

Xylan으로부터 단리한 Glucuronic Acid의 유산소 운동 후 항산화 작용 및 근피로 회복효과

최향미 · 이수천* · 류승필* · 이인구** · 주길재** · 이순재[§]

대구가톨릭대학교 식품영양학과, 경북대학교 체육교육학과,* 경북대학교 농화학과**

Effects of Glucuronic Acid Derivatives Isolated from Xylan on Antioxidative Defense System and Muscle Fatigue Recovery after Aerobic Exercise

Choi, Hayang-Mi · Lee, Soo-Chun* · Ryu, Sung-Pil* · Rhee, In-Koo** · Joo, Gil-Jae** · Rhee, Soon-Jae[§]

Department of Food Science and Nutrition, Daegu Catholic University, Daegu 712-702, Korea

Department of Exercise Education,* Kyungpook National University, Kyungpook 702-710, Korea

Department of Agriculture Chemistry,** Kyungpook National University, Kyungpook 702-710, Korea

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effects of glucuronic acid on antioxidative defense system and recovery of muscle fatigue in rat after aerobic exercise. Sprague-Dawley male rats weighing 150 ± 10 g were randomly assigned to one normal(N) group and three exercise training groups. Exercise training groups were classified into glucuronic acid free intubation group(T group), 250mg glucuronic acid/kg bw intubation group(TU group), and 500 mg glucuronic acid/kg bw intubation group(2TU group) according to glucuronic acid supplementation level. The glucuronic acids were administered to rats by oral intubation before exercise training. The experimental rats in exercise training groups(T, TU and 2TU) were exercised on glucuronic acid supplementation or rats in normal group were confined in cage for 4 weeks. And rats were sacrificed with an overdose of pentobarbital injection just after running. Liver xanthine oxidase(XOD) activities were not significantly different among four groups. The activity of superoxide dismutase(SOD) in T group was no significant difference from N group, but those of TU and 2TU groups were increased by 9% and 18%, respectively, compared with that of T group. Liver glutathione peroxidase(GSHpx) activities of T and TU groups showed a similar tendency to that of normal group, but increase 17% in 2TU group compared with normal group. The ratio of GSH/GSSG in liver of T group was lower than that of normal group, but those of TU and 2TU groups were a similar tendency to that of normal group. Contents of thiobarbituric acid reactive substance(TBARS) in T group was increased by 47%, compared with that of normal group but those of TU group and 2TU group were lower 27% and 35%, respectively, compared with that of T group. The contents of glycogen in soleus muscle significantly lower in all three trained exercise groups than that of normal group, but there were no significant differences among the trained exercise groups. Contents of hepatic glycogen in T group were decreased 27% compared with those of normal group, while those of TU and 2TU groups were the same as normal group levels. The contents of serum lactic acid in T group were increased 240% of normal group, but those of TU and 2TU groups were decreased 38%, 39%, respectively, by glucuronic acid supplementations, compared with that of T group. In conclusion, the effects of glucuronic acids in exercise training rats would appear to reduce peroxidation of tissue as an antioxidative defense mechanism and promote recovery of muscle fatigue. (*Korean J Nutrition* 34(8) : 872~880, 2001)

KEY WORDS: glucuronic acid, exercise, antioxidative system, muscle fatigue recovery.

서 론

현대는 경제성장과 더불어 우리 생활에도 크게 2가지 변화가 초래되었다. 그 하나는 동물성 지방 섭취의 증가와 같

은 식생활의 서구화적 변화이며 또 하나는 생활 양식의 편리화로 인한 운동부족과 스트레스의 증가이다. 그 결과 고혈압, 동맥경화증, 심장병 및 뇌질환 등과 같은 순환계 질환의 사망율이 1순위로 차지하게 되었다. 그러므로 이를 개선시킬 수 있는 수단으로 식생활의 개선과 더불어 유산소 운동을 이용하는 인구가 점차 증가되고 있다. 유산소 운동의 효과는 심폐기능을 좋게 할 뿐만 아니라 혈액의 지질성분을 개선시켜 관상동맥의 지방 플라그(fatty plaque)의 축적속도를 완

접수일 : 2001년 6월 26일

채택일 : 2001년 11월 3일

[§]To whom correspondence should be addressed.

화시켜서 심장병의 발병을 낮추는 효과가 있으므로 일반적으로 유산소 운동 능력이 높은 집단에서는 다른 집단들에 비하여 심장병의 발병율이 낮은 것으로 보고되고 있다.²⁾

그러나 한편으로 유산소 운동은 전자전달계의 중간 단계에서 전자 누출에 의한 유리기 및 산화적 스트레스 생성을 나타내며,^{2,3)} 그러므로 운동에 의해 증가하는 free radical과 지질 과산화는 단백질 산화, DNA 손상과 같은 산화적 스트레스에 의한 상해를 증가시키는 것으로 보고되고 있다.

이러한 생체에서 발생하는 활성 산소종에 의한 단백질, 핵산 및 생체막관 손상은 superoxide dismutase(SOD), catalase(CAT), glutathione peroxidase(GSHpx) 등의 항산화 효소에 의해 방어된다. 그 이외에도 비타민 E, glutathione 등의 항산화 물질은 free radical을 방어하는 역할을 하게 된다.^{4,5)}

Brady 등⁶⁾은 탈진 운동이 지구성 훈련을 하지 않은 동물에서 지질과산화물의 증대를 보고하고 있으며, 단시간의 심한 운동에 의한 스트레스는 골격근의 항산화 효소와 항산화 방어 체계에 의해서 보상을 받지 못한다고 하였다. 반면 Powers 등⁷⁾은 10주간의 treadmill 지구성 운동이 골격근 항산화 효소의 증대를 유도할 수 있다고 하였다. 그러나 항상 지구성 훈련이 항산화 방어 능력에 긍정적인 결과만을 보고한 것은 아니다. Laughlin 등⁸⁾과 Power 등⁷⁾은 지구성 훈련이 항산화 방어능력의 증가를 가져오지 않는다고 하였으며, Tiidus 등⁹⁾은 8주간의 유산소 운동이 항산화 적응 능력을 향상시키기에 충분하지 않다고 보고하였다. 이와 같이 운동으로 야기된 산소 섭취량의 증가에 따른 산화적 스트레스 증가와 그 적응에 관한 문제는 40년 이상을 논쟁해 온 중요한 의문 사항이었다.

