다.

$$\text{적혈구 SOD 활성도} = 2071.2 - 133.973 \times \text{plasma vitamin C} \quad (r = -0.468, p = 0.004)$$

$$\text{적혈구 GSH-Px 활성도} = 14.893 + 0.01677 \times \text{plasma } \alpha\text{-tocopherol} \quad (r = 0.282, p = 0.037)$$

혈장 TRAP 수준

$$= 1.623 + 0.008998 \times \text{plasma HDL-cholesterol} - 0.154 \times \text{plasma vitamin C} + 0.007162 \times \text{dietary vitamin E} + 0.002345 \times \text{exercise time} \quad (r = 0.677, p = 0.000)$$

고찰 및 결론

몇몇 연구자는 동물을 대상으로 한 실험에서 적당량의 운

동을 규칙적으로 하도록 훈련시켰을 경우 혈장, 간, 심장조직의 항산화 효소 활성이 증가하였음을 보고하였고^{26,27)} 이는 운동을 지속적으로 할 경우 신체는 운동으로 인한 습관적인 스트레스에 대한 적응의 일환으로 항산화 효소 활성이 증가한다고 설명하였다.²⁸⁾ 또한 운동을 지속적으로 할 경우 신체는 산화적 스트레스의 증가비율에 따라 항산화 효소활성이 증가하는 반면 평소에 운동을 하지 않으면 산화적 스트레스가 증가하더라도 항산화 상태는 개선되지 않는다고 한다.²⁹⁾ 최근 중년남자 성인을 대상으로 규칙적인 운동에 따른 적혈구 항산화 효소활성을 비교해 본 연구 결과, 적절한 운동을 규칙적으로 할 경우, 적혈구 GSH-Px 활성이 증가하였으며 이 증가 정도는 비흡연군보다 흡연군에서 더 크게 나타났음이 보고되었다.¹⁸⁾ 젊은 남자 대학생을 대상으로 조사한 본 연구의 경우, 운동에 대한 적혈구 항산화 효소들의 활성의 영향은 나타나지 않았으며, 적혈구 SOD 활성만 저 운동군의 흡연자에게서 비흡연자에 비해 낮음을 보여 중년남자를 대상으로 한 선행연구¹⁸⁾의와는 다소 다른 결과를 보였다(Table 2, 3). 즉 운동을 하지 않는 경우는 흡연에 의한 산화적 스트레스가 증가함으로 인해 비흡연군에 비해 흡연군의 적혈구 SOD 활성이 낮아졌으나, 운동을 하게 될 경우 비흡연자라 할지라도 적혈구 SOD 활성이 감소하여 흡연자와 차이가 나타나지 않았으며 적혈구 SOD 활성 외 GSH-Px나 catalase 활성의 경우도 마찬가지였다. 이런 결과를 보인 것은 본 연구 대상자들의 운동 수준이 적혈구 SOD 활성을 감소시킬 수 있는 수준의 운동이었을 가능성

을 제시한다.

본 연구에서 항산화 효소 활성에 대한 운동의 효과가 나타나지 않은 것은, 적정운동군의 음주량이 저운동군보다 많았던 것(Table 1)과 대상자의 음주량이 적혈구 SOD 활성과 역의 상관관계를 보인 결과(Table 4)로 볼 때 음주량에 의해 운동의 효과가 희석된 것으로 생각해 볼 수도 있을 것이다. 그러나, 적정운동군을 음주자와 비음주자로 나누어 항산화 효소 활성을 본 결과, 적절한 양의 운동을 규칙적으로 하는 음주자의 GSH-Px 활성이 비음주자에 비해 높게 나타났던 것으로 보아(Table 3) 적정운동군의 음주량에 의해 운동의 항산화 효소 활성 효과가 희석되었다고 보기는 어려울 것으로 생각된다. 앞으로 각 항산화 효소 별로 나이, 운동의 정도, 흡연 및 음주량에 따라 그 활성도에 어떤 차이를 보이는지에 대해서는 더 많은 연구가 되어져야 할 것이다.

