

흰쥐에서 Treadmill 훈련에 따른 심근의 적응과 cytochrome oxidase 활성화에 관한 세포화학적 연구

최 정 목*, 이 충 식
충남대학교 의과대학 병리학교실

Cytochemical Study on the Cytochrome Oxidase Activity and Myocardial Adaptation to Treadmill Exercise in Rat

Jeung-Mok Choi* and Choong-Sik Lee
Department of Pathology, Chungnam National University College of Medicine
(Received February 12, 2001)

ABSTRACT

The present study was to elucidate the cytochemical study on the cytochrome oxidase (CO) activity and myocardial adaptation to treadmill exercise in rat.

The three month Sprague-Dowley male rats (150 ± 10 g) were used in experimental animal. The experimental groups were divided into 2 groups: the normal sedentary group and the treadmill exercise group. On each 1st and 3rd day, 1st, 4th, 8th, and 12th experimental week four rats of each group were sacrificed for tests.

The morphometrical measurements were used to evaluate the change of heart weight, rate of myocardial fibers to capillaries, and cytochemical study of CO activities, using light and electron microscopy.

The results were as follows:

The heart weights were more increased in the treadmill exercise group than those of their sedentary group.

The rate of myocardial fibers to capillaries were not changed in sedentary group, but those were significantly from 4th weeks in the treadmill exercise group.

The CO activity was not changed in sedentary group, but increased in treadmill exercise group after 1st week. I and III types of CO activity were increased in sedentary group, in contrast to II and III types in treadmill exercise group on electron micrographic study.

These results suggest that, the treadmill exercise-induced changes in CO activity and rate of myocardial fibers to capillaries appear to be related to exercise, and the adaptive response seems to occur from 4th week of treadmill exercise.

Key words : Cytochrome oxidase, Electron micrography, Myocardium, Treadmill exercise

* Correspondence should be addressed to Dr. Jeung-Mok Choi, Department of Pathology, Chungnam National University College of Medicine
Munhwa-dong 6, Jung-gu, Taejeon, 300-131 Korea. Ph.: 042-580-8235, FAX: 042-581-5223, E-mail: 6cjmok@hanmail.net
Copyright © 2001 Korean Society of Electron Microscopy

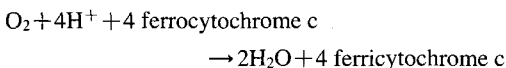
서 론

심장은 운동의 내용이나 강도에 따라 각기 다른 생리적 반응을 보이며, 기능이나 구조의 변화를 보인다(Keul et al., 1982; Huston et al., 1985; Oakley et al., 1987; Shopiro et al., 1987).

운동에 따른 심장의 변화로는 운동의 종류나 조건에 따라 다소 다르지만 좌심실 용적의 증가(Sugishita et al., 1983), 좌심실 후벽의 비후(DeMaria et al., 1978), 심근세포내 심근 섬유외 비후(Paniagua et al., 1977), 모세혈관(Cosmas et al., 1997) 및 사립체(Schaible & Scheuer, 1985; Francis et al., 1987)의 수적 증가 및 cytochrome oxidase(이하 CO)를 포함한 에너지 관련 효소들의 변화(Paulson et al., 1987)들이 알려져 있다.

사립체에는 외막, 내막공간, 내막 및 기질(matrix) 등 분획에 따라 약 120여종의 효소들이 있고 그중 약 30여가지가 생화학적 및 생리적인 특성이 밝혀져 있다. 그중 내막에는 전자전달과 산화적 인산화 반응에 관계되는 호흡 효소 복합체(respiratory enzyme complex)들이 포함되어 있다.

전자전달의 호흡 효소 복합체로는 I형(NADH 탈수소효소(NADH dehydrogenase complex)), II형(시토크롬 b-c₁ 복합체(cytochrome b-c₁ complex)) 및 III형(시토크롬 산화효소 또는 시토크롬 aa₃(cytochrome oxidase complex))으로 구성되면서 이들 전자운반체를 순차적으로 거치면서 에너지 형성이 이루어진다. CO는 2개의 헴 그룹(a, a₃)과 2개의 구리이온(Cu_A, Cu_B)을 가지고 있어 최종 O₂의 4전자 환원을 할 수 있다.



사람의 cytochrome c oxidase 경우 13개의 소단위(subunit)로 구성되어 있고 3개의 주요 촉매단위는 mitochondrial DNA에 암호화되어 있다(Taanman, 1997).

운동과 관련하여 산소와 영양분을 공급하는 모세혈관이나 근육 수축에 필요한 에너지는 중요한 인자

들이다. 그 중 CO는 세포호흡의 최종 과정에서 cytochrome c로부터 받은 전자를 이용해 수소분자와 산소분자들을 이용해 물분자와 양이온의 수소원자를 방출하여 에너지 합성에 관여한다.