최근 백¹⁰⁾의 연구에 의하면 건강한 남자대학생을 대상으로 하여 운동부하 전과 후에 혈액을 채취하여 분석한 결과 마늘의 약리효과 중 운동시 항산화효과와 항피로 및 피로회복에 대해 보고하였다. 그리고 현재 시판되고 있는 산성당으로는 글루크론산제제의 주성분인 glucuronolactone을 이용한 근피로에 대한 효과 보고는 다수 알려져 있다. 野村晋一과 失橋實之¹¹⁾는 8주령의 Wistar계의 흰쥐를 7주간 treadmill운동을 시키면서 glucuronolactone을 경구투여한 후 혈중 lactic acid 및 glucose 등을 분석한 결과 주행 능력을 향상시킬 뿐만 아니라 혈중 지질개선과 피로회복을 촉진시킨다고 보고하였다.

이러한 견지에서 볼 때 운동과 관련된 산화적 스트레스와 피로도를 감소시키는 물질 개발이 중요하다.

그러므로 본 연구에서는 아직 연구된 바 없는 폐자원을 이용한 xylan으로부터 단리한 glucuronic acid를 경구투

여하면서 treadmill을 이용한 유산소 운동을 시킨 후 항산화적 해독기능과 근피로 회복에 미치는 glucuronic acid 효과를 관찰하였다.

실험재료 및 방법

1. Xylan으로부터 glucuronic acid의 단리

Glucuronic acid의 단리를 위하여 활엽수제인 신갈나무를 폭쇄하여 열 추출한 후 여과처리하고 여과액을 감압 농축하며 Amberlite IR-120과 Amberlite IRA-67을 각각 통과시켜 다시 농축시켰다. 농축액의 4배양의 ethanol을 첨가하여 crude xylan을 단리하였다. 단리한 xylan으로부터 산 가수분해하여 Ba(OH)₂포화수용액으로 pH 5.5로 중화한 후 침전물을 제거하였다. 중화 액을 양이온교환수지인 Amberlite IR-120(H⁺형)이 충전된 column을 사용하여 증류수로 용출시켰으며 이 과정에서 중화액 속에 잔존하는 염을 제거시켰다. 이 용출액을 음이온교환수지인 Amberlite IRA-67(OH 형)이 충전된 column에 증류수로 용출시켜 중성 당을 우선 용출시키고, 음이온교환수지에 흡착된 산성당을 0.01M 암모니아 수용액으로 재용출함으로써 산성당을 분리하였다. 0.01M 암모니아수를 완전히 제거한 후 용출하여 본 실험에 사용할 glucuronic acid를 얻었다.

2. 실험동물, 식이 및 운동부하

실험동물은 체중 150g 내외의 Sprague-Dawley종 숫컷을 구입하여 실험에 이용하였다. 환경에 적응시키기 위하여 일주일 간 예비사육한 후 난피법에 의해 정상군과 운동군으로 나누고 운동군은 다시 트레드밀운동만 부가한 T군(training group), 운동군에 glucuronic acid를 공급한 TU군(training-glucuronic acid), glucuronic acid를 TU군 보다 2배로 공급한 2TU군(training-2 × glucuronic acid group)으로 나누었다(Table 1). 식이는 실험 전기간을 통하여 수분 5.3%, 단백질 24.6%, 지방 5.4%, 탄수화물 54.7%, 섬유소 3.5%, 무기질 6.5%를 함유한 국내의 삼양사료로부

Table 1. Classification of experimental groups

Groups	Treadmill	Glucuronic acid (250mg glucuronic acid /kg bw)
Normal ¹⁾	-	-
T ²⁾	+	-
TU ³⁾	+	+
2TU ⁴⁾	+	++

1) Normal: basal diet

2) T: basal + training

3) TU: basal + training + glucuronic acid(250mg/kg bw)

4) 2TU: basal + training + 2 × TU(500mg/kg bw)

터 구입한 실험동물용 고형사료를 자유 섭취토록 하였다. Glucuronic acid 공급은 매일 운동시작 1시간 전에 체중 100g당 0.1ml씩 경구 투여하였다. 운동은 국내에서 제작된 실험 소동물용 전동 treadmill에서 실시하였으며 운동조건은 Table 2와 같다.

3. 혈액 및 장기제취

실험동물을 실험기간 종료일에 운동시키기 1시간 전에 glucuronic acid를 경구투여 한 후 운동이 끝난 직후 pentobarbital로 마취시켜 복부 대동맥으로 혈액을 채취하고 2,000rpm에서 20분간 원심분리 한 후 혈청을 얻어 실험 전까지 냉동 보관하였다. 간장은 생리식염수로 씻어내고 무게를 측정 후 액체 질소로 급속 동결시켜 -80°C 에 보관하였다.

4. 간조직중의 xanthine oxidase(XOD)

간조직중의 XOD 활성도 측정은 xanthine을 기질로 하여 30°C 에서 10분간 반응시켜 생성된 uric acid를 파장 292nm에서 흡광도를 측정하는 Stipe Della Corte의 방법²¹⁾을 이용하였다. 활성도 단위는 간조직의 단백질 1mg이 1분 동안 반응하여 기질로부터 생성된 uric acid량을 nmol 농도로 표시하였다.

5. 간조직중의 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GSHpx) 활성 측정

SOD 활성은 알칼리 상태에서 pyrogallol의 자동산화에 의한 발색을 이용한 Marklund와 Marklund의 방법¹³⁾을, GSHpx 활성은 Lawrence와 Burk의 방법¹⁴⁾에 의하여 측정하였다.

