

理學博士學位論文

운동에 의한 노화촉진마우스 SAMP8의 노화 및
기억·학습장애의 방어기전

2002年 2月

釜慶大學校 大學院

食品生命科學科

李 鍾 洙

理學博士學位論文

운동에 의한 노화촉진마우스 SAMP8의 노화 및
기억·학습장애의 방어기전

指導教授 崔 鎭 浩

이 論文을 理學博士 學位論文으로 提出 함

2002年 2月

釜慶大學校 大學院

食品生命科學科

李 鍾 洙

李鍾洙의 理學博士 學位論文을 認准 함

2001年 12月 26日

主	審	醫學博士	卞	大	錫	㉠
副	審	農學博士	南	澤	正	㉠
委	員	理學博士	金	廣	錫	㉠
委	員	理學博士	白	永	鎬	㉠
委	員	理學博士	崔	鎭	浩	㉠

목 차

표(Table)의 목록	i
그림(Figure)의 목록	iii
약어(Abbreviations) 목록	iv
ABSTRACT	1
 I. 서론.....	 5
 II. 재료 및 방법	 12
1. 실험동물 및 사육실험.....	12
가. 시약 및 기타 재료.....	12
나. 실험동물 및 사육조건.....	12
다. 실험용 조제사료의 제조.....	14
라. 운동부하실험.....	14
마. $\dot{V}O_{2max}$ 의 산출방법.....	15
바. 체중 및 비만도의 측정.....	16
사. 혈액 채취 및 분리.....	17
아. 뇌(Brain)의 분획.....	17
자. 단백질 함량의 측정	19
2. 노화도 관련 평가.....	19
가. 수동회피시험의 평가.....	19
나. 리포푸신 함량의 측정.....	21
3. 체내 지질대사성분의 측정.....	22
가. 중성지질 함량의 측정.....	22
나. 콜레스테롤 함량의 측정.....	22

다. 리포단백-콜레스테롤 함량의 측정.....	22
라. 동맥경화지표(Atherogenic Index)의 계산.....	23
4. 과산화지질 함량의 측정.....	23
가. TBA법에 의한 과산화지질(MDA)의 측정.....	23
나. 형광법에 의한 과산화지질(LPO)의 측정	24
5. 활성산소종(ROS) 생성량의 측정	24
가. 히드록시 라디칼의 함량 측정	24
나. 수퍼옥시드 라디칼의 함량 측정	25
다. 과산화수소의 함량 측정.....	26
라. NO의 생성량 측정.....	26
6. 활성산소종 제거효소의 활성 측정.....	27
가. 수퍼옥시드 디스무타아제(SOD)의 활성 측정.....	27
나. 카탈라아제(CAT)의 활성 측정.....	27
다. 글루타치온 퍼옥시다아제(GPx)의 활성 측정.....	28
7. 단백질산화 생성물의 측정.....	28
8. Total, Non-heme iron 함량의 측정.....	29
9. 세포막 유동성의 측정.....	30
10. 신경전달물질 및 관련효소의 측정.....	30
가. 아세틸콜린(ACh)의 함량 측정.....	30
나. 콜린아세틸트랜스퍼라아제(ChAT)의 활성 측정.....	31
다. 아세틸콜린에스트라아제(AChE)의 활성 측정.....	31
라. 모노아민옥시다아제(MAO)의 활성 측정.....	32
11. 분석결과의 통계처리.....	32

