

운동훈련이 흰쥐 노화심근에 미치는 영향

I. 장기간 지구력 운동 훈련

영남대학교 생물학과, 대구보건전문대학 물리치료과*

박원학[†] · 이상선 · 이용덕*

국문초록: 장기간 반복 주행운동이 흰쥐의 심근에 미치는 효과를 규명하기 위하여 생후 3개월, 10개월 및 20개월된 흰쥐를 운동군과 대조군으로 대별하여 motor driven treadmill을 이용하여 Park^등²⁵⁾이 사용한 방법에 준해서 5개월간, 주 5일 20분간 운동을 시킨 후 심근의 조직 및 세포학적 변화를 관찰하고 심근 세포 내 미세구조 변화를 입체해석학적으로 비교 분석하였다. 연령 증가에 따라 장기간 반복운동이 흰쥐 심근 미세구조에 미치는 영향은 8, 15개월의 운동군과 대조군 사이에 뚜렷한 차이를 인정할 수 없으며, 15개월의 운동군에서 대조군에 비하여 변성된 사립체, 리소조옴, 지방적, 공포, 노화색소 등이 증가하는 경향이 있었다. 25개월 운동군은 같은 연령 대조군에 비하여 근원섬유 수축대, 근원섬유 소실, 윤반분리, 세포간질 증식, 핵의 변성, 교원섬유 근섬유내 침입 등 매우 심한 변화를 보였다. 조직상에 나타나는 early lipofusin과 미세구조상에 나타나는 노화색소는 8, 15개월의 운동군과 대조군 사이에 유의한 차이는 없었으며, 25개월 운동군은 같은 연령 대조군에 비하여 유의한 차이로 증가하였다. Glucose-6-phosphatase 활성도 8, 15개월군에서 운동군과 대조군에서 모두 활성이 높았으며 25개월의 대조군과 운동군에서는 모두 활성이 거의 나타나지 않았다. 미세구조 변화를 입체해석학적으로 분석한 결과 8, 15개월의 대조군과 운동군에서 체적 밀도의 모든 항은 양군 사이에 유의한 차이가 없었다. 25개월에서는 세포간질이 대조군에 비하여 운동군이 유의한 증가를 나타내었고, 근원섬유는 유의한 차이는 없지만 증가하는 경향을 보였으며, 사립체는 대조군에 비하여 유의한 감소를 나타내었고 근형질세망의 체적밀도는 감소하는 경향을 보였다. 사립체와 근원섬유 비는 8개월 운동군에서 유의한 차이는 없지만 대조군에 비하여 높게 나타났으며, 15개월의 운동군과 대조군 사이에서는 차이를 인정할 수 없었다. 그러나 25개월 운동군은 대조군에 비하여 유의한 차이로 감소하였다. 연령증가에 따른 사립체 내막 표면밀도와 사립체수는 대조군과 운동군 사이에는 유의한 변화는 없었다.

본 연구의 성적을 검토한 결과 젊은층(3개월군)과 중령층(10개월군)의 흰쥐에서는 반복된 지구력 운동이 심장에 미치는 역효과를 인정할 수 없었으며 젊은층의 흰쥐에서는 오히려 심장기능 강화를 보이는 경향이 나타났으며, 노화층(20개월군)에서 운동군에서는 스트레스로 작용하여 심장기능의 저하를 초래 하였다고 생각된다.

서 론

노화는 내적인 여러 가지 요인에 의하여 형태,

*논문접수 1996년 3월 5일, 수정재접수 1996년 5월 1일.

*이 논문은 1995년도 영남대학교 학술연구조성비에 의한 것임.

[†]별책요청 저자

기능, 구성성분 및 행동적 여러 수준에서 진행되며, 외적요인(스트레스, 질병 등)으로 인한 이차적 노화에 의해서 그 과정이 촉진되기도 한다.

노화현상을 분자수준에서 생체 내에서 생성되는 free radical에 의해 설명하고자 하는 연구들이 활발히 이루어지고 있다(free radical theory)^{10,12)}. Free radical은 불포화지방산을 포함한 여러 지질의 과산화에 의해서 생성되는 유독성 산소대사

물로서¹⁰ 세포내 핵산, 단백질, 지질 등 모든 거대분자들을 변성 내지 파괴시킴으로 노화현상을 유발한다고 시사하고 있다^{9,15}.

최근 외적요인의 하나로 운동(exercise)이 심근 노화에 미치는 영향에 관한 연구결과가 주목되고 있다. 격렬한 운동이 스트레스로 작용하여 늙은 흰쥐의 심근과 골격근 및 신체 다른 여러 기관의 조직에 퇴행성 변화를 초래하여 노화를 촉진시킬 수 있다는 보고가 있으며^{18,21,29,31}, 장기간 주행이 늙은 동물의 심근 조직에 퇴행성 변화를 가져올 수 있다고 암시한 바 있다⁵ 반면에 적당한 운동은 노화된 흰쥐에서 심장기능을 강화시켜 심장노화를 방지할 수 있음을 시사하였다³². Eichner⁷는 젊은 동물에서 규칙적인 반복운동에서 오는 스트레스는 심장이 그러한 운동에 적응할 수 있도록 심장의 기능을 향상시켜 오히려 심장 강화를 유도할 수 있다고 하였다. 그러나 이미 늙은 동물에서 이러한 운동은 심장기능에 어떠한 쪽으로 작용할 것인지에 대하여서는 의문을 제기하였다. 한편 현대사회에 많은 사람들이 여러 가지 운동을 선호하고 있지만, 그러한 운동이 생리학적 기능의 저하를 지연시키며 노화를 방지하여 수명을 지연시킬 수 있다는 아무런 확고한 증거가 아직까지 없는 것 같다. 이러한 문제는 free radical theory가 제기되면서 부터 더욱 강한 의문을 남겨 놓았다¹¹.

운동훈련은 심폐기능을 향상시키는 효과가 있다는 지구력 운동, 주로 근력강화에 이용되며 부하기구를 사용하는 웨이트 트레이닝 운동, 근육을 신장시켜 근육의 일 범위를 증진시키는 스트레칭 운동, 근육의 불균형을 제거하고 관절의 가동범위를 증가시키기 위한 cybex등을 이용한 등속성 운동 등으로 대별된다. 운동훈련의 유형 중 지구력 운동이 심장의 변화에 가장 많은 영향을 미치는 것으로 알려져 있다. 운동 유형 중 지구력 운동은 주로 유산소적 에너지 공급 시스템이기 때문에 심장에서도 활동량이 많아지면 free radical(O₂)의 형성이 촉진되어 이는 오히려 노화의 촉진을 유발할 것으로 예상이 가능하나 기존의 개념은 지구력 운동이 심장을 강화시키는 것으로 알려져 이에 대해 더 많은 연구가 요구되고 있다. 노화과정에서 심근세포에 나타나는 노화색소(lipofuscin)는 지질과산화의 결과로 생성된 것으로 실제 생체 내에서 진행되고 있는 노화의 정도를 반영해 주는 노화지표로 생각할 수 있다

³⁰. 일찌기 노화색소는 정상적인 노화에서만 생성되는 본질로서 외적요인에 의한 양적인 변화가 없음이 주장되어 왔다³³. 그러나 외적인 요인, 즉 환경오염 유발물질(copper, iron 등)³⁶ 또는 질병이나 운동에 의해서도 정상노화에서 보다 노화색소의 양이 많아진다고 보고되고 있다^{4,34}. 지금까지 여러가지 운동이 심근에 미치는 효과에 대한 형태학적 연구는 연구방법이 주로 심근세포내의 에너지 공급기관인 사립체의 변화와 수축기계인 근원섬유형태의 변화에 대해서 단편적으로 연구되어 왔다. 본 연구는 지구력 운동유형을 모델로 하여 형태학적 연구의 맹점을 탈피하여 1980년대부터 많이 연구되고 있는 형태 입체 해석학(stereology)을 적용하여 심장의 전반적인 변화, 노화의 지표인 노화색소를 양적으로 평가하여 현재까지 여러 연구에서 노인의 운동에 대해 감론을박되어 오고 있는 긍정적 효과와 부정적 효과에 대해 재평가 하는데 기초자료로 제공하고자 한다.

재료 및 방법

1. 재 료

실험 동물은 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 사용하였으며 노화 모델은 생후 3개월, 10개월, 20개월의 3개군으로 나누어 대조군과 운동군으로 대별하여 각 군별로 각 5마리의 흰쥐를 사용하였다. 실험동물 처치는 운동 5개월 후 8, 15, 25개월이 된 운동군과 같은 연령의 비운동군을 실험 대조군으로 하여 각 동물의 경부를 절단한 다음, 흉곽을 열고 심장을 적출하여 좌심실을 이용하였다.

2. 운동방법

본 실험실에서 제작한 motor driven treadmill을 이용하여 Park등²⁹이 사용한 방법에 준해서 각 운동군을 5개월간 주 5일씩 15분간 운동을 실시하였다. 운동 15분 중 워밍업 5분간은 10m/min으로, 본 운동 5분은 20m/min으로, 마지막 정리 5분은 다시 10m/min으로 하였다.

3. 광학현미경적 관찰방법

심근의 일반적인 조직학적 변화를 관찰하기 위해 적출한 심장을 Epon block을 만들어 초박편편기로 1 μ m 절편 한 후 toluidine blue에 염색하여

광학현미경으로 관찰하였다. Early lipofuscin 관찰을 위하여 적출한 심장절편을 neutral buffered formaldehyde에 고정하여 6 μ m paraffin 절편을 만들어 sudan black B(in 70% alcohol)로 염색하여 광학현미경으로 검경하였다.