운동과 CO에 대한 연구들로 Starnes et al.(1983)은 자연 노화된 흰쥐의 심근에서는 CO 활성은 감소하나, 늙은 쥐에서 운동 강도를 달리하면서 주 5회씩 21주동안 운동을 실시한 결과 Cytochrome c의 양적 증가를 보고한 바 있다. Tate et al.(1996)도 역시 늙은 흰쥐를 대상으로 운동 강도를 달리하면서 8~10주동안 운동결과 운동군에서 CO의 활성 증가를 보고한 바 있다.

흰쥐의 골격근을 대상으로한 연구에서 Town & Essig(1993)들도 운동 강도를 달리하면서 실시한 지구성 운동에서 실험 7일 이후부터, 그리고 Paulson et al.(1987)은 8주동안 훈련에서 각각 CO의 증가를 보고한 바 있다.

따라서 운동에 의해 심근이나 골격근 내에서 운동의 강도나 기간에 따라 다소 차이는 있으나 CO의 증가는 인정되었다.

그러나 선행 연구자 대부분은 사람이나 성체 혹은 늙은 흰쥐를 대상으로 하여 운동 종료 직후의 CO의 활성을 생화학적인 방법으로만 측정하였으며, CO 활성이 운동에 따른 심근의 적응에 대한 연구들은 드물었다.

본 연구의 목적은 젊은 흰쥐를 실험 대상으로 하여 단기간 및 장기간 운동을 실시하고 운동 종료 24시간 휴식 후에 비운동군과 비교하여 심근과 모세혈관과의 변화 관계와 세포화학적 방법을 이용하여 CO 활성이 언제부터 이루어지고 어떻게 지속되는가를 관찰하여 심장의 운동 적응여부를 알아보고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험 동물

본 연구에 사용된 실험동물은 대한 실험동물센터로부터 출생 3주된 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐를 분양 받아 체중 150 g ± 10 g 정도로 성장 사육시켜 실

험에 이용하였다.

각 실험군은 외형상 건강하고 레인에 비교적 잘 달릴 수 있는 개체들만 선별하여 실험에 이용하였다. 각 실험 군별로 선정된 동물은 Rat 사육용 상자에 4마리씩 넣고 사육조건으로는 일정한 온도 ($20 \pm 2^\circ\text{C}$)와 습도 ($60 \pm 5\%$)를 유지하면서 주야 12시간씩 일주기를 유지시켜 주며 물과 사료는 자유 식이토록하였다.

2. 실험군 및 운동프로그램

본 실험에 사용된 실험군은 일상 대조군과 운동군으로 나누고 운동군은 1일군, 3일군, 1주일군, 4주일군, 8주일군 및 12주일군으로 나누어 각 실험 군별 4마리씩 총 28마리를 실험에 이용하였다.

본 연구에서 훈련군의 운동프로그램은 Pattengal & Holloszy (1967)의 방법을 일부 수정 보완하여 사용하였다.

훈련장비는 Motorized사 제품의 드레드밀을 사용하여 12 cm 정도 레인 폭을 만들고, 끝부분에는 침을 부착하여 흰쥐의 비운동성을 막게 했다.

실험조건은 Table 1과 같다.

3. 체중 및 심장 무게 정량

검사전 시료처리는 도살 하기전 모든 실험동물은 12시간 금식시킨 다음 각 실험동물은 ether 흡입마취시킨 다음 체중을 측정하였다. 흉곽을 절개하여 심장을 적출하여 준비된 생리식염수에 심장을 넣어 혈액을 제거한 다음 측정하였다.

4. 좌심실벽의 근섬유와 모세혈관의 수

좌심실벽 내 근섬유와 모세혈관의 수는 전자현미경 관찰을 위해 제작된 블록을 이용하여 초박절편기에서 $0.5 \mu\text{m}$ 두께로 절편을 만들어 1% toluidine blue

용액에 염색하여 광학현미경상 근섬유의 횡절단면 (cross section)이 보이는 표본만을 대상으로 하였다. 각 표본들은 실험군별로 무작위로 200배율로 13~15매씩 무작위로 사진 촬영하여 $4'' \times 5''$ 크기로 확대·인화하여 사진상의 근섬유와 모세혈관의 수를 2회 반복 측정하여 평균하였다.

5. Cytochrome oxidase 세포화학적 검사

시료는 좌심실 벽의 일부를 적출 즉시 $1 \times 2 \times 1.5 \text{ mm}$ 크기로 세절한 다음 2.5% glutaraldehyde (in PBS)에 4°C 에서 10분간 고정하고, 고정액 제거를 위해 PBS 용액에 약 20분씩 3회 반복 세척하였다.