III. 결과 및 고찰.....	33
1. 체중의 변화.....	33
2. 운동부하가 비만 및 체지방에 미치는 영향.....	35
3. 운동부하가 수명에 미치는 영향.....	37
4. 운동부하에 의한 기억력의 개선효과.....	41
5. 리포푸신(Lipofuscin)의 함량 비교.....	43
6. 중성지방 및 콜레스테롤 대사에 미치는 영향.....	45
7. 동맥경화지수(AI)의 비교.....	49
8. 활성산소종(ROS)의 생성변화.....	50
가. 수퍼옥시드 라디칼 생성량의 변화.....	51
나. 히드록시 라디칼 생성량의 변화.....	53
다. 과산화수소 생성량의 변화.....	56
라. NO의 생성량 비교.....	57
9. 산화적 스트레스에 대한 운동의 영향.....	58
가. 과산화지방질(LPO)의 생성에 대한 영향.....	58
나. 산화단백질(OP)의 생성에 대한 영향.....	60
10. 활성산소 제거효소 활성에 대한 운동의 영향.....	62
가. 수퍼옥시드 디스무타아제 활성의 변화.....	62
나. 글루타치온 퍼옥시다아제 활성의 변화.....	66
다. 카탈라아제 활성의 변화.....	67
12. 세포막 유동성의 비교.....	68
13. 신경전달물질 및 관련효소의 변화.....	70
가. 아세틸콜린(ACh)의 함량 변화.....	71
나. 콜린아세틸트랜스퍼라아제(ChAT)의 활성 변화.....	73
다. 아세틸콜린에스트라아제(AChE)의 활성 변화.....	75
라. 모노아민옥시다아제(MAO)의 활성 변화.....	77

IV. 요 약	79
V. 감사의 글.....	84
VI. 참고문헌	85

표(Table)의 목록

Table 1. Composition of experimental diets	13
Table 2. Training procedures of exercise groups	15
Table 3. Determination of $\dot{V}O_2\text{max}$ by total exercise amount(TEA)•	16
Table 4. Effects of exercise training on body weight in SAMP8 mice	35
Table 5. Effects of exercise training on body weight, body fat and obesity index in SAMP8 mice	36
Table 6. Effects of exercise training on median and maximal lifespans in SAMP8 mice	39
Table 7. Effects of exercise training on lipofuscin(LF) levels in brain of SAMP8 mice	45
Table 8. Effects of exercise training on triglyceride(TG) levels in serum of SAMP8 mice	46
Table 9. Effects of exercise training on total cholesterol levels in serum of SAMP8 mice	47
Table 10. Effects of exercise training on LDL-cholesterol levels in serum of SAMP8 mice	48
Table 11. Effects of exercise training on HDL-cholesterol levels in serum of SAMP8 mice	49
Table 12. Effects of exercise training on atherogenic index(AI) in serum of SAMP8 mice	50
Table 13. Effects of exercise training on superoxide radical($O_2^{\cdot-}$) generation in brain cytosol of SAMP8 mice	53
Table 14. Effects of exercise training on hydroxyl radical($\cdot OH$) formation in serum of SAMP8 mice	54

Table 15. Effects of exercise training on hydrogen peroxide levels in brain microsome of SAMP8 mice	56
Table 16. Effects of exercise training on lipid peroxide(LPO) contents in serum of SAMP8 mice	59
Table 17. Effects of exercise training on superoxide dismutase (SOD) activities in serum of SAMP8 mice	63
Table 18. Effects of exercise training on glutathione peroxidase(GPx) activities in brain cytosol of SAMP8 mice	66
Table 19. Effects of exercise training on catalase(CAT) activities in serum of SAMP8 mice.....	67
Table 20. Effects of exercise training on membrane fluidity(MF) in mitochondria of SAMP8 mice.....	69
Table 21. Effects of exercise training on membrane fluidity(MF) in brain microsome of SAMP8 mice.....	70
Table 22. Effects of exercise training on acetylcholine(ACh) levels in brain of SAMP8 mice.....	71
Table 23. Effects of exercise training on choline acetyltransferase (ChAT) activity in brain cytosol of SAMP8 mice.....	75
Table 24. Effects of exercise training on monoamine oxidase (MAO-B) activity in brain of SAMP8 mice.....	77

그림(Figure)의 목록

Fig. 1. Schematic procedures for brain subcellular fraction.....	18
Fig. 2. Measurement method of passive avoidance test	20
Fig. 3. Effects of exercise training on body weight in SAMP8 mice..	34
Fig. 4. Effects of exercise training on survival rates in SAMP8 mice.....	40
Fig. 5. Effects of exercise training on passive avoidance test in SAMP8 mice.....	42
Fig. 6. Effects of exercise training on hydroxyl radical generation in brain of SAMP8 mice.....	55
Fig. 7. Effects of exercise training on nitric oxide (NO) contents in serum and brain of SAMP8.....	58
Fig. 8. Effects of exercise training on carbonyl contents of oxidized protein in brain of SAMP8 mice.....	61
Fig. 9. Effects of exercise training on superoxide dismutase(SOD) activity in brain of SAMP8 mice.....	65
Fig. 10. Transmitters used in the various components of the peripheral nervous system.....	72
Fig. 11. Changes in acetylcholine(ACh)-related enzyme.....	74
Fig. 12. Effects of exercise training on acetylcholinesterase(AChE) activity in brain of SAMP8 mice.....	76