4. 전자현미경적 관찰방법

미세구조 관찰은 2.5% glutaraldehyde(0.1M sodium cacodylate buffer, pH 7.4)용액으로 4 $^{\circ}$ C에서 2시간 전고정한 후 같은 buffer용액으로 세정한 다음 1% OsO₄(0.1M sodium cacodylate buffer, pH 7.4)에 2시간 후고정 하였다. Cacodylate buffer로 세정 후 ethanol과 propylene계열로 탈수를 거쳐 Epon 812에 포매하고 LKB 초박절편기로 60~70nm의 절편을 만들어 uranyl acetate와 lead citrate로 이중 염색 후 Hitachi H-600으로 검경하였다. Glucose-6-phosphatase 활성 관찰을 위하여 심장절편을 2% glutaraldehyde(0.1M sodium cacodylate buffer, pH 7 at 4 $^{\circ}$ C)에 30분 동안 고정하여 같은 buffer용액으로 4 $^{\circ}$ C에서 1시간 세정한 후 30 μ m의 동결절편을 만들어 실온에서 Wachstein and Meisel's medium에서 45분간 incubation 한 후, 1% OsO₄에 1시간 후고정하여 전자현미경용 표본제작의 통상방법으로 검경하였다.

5. 입체해석학적 연구(stereological study)

근원섬유, 사립체 및 S-T계(sarcoplasmic-transverse tubular system)의 양적 조사를 위해 Loud등²⁰⁾의 방법에 준해 근원섬유의 종단면으로 잘려진 표본을 무작위로 선택하여 6,000배로 촬영하고 인화과정에서 3배로 확대, 18,000배의 사진을 이용하였다. 근원섬유와 사립체의 체적밀도(volume density) 측정은 10d(d=10mm)인 단일격자(simple lattice) test grid를, S-T계에 대한 체적밀도는 격자의 비가 q²=16이고 8d(d=12.5)인 이중격자(double lattice) test grid를 사용하여 Park등²⁷⁾의 점계수법(point counting method)으로 계수한 후 다음 식을 적용하였다.

$$V_v = \frac{V_c}{V_r} = \frac{P_c}{P_r}$$

[V_v= 체적밀도, V_c= 대상물의 체적, V_r= 전체체적, P_c= intersection된 대상물 점의 수, P_r= 전체 점의 수]

사립체의 능력(capacity)을 예측할 수 있는 내막(크리스테 포함)은 12 \times 12.12Z(Z=7.5mm)인 다

용도(multipurpose) test grid를 사용하여 점계수법으로 계수한 것을 다음 식에 적용하였다.

$$S_v = \frac{S_c}{V_r} = \frac{\pi l}{2L} \times \frac{mag}{1,000} \times \frac{4}{\pi}$$

[S_v= 표면밀도, S_c= 대상물의 표면, L= 전체선의 길이, l= grid선에 intersection되는 대상체 표면의 수, mag= 배율]

사립체의 수밀도(numerical density) 계산은 10d(d=10mm)인 단일격자 test grid를 사용하여 계수한 후 다음 식에 적용하였다.

$$N_v = \frac{1}{1.58} \times \frac{(N_A)^{3/2}}{(V_v)^{1/2}}$$

[N_v= 수밀도, N_A= 단위 면적당 대상물의 수, V_v= 단위 체적]

계수되어진 모든 표본은 Minitab 소프트웨어 통계 package를 이용하여 t-검정을 실시하였다. 노화색소 계수는 Travis등³⁷⁾의 방법에 의하여 대조군과 각 운동군의 각 개체마다 2개씩의 block을 택하여 전자현미경용 표본을 제작하여 최종 배율 6,000배, 8 \times 10 사진으로 인화하여 사진상에서 그 수를 계산하였다.

결 과

1. 광학현미경적 관찰

대조군은 실험군의 연령에 일치하는 비운동군으로 8개월군에서 근섬유는 규칙적인 Z대와 윤반(intercalated disk)의 배열로 정상적인 주행을 보였다. 타원형의 핵 내에는 하나의 뚜렷한 인과골고루 산재한 염색질(euchromatin)로 나타나며 운동군은 대조군과 아무런 차이점을 관찰할 수 없었다(Fig. 1a, 1b). 15개월군의 조직은 8개월군과는 달리 간질조직의 증식과 가끔 공포화(vacuolization)는 물론 근원섬유의 파동형변화(wavy fiber), 수축대(contraction band)의 출현이 주로 관찰되었다. 그러나 대조군과 실험군 사이에는 조직학적 차이점을 관찰할 수 없었다(Fig. 1c, 1d).

노화 25개월군에서는 근섬유의 주행이 불규칙하며 뚜렷한 간질조직 증식과 함께 국소적인 조직 변성과 근세포의 수축(contracture)과 과수축대(hypercontraction), 근원섬유의 용해 및 소실(fraying) 그리고 근세포질내 공포화현상 등이 관찰되었으며, 특히 운동군에서는 이러한 변화가 매우 심하였다(Fig. 1e, 1f, 1g). Early lipofuscin 관

찰은 8개월 대조군과 운동군 모두 노화색소 과립의 염색상은 매우 약한 편이며 두군 사이의 비교에서 별 차이가 없었다(Fig. 2a, 2b). 운동 15개월군은 8개월군에 비해 강한 염색상을 보였으며 15개월군의 대조군에 비하여도 약간 강한 반응을 나타내었다(Fig. 2c, 2d). 25개월군에서는 15개월군에 비해서 매우 강한 반응을 나타내었으며, 특히 운동군 25개월에서는 조직 전반에 걸쳐 노화색소 과립이 관찰되어 같은 연령군의 대조군에 비해서도 보다 강한 반응을 보였다(Fig. 2e, 2f).

2. 전자현미경적 관찰

미세구조 관찰에서 대조군 8, 15개월의 심근세포에서는 종단면에서 규칙적인 Z대를 나타내는 근원섬유, 근원섬유사이의 정상적인 사립체와 핵내 염색질의 분포가 비교적 균등한 정상적인 핵을 가지는 일반적인 심근 미세구조를 나타내었다(Fig. 3a, 3b, 3c, 4d). 대조군 25개월에서는 핵막 가까이 heterochromatin 증가, 세포질내 공포형성, 지방소적 출현, 리소조음 증가, 노화색소 축적, 사립체 퇴행성 변형 등이 특징적으로 관찰되었다. 이러한 변화는 정상적인 노화에 나타나는 일반적인 현상으로 15개월군의 일부에서도 출현하였다(Fig. 3c). 운동군의 8, 15개월군에서 전자현미경적 소견은 대조군의 8, 15개월군의 소견과 뚜렷한 차이를 찾아볼 수 없었으며, 특히 8개월군에서는 매우 정상적인 형태를 보였다. 운동 25개월군에서는 대조군에서 관찰되는 정상적인 노화과정에 나타나는 변화는 물론이고 이들의 출현빈도가 매우 높았으며, 그외 특징적인 변화는 변형된 Z대(wavy, thickened), 근원섬유의 수축대(contraction band), 윤반분리(separation of intercalated disc), 부분적인 근형질막 파괴, T-tubule 종창, SR 확장 등이 관찰되었으며, 특히 부위에 따라 괴사(necrosis)와 세포간질의 증식으로 결합조직의 교원섬유가 근섬유 내로 침입하여 근세포가 분리되는 현상이 관찰되기도 하였다. 이러한 근섬유 분리현상은 섬유조직의 증식이 왕성한 세포간질에 인접된 부위에서 잘 관찰되었다. 윤반분리는 대조군 25개월에서는 관찰이 어렵고 가끔 나타나는 것은 분리정도가 좁게 관찰된 반면에 운동군에서는 출현빈도가 높고 넓게 분리된 틈 사이에는 종종 미엘린소체들이 관찰되었다(Fig. 3f, 3g, 3h, 3i, 3j). 심근세포의 사립

체 변화는 운동이 심장에 미치는 영향에 있어서 지표가 되어왔다. 본 연구에서 운동군 25개월에서 거대사립체(giant mitochondria), 사립체능 파괴 및 소실등의 퇴행성 변화가 주로 관찰되었다(Fig. 3k). Glucose-6-phosphatase 활성은 근원섬유에서는 거의 활성이 검출되지 않았으며 근원섬유 사이와 미토콘드리아 주변에서 활성반응에 의한 과립들이 출현하였다. 8개월군의 대조군과 운동군에서는 활성도가 비교적 높게 나타났으며 양 군간에는 큰 차이가 없었다(Fig. 4a, 4b). 15개월의 대조군과 운동군에서는 8개월에 비하여 활성도가 감소하는 경향이 있었으나 양 군 사이에는 활성도 차이를 구별할 수 없었다(Fig. 4c, 4d). 25개월군의 대조군과 운동군에서는 활성도가 매우 낮으며 활성과립들이 거의 나타나지 않았으며, 대체적으로 운동군에서 더욱 더 낮은 경향이 있으나 양 군사이에서 뚜렷한 반응강도에 차이를 인정할 수 없었다(Fig. 4e, 4f).