항산화 능력을 종합적으로 측정할 수 있는 방법으로 추천되어 사용되는 혈장 TRAP 측정법은 혈장내 α -tocopherol, ascorbate, urate, protein sulfhydryl groups 등의 항산화제들의 복합된 활성을 측정하여 혈장의 총 유리기 포집 항산화능을 나타내므로 시간과 노력을 절약할 수 있는 매우 유용한 방법으로 알려져 있다.^{18,20} 본 연구 결과 혈장 TRAP 수준은 저운동군에 비해 적정운동군에서 유의적으로 높게 나타났으며 적정운동군 중에서도 비흡연자에게서 높게 나타났다(Table 2, 3). 이와 같은 결과는 중년남자 대상의 연구,¹⁸ 규칙적인 훈련에 참가하는 축구선수 대상의 TRAP 수준 측정 연구²⁰ 등과 일치하는 결과이다. 운동 선수들은 운동의 강도나 시간이 일반인들과는 차이가 있어 본 연구의 결과와 비교하는 것은 무리가 있기는 하지만 운동을 하지 않는 사람들에 비해서 규칙적인 운동에 참가하는 사람들이 혈장 총 항산화능이 높아져 있다는 점에서는 일치한다고 할 수 있다.

본 연구결과 대상자들의 생활습관 중 운동량은 혈장 TRAP 수준과 양의 상관관계를, 음주량은 적혈구 SOD 수준과 음의 상관관계를 보이고, 비흡연자의 TRAP 수준이 흡연자에 비해 높았던 한편 대상자의 HDL-콜레스테롤 수준이 혈장 TRAP 수준과 적혈구 GSH-Px 활성도와 양의 상관관계를 보여 규칙적인 운동을 하고 흡연을 하지 않으면서 적절하게 음주하며 혈장 HDL-콜레스테롤 수준을 높여주는 것이 신체의 항산화 영양상태 증진에 유리하게 작용하는 것을 알 수 있었다(Table 4).

한편, 체내 항산화 효소 활성 및 항산화능은 식이 내 항산화 비타민 섭취량과 아무런 상관관계를 보이지 않은 반면 대상자의 혈장 항산화 비타민 농도와 적혈구 항산화 효소 활성과는 관련성이 있음을 보여, 식이 섭취량보다는 혈장 항산화 비타민 영양상태가 항산화 효소 및 TRAP 수준에

영향을 미치는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 본 연구에서 사용한 식이 섭취량 조사가 24시간 회상법으로 대상자의 평상시 식습관을 잘 반영하지 못한 결과에 부분적으로 기인한다고 여겨진다. 혈장 항산화 비타민 농도와 항산화 효소 혹은 TRAP 수준과의 관련성은 혈장 비타민 종류에 따라 다른 양상을 보여, 혈장 비타민 C 농도는 혈장 TRAP 수준 및 적혈구 SOD와 음의 상관관계를, 혈장 α -tocopherol 수준은 적혈구 GSH-Px 활성도와 양의 상관관계를 보였다(Table 5). SOD는 세포 내 free radical 생성의 초기단계에서 superoxide anion을 H_2O_2 로 전환시키며, 이어서 catalase가 H_2O_2 에 작용하여 산소와 물로 분해시키는 역할을 담당하는데, 혈장 비타민 C 농도가 부족하면 free radical 제거를 위해 SOD 합성이나 TRAP 수준이 증가하고, 비타민 C가 충분하면 별도로 SOD가 합성될 필요가 적어지므로 혈장 비타민 C와 SOD 혹은 TRAP 수준 사이에 음의 상관관계가 나타난 것으로 생각된다. 이에 비해 혈장 α -tocopherol 수준은 적혈구 GSH-Px 활성도와 양의 상관관계를 보여, 생체 내 oxidative stress에 대한 방어측면에서 볼 때 SOD나 catalase 보다 활성효율이 훨씬 높은 GSH-Px 활성을 증가시키기 위해서는 혈장 α -tocopherol 수준을 높이는 일이 중요함을 알 수 있었다. 그러나 항산화 효소와 항산화 영양소 모두를 포함한 생체 내 항산화 체계는 어떤 한 비타민 수준이 낮으면 다른 비타민 수준을 높여 보상하려는 등의 homeostatic control을 받고 있으므로 항산화 효소활성 및 비타민 수준이 연구에 따라 서로 다른 결과를 보이기도 한다.³¹ 따라서 앞으로는 보다 종합적으로 체내 항산화 체계를 평가하는 연구가 이루어져야 할 것이다. 최근 외국에서 식품이나 영양소를 보충 투여한 후 체내 항산화 효소체계에 미치는 영향을 본 논문이 많이 보고되고 있으나^{32,33} 대상자의 평상시 식이 섭취량에 따른 항산화 효소체계를 본 논문은 많지 않다. 우리 나라에서도 중학생에게 비타민 복합제를 투여한 후 운동강도에 따라 항산화 효소활성정도를 본 결과, 고강도 운동시에 비타민 복합제 투여로 인해 SOD 및 GSH-Px 활성도가 유의적으로 증가하였다는 보고³⁴가 있을 뿐, 젊은 남자의 평상시 항산화 비타민 섭취상태에 따라 적혈구 효소활성이나 TRAP 수준이 달라지는지를 관찰하여 보고한 논문은 찾아볼 수 없었다.