약어 (Abbreviations)의 목록

5-HIAA	: 5-Hydroxyindole acetic acid
5-HT	: 5-Hydroxytryptamine (serotonin)
8-OH-dG	: 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine
ACh	: Acetylcholine
AChE	: Acetylcholinesterase
AI	: Atherogenic index
BSA	: Bovine serum albumin
CAT	: Catalase
CBC	: Complete blood cell count
COG	: Cyclooxygenase
Cu, Zn/SOD	: Copper, Zinc-superoxide dismutase
DA	: Dopamine
DAT	: Dementia of Alzheimer type
DCF-DA	: 2',7'-Dichlorofluorescein Diacetate
DHBA	: Dihydroxy benzylamine
DNPH	: Dinitrophenyl hydrazine
DPH	: 1,6-Diphenyl- 1,3,5-hexatriene
DTB	: 5-5'-Dithiobis- (2-nitrobenzoate)
DTNB	: Dithionitrobenzoic acid
ECD	: Electrochemical detector
FAD	: Flavin adenine dinucleotide disodium
Fe ²⁺	: Ferrous iron
Fe ³⁺	: Ferric iron
GSH	: Glutathione
GSHRe	: Glutathione reductase
GSHPx	: Glutathione peroxidases
HDL	: High density lipoprotein
HPLC	: High performance liquid chromatography

HVA	: Homovanillic acid
LDL	: Low density lipoprotein
LF	: Lipofuscin
LOG	: Lipoxygenase
LOO•	: Peroxyl radical
LO•	: Alkoxy radical
LPO	: Lipid peroxide
MAO	: Monoamineoxidase
MDA	: Malondialdehyde
MLSP	: Maximum lifespan potential
Mn-SOD	: Manganese superoxide dismutase
NaDodSO ₄	: Sodium dodecyl sulfate
NADPH	: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate
NE	: Norepinephrine
NO ₂ ⁻	: Nitrite ion
NO ₃ ⁻	: Nitrate ion
O ₂ ⁻ •	: Superoxide radical
PCA	: Perchloric Acid
PGI ₂	: Prostaglandin I ₂ (prostacyclin)
RNase	: Ribonuclease
ROS	: Reactive oxygen species
SAMP	: Senescence accelerated prone mouse
SAMR	: Senescence accelerated resistant mouse
SEA	: Scavenger enzyme activity
SDS	: Sodium dodecyl sulfate
SOD	: Superoxide dismutase
TBA	: Thiobabaturic acid
TCA	: Trichloroacetic acid
TG	: Triglyceride
TMA-DPH	: 1- (4-Trimethylammoniumphenyl)-6-phenyl-1,3,5-hexatriene

TXA ₂	: Thromboxane A ₂
UV	: Ultraviolet
VaD	: Vascular dementia
•OH	: Hydroxyl radical
•OOH	: Hydroperoxide radical

Effects of Exercise Training on Defense Mechanism of Aging, Learning and Memory Impairments of Senescence-Accelerated Mouse SAMP8

Jong-Soo Lee

*Department of Food and Life Science, Graduate School
Pukyong National University*

ABSTRACT

This study was designed to evaluate and investigate the effect of exercise training on defense mechanism of chronic degenerative disease, aging, learning and memory impairments of senescence-accelerated mouse (SAM) P8 mice under the hypothesis that "Senile dementia may be prevented by exercises". To evaluate the effects of exercise training on the experimental animal model, SAMP8 mice with learning and memory impairment were divided into two groups, the control group and exercise training groups performed with low($\dot{V}O_2\text{max}$ 25-33%), middle($\dot{V}O_2\text{max}$ 50%) and high($\dot{V}O_2\text{max}$ 66-75%). All SAMP8 mice were fed experimental diet ad libitum until 4 and 8 months, and died.