6. 간조직중의 glutathione 함량 측정

Glutathione의 함량측정은 Bernt와 Bergmeyer의 방법¹⁵⁾에 따라서 측정하였다. 산화형 glutathione(GSSG)은 glutathione reductase 반응을 이용하였으며, 이 반응에서 소모된 NADPH량을 340nm에서 측정하여 정량하였으며, 환원형 glutathione(GSH)은 glyoxalase 반응을 이용하여 생성된 S-lactosyl-GSH를 240nm에서 측정하여 정량하였다.

7. 간조직중의 과산화지질(TBARS) 함량 측정

과산화지질의 정량은 thiobarbituric acid(TBA)와 반응

하여 생성되는 malondialdehyde를 측정하는 Satoh법¹⁶⁾을 이용하였다.

8. 간조직의 글리코겐 함량 측정

글리코겐 함량은 phenol과 Na_2SO_4 등을 첨가하여 흡광도 490~492nm에서 측정하는 Lo의 방법¹⁷⁾에 따라 실시하였다.

9. 혈중 lactic acid 함량 측정

혈중 lactic acid 함량 측정은 Brin과 Dunlop의 방법¹⁸⁾에 따라 heparin으로 처리한 주사기로 혈액을 채취한 후 8% perchloric acid 효소를 불활성화시킨 후 3000rpm에서 10분간 원심 분리하여 상층액을 측정용 시료로 이용하여 cocktail 용액(0.33M glycine, 0.27M hydrazine buffer, 0.83mg of NAD, 5 unit LDH(lactic dehydrogenase)을 가하고 perchloric acid와 lactic acid를 각각 시료에 가한 후 37°C shaking water bath에서 45분간 incubation한 후 340nm에서 측정하였다.

10. 단백질 함량 측정

간장조직의 단백질 함량은 bovine serum albumin을 표준용액으로 하여 Lowery 방법¹⁹⁾에 의해 측정하였다.

11. 통계처리

모든 실험결과에 대한 통계처리는 각 실험군별로 표준차이가 있는가를 검정하기 위하여 분산분석(ANOVA 검증)을 수행하였으며, 분산분석결과 유의성이 발견된 경우 군간의 유의도는 Tukey's-HSD test²⁰⁾에 의해 분석하였다.

결과 및 고찰

1. Xanthine oxidase 활성변화

Xanthine을 기질로 하여 요산을 생성하는 과정에서 superoxide radical을 생성하는 효소 즉, free radical 생성계 효소로 알려진 XOD의 활성을 간 조직에서 관찰한 결과는 Table 3과 같다. 정상군과 T군간에 유의적 차이는 없었으나 T군이 정상군에 비해 다소 높았다. 또한 T군에 비해 glucuronic acid를 투여한 TU군과 2TU군에서 다소 감소하는 경향이었으나 유의적인 수준은 아니었다(Table 3).

2. Superoxide dismutase(SOD) 및 glutathione peroxidase 활성변화

생체내의 항산화적 방어기구 중에서 효소적 방어계의 하나로서 superoxide radical을 환원시켜 H_2O_2 로 전환시키므로써 산소독으로부터 생체를 보호하는 SOD활성을 관찰한 결과는 Table 4와 같다. Glucuronic acid를 투여하지 않은 운동군인

Table 2. Exercise training schedule of experimental rats.

	Duration(week)			
	1	2	3	4
Speed(m/min)	10	20	25	28
Grade(degree)	7	7	7	7
Time(min)	10	20	25	30
Frequency(days/week)	5	5	5	5

T군에 비해 glucuronic acid를 투여한 TU군과 2TU군에서 각각 9%, 18%씩 유의적으로 증가되었다($p < 0.05$).

그리고 selenium을 함유하는 항산화 효소로 비타민 E와 함께 과산화물을 제거함으로써 세포막의 손실을 방어하는 GSHpx 활성은(Table 4) 정상군에 비해 glucuronic acid를 투여하지 않은 T군과 glucuronic acid를 투여한 TU군에서는 정상군 수준이었으나, glucuronic acid를 2배 투여한 2TU에서는 정상군에 비해 17% 증가되었다($p < 0.05$).

3. 간 조직중의 glutathione 함량

비효소적 방어기구 중의 하나인 간 조직 환원형 glutathione(GSH) 함량과 산화형 glutathione(GSSG) 함량은 Table 5와 같다. GSH 함량은 정상군과 운동군간에 유의적인 차이는 없었다. GSSG 함량은 정상군이 0.34 μ mol/g인데 비해 glucuronic acid를 투여하지 않은 운동군인 T군은 0.59 μ mol/g으로서 74% 유의적 증가($p < 0.05$)를 보였으나 glucuronic acid를 투여한 운동군인 TU, 2TU군은 각각 0.42 μ mol/g, 0.40 μ mol/g으로서 유의적으로 증가되었다($p < 0.05$). 또한 GSH/GSSG ratio는 정상군에 비해 T군에서 32% 유의적으로 감소되었으나($p < 0.05$), glucuronic acid를 투여한 TU군과 2TU군에서는 정상군 수준이었다(Table 5).

4. 간 조직중의 과산화지질(TBARS) 함량

생체조직의 과산화적 손상의 지표로 알려져 있는 지질과

Table 3. Effects of glucuronic acid on hepatic xanthine oxidase activities in exercise training rats

Group	XOD (nmol/mg protein/min)
Normal	4.43 \pm 0.44 ^{NS}
T	5.15 \pm 0.63
TU	4.92 \pm 0.35
2TU	4.66 \pm 0.15

All values are mean \pm SE(n = 10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

The experimental conditions are the same as Table 1 and Table 2.

Table 4. Effects of glucuronic acid on hepatic superoxide dismutase, glutathione peroxidase activities in exercise training rats

Group	SOD	GSHpx
	(unit/mg protein)	(nmol NADPH/mg protein/min)
Normal	3.907 \pm 0.412 ^a	204 \pm 12.95 ^a
T	4.073 \pm 0.357 ^a	216 \pm 10.40 ^{ab}
TU	4.458 \pm 0.157 ^b	236.5 \pm 19.18 ^{ab}
2TU	4.819 \pm 0.312 ^b	239.5 \pm 12.67 ^b

All values are mean \pm SE(n = 10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

The experimental conditions are the same as Table 1 and 2.

