

운동수행과 한약제 투여가 실험쥐의 적혈구, Serum Iron, Ferritin, Transferrin의 변화에 미치는 영향

정홍용 · 송제호^{1*}

북경체육대학교 운동의학연구소, 1:원광대학교 생활과학대학 뷰티디자인학부

Effects of Nutrition Supplement on Erythrocyte, Serum Iron, Ferritin and Transferrin in Rats

Hong Yong Jung, Je Ho Song^{1*}

Sport Medicine Institute of Beijing Sport University.

1:Department of Beauty Design College of Human Environmental Science Wonkwang University

Iron is the required microelement supporting life and is the main component of hemoglobin. Thus iron has affinity with exercise capacity. Iron metabolism turbulence induced by exercise is one of causes of hematopoietic hypofunction. Results of the experiment showed that long-term treadmill exercise of progressive loading significantly decreased levels of erythrocyte indexes, serum iron, serum ferritin and significantly increased serum transferrin level. Nutrition supplement could significantly retard the variations, and Exercise +Nutrition group have higher levels of erythrocyte indexes, serum iron, serum ferritin and lower level of serum transferrin than Exercise group. The results indicated that nutrition supplement have function of prevent and cure on iron metabolism turbulence induced by exercise, furthermore significantly enhance hemoglobin level in rats.

Key words : erythrocyte indexes; serum iron; transferring; nutrition supplement

서 론

정상성인의 체내 철의 종류로는 hemoglobin, ferritin, hemosiderin, myoglobin, transferrin 등이 있으며, 이들은 철과 결합하는 단백질을 함유한 혈중 산소운반체, ferritin이 과잉시 파괴되고 응고되어 철과 결합하는 근육중 산소운반체, 골수로 운반되어 hemoglobin을 생성하는 역할 등을 한다. 특히 지구성 트레이닝을 지속하면 혈장수분량이 증가되어 혈액이 희석되므로 외견상의 빈혈로 인정되기도 한다¹⁾.

철은 hemoglobin(Hb)을 구성하는 조혈인자와 근육내 myoglobin (Mb), cytochrome, peroxidase 등의 세포 호흡에 필수적인 효소들은 기능적인 구성성분으로서 체내 산소운반체의 기능유지와 보강에 중요한 물질이다. 철의 생체내의 역할은 적혈구 Hb으로서 폐에서 각 조직으로의 산소운반으로 단백질, 철결합물이 된

다. 또 세포 수준에서의 산소이용을 위해 Mb, cytochrome, TCA 회로의 조효소로도 이용된다. 생체내에서의 철은 ferritin, hemosiderin 형태로 저장되어지고 저장부위는 간장, 비장, 골수이다. 체내 30%의 철은 저장형이고 나머지 70%는 유산소성 대사에 관련된다. 철은 Hb 성분으로서 중요할 뿐만 아니라 근육세포가 산소를 이용하는데도 중요한 역할을 수행한다. 즉 철을 함유하고 있는 Mb은 산소를 전자전달계에 운반해주고 신체의 철 요구량의 변화는 체중증감, Hb농도, ferritin 농도에 따라 좌우된다²⁾.

혈중 Hb량이 정상 이하인 경우를 빈혈이라고 한다. 특히 운동 수행과 관련된 빈혈을 스포츠 빈혈 또는 운동성 빈혈이라고 하는데 혈구손실, 혈구파괴, 혈구 및 Hb 신생의 억제가 주원인이다³⁾.

운동성 빈혈은 운동수행 과정에서 나타나는 헤모글로빈 수, 적혈구 수, 적혈구 크기가 현저히 낮아지고 운동경기 중에 운동 선수의 신체기능에 영향을 주는 일종의 현상이다. 특히 체력종목 운동선수의 운동 수준에 지대한 영향을 주고 운동경기 중에 헤모글로빈은 체력종목 운동선수의 신체상태를 반영한다. 빈혈은 운동능력을 저하시키고 각종 자각증상을 주기 때문에 운동선수나, 운동을 수행하는 이들의 운동수행력과 건강관리 측면에서 중

* 교신저자 : 송제호, 전북 익산시 신용동 344-2 원광대학교 생활과학대학

· E-mail : sjhao@wonkwang.ac.kr, · Tel : 063-850-6895

· 접수 : 2006/04/19 · 수정 : 2006/05/12 · 채택 : 2006/06/04

요한 의의를 갖는다. 특히 운동선수들에서 나타나는 빈혈은 대부분 철결핍성 빈혈인 것으로 보고되고 있다¹⁾.