Body weights gain in 4 and 8 months of age were consistently and significantly lower about 10% and 4% in middle group, and 20% and 10% in high group compared with control group. Membrane fluidities were significantly increased to 10.2% and 12.3% in brain mitochondria and microsomes with middle exercise training ($\dot{V}O_2\text{max}$ 50%), whereas were increased 5.3% and decreased 6.0% in brain mitochondria and microsomes with middle exercise training ($\dot{V}O_2\text{max}$ 66–75%) compared with control group.

Median and maximum lifespan in middle exercise group resulted in a significantly increased (23.5% and 18.7%, respectively), whereas these lifespan in high exercise group resulted in an unexpectedly decreased (13.5% and 12.1%, respectively) compared with control group. Body fat levels in 4 and 8 months of age were significantly decreased 43% to 51% in middle exercise group, whereas were remarkably decreased to 57% in high exercise group compared with control group. It is believed that extending effects of median and maximum lifespan may be effected by calorie restriction through the exercise training.

Learning and memory impairments were significantly improved 15–30% and 14–27% in 4 and 8 months of age by the middle and high exercise groups. Accumulations of lipofuscin in brain of SAMP8 mice were effectively decreased in middle exercise group, whereas these were meaningfully increased in high exercise group compared with control group.

LDL-cholesterol levels resulted in a significantly decreased 8 16% and 10 13%, respectively, in middle and high exercise groups, but HDL-cholesterol levels in 8 months of age resulted in a remarkably increased 20% in middle and high exercise groups compared with control group. It is believed that lower LDL-cholesterol and atherogenic index(AI), and higher HDL-cholesterol by the exercise training may be beneficially acted in health and longevity of human.

Oxygen free radicals in aged SAMP8 mice of 8 months resulted in a significantly decreased 10% of superoxide radical and 30% of hydroxyl radical in middle exercise group, whereas these resulted in a significantly increased 10% of superoxide radical and 10% of hydrogen peroxide in high exercise group compared with control group. Lipid peroxide(LPO) as an oxidative stress in aged SAMP8 mice of 8 months resulted in a significantly decreased 13% in middle exercise group, whereas these LPO resulted in a significantly increased 10% in high exercise group compared with control group. Superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase(GPx) as a scavenger enzymes in aged SAMP8 mice of 8 months resulted in a significantly increased 7.4% and 12.6% in middle exercise group, whereas these scavenger enzymes resulted in a significantly increased 2.9% and 7.5% in high exercise group compared with control group. It is believed that significant decreases of oxygen free radicals and their oxidative stress in middle exercise groups may be contributed the retardation of aging, whereas significant increases of these oxygen free radicals and their oxidative stress in high exercise groups may be related the acceleration of aging.

Acetylcholine(ACh) levels were significantly increased 6.7% and 8.5% in middle and high exercise groups, but choline acetyltransferase(ChAT) activities were significantly increased 10.3% and 11.9%, respectively, in middle and high exercise groups. Acetylcholinesterase(AChE) activities in middle group only were significantly increased in 4 and 8 months of age compared with control group. Monoamine oxidase-B(MAO-B) activities in 4 and 8 months of age were effectively decreased 4.5 5.1% in middle exercise group, whereas these MAO-B activities almost did not change in high exercise group compared with control group.

These results suggest that proper and regular exercises such as middle group($\dot{V}O_2\text{max}$ 50%) may play an effective role in attenuating an oxygen radicals and their oxidative stresses, and may play an desirable role in improving a learning and memory impairments and preventing a senile dementia.

I. 서 론

옛날 중국 진나라 시황제(始皇帝 : BC 247-210)가 그랬듯이 인간은 누구나 건강하게 오래 살기를 원한다. 그렇지만, 시황제도 50세를 넘기지 못했다는 사실은 우리에게 시사하는 바가 크다고 하겠다. 그렇지만, 21세기에 접어들면서 과학과 의학의 발달로 인하여 인간의 최대 희망사항인 평균수명이 80세를 넘어서면서 이제, 삶의 질에 대한 문제로서 풍요 속에서 건강하게 오래 살기를 갈구하게 되었다.