3. 입체해석학적 분석

근섬유에 포함된 근원섬유, 사립체 및 막성계를 양적으로 분석 결과 근원섬유의 체적밀도는 각 군 모두 연령증가에 따라 증가하는 경향을 보였으나 대조군과 운동군 사이에는 유의한 차이는 없었다. 사립체 체적밀도는 대조군에서는 연령증가에 따른 변화는 없었으며 운동군에서는 8, 15개월군이 대조군에 비해 증가하는 경향을 보였으나, 25개월에서는 같은 연령의 대조군에 비해 유의한 차이로 감소하였다. 또한 15개월 운동군에 비해서도 유의한 감소를 보였다. 막성계는 대조군, 운동군에서 연령에 따라 감소하는 경향을 나타내었으나 8, 15개월군에서는 운동군은 대조군에 비해 약간 증가한 반면 25개월군에서는 운동군이 오히려 감소하였다. 세포간질의 체적은 대조군과 운동군 모두 연령증가에 따라 증가하였으며, 8, 15개월군에서는 양 군사이에 큰 차이는 찾아볼 수 없었으나 25개월 운동군은 같은 연령의 대조군에 비하여 크게 증가되어 유의한 차이를 나타내었고 15개월 운동군에 비하여도 유의한 차이로 증가하였다.

사립체와 근원섬유의 체적비는 8, 15개월의 대조군과 운동군 사이에서는 운동군이 약간 증가하는 경향을 보였으나 뚜렷한 차이를 인정할 수 없었으며, 25개월 양 군 모두는 8, 15개월군에 비해 체적의 비가 감소하였다. 특히 25개월 운동군

Table 1. Results of stereological analysis of myocardial cell in sedentary control and endurance trained rats

	8-month-old rat(n=5)		15-month-old rat(n=5)		25-month-old rat(n=5)	
	control	trained	control	trained	control	trained
Volume density($\mu\text{m}^3/\mu\text{m}^3$)						
Myofibril	0.48 ± 0.060	0.46 ± 0.054	0.48 ± 0.043	0.49 ± 0.055	0.53 ± 0.08	0.57 ± 0.09
Mitochondria	0.35 ± 0.036	0.36 ± 0.031	0.36 ± 0.041	0.37 ± 0.032	0.37 ± 0.029	0.32 ± 0.051**
Sarcotubule	0.037 ± 0.013	0.039 ± 0.017	0.036 ± 0.020	0.038 ± 0.013	0.035 ± 0.017	0.032 ± 0.010
Interstitial	0.14 ± 0.024	0.14 ± 0.037	0.15 ± 0.030	0.15 ± 0.045	0.18 ± 0.038	0.27 ± 0.094**
Mitochondria/myofibril's ratio	0.73 ± 0.01	0.782 ± 0.06	0.75 ± 0.09	0.76 ± 0.09	0.68 ± 0.04	0.54 ± 0.400**
Surface density(Number/ μm^3)						
Mitochondrial Cristae	14.25 ± 2.44	15.21 ± 3.32	15.74 ± 3.34	15.42 ± 3.09	14.47 ± 3.28	12.36 ± 2.04*
Numerical density(Number/ μm^3)						
Mitochondria	0.34 ± 0.193	0.36 ± 0.055	0.37 ± 0.061	0.36 ± 0.064	0.40 ± 0.041	0.42 ± 0.047

Results are expressed as mean ± S.D.

* Significant difference ($P < 0.05$) between trained group and control group

Significant difference ($P < 0.05$) between trained group and previous same group

은 크게 감소하여 같은 연령의 운동군보다 유의한 차이를 보였으며 15개월의 운동군에 비해서도 유의한 감소를 나타내었다.

크리스테를 포함한 사립체 내막의 표면밀도는 25개월의 대조군과 운동군은 8, 15개월군보다 감소하는 경향을 보였으며, 특히 25개월 운동군은 더욱 감소하였으나 같은 연령의 대조군과는 유의한 차이는 없었다. 그러나 15개월 운동군에 비하여 유의한 차이로 감소를 보였다. 사립체 수의 밀도는 대조군, 운동군 모두 연령증가에 따라 유의한 차이는 없지만 약간 증가하는 경향을 보였으나 양 군 사이에서는 변화의 차이를 인정할 수 없었다 (Table 1). 노화색소는 8개월 대조군에서 0.6 ± 0.30 , 15개월군에서 1.4 ± 0.61 , 25개월군에서 2.6 ± 0.82 로 연령증가와 더불어 뚜렷히 증가하는 현상을 보였으며 운동군에서도 8개월에서 0.5 ± 0.33 , 15개월군에서 1.5 ± 0.82 , 25개월군에서는 3.4 ± 0.74 로 매우 높은 증가를 보였다. 8, 15개월의 대조군과 운동군 사이에서는 노화색소량의 차이는 없었으며, 25개월의 대조군과 운동군 사이에서는 운동군이 훨씬 높은 수치를 나타내었다 (Table 2).

고 찰

본 연구는 노화과정에서 외적요인으로서 작용할 수 있는 지구력 운동이 심근노화에 어떠한 영향을 미치는지를 검토할 목적으로 지구력 운동인 트레드밀 운동훈련으로 일어나는 심근의 형태적 변화 양상을 비교 관찰하였다. 지구력 운동

Table 2. Changes in the number of lipofuscin pigment with age in the myocardial cells of the rats

Groups	Age(month)		
	8	15	25
Control	0.6 ± 0.30 (20)	1.4 ± 0.61 (26)	2.6 ± 0.82 (15)
Training	0.5 ± 0.33 (18)	1.5 ± 0.82 (30)	3.4 ± 0.74 (27)

Each value represents mean number of lipofuscin granules. Number in parenthesis represents number of fields counted.

은 주로 유산소적 에너지 공급 시스템이기 때문에 심장에서도 활동량이 많아지면 free radical의 형성이 촉진되어 노화의 촉진을 유발할 것으로 예상 가능하나, 기존의 개념은 지구력 운동이 심장을 강화시킬 것으로 알려져 있다.

지금까지 연구결과와 보고로는 늙은 흰쥐에서 격렬한 운동은 스트레스로 작용하여 심근, 골격근 및 다른 여러 기관의 조직에 퇴행성 변화를 초래하여 노화를 촉진시킬 수도 있다고 보고하였으며^{18,21,29,31}, 장기간 주행이 늙은 생쥐의 심근 조직에 변화를 가져올 수 있다고 암시하였다⁹. 반면 적당한 운동은 노화된 흰쥐에서 심장기능을 강화시켜 심장 노화를 방지할 수 있음을 시사하였으며, 규칙적인 반복운동은 심장이 그러한 운동에 적응하여 심장기능을 향상시켜 오히려 노화를 지연시킬 수 있다고 보고하였다⁷.

본 연구에서 연령증가에 따른 정상 심근 세포의 조직학적 및 미세구조적 변화들은 Tomanek와 Karlsson³⁰, Park등²⁰이 보고한 바 있으며, 본 연구

에서도 이들 소견과 유사하였다. 운동군의 8개월 심근은 대조 8개월군과 매우 유사하였으며 운동 15개월군에서는 대조 15개월군에 비해 지방소적, 공포, 노화색소, 리소조움 등이 증가하는 경향을 보였다. 25개월 운동군 심근에서는 대조군에 비하여 조직학적 및 미세구조적 변화에 있어서 큰 차이를 보였다. 조직학적 관찰하에서는 세포간질 증식과 산재하고 있는 수축대, 조직괴사(necrosis) 등이 특징적으로 관찰되었다. 미세구조적 관찰에서 운동 25개월군에서는 같은 연령 대조군에 비하여 다양한 변화를 보였다. 그 중 핵의 변성, 유반분리와 근원섬유의 수축대의 출현 빈도가 높았으며, 특히 교원섬유가 근섬유내로 침입하여 근세포가 분리되는 현상이 특징적이었다. 이러한 변화는 특수 약품(항암제 등) 투여시에 나타나는 현상과 같았다²⁷⁾. 심근조직 절편에서 심근 노화정도를 알아 볼 수 있는 early lipofuscin 검출은 운동군의 8, 15개월 심근조직이 노화색소 반응에서 대조군과 아무런 차이를 보이지 않는 것으로 보아 반복된 훈련에 적응된 것으로 믿어지며, 운동군 25개월의 심근조직은 대조군에 비하여 매우 강한 반응을 나타내어 운동이 심근기능에 역작용으로 작용하여 오히려 노화가 촉진되어진 것으로 생각된다.

Glucose-6-phosphatase 활성은 8개월의 대조군과 운동군에서 활성도가 비교적 높게 나타나고 15개월에서는 대조군과 운동군 사이에는 활성도 차이는 뚜렷하지 않았으나 8개월군에 비하여 감소하는 경향을 보이며, 노화 25개월군에서 양 군 모두 활성도가 매우 낮게 나타난 것은 근수축에 필요한 에너지 생산에 관계하는 사립체가 15개월 이후부터 여러가지 형태로 변성을 일으키기 시작하며 노화군 25개월에서는 이러한 변화가 매우 심하게 나타난 결과라고 생각된다. 과격한 운동이나 다른 스트레스들도 심근세포의 사립체들을 여러가지 형태 변화를 일으킨다고 보고하고 있으나⁹⁾, 본 연구에서는 젊은 흰쥐 운동군에서 사립체는 큰 변화가 없는 것으로 보아 지속적인 반복운동이 심장기능에 아무런 영향을 주지 않았다고 추측된다. 그러나 노화 25개월 운동군에서는 대조군에 비하여 사립체의 퇴행성 변화가 매우 심하게 관찰된 것은 지속적인 반복운동이 심근에 역작용 스트레스로 나타난 것으로 믿어진다⁹⁾. 심근 세포에 나타나는 노화색소는 지질 과산화물로서 생체내에서 진행되고 있는 노화의

정도를 반영해 주는 노화지표로서^{28,29)}, 본 연구에서 8, 15개월 운동군의 노화색소과립 출현빈도가 대조군과 거의 같았으며, 노화 25개월 운동군에서 같은 연령의 대조군에 비하여 매우 높은 출현빈도를 보인 것은 25개월군에서 그러한 운동이 심장에 미치는 영향은 운동에서 오는 이점보다 네가티브로 작용하여 오히려 노화를 촉진시킬 수 있다는 증거로 여겨진다. 이는 Strehler 등³⁰⁾이 주장한 노화색소는 정상적 노화과정에서만 출현하고 외부환경에 의해서 그 양의 변화가 없다는 내용과 상치되며, 질병이나 운동에 의해서도 색소량이 많아진다고 보고한 Tatarianus³⁰⁾, Basson 등⁹⁾, Coleman 등⁹⁾의 결과와 일치한다고 할 수 있다.