운동성 빈혈에서 적혈구의 파괴항진은 장거리달리기, 축구, 배구, 농구, 하키, 태권도, 검도 등 주로 발바닥의 모세혈관에 반복적으로 충격을 주는 운동 등에서 나타나는데 이를 용혈성 빈혈, 즉 footstrike hemolysis라고도 한다. 따라서, 운동수행에 따른 빈혈에 대한 대처와 예방을 위한 대책이 요구되고 있으며, 운동성 빈혈에 대한 해결의 방안으로 한약제의 보충이 유효한 방법 중의 하나로 꼽히고 있다.

한방의 益氣補血, 補腎填精 이론은 보혈, 즉 조혈인자, 기질 세포 등의 생성에 효과가 있는 것으로 해석되고 있다. 즉, 한약제의 보혈기능은 생체 기질세포와 조혈 성장인자 물질에 영향을 주며, 기질세포와 조혈세포가 상호작용을 하도록 유도하는 것이다. 또한 골수의 조혈모세포를 보호할 뿐만 아니라 세포의 생식주기에 진입 할 수 있도록 한다.

본문은 실험쥐의 장기간에 걸친 운동 과정에 보혈의 기능을 가진 한약제를 투여 하여, 운동성 빈혈과 관련성이 높은 serum-iron, serum ferritin, transferrin 변화에 대한 한약제의 영향을 관찰함으로써 운동성 빈혈의 예방에 대한 해결 방안을 모색하기 위한 기초 자료의 제공을 목적으로 하고 있다.

연구 방법

1. 실험동물과 그룹분류

본 연구의 실험동물은 중국의학과학원 실험동물 연구소가 제공한 8주령의 체중 200±15g인 Wistar-kyoto(Japan)계 수컷 쥐 59 마리를 대상으로 하였다. 무작위 선별을 통해 대조군(n=21), 운동군(n=19), 운동 + 한약투여군(n=19)으로 배정하였다.

모든 실험동물은 온도(22±℃) 및 상대습도(55±5%)가 일정하게 유지되고, 12:12시간 light-dark cycle이 유지되는 동물 실험실에서 사육되었으며, 섭취하는 고형사료 및 수분의 양은 제한하지 않았다. 실험에서 사용한 고형사료의 주 영양소 함유비율은 탄수화물 57.5%, 지방 5%, 단백질 18% 이었으며, 철분함유량은 32.1 mg/100g(북경과학협력유한회사)이였다.

2. 운동 프로그램

운동군과 운동+한약투여군 쥐들은 1주간의 트레드밀 적응 기간을 거친 후 11주 동안 점증부하에 의한 트레드밀 운동을 진행하였다. 운동 첫 주 트레드밀의 경사도 0%, 10m/min의 속도, 10min/day, 6회/주를 시작으로 5주에 걸쳐 경사도는 고정한채 트레드밀의 속도와 운동시간을 점진적으로 증가시켜 최종적으로 30m/min의 속도, 90min/day에 이르도록 하였고, 이후 6주 동안 이를 지속적으로 유지하여 11주 동안의 트레드밀 운동을 수행하도록 하였다.

3. 한약제 및 투약 방법

한약제 성분은 补氣生血의 기능을 지닌 것으로 알려진 한약제인 “血生口服液”를 上海大衆製藥有限公司(중국)로부터 공급

받아 사용하였으며, 실험 5주째에 이르기 까지는 운동군과 동일한 운동과 식이를 제공한 후 실험 6주째부터 운동+한약투여군에 1일1회, 1ml/kg의 양을 경구 투여하였다. 실험 5주째까지는 운동군과 대조군은 동일한 양의 물을 주입하였다.