산화가를 측정된 결과(Fig. 1) 정상군에 비해 glucuronic acid를 투여하지 않은 운동군인 T군은 47%로 유의적으로 증가되었고, glucuronic acid를 투여한 TU군과 2TU군에서 감소되어 정상군 수준으로 회복되었다.

5. 가자미 근 및 간 조직의 글리코겐 함량

운동중 혈중 글루코오스 농도가 감소되면 감소된 근글리코겐량을 보충시켜줄 수 없기 때문에 피로를 유발하게 된다. 그러므로 운동 후 glucuronic acid의 공급으로 인한 근피로 회복을 알아보기 위해 글리코겐 함량을 측정된 결과는 Table 6와 같다.

가자미 근 중의 글리코겐 함량은 정상군에 비해 운동군인 T, TU 및 2TU군에서 각각 26%, 22% 및 17%씩 유의적($p < 0.05$)으로 감소되었으며 glucuronic acid에 따른 영향은 없었다. 간 조직중 글리코겐 함량은(Table 6) 정상군에 비해 glucuronic acid를 투여하지 않은 T군에서 27%로 유의적($p < 0.05$)으로 감소되었으며 glucuronic acid를 2배 투여한 2TU군은 정상군 수준이었다. 따라서 운동에서 glucuronic acid의 투여는 간 조직중의 글리코겐 함량을 증가시킬 수 있었다.

Table 5. Effects of glucuronic acid on hepatic glutathione contents in exercise training rats

Group	GSH (μ mol/g)	GSSG (μ mol/g)	GSH/GSSG
Normal	3.19 \pm 0.29 ^{NS}	0.34 \pm 0.05 ^a	10.26 \pm 1.31 ^a
T	3.76 \pm 0.31	0.59 \pm 0.06 ^b	6.99 \pm 0.08 ^b
TU	3.78 \pm 0.38	0.42 \pm 0.05 ^c	9.51 \pm 0.09 ^a
2TU	3.61 \pm 0.30	0.40 \pm 0.06 ^c	9.72 \pm 0.85 ^a

All values are mean \pm SE(n = 10)

Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.

The experimental conditions are the same as Table 1 and 2.

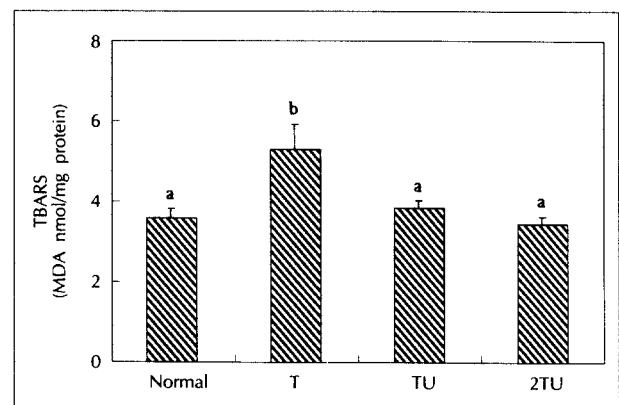


Fig. 1. Effects of glucuronic acid on hepatic TBARS in exercise training rats. Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's-HSD test. The experimental conditions are the same as Table 1 and 2.

6. 혈중 lactic acid 함량

유산소 운동후 근피로도를 측정하기 위해 혈중 lactic acid 함량을 측정한 결과는 Fig. 2과 같다. 정상군에 비해 glucuronic acid를 투여하지 않은 운동군인 T군에서 240% 증가($p < 0.05$)되었으며 T군에 비해 glucuronic acid를 투여한 TU군과 2TU군에서 각각 38%, 39%씩 유의적 ($p < 0.05$)으로 감소되어 운동후 glucuronic acid 공급이

혈중 lactic acid 함량을 감소시켰음을 알 수 있었다.

7. 주요 parameter들 간의 상관관계

본 실험의 주요 parameter들간의 상호관련성을 Fig. 3

Table 6. Effects of glucuronic acid on soleus and liver glycogen contents in exercise training rats

Group	Glycogen(mg/g)	
	Soleus muscle	Liver
Normal	3.46 ± 0.13 ^a	30.84 ± 3.73 ^a
T	2.57 ± 0.10 ^b	22.41 ± 1.93 ^b
TU	2.71 ± 0.09 ^b	24.11 ± 2.69 ^{ab}
2TU	2.86 ± 0.14 ^b	25.10 ± 4.15 ^a

All values are mean ± SE(n = 10)
 Values within a column with different superscripts are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's test.
 The experimental conditions are the same as Table 1 and 2.

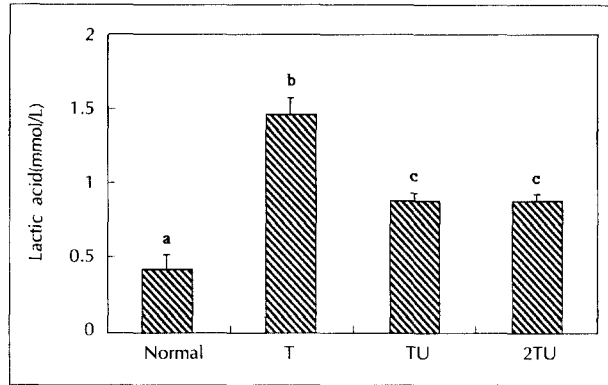


Fig. 2. Effects of glucuronic acid on serum lactic acid concentrations in exercise training rats. Bars with different letters are significantly different at $p < 0.05$ by Tukey's-HSD test. The experimental conditions are the same as Table 1 and 2.