입체해석학적인 연구에서 세포간질 체적밀도는 연령증가와 더불어 증가를 보였는데 이러한 세포간질 증가는 노화과정에서 나타나는 결과로 이는 심근 기능저하를 초래하는 것으로 Frenzel과 Feimann⁹⁾의 보고와 일치하며, 25개월 운동군에서 급증한 것은 콜라겐 증식과 모세혈관 분포 양상의 변화와 부종현상이 과다한데서 기인된다고 생각된다. 근원섬유의 체적밀도는 대조군 및 운동군 모두 연령증가에 따라 증가함을 보였으며 양 군 사이에 차이는 없었다. 이러한 결과는 Frenzel과 Feimann⁹⁾이 정상군의 노화에서 얻은 결과와 일치하고 있다. 본 연구결과에서 25개월 운동군은 대조군보다 좀 더 높은 경향을 보였으나 유의한 차이는 없었다. 이는 Paniagua 등²⁴⁾은 근원섬유 체적밀도는 유의한 차이는 없으나 운동군에서 대조군보다 약간 증가하는 경향이 있다고 보고한 바와 같다. 사립체의 체적밀도는 Kment 등¹⁷⁾이 사립체 체적은 흰쥐의 노화와 관계 없이 일정하다고 보고한 바 있으며, Herbener¹³⁾는 생쥐에 있어서 노화와 더불어 감소한다고 보고하였다. 본 연구에서도 대조군에서는 연령증가에 따라 변화가 없었으나 25개월 운동군의 사립체 체적밀도는 감소하는 경향을 보였다. 이는 Paniagua 등²⁴⁾이 보고한 내용과 일치하였으며, 또한 심부전에서 이러한 사립체 감소를 보고한 Page와 McCallister²³⁾의 내용과 일맥상통 한다고 할 수 있겠다. 단위체적내에 사립체수는 Frenzel과 Feimann⁹⁾이 정상 노화 연구에서 연령증가와 더불어 수가 증가한다고 보고하였다. 본 연구에서도 대조군 및 운동군 모두 연령증가에 따라 수가 증가하였으나 양 군 사이에서는 차이가 없었다. 이는 Kainulainen 등¹⁰⁾이 운동훈련이 사립체의

체적과 수에 어떠한 영향도 미치지 않는다는 보고와 일치하며 이는 Aldinger와 Sohal¹⁾, Arcos 등³⁾에 의하면 장기간 훈련은 사립체의 체적과 수를 증가시킨다는 보고와는 상치하고 있다. 이러한 상이한 결과는 운동기간, 운동강도 및 계측방법에 의한 것으로 생각된다. 일반적으로 근세포 수축에 요구되는 ATP의 95%가 사립체에서 생성되는데 근원섬유에 대한 사립체의 비를 평가하는 것은 심장의 pumping 효율과 적응력을 결정하는 중요한 척도가 되는 것으로 알려져 있다²⁾. 사립체/근원섬유 비율은 8개월의 운동군은 대조군에 비하여 높은 경향을 나타내었으며 15개월군에서는 대조군과 운동군 사이에서 아무런 차이를 보이지 않았다. 그러나 25개월 대조군과 운동군은 15개월군에 비하여 낮게 나타났으며 운동군은 대조군에 비하여 매우 감소하였다. Frenzel과 Feimann⁸⁾은 노화된 흰쥐에서는 젊은 흰쥐에서 보다 그 비율이 감소함을 보고하였으며 감소된 비율은 노화된 심장기능 저하를 의미할 수 있다고 암시하였다.

만성 심부전(chronic heart failure) 경우에도 사립체 근원섬유 비율이 감소하며⁹⁾, 반면에 수영운동(swimming)으로 인한 심장비대로 사립체 근원섬유 비율이 증가함을 보고하고 있는데 이는 심장이 운동에 적응하여 심장기능을 향진시킨 것으로 시사하고 있다⁸⁾.

본 연구에서도 8개월 운동군이 높은 비율을 나타낸 것은 Frenzel 등⁸⁾이 보고한 내용과 일치한다고 생각된다. 반면에 노화 25개월의 운동군에서 낮은 비율을 나타낸 것은 그 운동이 심장에 역작용으로 나타나 심장 기능을 저하 내지 노화를 촉진하는 경우라고 사료된다. 근형질 세망과 T-tubule은 대조군과 운동군 모두 연령증가에 따라 감소를 나타냈다. 양 군 사이에서 유의한 차이는 인정할 수 없었으며 8, 15개월에서는 운동군이 대조군에 비해 높은 경향을 나타내며 25개월 운동군에서는 대조군에 비하여 낮은 경향을 보였다. 이러한 결과는 연령증가에 따른 활동전위의 감소와 더불어 Ca²⁺이온 방출의 저하가 초래된 때문으로 추측된다. 이러한 현상은 25개월 운동군에서 보다 심한 것으로 생각된다. 사립체 기능의 척도라고 할 수 있는 사립체 내막의 표면밀도는 8, 15개월에서 대조군과 운동군 사이에는 차이가 없었으며 20개월 운동군은 같은 연령의 대조군에 비해 감소하였다. 이는 25개월 운동군의

사립체가 노화와 지속적인 운동에 의하여 사립체능의 파괴 및 소실로 인한 것으로 추측된다.

참 고 문 헌

1. Aldinger EE and Sohal RS(1970): Effects of digonin on the ultrastructural myocardial changes in the rat subjected to chronic exercise. *Am J Cardiol*, **26**: 369-374.
2. Anversa P, Vitali-Mazza L, Visioli O and Marchetti G(1971): Experimental cardiac hypertrophy: A quantitative ultrastructural study in the compensatory stage. *J Mol Cell Cardiol*, **3**: 213.
3. Arcos JC, Sohal RS, Sun S, Argus MF and Burch GE(1968): Changes in ultrastructure and respiratory control in mitochondria of rat heart hypertrophied by exercise. *Exptl Mol Pathol*, **8**: 49-65.
4. Basson ABK, Terblanche SE and Oelofsen W (1982): A comparative study on the effect of aging and training on the levels of lipofuscin in various tissues of the rat. *Comp Biochem Physiol*, **71(A)**: 369-374.
5. Coleman R, Silbermann M, Gershon D and Reznick AZ(1987): Effects of long-term running stress on the ultrastructure of the aging mouse heart. *Gerontology*, **33**: 19-33.
6. Coleman R, Silvermann M, Gershon D and Reznick A(1982): An ultrastructural study on lipofuscin and macrophages in the ventricular myocardium of aging and endurance-trained mice. *Biol Cell*, **46**: 207-210.
7. Eichner ER(1983): Exercise and heart disease. Epidemiology of the 'exercise hypothesis'. *Am J Med*, **75**: 1008-1023.
8. Frenzel H, Hötermann W, Schnürch HG, Novi AM and Hort W(1981): Experimentelle morphologische und biochemische untersuchungen am Herzen während der rückbildung einer hypertrophie. *Vern Dtsch Ges Pathol*, **65**: 481.
9. Frenzel H and Feimann J(1984): Age-dependent structural changes in the myocardium of rats. A quantative light and electron-microscopic study on the right and left chamber wall. *Mechan Ag-*