각 조직들은 Vibratome에서 $40 \mu\text{m}$ 두께로 절편을 만들어 1 ml 당 0.1 mg의 catalase가 들어 있는 전처리 기질액에 37°C 에서 10분간 반응시켰다. 본 기질액으로 catalase (0.1 mg/ml)와 cytochrome c (1 mg/ml) 및 3, 3'-diaminobenzidine (DAB)가 들어있는 반응 기질 용액에 다시 37°C 에서 1시간 동안 반응시켰다.

기질과 반응 후 각 절편은 PBS 용액으로 10분씩 3회 수세후 1% OsO_4 에 1시간 후고정하고 통상적인 방법으로 탈수 침투, 포매 및 열중합과정을 거쳐 블록을 제작하였다.

제작된 블록은 초박절편기를 이용하여 $80 \sim 90 \text{ nm}$ 두께로 절편을 만들어 6% uranyl acetate 용액에만 1분 동안 염색후 세척하고 건조한 다음 가속전압 75 Kv에서 투과 전자현미경 (Hitachi H-600형, 일본)으로 관찰 및 사진 촬영하였다.

6. Cytochrome oxidase 양성율

Cytochrome oxidase 양성율은 제작된 블록을 이용하여 광학현미경상 근섬유가 장축으로 관찰되는 표본을 각 실험 군별로 4개씩 절편을 만들어 전자현미경 관찰시 심근세포의 핵이 1/3~1/4 정도 포함된 부분에서 3,000배율로 각 실험 군에 따라서 8~10장씩 전자현미경 사진을 제작하였다. 각 사진에 나타나는 전체 사립체 수를 산정하고 그 가운데 양성반응 보이는 사립체의 수로 나누어 그 비율을 각각 평균값으로 산출하였다.

각 실험군 결과 값은 SPSS/PC 통계프로그램을 이용하여 유의성 검정 (ANOVA)을 실시하였다.

Table 1. Program of endurance exercise

Exp. duration	Frequency (day/week)	Grade (%)	Speed (m/min)	Time (min)
1 day	1	0	25	20
3 day	3	0	25	20
1 week	5	0	25	20
4 week	5	0	25	20
8 week	5	0	25	30
12 week	5	0	25	30

결 과

1. 체중과 심장무게

본 실험결과 실험 동물의 체중과 심장의 무게는 실험기간에 따라 증가하였다. 체중의 증가 정도는 일상 대조군이 운동군과 비교해 증가율이 높았고, 반대로 심장의 무게 변화는 운동군에서 높은 증가율을 보였다($p < 0.05$) (Table 2).

2. 심근섬유와 모세혈관

단위면적당 (광학현미경사진 200배율) 근섬유와 모세혈관의 수적 변화를 조사한 결과 근섬유 수는 일상 대조군 및 운동 실험군 모두에서 실험 기간과 개체의 성장과 더불어 단위 면적당 수적 감소를 보였다. 동일 실험기간에서 일상 대조군과 운동군간 비교 시 운동군에서 다소 수적 감소를 보였으나 유의성은 없었다 (Table 3).

Table 2. Changes of body and heart weight among the experimental group (g)

	Body weigh		Heart weight	
	Sedentary	Treadmill	Sedentary	Treadmill
1 day	151.3±10.7	150.0±12.4	0.53±0.08	0.54±0.10
3 day	154.2±9.6	145.4±8.2	0.54±0.11	0.52±0.08
1 week	167.4±13.7	152.7±11.8	0.60±0.12	0.57±0.11
4 week	214.8±18.2	180.3±13.2	0.73±0.06	0.87±0.12*
8 week	273.4±17.6	240.2±20.7	0.95±0.13	1.14±0.24
12 week	320.1±26.5	287.3±16.4	1.08±0.14	1.27±0.19

Values are mean ± S.D.

* Significant difference between 1 week and 4week treadmill group ($p < 0.05$)

Table 3. Numbers of myocardial fiber and blood capillary in left ventricle among the experimental groups

	Sedentary			Treadmill		
	Myocardial fiber	Capillary	Ratio	Myocardial fiber	Capillary	Ratio
1 day	230.2±24.9	304.2±27.3	1.322	228.2±26.4	303.8±37.8	1.331
3 day	227.8±19.8	294.6±30.1	1.293	232.3±19.5	299.4±39.6	1.289
1 week	229.7±20.4	289.4±34.6	1.259	218.6±34.9	291.7±24.6	1.334
4 week	204.4±18.0	256.1±37.9	1.253	197.4±21.3	294.2±27.9	1.490*
8 week	184.7±15.6	250.4±19.1	1.356	179.3±17.2	279.4±16.4	1.558
12 week	178.2±10.4	247.7±33.5	1.390	163.7±14.2	273.4±29.7	1.670

Ratio : Capillary/Myocardial fiber

Values are mean ± S.D.