지금까지의 장수연구의 결과, 칼로리 제한(calorie restriction : 소식(小食)이 최고의 장수비결로 부상하고 있다. 칼로리 제한에 대한 연구는 이미 1935년 McCay 등이 “칼로리 제한이 수명을 연장할 수 있다”는 가설을 제안하였으며, 그 이유로서 대사율(metabolic rate)의 감소 및 성장 억제 등을 제시하고 있다. 그 후 1970년 후반부터 텍사스의과대학(UTHSC at San Antonio) 장수연구팀에 “소식이 장수한다”는 가설하에 실험동물모델 SPF Fischer 344 rats를 사용하여 10여년간 두 번의 반복실험을 통해 40%의 칼로리 제한(小食)은 평균수명을 거의 50%나 연장한다는 사실을 실험적으로 입증하면서 소식(小食)이 장수의 비결로 자리 매김하고 있다(Yu et al., 1985).

칼로리 제한이 평균수명을 연장하는 메카니즘 연구로서 활성산소로 불려지고 있는 free radical, oxygen radical, 또는 reactive oxygen species (ROS)가 조직세포를 공격하여 세포막의 주성분인 지질성분을 공격하여 과산화지질(lipid peroxide : LPO)이 생기면서 세포막의 구조적 손상을 받아 노화를 촉진한다는 Harman(1935)이 제안한 'Free Radical Theory'에 기초를 두고 있다. 최근에는 이들 활성산소의 공격에 의한 노화의 메카니즘으로서 조직세포의 구조적 손상에 대한 가설로서 산화적 스트레스가설(oxidative stress hypothesis)까지 등장하고 있다(Yu, 1996; Yu and Yang,

1996).

건강하게 장수하는 방법으로는 식생활과 운동으로 요약될 수 있다. 그 이유로서는 우리는 먹지 않고 살 수 없고, 또한 움직이는 활동으로서 운동을 빼고 생각할 수 없기 때문이다. 건강·장수를 위한 가장 효과적인 방법으로서는 식생활은 식사량을 40% 제한한 칼로리 제한이 평균수명을 50%나 연장한다는 사실이 밝혀져 있다.

운동이 건강·장수에 어떤 영향을 미치는가 하는 연구에서 실험동물(rats)을 사용한 연구에서 운동그룹은 비운동그룹에 비해 최대수명에는 영향을 미치지 못하지만, 평균수명이 15%까지 연장할 수 있지만, 여기에 30%이하의 칼로리 제한을 하면 평균수명이 50%이상 연장할 수 있다는 사실을 실험적으로 증명했다(Holloazy et al., 1991).

운동 부하량은 산소 소비량과 밀접한 관계가 있다. 산소 소비량의 역설적인 역할(oxygen paradox)로 인하여 운동시 산소의 반응은 운동 생리학자들에게 많은 관심이 되어져왔다(Jenkins, 2000). Free radical이란 화학적으로 최외각 전자궤도에서 쌍을 이루고 있지 않은 전자를 지닌 원자나 분자를 의미한다. 이러한 free radical로 알려진 활성산소는 오염물질, 껌연, 합성의약품, 환경호르몬, UV나 X-ray 조사, 과격한 운동, 과식 등의 외인적 영향과 염증반응이나 효소반응 등 세포내의 여러 대사과정 등 내인적 영향에 의하여 생성된다는 사실이 밝혀져 있다(Singh., 1992). 그 예로 미토콘드리아의 전자전달계에서 생성되고, peroxisome의 지방산 대사과정에서도 생성되며, 병원체나 이 물질이 들어올 때 식세포(phagocytic cell)에 의해서도 생성된다.

특히 격렬한 운동을 할 때 인체의 온도가 상승하게 되고, 이 경우 산소 소비량의 증가와 더불어 활성산소가 생성되는데, 이렇게 활성산소가 증가되면, 생체 내에는 이들에 대한 방어기구로서 superoxide dismutase(SOD), catalase, peroxidase 등의 항산화효소와 함께 vitamin E, vitamin C,

glutathione, ubiquinone 등과 같은 항산화물질이 존재하여 활성산소와 균형을 맞추어 안정된 상태로 환원시켜 준다. 이러한 항산화제에 관한 연구는 superoxide radical을 소거하는 데에 관심을 가지면서 본격적으로 진행되었다(McCord & Fridovich., 1969).