- ing Dev*, **27**: 29-41.
10. Harman D(1984): Free radicals and the origination, evolution and present status of the free radical theory of aging. In free radicals in molecular biology, aging, and disease, vol. 27, Edited by Armstrol D, Sohal RS, cutler RG and Slater TF, Raven Press, N.Y., 1-12.
 11. Hayflick L(1980): Future directions in aging research. *Proceedings of the society for experimental Biology and Medicine*, **165**: 206-214.
 12. Heicklen J and Brown E(1987): Increase in life expectancy for mice fed diethylhydroxy-amine. *J Gerontol*, **42**: 674-680.
 13. Herbener GH(1976): A morphometric study of age-dependent changes in mitochondrial populations of mouse liver and heart. *J Gerontol*, **31**: 8-12.
 14. Kainulainen H, Pilstrom L and Vihko V(1979): Morphometry of myocardial apex in endurance-trained mice of different ages. *Acta physiologica scanda*, **107**: 109-114.
 15. Kehogg III EW and Fridovich I(1976): Superoxide dismutase in the rat and mouse as a function of age and longevity. *J Gerontol*, **31(4)**: 405-408.
 16. Kehogg III EW and Fridovich I(1977): Liposome oxidation and erythrocyte lysis by enzymatically generated superoxide and hydrogen peroxide. *J Biol Chem*, **252**: 6721-6728.
 17. Kment A, Leibetseder J and Burger H(1966): Gerontologische untersuchungen an ratenherzmitochondrien. *Gerontologia*, **12**: 193.
 18. Leon AS, Floor CM(1968): Effects of exercise and its cessation on the heart and its blood supply. *J Appl Physiol*, **24**: 485-490.
 19. Lesko SA, Lorentzem RJ and Ts'o POP(1980): Role of superoxide in deoxyribonucleic acid strand scission. *Biochem*, **19**: 3023-3028.
 20. Loud AV, Anversa P, Giacomelli F and Wiener J(1978): Absolute morphometric study of myocardial hypertrophy in experimental hypertension. I. Determination of myocyte size. *Lab Invest*, **38**: 586-596.
 21. Ludatscher R, Silbermann M, Gershon D and Rznick A(1983): The effects of enforced running on the gastrocnemius muscle in aging mice. An ultrastructural study. *Exp Gerontol*, **18**: 113-123.
 22. Meessen H(1971): Structural basis of myocardial hypertrophy. *Br. Heart J*, **33**: 94.
 23. Page E and McCallister LP(1973): Quantitative electron microscopic description of heart muscle cells. *The American J of Cardial*, **31**: 172-181.
 24. Paniagua R, Vázquez JJ and López-Moratalla N (1977): Effects of physical training on rat myocardium. *Revista Espanola De Fisiologia*, **33**: 273-282.
 25. Park SH, Park WH and Lee YD(1995): Effect of the exercise training on aging atrophy in rat skeletal muscle. *The Korean Journal of Physical Education*, **34(3)**: 276-299.
 26. Park WH, Chung HJ, Lee YD and Choi JM (1990): Effect of chlorambucil as extrinsic factor on aging process of rat heart. *Korean J Electron Microscopy*, **20(2)**: 127-159.
 27. Park WH, Chung HJ and Lee CS(1989): An experimental study of the effects of chlorambucil on myocardium of mouse. *Chungnam Medical J*, **16(2)**: 316-326.
 28. Porta EA, Sablan HM, Joun NS and Chee G (1982): Effects of the type of dietary fat at two levels of vitamin E in Wistar male rats during development and aging. *Mech Aging Dev*, **18**: 159-199.
 29. Porter H, Doty DH and Bloor CH(1971): Interaction of age and exercise on tissue lactic acid dehydrogenase activity in rats. *Lab Invest*, **25**: 572-576.
 30. Shailesh KP and Radha E(1981): Lipofuscin accumulation and lipid peroxidation in rat myocardium as a function of age. *Current Science*, **50**: 332-334.
 31. Silberman M, Finkelbrand S, Weiss A and Gershon D(1983): Morphometric analysis of aging skeletal muscle following endurance training. *Muscle Nerve*, **6**: 136-142.
 32. Starnes JW, Beyer RE and Edington DW(1983): Myocardial adaptations to endurance exercise in aged rats. *Am J Physiol*, **245**: H560-H566.

33. Strehler BL, Mark DD, Mildban AS and Gee MV(1960): Rate and magnitude of age pigment accumulation in the human myocardium. *J of Gerontol*, **14**: 430-439.
34. Tatarianas AB(1991): Accumulation of lipofuscin granules in acute myocardial infarction as a model of cell aging. *Byull ksp Biol Med*, **111**: 443-446.
35. Tomanek RJ and Karlsson UL(1973): Myocardial ultrastructure of young and senescent rats. *J Ultrastruc Res*, **42**: 201-220.
36. Totáro EA, Cuomo V and Pisanti FA(1986): Influence of environmental stress on lipofuscin production. *Arch Gerontol Geriat*, **5**: 343-349.
37. Travis DF and Travis A(1972): Ultrastructural changes in the left ventricle rat myocardial cells with age. *J Ultrastr Res*, **39**: 124-148.

FIGURE LEGENTS

Fig. 1. Photomicrographs of 1 μ Epon sections stained with alkaline toluidine blue($\times 200$)

- a. Ventricle of control rat aged 8 months showing that muscle fibers are mainly parallel with perinuclear sarcoplasm, evenly dispersed chromatin, regular arrangement of Z band and intercalated disc.
- b. Ventricle of trained rat aged 8 months showing normal tissue architecture as Fig. 1a.
- c. Ventricle of control rat aged 15 months showing wavy myofibrils, vacuole, intact intercalated disc and increasing interstitium.
- d. Ventricle of trained rat aged 15 months showing an increase in vacuole coarse chromatin and contraction band.
- e. Ventricle of control rat aged 25 months showing increased connective tissue, vacuole and contraction band.
- f. Ventricle of trained rat aged 25 months showing infiltration of collagen fiber into myofibril (arrow).
- g. Ventricle of trained rat aged 25 months showing hypercontraction band(arrow).

Fig. 2. Photomicrographs of areas of ventricle stained with sudan black B for early lipofuscin

- a. Ventricle of control rat aged 8 months showing weak reaction product($\times 400$).
- b. Ventricle of trained rat aged 8 months showing that reaction product and its distribution are similar to control group($\times 400$).
- c. Ventricle of control rat aged 15 months showing moderate increase in reaction product in the sarcoplasm($\times 400$).
- d. Ventricle of trained rat aged 15 months showing moderate increase in reaction product similar to control group($\times 400$).
- e. Ventricle of control rat aged 25 months showing the intense reaction product($\times 200$).
- f. Ventricle of trained rat aged 25 months showing widespread intense reaction product (early lipofuscin) on entire surface of tissue section($\times 200$).

Fig. 3. Electron micrographs showing ultrastructures of ventricular myocyte

- a. Ventricular myocyte of control rat aged 8 months showing typical normal myocardial cell ($\times 8,500$). N:nucleus, M:mitochondrion, MF:myofibril.
- b. Ventricular myocyte of trained rat aged 8 months showing intact myocardial ultrastructures, evenly dispersed chromatin as Fig. 4a($\times 8,500$).
- c. Ventricular myocyte of control rat aged 15 months showing minimally clumped and marginated nuclear chromatin, lipofuscin(arrowhead) and swelling, disrupted mitochondrion(*) ($\times 6,400$).
- d. Ventricular myocyte of trained rat aged 15 months showing marginated nuclear chromatin, lipid droplet(LD) and lipofuscin(arrowhead)($\times 6,400$).
Inset : swelling, partially disrupted mitochondria and associated lipofuscin($\times 6,400$).
- e. Ventricular myocyte of control rat aged 25 months showing expanded interstitial space(*) in which presumed fibroblast appears, a partial separation of cell junctions(arrowhead) in intercalated disc(ID), mitochondrial vacuolization just beneath sarcolemma lipofuscin at the nuclear pole($\times 6,400$).
Inset : contraction band(HB)($\times 8,300$).

- f. Ventricular myocyte of trained rat aged 25 months showing separated intercalated disc (arrowhead), and closely associated hypercontraction band(HB)($\times 6,400$).
 - g. Ventricular myocyte of trained rat aged 25 months showing focal complete disorganization of cellular component(*) with separation of intercalated disc($\times 5,600$).
 - h. Ventricular myocyte of trained rat aged 25 months showing transformed nucleus(N) containing cytoplasmic intranuclear inclusion($\times 9,000$).
 - i. Ventricular myocyte of trained rat aged 25 months showing lipofuscin granules(arrowhead) on entire surface of myocyte sections and disorganization of myofibrils and organelles($\times 8,300$).
 - j. Ventricular myocyte of trained rat aged 25 months showing focal mitochondrial aggregation and degeneration(*)($\times 8,300$).
 - k. Ventricular myocyte of trained rat aged 25 months showing infiltration of interstitial tissue (IT) into myofibrils causing separation and isolation of a portion myocyte(*) into interstitium ($\times 9,000$).
- ig. 4. Electron micrographs showing areas of glucose-6-phosphatase activity in myocyte
- a. Ventricular myocyte of control rat aged 8 months showing the reaction product(arrowhead) between myofibrils($\times 34,000$).
 - b. Ventricular myocyte of trained rat aged 8 months showing the activity similar to age matched control group($\times 34,000$).
 - c. Ventricular myocyte of control rat aged 15 months showing the reaction was a little decreased as compared with 8 months old group($\times 24,000$).
 - d. Ventricular myocyte of trained rat aged 15 months showing the activity similar to age matched control group($\times 24,000$).
 - e. Ventricular myocyte of control rat aged 25 months showing the activity was drastically decreased with age($\times 20,000$).
 - f. Ventricular myocyte of trained rat aged 25 months showing the reaction product is only occasionally found in myocyte($\times 20,000$).