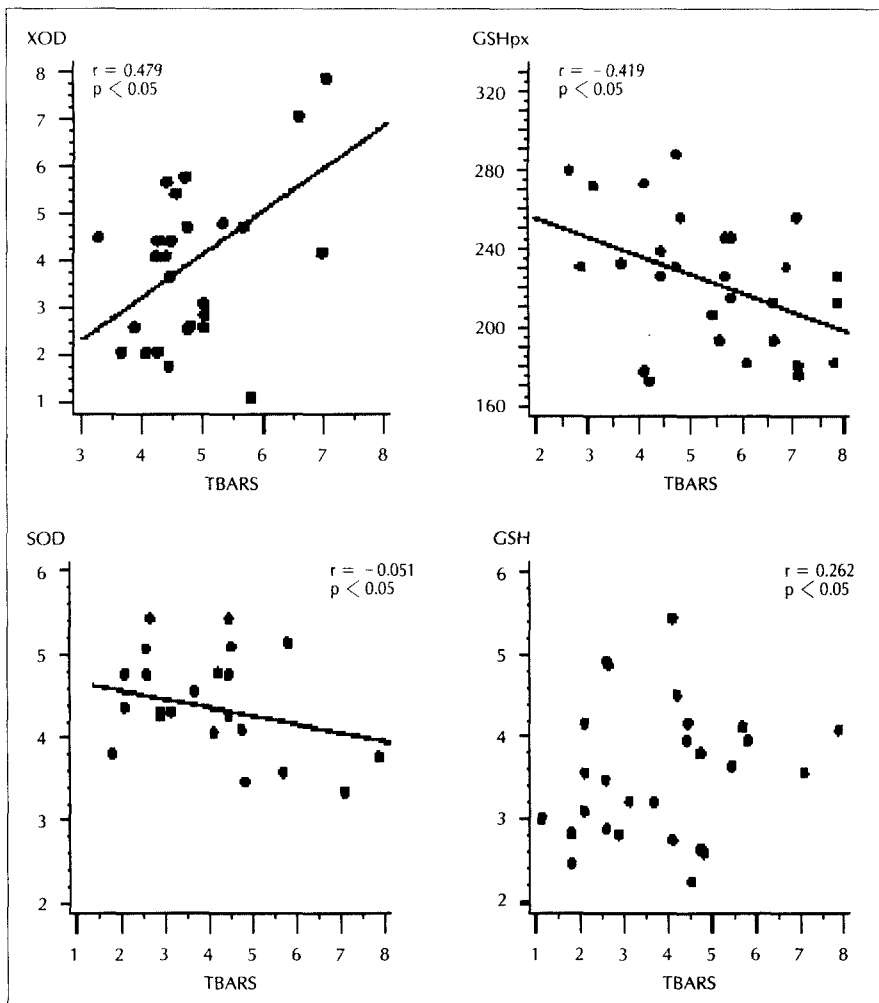


Fig. 3. Correlations variable at the hepatic TBARS contents XOD, SOD, GSHpx and GSH contents in exercise training rats.

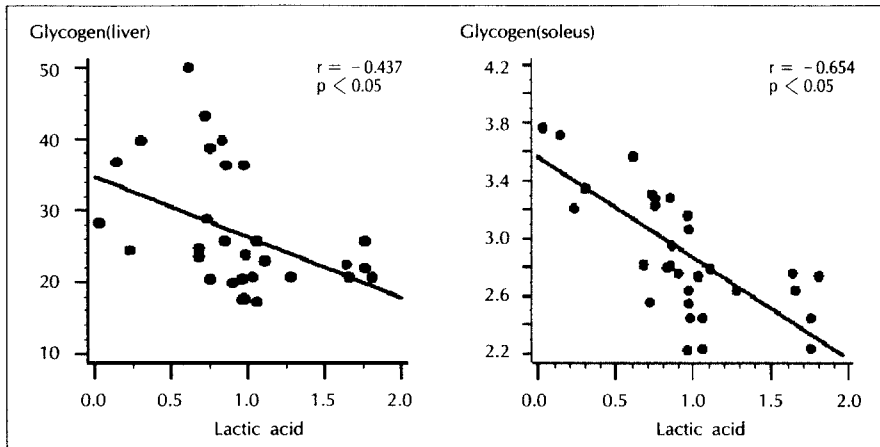


Fig. 4. Correlations between serum lactic acid contents and hepatic glycogen or soleus glycogen in exercise training rats.

및 Fig. 4에 나타내었다. 유산소 운동 후 간 조직의 지질과산화(TBARS)와 주요한 실험결과들간의 상관관계를 보면 XOD활성($r = 0.479, p < 0.05$)과는 정의 상관관계를 나타내었으나 SOD활성($r = -0.051, p < 0.05$)과 GSHpx활성($r = -0.413, p < 0.05$) 간에는 부의 상관관계를 나타내었다(Fig. 3).

또한 혈중 lactic acid 함량과 간 조직($r = -0.437, p < 0.05$) 및 가자미근($r = -0.654, p < 0.05$)중의 글리코겐 함량과는 각각 높은 부의 상관관계를 나타내었다(Fig. 4).

고 찰

본 연구는 Xylan으로부터 단리한 glucuronic acid의 유산소 운동 후 간조직에서의 항산화계 강화효과와 근피로 회복을 관찰하기 위해 유산소 운동후의 free radical 생성계 및 제거계 효소들의 활성 변화와 이들 변화에 따른 조직의 과산화적 손상 정도 및 근피로도 관련된 글리코겐 함량, 젖산 함량을 관찰하였다.

생체내 유리기 생성계의 하나인 XOD는 purine, pyrimidine, aldehyde류 및 heterocyclic compound 등의 대사에 관여하는 비특이적 효소로서 생체내에는 주로 purine체의 대사산물인 hypoxanthine을 xanthine으로, xanthine을 다시 산화시켜 요산을 생성하는 반응의 촉매로 작용한다.²¹⁾ Laughlin 등²²⁾의 보고에서는 운동후 골격근에서 xanthine oxidase 함량이 증가된다고 하였으나 본 실험에서는 glucuronic acid를 공급하지 않은 운동군인 T군에서 정상군에 비해 다소 증가하는 경향이었으나 유의적인 수준은 아니었다.