4. 조직 처리 방법 및 보존

실험 그룹별로 실험 최종일과 마지막 운동을 마친 후 24시간이 경과한 후 sodium pentobarbital (60mg/kgBM)을 복강에 주입하여 마취시켰다. 복부 주동맥에서 혈액 5ml를 채취해 혈모글로빈(Hb), 적혈구수(RBC), 적혈구 크기(Hct) 등의 지표를 측정하였고 나머지 혈액 샘플은 분리관에 주입해 37℃에서 30분 동안 보온하고, 3000/rpm으로 15분 동안 원심분리하여 혈청을 분리해낸 다음 신속하게 -20℃의 냉장고에 보관하여 ferritin, transferrin 측정에 사용하였다. 훈련과정 중에는 격주로 3개 그룹 실험쥐의 꼬리를 잘라 혈액 20μl을 채취해 시안화고철 혈모글로빈 방법을 사용해 실험쥐의 혈모글로빈 수준에 대한 측정을 실시했다. 매회 꼬리 0.2cm 정도를 절단하고 요오드로 소독 지혈했다.

5. 측정지표 및 방법

1) 혈청 내의 Fe측정

표준 Fe용액의 배합은 1000μg/mL 철표준 함유액(GBW08616)을 국가표준물질센터가 제공한 1%(v/v)HNO₃를 사용해 50μg/mL 철표준액으로 만들어 사용하였다. 실험에 사용한 모든 시료와 종류수는 고순도 시료와 17MΩ 이상의 고순도 종류수를 사용했으며 실험실시에 필요한 표준 용액은 모두 측정 당일 제조 배합하였다. 측정계기는 북경 제2광학계기창화양회사가 제조한 WFX-1C형 원자흡수광 광도계를 사용 했으며 철분 측정의 조건은 파장 248.3λ, 간격 0.2mm, 전류 3mA, 아세틸렌 0.9L/분, 공기 4L/분이다. 샘플의 예비처리는 정량 흡수한 0.1mL의 혈청을 고순도 종류수 2mL로 희석하여 측정하였다.

2) serum ferritin, transferrin의 측정방법

실험쥐의 serum ferritin 측정과 transferrin 시약함은 BioKeyTM 실험쥐 transferrin ELLISA 시약함을 사용했으며 시약함은 구멍이 96개인 효소표준판, 플라스크A, 플라스크B, 농축 세척액, 종지액, 효소연합물, 표준품 세트이며 미국 sunrise사의 자동표준계측기이다.

3) 혈모글로빈과 적혈구 계수 측정

항응혈 측정법을 취해 적혈구 계수와 관련된 지표를 측정했다. 일본 SYSMEX f-820 혈세포 분석기를 사용해 측정하였다.

6. 자료 처리

본 연구의 자료처리는 SPSS 통계 프로그램 (v. 11.5)을 이용하여 통계처리 하였다. 실험을 통하여 얻어진 모든 자료에 대해 평균과 표준편차(mean and SD)를 산출하였고, 변인들의 집단간 차이를 알아보기 위하여 one-way ANOVA를 실시하였고 유의성이 있는 경우 Bonferroni 사후검증을 실시하였다. 또한 각 자료간의 상관성을 조사하였으며, 모든 측정 자료의 통계적 유의성은 p<.05로 설정하였다.

결 과

고 칠

1. 적혈구 수치에 대한 한약투여의 영향

11주간의 점증적 운동부하 훈련과 한약제의 투여 후에 운동군과 대조군의 적혈구 수치는 운동+한약투여군이 운동군과 대조군에 비하여 높은 것으로($p<.01$) 나타났으며, Hb의 경우 운동군이 대조군($p<.01$)과 운동+한약투여군($p<.05$)에 비하여 적은 것으로 나타났다.