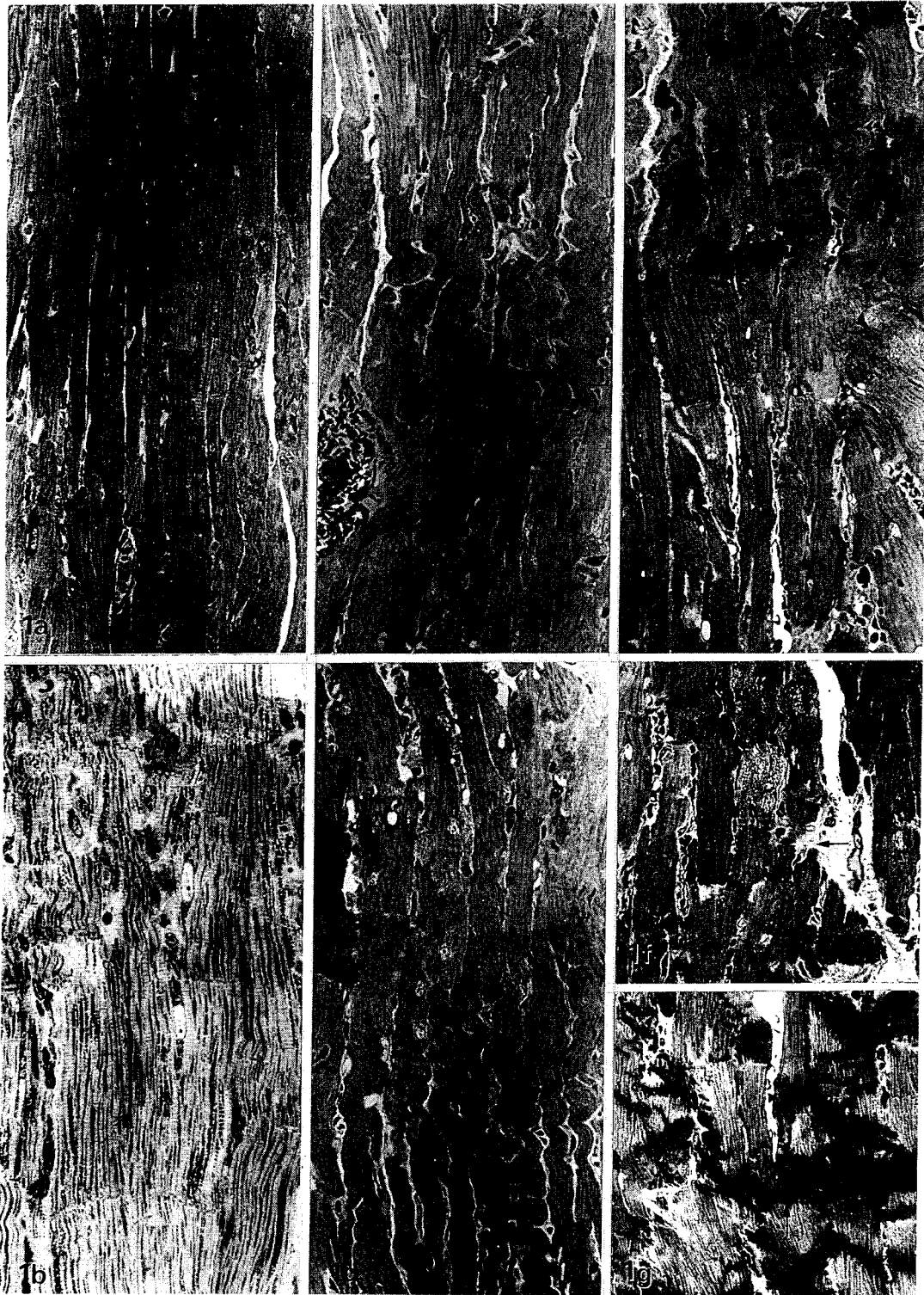


Fig. 1.

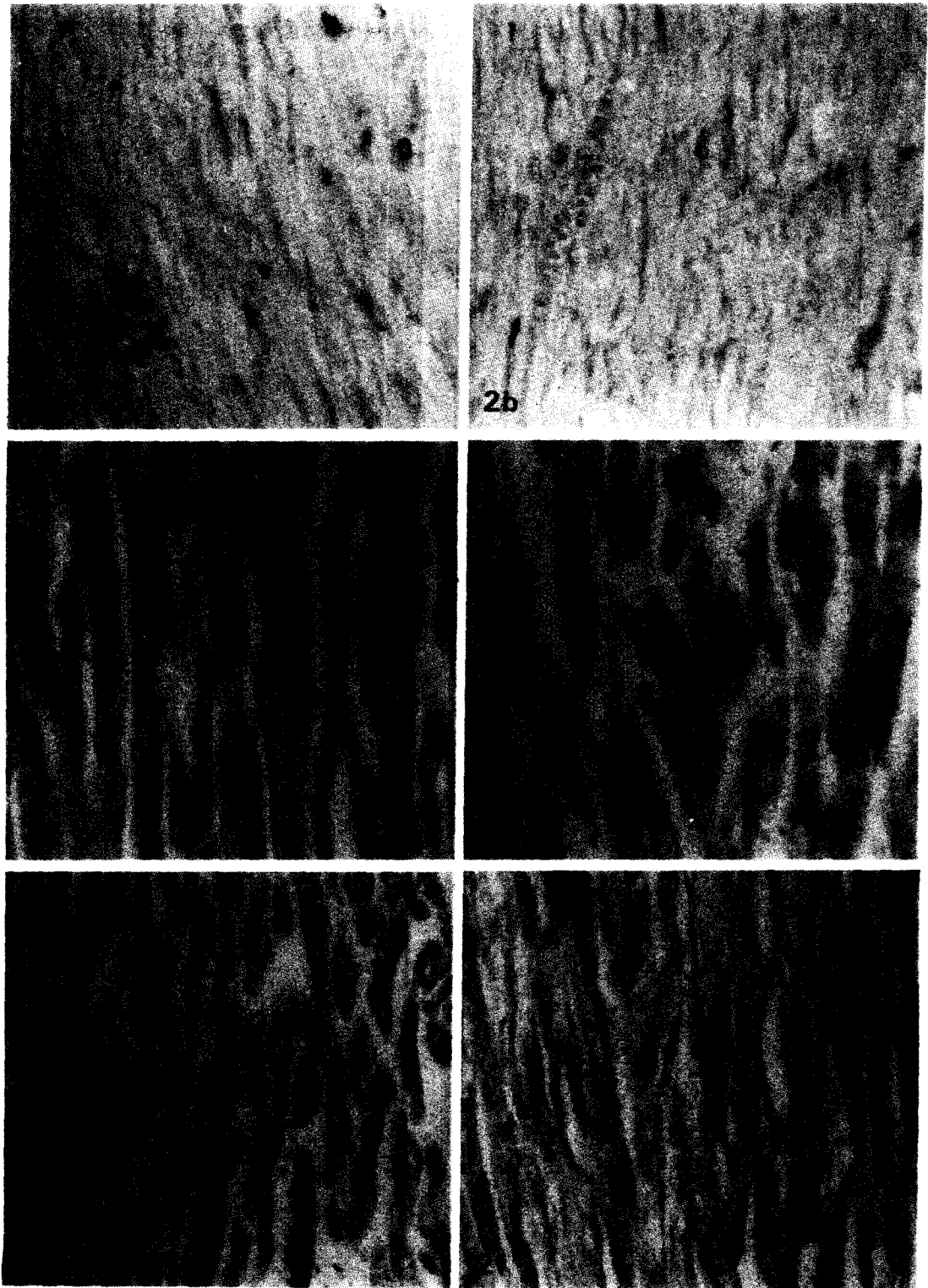


Fig. 2.

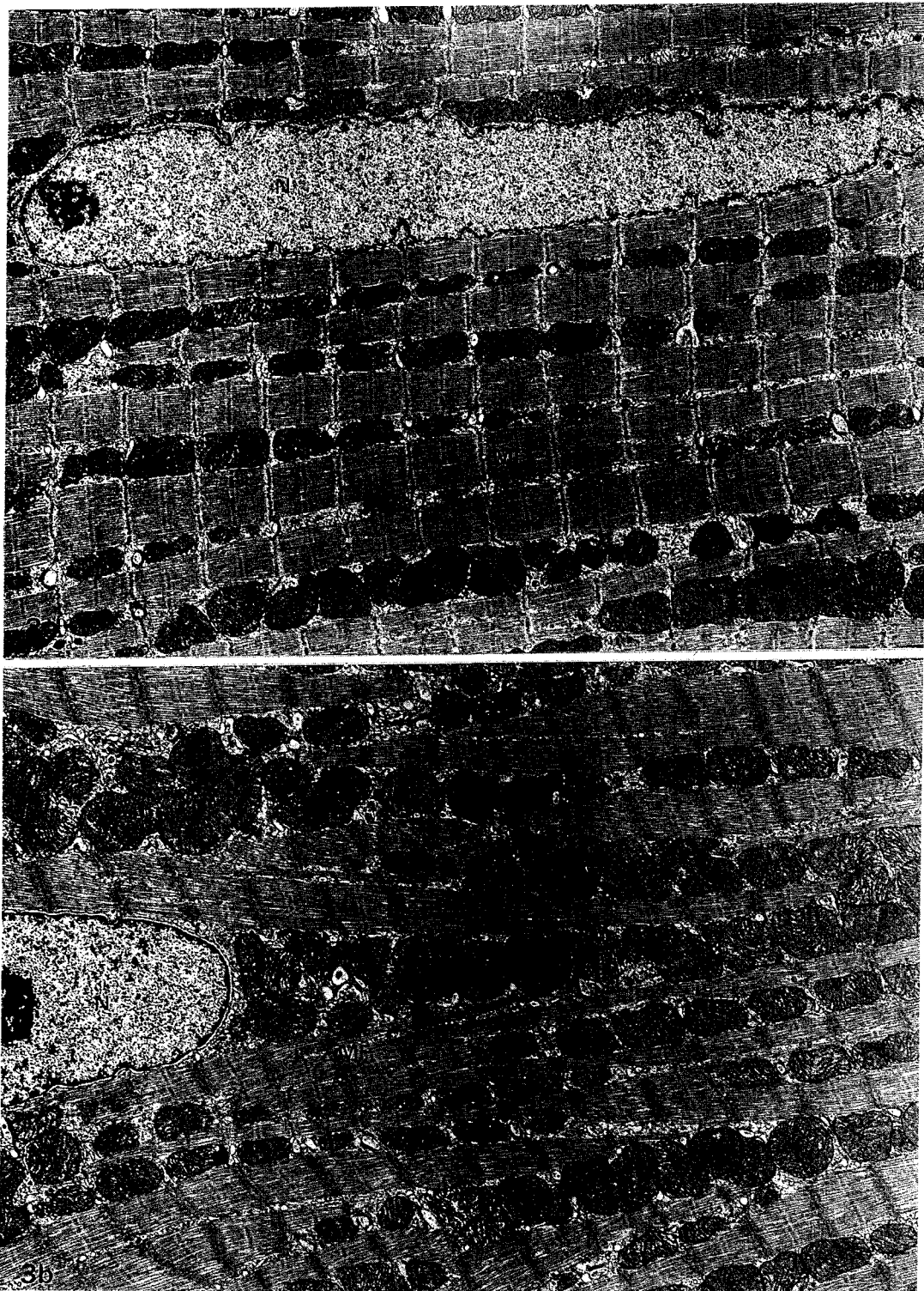


Fig. 3ab.