* Significant difference between 4week sedentary and treadmill group ($p < 0.01$)

모세혈관 수 역시 실험 기간과 개체의 성장과 함께 단위 면적당 수적 감소를 보였다. 특히 운동 4주째 이상의 실험에서는 일상 대조군에 비해 운동군에서 유의한 증가를 보였다($p < 0.01$) (Table 3).

또한 단위 면적당 심근섬유에 대한 모세혈관의 비는 실험 1일째와 12주째에 각각 일상 대조군에서는 1.322개와 1.390개로 유의한 증가를 보이지 않은 반면, 운동군에서는 각각 1.331개에서 1.670개로 유의한 증가율을 보였다($p < 0.01$). 근섬유의 단면적에서 관찰되는 사립체의 염색성도 운동군에서 실험기간에 따라 염색성이 증가하였다 (Figs. 2~5).

3. Cytochrome oxidase 활성율

CO 활성은 근섬유의 사립체에서 관찰되었고, 실험 군별 양성율은 단위면적당 (전자현미경사진 4,000배율을 2.5배 확대 인화) 전체 사립체 수에 대해 양성율 보인 사립체 수의 비율로 하였다.

일상 대조군에서는 실험 1일째 26.9%, 실험 12주

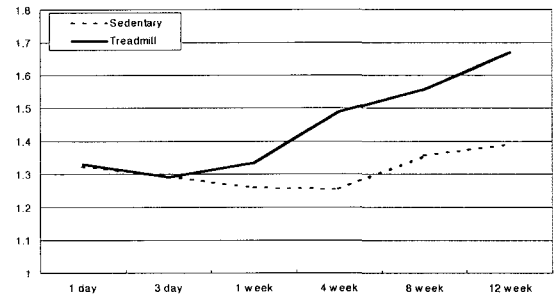


Fig. 1. Change of the rate of capillary to myocardial fiber among the experimental group.

Table 4. Comparison of the Cytochrome oxidase positive rate among the experimental group

	Cytochrome oxidase positive rate (%)	
	Sedentary	Treadmill
1 day	26.9	27.5
3 day	27.4	26.2
1 week	29.4	34.2*
4 week	28.8	53.7**
8 week	30.5	65.7
12 week	29.7	74.8

* Significant difference between 3 day and 1 week treadmill group ($p < 0.05$)

** Significant difference between 3 day and 4 week treadmill group ($p < 0.01$)

제에서는 29.7%를 보여 실험기간에 따라서는 유의한 변화를 보이지 않은 반면, 운동군에서는 실험 1일째와 3 일째는 각각 27.5%와 26.2%로 일상 대조군과 유사한 결과치를 보였으나 실험 1주째에서는 34.2%로 다소 증가하였고 ($p < 0.05$), 실험 4주째와 12주째는 각각 53.7%와 74.8%로 유의한 증가를 보였다 ($p < 0.01$) (Table 4).

4. 전자현미경 및 Cytochrome oxidase의 세포화학적 관찰결과

심근의 미세구조 관찰결과는 일상 대조군이나 운동군 모두 유사한 형태학적 소견을 보였으나 사립체의 수가 운동군에서 많이 관찰되었다.

사립체의 모양은 일상 대조군에서는 실험기간에 관계없이 핵주변에서는 원형의 사립체들이, 그리고 심근 섬유 사이에서는 원통형의 사립체들이 수적으로 많이 관찰되었다. 그러나 운동군에서는 운동기간에 비례하여 핵주변과 심근 섬유사이 모두에서 원형 사립체들이 수적으로 많이 관찰되었다.

CO 활성의 세포화학적 관찰 소견은 일상 대조군과 운동 실험군 모두에서 에너지 생산과 관련하여 사립체의 내막 (mitochondria inner membrane)과 사립체 능선 (mitochondria crista)에서 높은 전자밀도를 보이는 양성의 활성 소견이 관찰되었다.

CO 활성을 가지는 사립체는 전체적으로 전자밀도가 낮고 국소적으로 사립체 능선의 일부에서만 무늬상 (band form)을 보이는 것 (I형), 사립체 전체에서 전자밀도가 다소 높으면서 능선에서는 무늬상 (band

form)을 보이는 것 (II형) 그리고 사립체 내막과 능선 모두에서 균질상의 강한 전자밀도를 보이는 (III형) 3 가지 형태의 다른 사립체들이 관찰되었다 (Fig. 6).