Table 1. 운동과 한약제 투여에 따른 RBC, Hb, HCT의 변화

구 분	RBC(10 ¹² /L)	Hb(g/L)	HCT(L/L)
대조군(21)	7.76±0.83	176±9.67	0.45±0.02
운동군(19)	7.30±0.67**	166.58±28.95**	0.42±0.08**
운동+한약투여군(19)	8.05±0.653**#	180.79±12.98*	0.47±0.04**#

* : 대조군과 비교, # : 운동군과 비교 (*, # p<.05, **, ## p<.01). Values are means (Mean±SD)

HCT의 경우 운동+한약 투여군이 가장 높은 것으로 나타났으나 대조군과의 비교에 있어서는 통계적으로 유의한 수준의 차이가 없었으며, 운동군에 비해서는 유의한($p<.01$) 차이를 나타내었다.

2. 한약제 투여에 따른 실험쥐의 혈청, ferritin, transferrin의 변화

운동그룹 실험쥐의 serum ferritin은 다른 두 그룹의 serum ferritin에 비해 낮은 수준으로 나타났으며, 한약투여 후 실험쥐의 serum ferritin농도는 운동군보다 현저히 높아졌다($p<.05$). 장기간의 트레드밀 운동을 수행한 실험쥐의 serum ferritin 함량은 투여군과 운동군의 비교에서는 현저히 상승($p<.05$)했으나, 운동+중약보충군과 대조군의 비교에 있어서는 유의한 차이가 나타나지 않았다. serum transferrin의 경우 운동군이 대조군($p<.01$)과 운동+한약투여군($p<.05$)에 비하여 유의하게 높은 것으로 나타났다. 또한 serum Fe, serum ferritin, serum transferrin 함량의 상관성 통계결과는 Table 3과 같다. serum Fe, serum ferritin은 비교적 높은 상관성을 가지고 있는 것으로 나타났다($R=0.532$, $P=0.002$). serum Fe, serum transferrin의 농도는 $R=-0.436$, $P=-0.861$, $P=0.000$ 로서 부적(負的)상관을 이루는 것으로 나타났다.

Table 2. 한약투여의 실험쥐 serum Fe, serum ferritin, transferrin에 대한 영향 (μg)

구 분	serum Fe	serum ferritin	serum transferrin
대 조 군	2.380±0.38	39.495±9.754	187.154±42.083
운 동 군	2.236±0.31	28.409±7.348*	248.706±50.05**
운동 + 한약투여군	2.914±0.82^△	36.705±5.55^△	203.172±39.91^△

: 대조군과 운동군의 비교, ^△ : 운동군과 운동+한약투여군과 비교 (*, ^△ p<.05, **, ^△△ p<.01)

Table 3. 한약 투여에 따른 실험쥐의 serum ferritin과 transferrin · serum Fe과의 상관성 결과

측정항목	serum Fe	serum transferrin	serum ferritin
serum Fe		-0.861(p=0.000)	0.532(p=0.002)
serum transferrin	-0.861(p=0.000)		-0.436(p=0.016)
serum ferritin	0.532(p=0.002)	-0.436(p=0.016)	

Hb, RBC, HCT는 의학상 빙혈 판단의 표준으로서 그 지표지수가 낮아지면 특히 Hb지표 수준이 현저하게 낮아지면 장기간의 운동으로 인한 운동성 빙혈의 유발 가능성을 지니고 있는 것으로 여겨진다⁴. 본 실험결과 장기간의 트레드밀 운동은 운동군 실험쥐의 적혈구 수치의 현저한 변화를 나타내었고, 운동성 빙혈 상태에 가까운 수치에 이른 것으로 관찰되었다. 이는 실험동물이 장기간에 걸쳐 지속적으로 높은 부하량의 운동을 수행한 결과라 할 수 있다. 운동훈련의 골수의 적혈구 합성속도에 대한 영향은 운동훈련의 빈도, 운동의 강도, 지속시간, 산소결핍, 빙혈, 운동을 수행하는 계체의 신체기능 등 여러 요인들로 인해 그 효과가 다르게 나타나거나 골수에서의 적혈구 합성속도를 촉진하거나 적혈구의 합성속도를 억제하기도 한다⁵. 동일한 혈액 중에서 적혈구 파괴 또한 많은 요인의 영향을 받는데 그 중에서 운동훈련은 적혈구 파괴속도 증가에 있어 중요한 요인 중의 하나이다⁶.