본 연구에서의 회귀분석 결과 적혈구 SOD 활성도를 가장 잘 설명해 주는 요인은 혈장 비타민 C, 적혈구 GSH-Px의 활성도를 가장 잘 설명해 주는 요인은 혈장 α -tocopherol 수준이었으며, 혈장 TRAP을 가장 잘 설명해주는 요인들은 혈장 HDL-cholesterol, 혈장 비타민 C 수준, 식이 비타민 E 섭취량 및 운동량인 것으로 나타났다. 이는

젊은 남자의 경우, 흡연을 하지 않고, 운동을 하루에 30분 이상하면서 혈장 HDL-cholesterol 수준을 높게 유지하고, 비타민 E를 많이 섭취함으로써 인해 혈장 α -tocopherol 수준을 높이는 것이 체내 항산화 상태에 더 좋은 영향을 미칠 것이라는 가능성을 제시하고 있으며 이에 관해서는 앞으로 더욱 많은 연구가 필요할 것으로 생각된다.

Literature cited

- 1) Pryor WA, Stone K. Oxidants in cigarette smoke: radicals, hydrogen peroxide, peroxyxynitrate, and peroxyxynitrite. *Ann NY Acad Sci* 686: 12-18, 1993
- 2) Ji LL. Oxidative stress during exercise: implication of antioxidant nutrients. *Free Radic Biol Med* 18: 1079-86, 1995
- 3) Gutteridge JMC, Halliwell B. Antioxidants in Nutrition, Health, and Disease. Oxford University press, Oxford, 1994
- 4) Ames BN, Shigenaga MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants and the degenerative diseases of aging. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 7915-7922, 1993
- 5) Fanton JC, Ward PA. Role of oxygen-derived free radicals and metabolites in leukocytes-dependent inflammatory reactions. *Am J Pathol* 107: 397-418, 1982
- 6) Bergsten P, Amitai G, Kehrl J, Levine M. Ascorbic acid content of human B and T lymphocytes and monocytes. *Ann NY Acad Sci* 587: 275-277, 1990
- 7) Frei B, Sticker R, Ames BN. Anti-oxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 9748-9752, 1988
- 8) Kelly FJ. Use of antioxidants in the prevention and treatment of disease. *J Int Fed Clin Chem* 10(1): 21-23, 1998
- 9) Ji LL. Antioxidants and oxidative stress in exercise. *Proc Soc Exp Biol Med* 222(3): 283-292, 1999
- 10) Pollock ML, Pels AE. Exercise prescription for the cardiac patient: An Update. *Clin Sports Med* 3(2): 425-442, 1984
- 11) Leaf DA, Kleinman MT, Hamilton M, Deitrick RW. The exercise-induced oxidative stress paradox: the effects of physical exercise training. *Am J Med Sci* 317(5): 295-300, 1999
- 12) Marzatico F, Pansarasa O, Bertorelli L, Somenzini L, Della valle G. Blood free radical antioxidant enzymes and lipid peroxides following long-distance and lactacidemic performances in highly trained aerobic and sprint athletes. *J Sports Med Phys Fitness* 37(4): 235-239, 1997
- 13) Berlin JA, Colditz GA. A meta-analysis of physical activity in the prevention of coronary heart disease. *Am J Epidemiol* 132: 612-628, 1990
- 14) Kinningham RB. Physical activity and the primary prevention of cancer. *Prim Care* 25: 515-536, 1998
- 15) Evans WJ. Vitamin E, vitamin C and exercise. *Am J Clin Nutr* 72 (suppl): 647S-652S, 2000
- 16) Choi SK, Kim TY. The effect of aerobic exercise program for chronic disease patients. *Kor J Nutr* 28(9): 904-913, 1995
- 17) Kang MH, Park EJ. Effects of smoking and regular physical exercise habits on the status of plasma lipidsoluble antioxidant vitamins and ubiquinone(Coenzyme Q10) in Korean middle-aged men. *Kor J Nutr* 33(2): 158-166, 2000