지금까지 Herman(1956)이 노화에 관한 free radical 학설을 제창한 이후 free radical에 관한 연구가 진행되었고, 최근 운동이 항산화물질에 영향을 미치는 실험에 대해 활발하게 연구 중이다(Witt et al., 1992). 또한 Kim 등(1996)은 실험동물(mouse)을 대상으로 칼로리 제한과 운동이 항산화효소에 미치는 영향을 연구한 결과 칼로리 제한은 항산화효소의 활성화에 그렇게 큰 영향은 없었지만, 장기간(18.5 months)의 지구성 운동이 항산화효소의 활성을 유의적으로 증가시켰다고 보고했다. Parhouse 등(1995)은 mouse에 유산소 운동을 실시한 결과, glutathione peroxidase, catalase의 활성의 수준이 증가하였다고 보고한 바 있다.

지적인 바와 같이 실제 동물의 노화는 개체 고유의 내적 요인뿐만 아니라, 많은 외적 요인들이 관여함으로써 질병이 발병하고 노화가 진행되는 것이다. 노화과정에서 지질과산화반응이 노화의 한 원인으로 나타나는 것은 연령 증가에 따라 비례적으로 생체 내에 축적되는 노화색소(lipofuscin)가 과산화지질과 단백질의 중합체로서(Basson et al., 1982), 여러 환경적 요인 및 생체 내 산화반응으로 생성되는 활성산소(ROS)는 세포구조와 기능에 손상을 일으킨다는 사실이 밝혀졌다(Chio, 1969; Basson et al., 1982; Curtis et al., 1984).

최근 운동부하에 따른 ROS 생성에 대한 방어체제로 항산화제에 관한 연구가 활발히 진행되어 지고 있는데, 일반적으로 격렬한 운동은 인체의 대사를 활발히 진행시키고, 근육의 산소소비량을 늘여, ROS의 생성을 증가시킨다. 이 경우 젊고 꾸준한 유산소 훈련을 한 훈련군에서는 ROS 생성과 더불어 항산화제가 활성화되어 산화적 스트레스(oxidative stress)를 막

아주게 된다(Evans, 2000).

과격한 유산소적 운동은 활성산소(free radical)를 생성시켜 미토콘드리아의 산소 라디칼의 생성과 함께 기능적 손상과 질병들을 유발할 수 있다.

노화로 인한 신체조직의 기능적 저하가 노화와 관련된 운동능력을 변화시키고, 산화반응을 증가시키게 된다(Juiller et al., 2000). 결국 이러한 신체의 기능저하는 우리 신체의 자발적인 활동력을 포함한 매일의 일상적 활동을 제한하고 감소시키는 원인이 된다(Weinsier et al., 2000; Wilson & Tanaka., 2000; Lazoski et al., 2000). 그러므로, 우리들의 규칙적인 운동습관은 특정의 스트레스의 방지에 아주 유용할 것이고, 적당한 운동은 적극 권장되어진다.

지금 고령화사회에 접어들면서 노인성 치매(senile dementia)가 심각한 사회·의료문제로 등장할 뿐만 아니라 삶의 질에서도 심각한 문제가 아닐 수 없다. 그래서 노인성 치매를 예방하고 억제하며 치료하는 연구가 활발히 진행되고 있지만, 아직까지 뚜렷한 성과를 거두고 있지 못한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 “운동이 치매를 예방할 수 있다”는 가설하에서 노인성 치매 방지의 일환으로 기억·학습 장애를 수반하는 실험동물모델 SAMP8을 사용하여 운동을 부하했을 때 활성산소의 생성, 활성산소에 의한 산화적 스트레스의 변화, 신경전달물질과 관련효소의 변화, 더 나아가서 평균수명에 미치는 영향을 평가하여 유의적인 결과를 도출하는데 성공했기에 보고한다.