3가지 서로 다른 CO 활성을 가지는 사립체의 출현 양상은 일상 대조군에서는 주로 I형과 III형이 실험기간에 관계없이 관찰되었다. 운동 실험군에서는 실험 1일 부터 7일까지는 I형과 III형이 주로 관찰되고, 실험기간에 비례해서는 II형과 III형이 점차 늘어나고, 실험 12주에서는 III형에 대부분 관찰되었다.

CO 활성을 가지는 사립체 출현 양상은 일상 대조군에서는 핵 주변 및 심근 섬유들 사이에 존재하는 사립체들이 1개 혹은 3~4개씩 산재된 형태로 양성 반응이 관찰되었다 (Fig. 7). 운동군에서는 핵주변과 근섬유들 사이 일렬 혹은 무리지는 사립체들 가운데 소수를 제외한 대부분의 사립체들에서 활성 양성 반응을 관찰할 수 있었고 운동 기간과 비례하여 발현은 증가하였다 (Figs. 8, 9).

고 찰

흰쥐에서 Treadmill과 같은 지구성 운동에 심장의 적응과정을 알아보기 실시한 실험결과에서 보여준 체중 변화는 모든 실험군에서 실험기간에 따라 정도 간 차이는 있으나 개체 성장에 따른 생리적인 변화로 모두 증가하였다고 생각된다. 그러나 일상 대조군에 비해 운동군에서의 체중 증가율 감소는 여러 가지로 해석될 수 있으나 Oscan (1971)나 Katch (1979)의 연구에서 실험 동물을 통해 운동 강도에 따라서, 즉 시간이 길고 낮은 운동 강도에 비해 운동시간이 짧고 높은 운동 강도에서 식욕억제와 칼로리 소모를 통해 체중이 감소됨을 보고한 바 있다.

심장 무게 변화 역시 개체의 성장에 따라 증가하였으며 일상군과 비교하여 운동군에서 실험기간에 따라서 유의한 증가율을 보였다. 이와 유사한 연구결과들로 Oakely (1987)나 Shapiro (1987)는 심장 무게 변화는 운동에 따른 심박출량의 증가에 대한 생리적 보상관계로서 좌심실 벽의 비후와 근섬유의 굵기 등 여러 가지 요인에 기인된 것으로 운동에 따라서 심장 크기 증가는 생리적 적응의 결과로서 심장의 기능과 다양한 구조적인 변화들을 볼 수 있다고 하였

다.

또한 주당 12시간 이상의 강한 지구력 훈련에서는 좌심실의 내경 및 용적 증가와 좌심실 벽의 두께가 두터워지며 전체 질량도 증가한다고 하였다(Ikaheimo et al., 1979; Keul et al., 1982; Ricci et al., 1982; Huston et al., 1985).

좌심실 벽내 근섬유의 수적 변화는 모든 실험군에서 개체의 성장과 더불어 단위면적당 감소하였는데 이는 개체 성장에 따른 심장의 성장 결과로 근섬유의 수적 감소보다는 굵기 변화에 따른 생리적 변화로 생각된다. 또한 단위 면적당 수적 변화로 일상 대조군에 비해 운동군에서 수적 감소를 보였는데 Anverse et al. (1982)는 어린 흰쥐를 대상으로 15%의 경사도와 26.8 m/min 속도로 주당 5일간씩 7주간의 운동 실험에서 비운동군에 비해 운동군에서 심근세포의 길이, 횡단면적의 증가 및 사립체의 수적 증가를 보고한 바 있다.

Fozzarol et al. (1991)은 운동결과 성숙한 심근세포에서는 일반적으로 세포 비후는 일어나지만 세포증식은 일어나지 않는다고 하였으며, 비후의 주된 원인으로 세포내 유전자 발현이나 단백질 합성의 증가가 주된 원인이라고 설명하고 있다. 따라서 본 실험 결과에서 보인 수적 감소 역시 운동에 따른 심근세포의 생리적 적응 결과로 운동군에 관찰된 심근벽의 비후와 상관관계가 있음을 알 수 있었다.

단위 면적당 모세혈관의 수적 변화 역시 실험기간에 따라 단위면적당 감소하였으며 일상 대조군에 비해 운동군에서 실험기간에 따라 유의한 증가를 보였다. 이와 유사 연구들로 Francis et al. (1987)은 돼지를 이용한 10주간의 Treadmill 운동을 실시한 결과, 성장과정 및 특히 운동군에서 근섬유의 성장과 함께 사립체의 증가, 모세혈관의 생성과 동맥성 혈관(arteriolar)의 길이 및 수적 증가를 보였는데 이는 운동 부하에 따른 심근의 산소이용과 공급 측면의 결과라고 보고하였다.