- 18) Kang MH, Park EJ. Effects of regular physical exercise habits on the activities of erythrocyte antioxidant enzyme and plasma total radical-trapping antioxidant potential in healthy male subjects. *Kor J Nutr* 33(3): 289-295, 2000
- 19) Recommended dietary allowances for Koreans, 6th revision, The Korean Nutrition Society, Seoul, 1995
- 20) Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 469-474, 1974
- 21) Beutler E. Glutathione peroxidase. In: Red cell metabolism: A manual for biochemical methods, pp.71-73, Verlag Grune and Straton. New York, 1984
- 22) Aebi H. Catalase. In: Bergmeyer HU, ed. Methods of enzymatic analysis, pp.673-678, Verlag Chemie. Weinheim, 1974
- 23) Rice-Evans C, Miller N. Total antioxidant status in plasma and body fluids. *Methods in Enzymol* 234: 279-293, 1994
- 24) Wong SHY, Knight JA, Hopfer SM, Zaharia O, Leach CN, Sunderman FW. Lipoperoxides in plasma as measured by liquid chromatographic separation of malondialdehyde-thiobarbituric acid adduct. *Clin Chem* 33: 214-220, 1987
- 25) Blair SN, Kohl HW, Paffenbarger RS, Clark DS, Cooper KH, Gibbon LW. Physical fitness and all cause mortality. *J Am Med Assoc* 262: 2395-2401, 1989
- 26) Venditti P, Meo SD. Antioxidants, tissue damage, and endurance in trained and untrained young male rats. *Arch Biochem Biophys* 331: 63-68, 1996
- 27) Hammeren J, Powers S, Lawler J, Criswell D, Martin D, Lowenthal D Pollock M. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle oxidative and antioxidant enzyme activity in senescent rats. *Int J Sports Med* 13: 412-416, 1992
- 28) Ji LL. Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems. In: Holloszy JO, ed. Exercise and sports sciences reviews. No. 23, pp.135-166, Williams & Wilkins, Baltimore, 1995
- 29) Alessio HM, Blasi ER. Physical activity as a natural antioxidant booster and its effect on a healthy life span. *Res Q Exerc Sport* 68: 292-302, 1997
- 30) Brites FD, Evelson PA, Christiansen MG, Nicol MF, Basílico MJ, Wikinski RW, Llesuy SF. Soccer players under regular training show oxidative stress but an improved plasma antioxidant status. *Clin Sci(Colch)* 96: 381-385, 1999
- 31) Kasaspoglu M, Ozben T. Alterations of antioxidant enzymes and oxidative stress markers in aging. *Experimental Gerontology* 36: 209-220, 2001
- 32) Nielsen SE, Young JF, Daneshvar B, Lauridsen ST, Knuthsen P, Sandstrom B, Dragsted LO. Effect of parsley(*Petroselinum crispum*) intake on urinary apigenin excretion, blood antioxidant enzymes and biomarkers for oxidative stress in human subjects. *Br J Nutr* 81(6): 447-455, 1999
- 33) Young JF, Dragsted LO, Daneshvar B, Lauridsen ST, Hansen M, Sandstrom B. The effect of grape-skin extract on oxidative status. *Br J Nutr* 84(4): 505-513, 2000
- 34) Lee B-H, Chung S-T, Kim H, Jung D-J. The protective effect of antioxidants supplementation and exercise intensity on the lipid peroxidation and the activities of antioxidant enzymes. *The Korean Journal of Physical Education* 40(3): 661-674, 2001