운동은 유리기 생성을 급격히 증가시켜 적혈구 세포막질의 현저한 과산화를 일으키고 적혈구 파괴의 현저한 증가를 가져오며 적혈구의 기계적인 파괴 증가를 극대화시킨다. 운동은 용혈인자를 대량 방출시켜 적혈구의 파괴를 증가시킨다⁷.

본 실험결과, 장기간의 비교적 높은 부하의 트레드밀 운동은 실험쥐의 혜모글로빈 수준이 대조군 쥐에 비해 현저히 낮게 나타났으며, 이는 운동이 골수의 적혈구 합성과 적혈구 파괴에 대해 동일한 영향을 준 결과로서 적혈구의 생성속도가 적혈구 파괴속도보다 상대적으로 느리게 진행된 결과인 것으로 사료된다. 이와 같은 원인으로 운동성 빙혈 생성이 의심되지만 운동이 적혈구의 생성 속도에 어떠한 직접적인 영향을 미치는가에 대해서는 쉽게 단언하기 어려운 것 또한 사실이다..

6주간의 한약투여를 받은 운동+한약투여군 쥐의 Hb, RBC, HCT는 대조군과 운동군에 비해 비교적 수치를 나타내는 것으로 나타났다. 본 실험에서 사용한 한약제는 보양, 항산화, 보혈의 기능을 지닌 한약성분을 이용해 제조된 것이다. 보양용 한약은 유기체의 테스토스테론 분비를 촉진시키는 작용을 하며, 테스토스테론은 유기체 자신의 EPO 분비를 촉진시켜 조혈기능을 높인다⁸. 또한 보양용 한약은 유기체의 조혈기질세포와 비장세포 등 조혈성장인자물질을 만들어 조혈간세포와 조(祖)세포의 분화증식을 유도한다⁹. 강도 높은 운동의 수행중에 유리기 생성 증가는 적혈구 파괴를 증가시키는 가장 중요한 원인의 하나인 것으로 보고되고 있다^{6,10,11}. 항산화제는 운동으로 생성된 유리기 증가폭을 현저히 감소시킬 수 있고, 유리기의 적혈구 세포막에 대한 파괴 작용을 현저히 감소시켜 적혈구의 정상적인 수명을 유지시킨다¹². 본 실험에서 사용한 한약제는 유기체 내의 유리기의 손상작용을 뚜렷하게 방지하는 항산화의 효과를 지니고 있다. 운동은 철분대사의 불안정, 철성분의 불균형 상태는 운동성 빙혈을 일으키는 중요 원인의 하나이기 때문에 철분제의 보충을 통해 대부분 운동훈련이 일으킨 철분대사 불안정을 개선하고 운동훈련이 철분대사에 일으키는 불리한 영향을 완화시킨다¹³. 본 실험에서 사용한 한약제는 조혈기능의 향상과 적혈구 파괴와 철분대

사의 안정을 유지시켜 이들 작용들의 협조효과를 통해 운동성 빈혈 방지를 목적으로 하였고, 실험결과 본 실험 운동성 빈혈발생과 방지에 비교적 효과적으로 작용하고 있는 것으로 나타났다.

한편, serum Fe은 유기체 내의 철분 중에서 주요 운반형식이고, serum Fe은 ferritin형식으로 저장되거나 serum transferrin을 통해 음식 섭취과정을 통해 유기체의 각종 기관에 옮겨져 철분을 보충하거나 비축하는 역할을 한다¹⁾. 유기체의 철분 소모능력이 증가하는 경우에 유기체는 저장하고 있는 철분을 방출하고 serum transferrin의 운반을 통해 철의 소모를 보충한다. 그러므로 serum Fe은 유기체의 철분대사를 반영하는 중요 지표이다³⁾. 본 실험결과 강도 높은 트레드밀 운동이 조성한 운동성 빈혈쥐의 serum Fe은 저하되는 추세를 보이고 있고, 유기체 내의 serum Fe과 골수의 조혈기능의 관계는 매우 밀접하기 때문에 운동군 쥐의 혈액농도는 대조군, 운동+한약투여군의 쥐보다 낮게 나타나고 있어 한약철분제를 보충한 후의 실험쥐의 serum Fe은 운동군의 실험쥐 보다 높게 나타나고, 혈액농도 함유량 또한 단순 운동군의 실험쥐보다 현저히 높게 나타나고 있다.