또한 Schaible & Scheuer (1985)들은 장기간 지구력 훈련에서는 에너지 대사과정에 관여하는 효소의 활성도 증가 및 에너지원 제공에 기여하는 사립체 수가 증가한다고 하였다.

Cosmas et al. (1997)은 실험동물을 대상으로 수영을

통한 심근내 모세혈관의 변동을 조사한 결과, 근섬유와 모세혈관의 비율 및 모세혈관의 수가 운동에 따라 증가된다고 하였고 운동이 심장에 미치는 효과로 심장의 크기, 특히 모세혈관의 수적 증가보다는 오히려 심근섬유와 모세혈관의 비율에 중요성을 강조한 바 있다.

따라서 모세혈관의 수적 증가는 운동 부하 증가에 따른 신체의 산소 섭취량 증가로 이어지고, 산소 섭취량은 기본적으로 심맥관계의 혈액-산소운반 능력에 달려있어 이를 해결하기 위해 심장은 심박출량을 유도하게 되고 결국 심근의 자체 운동 회수가 늘어남으로서 심근운동에서도 소비되는 산소량을 보상하기 위한 생리적 반응으로 생각된다.

운동에 필요한 에너지 대사측면에서, CO 복합체들은 세포내 사립체 내막에 존재하면서 세포호흡의 최종 과정에서 cytochrome c로부터 받은 전자를 이용해 2분자의 H^+ 와 $1/2O_2$ 를 이용하여 물분자와 양이온의 수소원자를 방출하여 에너지 합성에 관여한다.

CO는 산소의 농도가 감소하거나, hexokinase가 부과되거나 열역학 변환능(thermodynamic flux-force)에 의해 조절되고(Korzeniewski, 1996), 소량의 nitric oxide에 의해서 저해된다(Torres et al., 1995). CO의 활성정도는 일상 대조군에서는 실험기간 즉 개체의 성장에 따라서 활성정도는 유의한 변화를 보이지 않았다.

Starnes & Rumsey (1988)는 10~30개월된 Fischer 344 흰쥐를 대상으로한 실험에서 심근내 cytochrome c량과 citrate synthase 같은 사립체 효소들의 감소는 나이와 무관하다고 한 반면, Biggs et al. (1991)은 자연 노화된 Fischer 344 흰쥐에서는 cytochrome c mRNA량이 감소한다고 하여 상반된 견해를 보였다. Hudson et al. (1998)은 Wistar 흰쥐의 심근을 대상으로 출생 6개월과 비교해 24개월에서 사립체 단백질 합성율(rate of the mitochondrial protein synthesis)이 개체에 따라 차이는 있으나 30~50% 수준 감소하며 그 가운데 CO 감소가 23% 정도로 가장 많은 것으로 보아 심근의 사립체 활성 감소가 나이와 관련된 변화라 하였다.

따라서 최근 연구 결과들에 따르면 CO는 나이에 따라 어느정도 활성이 감소되는 것으로 알려져 있다.

그러나 본 실험결과에 나타난 CO의 활성은 일상 대조군에서는 가령에 따라서도 큰 변화를 보이지 않았는데 그것은 최종 실험에 사용된 흰쥐의 연령이 출생 6개월 이전의 비교적 젊은 연령이라 생각된다.

반면 운동군에서는 실험시작 후 1주까지는 유의한 증가를 보이지 않았으나 그 이후부터는 높은 효소 활성반응을 보였는데 이것은 운동에 의한 에너지 생산과 소모측면에서 보여준 생리반응의 결과라 생각된다.

본 연구 결과를 뒷받침할 수 있는 연구들로 Paulson et al.(1987)은 당뇨병 흰쥐를 이용하여 5% 경사에 27 m/min 조건으로 60분간 8주 동안 운동결과 운동군에서 근육성 CO 활성이 현저히 증가한다고 하였다. Starnes et al.(1983)은 출생 9개월과 25개월을 대상으로 일상 자연 노화군에서는 심근내 단백질 합성율과 cytochrome c량이 감소하였으나 주당 30분씩 6주간 treadmill 운동 결과에서는 오히려 증가한다고 하였다. Marone et al.(1994)도 골격근내 CO의 활성은 glucocorticoids에 의해서는 전자전달과정의 CO활성은 보이지 않으나 운동 결과에서는 핵과 사립체 mRNA의 상호작용으로 CO 효소와 mRNA의 발현이 상호 증가하여 운동에 의한 CO 활성을 보고한 바 있다.

한편 Tate et al.(1996)은 노화 흰쥐에서는 SR calcium ATPase와 mitochondrial cytochrome oxidase mRNA 양이 감소하고, 8~10주간 treadmill 운동을 실시한 결과에서는 비운동군과 비교해 훨씬 높은 활성치를 보이고 있는 반면 cardiac α -actin 이나 glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase 및 Na/Ca exchanger의 발현은 나이와 무관하다고 하였다.