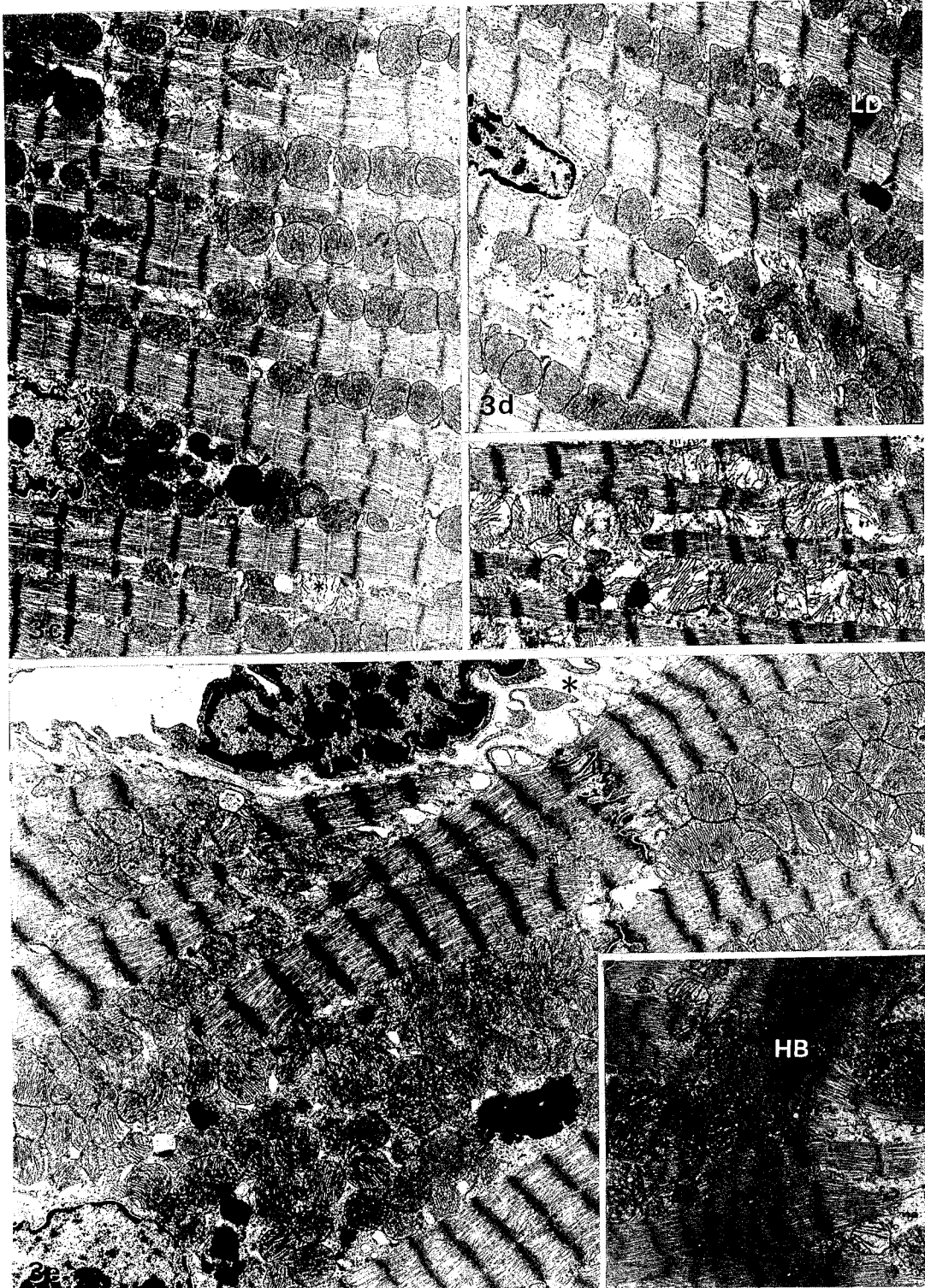


Fig. 3cde.

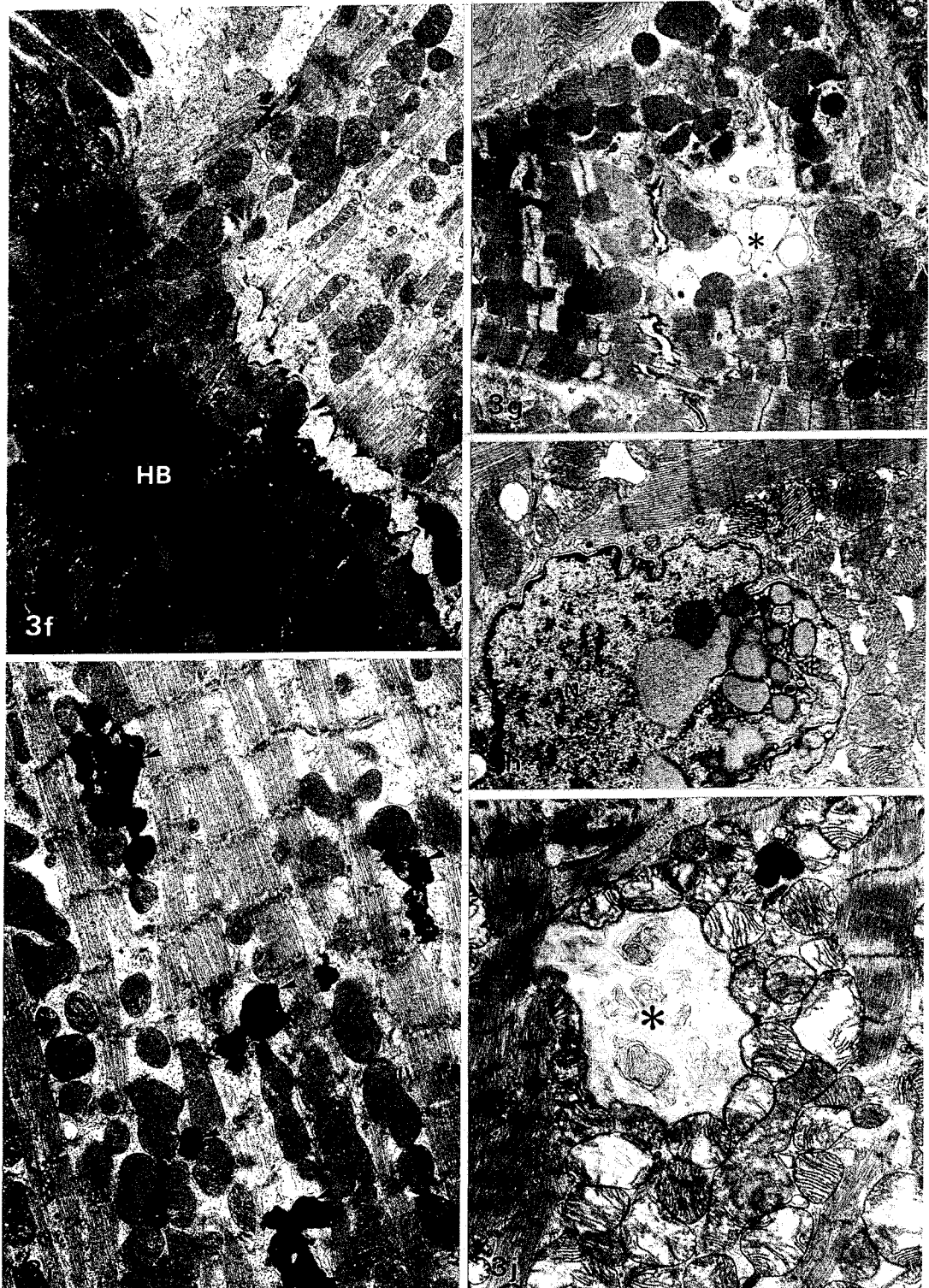


Fig. 3fghij.