본 실험을 통하여 보혈 및 항산화 등의 기능을 지닌 한약제의 투여는 항빈혈 철분복합제로서의 작용을 통해 유기체의 정상적인 철분대사 시스템에 적극적인 의의를 갖는다는 것을 알 수 있었으며, 철분 결핍성 빈혈에 대해 효과적인 예방 기능을 지니고 있음을 관찰 할 수 있었다. 이는 한약제의 투여가 항빈혈 철분복합제로서 실험쥐의 serum Fe의 농도와 serum ferritin의 농도 제고를 촉진시키고, serum transferrin 농도를 저하시켜 유기체의 철분 대사의 조절작용을 수행하여, 운동수행으로 야기될 수 있는 운동성 빈혈의 예방과 치료수단으로 사용 될 수 있는 의의를 진 것으로 평가 할 수 있다..

결 론

본 실험결과 장기간의 걸친 강도 높은 운동의 수행은 serum Fe 감소, transferrin의 증가, ferritin의 감소 등의 운동성 빈혈의 증상을 유발 할 수 있음을 알 수 있었다.

보혈 및 항산화기능을 지닌 철분복합제 한약투여는 serum Fe의 함량을 증가시키고, 운동성수행으로 인한 serum transferrin 함량을 감소시키며, serum ferritin 함량을 높여 유

기체 철분대사의 개선을 통해 철분대사 안정에 효과적으로 적인 작용하는 것으로 나타났다.

참 고 문 헌

1. 이명천, 강형숙, 백승훈. 스포츠 빈혈에 관한 문헌고찰. 한국 체육학회지 38(1):315-329, 1999.
2. 이기열. 특수영양학. 신과출판가, 1993.
3. 김봉춘. 집중철 투여후 혈액 성분 및 혈중 철농도 변화에 관한 연구. 석사학위논문, 고려대학교 대학원.
4. Qian, Z.M., Xiao, D.S., Ke, Y. et al. Increased nitric oxide is one of the causes of changes of iron metabolism in strenuously exercised rats. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol 280(3):739-743, 2001.
5. Spodaryk, K. Iron metabolism in boys involved in intensive physical training. Physiol Behav 75(1-2):201-206, 2002.
6. Haymes, E.M., Spillman, D.M. Iron status of women distance runners, sprinters, and control women. Int J Sports Med 10(6):430-433, 1989.
7. 胡若愚, 叶飞, 詹乾钢, 等. 血清鐵蛋白檢測的臨床價值. 中國誤碼率診學雜志 7, 1089-1090, 2001.
8. 王曉健. 中醫藥促進造血作用機理的研究. 中醫藥研究, 16(3):54-56, 2000.
9. 錢忠明, 肖德生, 王沁. 運動性缺鐵研究進展. 中國運動醫學杂志 2, 151-154, 1998.
10. Newhouse, I.J., Clement, D.B. Iron status in athletes. An update. Sports Med 5(6):337-352, 1988.
11. Mouton, G., Sluse, F.E., Bertrand, A. et al. Iron status in runners of various running specialties. Arch Int Physiol Biochim 98(1):103-109, 1990.
12. Constance, V., Judy, A. Driskell. Sports Nutrition -Minerals Electrolytes. 1995 by CRC Press, Inc.
13. Hinton, P.S., Giordano, C., Brownlie, T. et al. Iron supplementation improves endurance after training in iron-depleted, nonanemic women. J Appl Physiol 88(3):1103-1111, 2000.