Town & Essig(1993)들은 SD계의 자성 흰쥐를 대상으로 7%의 경사도에 15 m/min 속도의 운동조건으로 10분간 Treadmill 운동 결과 골격근에서 운동 3일째부터는 5'-aminolevulinic synthase가, 7일 이후부터 CO가 각각 증가하여 운동의 적응을 보여주고 있다.

따라서 운동에 의해서 CO의 활성은 증가되고 활성의 증가시기는 아직 분명치 않으나 본 실험 결과에서 보여준 운동시작 1주일 이후부터 심근섬유와 모세혈관의 비가 증가하고, CO의 계속적인 활성 증가로 미루어 운동에 의한 심장의 적응은 대략 운동

시작 1주일 이후부터 시작되어 treadmill 운동 4주 후에 심장의 적응이 어느 정도 이루어진다고 사료된다.

참 고 문 헌

- Anverse P, Beghi C, Levicky V, McDonald SL, Kikkawa Y: Morphometry of right ventricular hypertrophy induced by strenuous exercise in rat. *Am J Physiol* 243 : H856-H861, 1982.
- Giggs RB, Hanley RM, Morrison PR, Booth FW: Cytochrome c mRNA levels decrease in senescent rat heart. *Mech Ageing Dev* 60 : 285-293, 1991
- Cosmas AC, Kernan K, Buck E, Fernhall B, Manfredi TG: Exercise and dietary cholesterol alter rat myocardial capillary ultrastructure. *Eur J Appl Physiol* 75 : 62-67, 1997.
- Francis CW, McKirnan D, Breisch EA, Guth BD, Liu YM, Bloor CM: Adaptation of the left ventricle to exercise-induced hypertrophy. *J Appl Physiol* 62 : 1097-1110, 1987.
- Fozzard HA, Haber E, Jennings RB, Karz AM: The Heart and cardiovascular system. *Sci Foundation* 2nd ed, Raven Press Ltd., p. 1621, 1991.
- Huston TP, Puffer JC, Rodney WM: The athletic heart syndrome, *NEJM* 313 : 24, 1985.
- Ikaheimo MJ, Palatsi IJ, Takkinen JT: Noninvasive evaluation of the athletic heart: Sprinters versus endurance runners. *Am J Cardiol* 44 : 24, 1979.
- Katch VL, Martin R, Martin J: Effects of exercise intensity on food consumption in the male rat. *Am J Clin Nutr* 32 : 1401-1407, 1979.
- Keul J, Dickhuth HH, Lehmann M, Staiger J: The athletic heart-hemodynamics and structure. *Int J Sports Med* 3 : 33, 1982.
- Korzeniewski B: Regulation of cytochrome oxidase : theoretical studies. *Biophys Chem* 59 : 75-86, 1996
- Oakley GD: The athletic heart. *Cardiol Clin* 5 : 319, 1987.
- Oscari LB, Mole PA, Holloszy JO: Effect of exercise on cardiac weight and mitochondria in male and female rat. *Am J Physiol* 220 : 1944-1948, 1971.
- Paniagua R, Vazquez JJ, Lopez-Moratalla N: Effect of physical training on rat myocardium. *Revista Espanola De Fisiologia* 33 : 273-282, 1977.
- Pattengale PM, Holloszy: Augmentation of skeletal muscle

- myoglobin by a program of treadmill running. *Am J Physiol* 213 : 783, 1967.
- Paulson DJ, Kopp SJ, Peace DG, Tow JP: Myocardial adaptation to endurance exercise training in diabetic rats. *Am J Physiol* 252 : 1073-1081, 1987.
- Ricci G, Lajoie D, Petitclerc R, Peronnet F, Ferguson RJ, Fournier M, Taylor AW: Left ventricular size following endurance, sprint, and strength training. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 14 : 344, 1982.
- Schaible TF, Scheuer J: Cardiac adaptations to chronic exercise. *Prog Cardiocasc Dis* 27 : 297-324, 1985.
- Shapiro LM: Left ventricular hypertrophy in athletes in relation to the type of sport. *Sports Med* 4 : 239, 1987.
- Starnes JW, Beyer RE, Edington DW: Myocardial adaptation to endurance exercise in aged rats. *Am J Physiol* 245 : H560-H566, 1983.
- Starnes JW, Rumsey WL: Cardiac energetics and performance to exercised and food-restricted rats during aging. *Am J Physiol* 254 : H599-H608, 1988.
- Sugishita Y, Koseki S, Matsuda M: Myocardial mechanics of athlete hearts in comparison with diseases hearts. *Am Heart J* 105 : 273-280, 1983.
- Taanman JW: Human cytochrome c oxidase : structure, function, and deficiency. *J Bioenerg Biomembr* 29 : 151-163, 1997.
- Tate CA, Helgason T, Hyek MF, McBride RP, Chen M, Richardson MA, Taffet GE: SERCA2a and mitochondrial cytochrome oxidase expression are increased in hearts of exercise-trained old rats. *Am J Physiol* 271 : 68-72, 1996.
- Torres J, Darley-Usmar V, Wilson MT: Inhibition of cytochrome c oxidase in turnover by nitric oxide : mechanism and implications for control of respiration. *Biochem J* 312 : 169-173, 1995
- Town GP, Essig DA: Cytochrome oxidase in muscle of endurance-trained rats: subunit mRNA contents and heme synthesis. *J Appl Physiol* 74 : 192-196, 1993.