생체내의 유리기(superoxide radical, hydroxy radical 및 singlet oxygen)를 제거하는 항산화계로는 SOD와 GSHpx

등의 효소계가 있다. SOD는 superoxide radical을 환원시켜 H_2O_2 로 전환시키며 이때 생성된 H_2O_2 는 GSHpx, catalase 등의 작용에 의해 H_2O 로 무독화 됨으로서 산소독으로부터 생체를 보호하게 된다.^{23,25)} Ji, L. L.²⁶⁾의 연구결과에서는 운동후 간 조직 뿐만 아니라 골격근, 심장에서도 SOD활성이 증가한다고 하였으나 본 실험에서는 정상군에 비해 glucuronic acid를 공급하지 않은 운동군에서는 차이가 없었다. 그러나 glucuronic acid를 공급한 TU군과 2TU군은 T군에 비해 유의적으로 증가되었다. 이는 野村晋一과 失橋實之^{27,28)}의 보고와 같이 glucuronolactone으로 인한 간 독소 제거로 인해 체내 해독작용을 기대할 수 있다라는 보고와 유사하였다. 따라서 본 연구에서는 규칙적인 반복 운동을 할 경우 항산화력이 증가하여 활성산소를 감소시킬 수 있는 가능성과 glucuronic acid를 투여함으로써 활성산소에 대한 대응력을 높일 수 있음을 확인할 수 있었다.

GSHpx는 생체내에서 H_2O_2 와 환원형 glutathione(GSH)으로부터 산화형 glutathione(GSSG)과 H_2O 를 생성하는 반응과 기타 과산화물(ROOH)로부터 alcohol(ROH) 및 H_2O 를 생성하는 반응을 촉매한다.²⁹⁾ 본 실험에서 GSHpx활성은 정상군에 비해 glucuronic acid를 공급하지 않은 T군에서는 정상군 수준이었지만, glucuronic acid를 2배 공급한 2TU군에서는 유의적으로 증가되었다. 이와같이 유산소 운동시에 glucuronic acid의 투여는 생체내 항산화계가 강화되는 것으로 알 수 있었다. 이와 같이 GSHpx와 SOD활성은 조직의 TBARS함량과도 상관관계를 나타내어 glucuronic acid의 공급이 조직의 산화적 손상을 완화시킬 수 있음이 확인되었다.

Glutathione은 glutamic acid, cysteine, glycine으로 된 tripeptide로 cysteine의 -SH기에 기인되어 환원성을 가진 GSH로 된다. GSH는 쉽게 산화되어 hexapeptide인 산화형 GSSG로 변하며, 이 반응은 가역적으로 생체내의

산화·환원반응에 중요한 역할을 한다. GSH의 기능은 심한 운동시 유산소성 조직의 산소소비가 증가함에 따라 활성산소종 생성이 증가될 때 매우 중요하다.⁴⁾

본 실험에서 간 조직에서의 환원형 GSH 함량은 정상군과 운동군간의 유의적인 차이가 없었다. 산화형 GSSG 함량은 glucuronic acid를 공급하지 않은 운동군(T군)이 정상군에 비해 유의적으로 증가되었으며 glucuronic acid를 공급한 TU군, 2TU군은 정상군 수준이었다. 또한 glucuronic acid 투여로 역시 운동으로 인한 GSH/GSSG의 감소를 정상군 수준으로 회복시켰다. 이러한 결과는 운동시 증가된 free radical을 glucuronic acid 자신이 항산화물질로서 free radical 축적을 억제시키기 때문인 것으로 사료된다.

지질과산화 반응은 여러 가지 독성 화합물이나 약물의 간 손상 기전으로 세포내 산화적 스트레스로 인한 free radical 생성의 증가 및 항산화적 방어능력의 감소로 인한 것으로 보고되었다. 이러한 조직의 과산화적 손상 지표가 되는 간 조직의 지질과산화물(TBARS) 함량은 정상군에 비해 glucuronic acid를 공급하지 않은 운동군은 유의적으로 증가하였으며 glucuronic acid를 공급한 TU군, 2TU군은 정상군 수준이었다. 이는 Alessio³⁰⁾의 보고와 같이 운동후 산화적 스트레스의 증가로 인해 간 조직의 지질과산화물이 증가한다는 결과와 일치한다. 그러나 Salminen과 Vihko³¹⁾은 수컷 NMR생쥐를 대상으로 3주간 지구성 운동시킨 후 골격근의 적근과 백근의 지질 과산화가 감소되므로 지구성 훈련에 의해서 제거 시스템을 강화시키고 지질 과산화를 감소시킴으로써 지질과산화에 대한 보호기능을 향상시킬 수 있음을 의미한다고 하였다. 그러나 본 연구에서는 운동을 할 경우 지질과산화물이 증가하였으나 glucuronic acid를 공급함으로써 활성산소에 대한 대응력을 높일 수 있음을 확인할 수 있었다. 이는 cummiss 투여군에서 운동후 체내 대사과정에서 생성된 free radical인 활성산소를 제거하는 시스템이 비투여군에 비해 활성화되어 활성산소에 의한 지질 과산화반응을 사전에 억제하는 효과를 나타내었기 때문이라는 Roh와 Kim³²⁾의 보고와 유사하다. 이상과 같이 유산소 운동시에는 유리기 생성체인 XOD는 다소 증가하는 경향으로 나타나는 반면 항산화체인 SOD, GSHpx, GSH/GSSG 값은 감소하고 TBARS값이 증가되었으나 glucuronic acid의 공급으로 이러한 항산화계의 불균형을 다소 정상화시키는 효과가 있음을 알 수 있었다.

운동시 체내 글루코오스가 감소되므로 간 또는 근육에 저장되어 있는 글리코겐이 곧바로 에너지원으로 사용하게 되는데 이로 인해 저장 글리코겐 고갈은 피로를 유발하게 된다. 본 실험에서 가자미 근의 글리코겐 함량은 정상군에 비

해 운동군 모두에서 유의적으로 감소되었다. 간 조직 글리코겐 함량은 정상군에 비해 운동군인 T군이 유의적으로 감소되었고 glucuronic acid를 2배 공급한 2TU군에서는 정상군 수준이었다. 이는 운동중에 탄수화물을 섭취하는 것은 피로가 발생하는 시간을 지연시키고 혈중 글루코오스를 유지시켜 글리코겐을 절약할 수 있다는 보고³³⁾와 유사하였다.