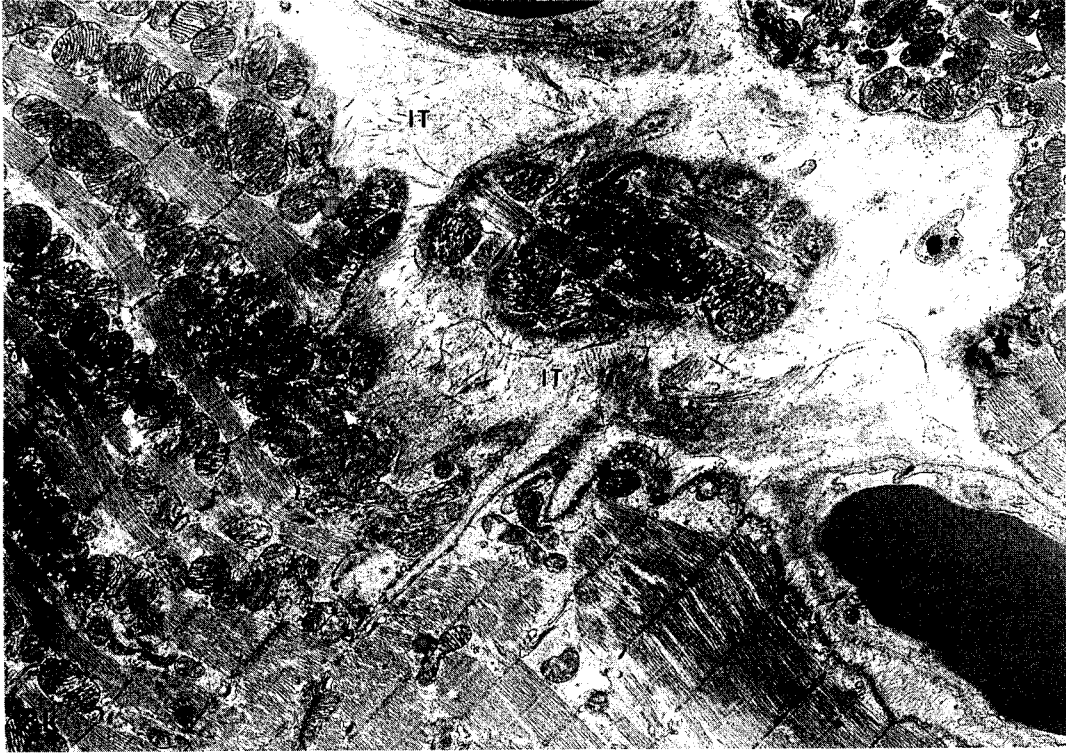


Fig. 3k.

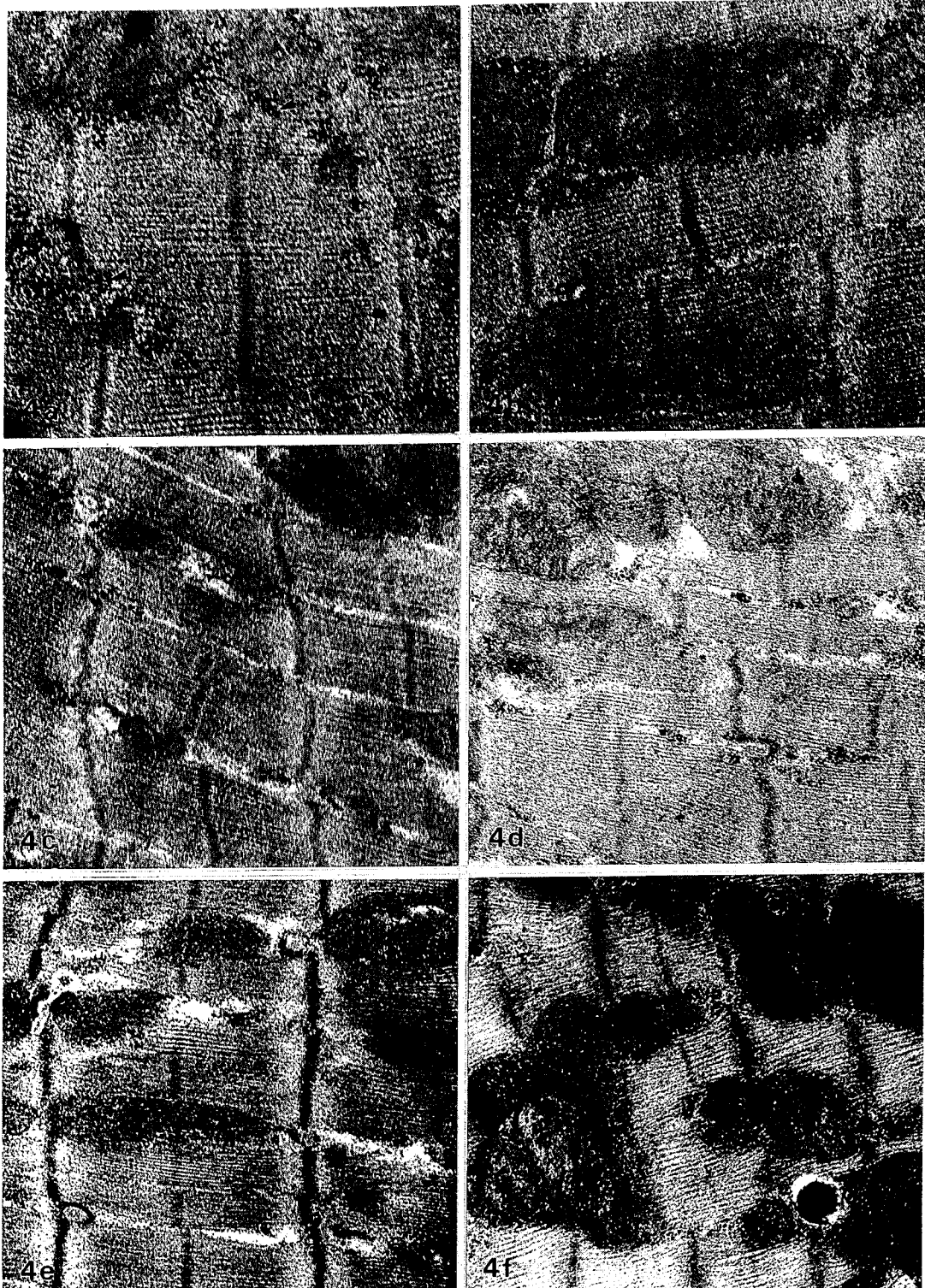


Fig. 4.

=Abstract=

Effects of the Exercise Training on Aging Heart in Rat

I. Long Term Endurance Exercise

Won-Hark Park[†], Sang-Sun Lee and Yong-Deok Lee*

Dept. of Biology, Yeungnam University, Kyongsan 712-749, Korea

**Dept. of Physical Therapy, Taegu Health Junior Collage, Taegu 702-260, Korea*

There is considerable current interest in the effect of regular vigorous exercise and in particular endurance-running as a possible measure in improving myocardial function. Some data indicate that the aging heart may actually suffer from vigorous endurance exercise. On the contrary, appropriate exercise in aged animals improves myocardial function and aerobic energy metabolism. So far there is relatively little data to indicate that endurance exercise is in fact beneficial in improving myocardial function or damaging to heart of aged animals. The present investigation aimed to study the possible effect of a long range treadmill training program on the heart in aging rats. Male rats aged 3, 10, and 20 months were divided at random into a control (sedentary) and an exercise group. The training group was exercised for 5 days a week on an automated treadmill for 20minutes at 18m/min over a period of 5 months. The exercise regimen of our experiments did not cause any significant changes in the tissues and ultrastructural as compared with sedentary age-matched control. Tissues and ultrastructures of myocardial cells in trained group aged 8 months are intact and well organized as well as sedentary control group. Age associated tissue and ultrastructural changes of trained group aged 15 months included : an increase in transformed mitochondria, vacuoles, lysosomes, lipid droplets and early lipofuscin. But the trained heart did not show significant difference in tissue and ultrastructural properties from those of sedentary controls. Endurance-trained group aged 25 months showed significant qualitative tissue and ultrastructural difference as compared with age-matched controls. In addition to those found in 25 months control group, focal necrosis, myofibril fraying, hypercontraction band, separation of intercalated discs, degenerating nucleus and infiltration of collagenous fiber into myocyte were noted in trained 25 months group. The stereological examination of the micrographs disclosed no significant difference in the myofibril, mitochondrion, sarcotubule and interstitium volume density and surface density of mitochondrial cristae and numerical density of mitochondria between trained and control group aged 8 and 15 months. In the trained 25 months group, significant increase in volume density of interstitium, lipofuscin granule were shown as compared to untrained age-matched control. On the other hand, significant decrease in mitochondrion volume density was shown. The myofibril volume density did not differ between trained and control group although trained group showed slight increase. From the data obtained, a reduced mitochondria/myofibrils ratio was found in trained rat heart aged 25 months and there was no difference between trained and control rat aged 15 months. But a slight but not significant increase was found in the trained group aged 8 months as compared with same age control group. Such increase in the ratio in young animals is considered to be of great importance to cardiac pumping and adaptability. Whereas such adaptations don't seem to occur in aged heart muscle. This study proposed that repeated endurance exercise do not cause any significant qual-

itative and quantitative ultrastructural change of heart muscle in young(3months) and adult (10months) suggesting that the heart is able to adapt to the exercise. On the contrary, the repeated endurance exercise stress may actually induce degenerative changes in the aged heart muscle(20months).

Key Words: Endurance exercise, Volume density, Surface density, Myofibril, Lipofuscin.

[Korean J. Biomed. Lab. Sci. 2(1): 71-90, June 1996]

†Corresponding author