< 국문 초록 >

흰쥐를 실험 대상으로 하여 Treadmill 운동을 실시하여 운동에 의한 심근의 적응과 cytochrome oxidase 활성화에 관한 세포화학적 연구 알아보기 위하여 실험을 실시하였다.

실험동물은 SD계 웅성 흰쥐를 이용하여 출생 3개월 정도의 체중 150 ± 10 g 정도로 실험을 시작하였다. 실험군은 일상 대조군과 운동군 2개군으로 나누고, 각각 1일, 3일, 1주일, 4주일, 8주일 및 12주일 동안 각각 4마리씩 운동시켜 실험에 이용하였다.

형태 계측학적 방법으로 심장의 무게변화, 심근섬유와 모세혈관의 비, 그리고 CO 활성화 정도를 측정하였다. 광학 및 전자현미경을 이용하여 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

심장무게 변화는 모든 실험군에서 실험기간에 비례하여 증가하였다. 일상 대조군에 비해 운동군에서 유의한 증가를 보였다.

모세혈관과 근섬유 비율은 일상 대조군에서는 유의한 변화가 없었고, 운동군에서는 운동 4주일 이후부터 유의한 증가를 보였다.

Cytochrome oxidase C 활성화율은 일상 대조군에서는 유의한 변화가 없었고, 운동군에서는 운동 1주일 이후부터 유의한 증가를 보였다.

사람체에 CO 활성화 형태는 일상 대조군에서는 I형과 III형이, 운동군에서는 실험기간에 비례해서는 II형과 III형이 많이 관찰되었다.

이상과 같은 실험결과들을 미루어볼 때 Treadmill 운동결과 CO의 활성화와 심근섬유와 모세혈관의 비율이 운동에 의해 변화를 보여, 흰쥐의 심근에서는 treadmill 운동은 약 4주 정도에서 심장의 적응성이 어느 정도 이루어지는 것으로 사료된다.

FIGURE LEGENDS

- Fig. 2.** Light micrographic showing the 1 μm epon cross section of the myocardium, the sedentary group, 8th week. toluidine blue stain, $\times 200$.
The capillaries (arrow) were present between the two adjacent myofibers
- Fig. 3.** Light micrographic showing the 1 μm epon cross section of the myocardium, the treadmill group, 1st week. toluidine blue stain, $\times 200$.
- Fig. 4.** Light micrographic showing the 1 μm epon cross section of the myocardium, the treadmill group, 4th week. toluidine blue stain, $\times 200$.
- Fig. 5.** Light micrographic showing the 1 μm epon cross section of the myocardium, the treadmill group, 12th week. toluidine blue stain, $\times 200$.
Portion of mitochondria stain were increased compared to those of the sedentary group and treadmill 1st and 4th week group.
- Fig. 6.** Electron micrograph showing the cytochemical reactions of cytochrome oxidase from the treadmill group, 1st week. 6% Uranyl acetate stain. Scale bar : 0.5 μm
Activities of cytochrome oxidase were observed in the inner membrane and cristae of mitochondria. N : CO no activity, I: Type I CO activity (mild) II; Type II CO activity (moderate) III : Type III CO activity (marked)
- Fig. 7.** Electron micrograph showing the cytochemical reactions of cytochrome oxidase from the treadmill group, 1st week. 6% Uranyl acetate stain. Scale bar : 0.5 μm
- Fig. 8.** Electron micrograph showing the cytochemical reactions of cytochrome oxidase from the treadmill group, 4th week. 6% Uranyl acetate stain. Scale bar : 0.5 μm
Number of cytochrome oxidase reactions were increased compared to those of the treadmill 1st week group.
- Fig. 9.** Electron micrograph showing the cytochemical reactions of cytochrome oxidase from the treadmill group, 12th week. 6% Uranyl acetate stain. Scale bar : 0.5 μm
Number of cytochrome oxidase reactions were increased compared to those of the treadmill 4th week group.