운동 중의 근육피로 발생에는 여러 가지 원인이 있으나 주원인은 운동을 위한 에너지(ATP)생산과정에서 lactic acid가 생성, 축적되기 때문이다. 근육 내 lactic acid가 축적되면 근육이 산성화되고, 중성이나 약알칼리성에서 높은 활성을 보이는 효소군의 활성이 저하되어 근육운동에 필요한 ATP를 합성할 수 없게 된다. Lactic acid 축적에 의한 근육의 산성화는 이와 같은 이유로 근육운동을 정지시켜 운동에 의한 근육피로를 일으키는 것이다. 본 실험에서 정상군에 비해 운동군에서 유의적으로 혈중 lactic acid 함량이 3배 이상 증가되었으며, glucuronic acid를 공급한 TU군, 2TU군에서는 T군에 비해 유의적으로 감소되는 경향을 나타내었다. 또한 Lee 등³⁴⁾의 보고에 의하면 홍삼과 전해질을 함유한 스포츠음료를 공급한 쥐에서는 운동능력 향상뿐만 아니라 혈중 젖산농도의 감소를 나타내었다. 이는 운동 전·후에 glucuronic acid를 공급함으로써 혈중 젖산내성을 높여줄 뿐만 아니라 피로물질의 제거에도 효과적이라는 결과와 본 연구가 유사하다. 이상의 주요결과들간의 상관관계를 관찰한 결과 가자미근 및 간 조직중의 글리코겐 함량과 혈중 lactic acid함량이 상관관계를 나타내어 운동후 glucuronic acid의 투여가 근피로 회복에 효과적임을 알 수 있었다.

종합해 볼 때 본 실험에서 운동군에 glucuronic acid를 투여함에 따라 free radical 제거체인 항산화 효소의 활성을 증가시킴으로써 산화적 손상에 대해 방어력을 유도할 수 있고 조직의 과산화적 손상이 감소됨을 알 수 있었다. 그리고 운동 전 glucuronic acid의 공급은 가자미 근과 간 조직의 글리코겐함량 증가와 혈중 lactic acid함량의 감소로 피로회복의 효과를 관찰할 수 있었다.

이와 같이 glucuronic acid는 운동 후 조직의 과산화로부터 보호하고 피로물질의 축적을 감소시킴이 관찰되었으므로 과다한 운동을 하는 스포츠 선수뿐만 아니라 일반인에게 해독작용과 피로회복을 위한 우수한 기능성 식품으로 이용될 수 있을 것으로 믿으며 앞으로 더 구체적이고 기전적인 측면의 많은 연구를 추구할 필요가 있다고 사료된다.

요약 및 결론

본 연구는 xylan으로부터 단리한 glucuronic acid의 원취

에서 유산소 운동 후 항산화계와 근피로 회복에 미치는 영향 및 그 작용기전을 관찰하고자 하였다. 실험동물은 150g 내외의 Sprague-Dawley종 흰쥐를 정상군과 treadmill을 이용한 운동군으로 나눈 후 운동군은 다시 xylan으로부터 분해 추출한 glucuronic acid를 체중 100g당 0.1ml씩 매일 공급하면서 운동을 부하한 TU군 및 glucuronic acid의 양을 2배(0.2ml/100g bw)로 공급하면서 운동을 부하한 2TU군으로 나누었다. Glucuronic acid는 운동직전에 경구 투여하였으며 운동은 treadmill을 이용하여 주 5일씩 부하시키면서 4주간 행하였다.

1) 간 조직중의 XOD 활성은 정상군과 운동군간의 유의적인 차이가 없었다.

2) 간 조직중의 SOD활성은 정상군에 비해 T군에서 유의적 차이가 없으나, T군에 비해 glucuronic acid를 공급한 군인 TU군, 2TU군은 9%, 18%씩 증가($p < 0.05$)되었다.

3) 간조직중의 GSHpx활성은 T군과 TU군에서는 정상군 수준이었으나, glucuronic acid를 2배 공급한 2TU군에서는 정상군에 비해 17% 유의적으로 증가($p < 0.05$)되었다.

4) 간 조직중의 환원형 glutathione(GSH) 함량은 정상군과 운동군간의 유의적인 차이는 없었다. 산화형 glutathione(GSSG) 함량은 정상군에 비해 glucuronic acid를 공급하지 않은 T군에서 74% 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었으나 glucuronic acid를 공급한 TU군과 2TU군에서 유의적($p < 0.05$)으로 감소되었다. GSH/GSSG 함량은 정상군에 비해 glucuronic acid를 공급하지 않은 T군에서 32% 유의적($p < 0.05$)으로 감소되었으나 glucuronic acid를 공급한 TU군과 2TU군에서는 정상군 수준이었다.

5) 지질과산화물 함량은 정상군에 비해 T군에서 47% 유의적($p < 0.05$)으로 증가되었고 T군에 비해 glucuronic acid를 공급한 TU군과 2TU군은 각각 27%, 35%씩 유의적($p < 0.05$)으로 감소되었다.

6) 가자미 근 중의 글리코겐 함량은 정상군에 비해 운동군 모두 각각 26%, 22%, 17%씩 유의적($p < 0.05$)로 감소되었으나 운동군간에는 차이가 없었다.

간 조직 글리코겐 함량은 정상군에 비해 glucuronic acid를 공급하지 않은 T군에서 27%로 유의적($p < 0.05$)인 감소되었으나 glucuronic acid를 2배 공급한 TU군과 2TU군에서 정상군 수준이었다.

7) 혈중 lactic acid 함량은 정상군에 비해 T군이 240% 증가되었고 T군에 비해 glucuronic acid를 공급한 TU, 2TU군은 각각 38%, 39%씩($p < 0.05$) 감소되었다.

결론적으로 glucuronic acid는 유산소 운동으로 인한 산화적 스트레스 완화와 피로회복을 해결하기 위한 개선제로

서의 가능성을 시사하는 것이라 하겠다.

Literature cited

- 1) Wood PD. Physical activity, diet, and health: Independent and interactive effects. *Med Sci Sports Exerc* 26(7): 838-834, 1984
- 2) Davies KJ, Quintanilha AT, Brooks GA, Packer L. Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem Biophys Res Commun* 107(4): 1198-1205, 1982
- 3) Kumar CT, Reddy VK, Prasad M, Thyagaraju K, Reddanna P. Dietary supplementation of vitamin E protects heart tissue exercise induced oxidant stress. *Mol Cell Biochem* 111(1): 109-115, 1992
- 4) Ji LL. Exercise and oxidative stress: Role of the cellular antioxidant systems. *Gerontology* 37(6): 317-325, 1995
- 5) Michael FO. Antioxidant nutrients atherosclerosis and coronary heart disease. *Br J Heart* 73: 28-32, 1995
- 6) Bredy PS, Bredy LJ, Ullrey DE. Selenium, vitamin E and the response to swimming stress in the rat. *J Nutr* 109(6): 1103-1109, 1979
- 7) Powers SK, Criswell D, Lawler J, Ji LL, Martin D, Herb RA, Dudley G. Influence of exercise and fiber type on antioxidant enzyme activity in rat skeletal muscle. *Am J Physiol* 266(2): 375-380, 1994
- 8) Laughlin MH, Simpson T, Sexton WL, Brown OR, Smith JK, Korthis RJ. Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes and exercise training. *J Appl Physiol* 68(6): 2337-2343, 1990
- 9) Tiidus PM, Pushkarenko J, Houston ME. Lack of antioxidant adaptation short term aerobic training in human muscle. *Am J Physiol* 271(4): 832-836, 1996
- 10) Yeong-Ho. Effect of garlic intake on the antifatigue and fatigue recovery during prolonged exercise. *J Korean Soc Food Nutr* 24(6): 970-977, 1994
- 11) 野村晋一・失橋實之. ラットの因態走と筋疲労に対するグルクロノラクトンの効果. *疲労と休養の科学* 5(1): 49-62, 1990
- 12) Stripe F, Della Corte. The regulation of liver xanthine oxidase. *J Bio Chem* 244(14): 3855-3863, 1969
- 13) Lawrence RA, Bruk RF. Glutathione peroxidase: Activity in selenium deficiency rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 71: 952, 1976
- 14) Marklund S, Marklund G. Involvement of the superoxide anion radical in antioxidantation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 47: 467-469, 1974
- 15) Bernt E, Bergmeyer HU. Methods of enzymatic analysis: Glutathione. 2nd English Ed. *Acad Press*, 444-1641, 1974
- 16) Sato K. Selenium lipid peroxidase in cerebrovascular disorders determined by a new colorimetric method. *Clinica Chimica Acta* 90: 37, 1978
- 17) Lo S, Russel JC, Taylor AW. Determination of glycogen in small tissue. *Appl Physiol* 28: 234-236, 1970
- 18) M Brin, RH Dunlop. Chemistry and metabolism of L-and D-lactic acids. *Ann NY Acad Sci* 119(3): 851-1165, 1965
- 19) Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Bio Chem* 193: 265-275, 1951
- 20) A.O.A.C. *Official methods of analysis* 15th ed., Association of official analytical. Chemists, Washington DC 2, 956, 1990
- 21) Duke EJ, Joyce P, Ryan JP. Characterization of alternative molecular forms of xanthine oxidase in the mouse. *J Biochem* 131: 187, 1973
- 22) Laughlin MH, T Simpson, WL Sexton, OR Brown, JK Smith, RJ Korthis. Skeletal muscle oxidative capacity, antioxidant enzymes and exercise training. *J Appl Physiol* 68(6): 2337-2343, 1990
- 23) Bus JS, Aust SD, Gibson JE. Superoxide and singlet oxygen catalyzed lipid peroxidation as a possible mechanism for paraquat (methyl viologen) toxicity. *Biophys Res Commun* 58: 749-753, 1974

- 24) Fridovich I. The biology of oxygen radicals, the superoxide radical is an agent of oxygen toxicity: superoxide dismutase provide an important defense. *Science* 201: 875-880, 1978
- 25) Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev* 59: 527-605, 1979
- 26) Ji LL. Antioxidant enzyme response to exercise and aging. *Med Sci Sports Exerc* 25(2): 225-231, 1993
- 27) 野村晋一・失橋實之. ラットの因働走と筋疲労に対するグルクロノラク톤の効果. *疲労と休養の科学* 5(1): 49-62, 1990
- 28) 野村晋一・失橋實之. 筋運動におけるグルクロノラク톤の効果. *疲労と休養の科学* 5(1): 63-75, 1990
- 29) Speisky H, Kera Y, Penttila KE, Israel Y, Lindros KO. Depletion of hepatic glutathione by ethanol occurs independently of ethanol metabolism. *Alcol Clin Exp Res* 12(2): 224-232, 1988
- 30) Seong-Kyu Roh, Cheon-Ho Kim. The effects of cumiss supplementation on the changes of blood antioxidants and endurance in athletes. *J Korea Exerc Nutr* 3(2): 75-83, 1999
- 31) Salminen A, Vihko V. Endurance training reduces the susceptibility of mouse skeletal muscle to lipid peroxidation in vitro. *Acta Physiologica Scandinavica* 117(1): 109-113, 1983
- 32) Salminen A, Vihko V. Endurance training reduces the susceptibility of mouse skeletal muscle to lipid peroxidation in vitro. *Acta Physiologica Scandinavica* 117(1): 109-113, 1983
- 33) Maughan RJ, Fenn CE, Leiper JB. Effects of fluid, electrolyte and substrate ingestion an endurance capacity. *Eur J Appl Physiol* 58: 481-486, 1989
- 34) Myung-Ohun Lee, Young-Soo Kim, Hyon Park, Han-Joo Eom, Sung-Won Youn, Jong-Gak Lee, Dong-Sik Chung, Jong-Woo Han. The effect of sports drink including red jinseng and electrolytes on the performance related physiological factors in elitehockey playes. *J Korean Exer Nutr* 1(2): 77-96, 1997