본 연구에서 사용된 노화촉진마우스(senescence-accelerated mouse, SAM)는 Takeda 등(1981)에 의해 개발된 마우스 계통(strain)으로서 활동성의 저하, 탈모 및 피모의 조잡, 안주위 병변, 백내장, 척추이상 및 수명 단축의 증상을 나타내는 마우스를 선택, 교배한 마우스로 이들의 종류는 크게 수명이 단축된 SAMP계(P1, P2, P3, P6, P7, P8, P9, P10, P11)와 정상적인 노화 과정을 겪는 SAMR계(R1, R4, R5)로 구성되어 있다.

SAMP계통은 정상적으로 성장하다가 조기에 노화되어 수명이 SAMR 계보다 약 32% 짧은 것으로 알려져 있다(Takeda et al., 1981). 그런데 이들 SAMP계중에서 가장 많은 노화증상이 아밀로이드증(senile amyloid)으로서 아밀로이드 단백질이 뼈나 뇌를 제외한 전신의 장기에 침착하는데, 이런 증상이 연령의 증가와 함께 증가한다는 사실이다(Takeshita et al., 1982). SAMP계는 아밀로이드 단백질은 N-말단에서 5번째가 글루타민(glutamine)인데 반해, SAMR계는 프롤린(proline)이라는 사실이 판명되었다.

이와 같이 N-말단에서 5번째의 아미노산인 프롤린 하나가 글루타민으로 변함에 따라 아밀로이드가 침착한다는 사실은 대단히 흥미로운 사실이다(Higuchi et al., 1986). 또한 SAMP계는 각각 특징적으로 나타나는 증상을 가지고 있는데 대표적인 SAMP1, P2는 노인성 아밀로이드 침착증, SAMP6에 특징적으로 나타나는 증상은 골량감소로 인한 노인성 골조소증(senile osteoporosis)의 병태가 나타난다(Riggs et al., 1983). SAMP8, SAMP10는 학습능력과 기억력이 노화에 따라 감소하는 특징을 가지고 있다(Miyamoto et al., 1986; Yagi et al., 1988; Ohta et al., 1989). 그 밖에도 SAMP9에서는 가령과 함께 선천성 백내장이, SAMP3는 변형성 악관절병을 나타내기도 한다. 따라서 이들 SAM계는 사람의 노화 과정중에 나타나는 증상들을 잘 나타내기 때문에 노화 연구에 많이 활용되고 있다.

뇌의 신경섬유의 병변, 피질경화 및 뇌혈관 장애 등에서 오는 것으로 알려진 노인성 치매나 파킨슨병 등은 노화와 함께 나타나는 심각한 질병이다. 노인성 치매로서는 혈관성치매(Vascular Dementia: VaD)와 알츠하이머형 치매(Dementia of Alzheimer-Type: DAT)라는 두 가지 종류의 치매가 존재한다는 사실이 밝혀지고 있다(Price, 1986; Selkoe, 1994).

그러나 알츠하이머형 치매의 원인은 아직까지 명확하게 규명되어 있지 않지만, 여러가지 가설 중에서 바이러스 감염설, 알루미늄 축적설, 중금속의 중독설, 유전설 등이 제기되고 있으며, 알츠하이머형 치매의 병리학적 기전 등이 보고되어 있을 정도다(Carp et al., 1984; Wisniewski et al., 1985, Vorbrodt et al., 1990; Kim et al., 1990).

따라서 본 연구는 SAMP8에 대해 기억·학습장애의 방어기전에 대한 운동의 효과를 목적으로 계획되었으며, 동물모델로서 개발된 노화촉진마우스SAM 중에서 기억·학습장애를 수반하는 동물모델인 SAMP8을 사용하였다. 우선 SAMP8을 대조군(control)과 실험군(exercise training groups)의 두 그룹으로 크게 나누고 다시 4, 8 및 수명이 다할 때까지 사육하면서 수동회피시험(passive avoidance test)을 통해 기억·학습장애 및 치매의 예방 여부, 평균수명 및 최대수명에 대한 영향, 노화색소로서 lipofuscin의 축적에 미치는 영향을 운동부하량으로써 평가하였다.

이들 실험동물을 4, 8개월마다 채혈후 뇌를 분취하여 성인병의 발병억제능으로서 중성지질, LDL 및 HDL-콜레스테롤, 이를 통한 atherogenic index(AI)의 억제효과도 평가하였고, 이들 뇌의 생리기능에 미치는 활성산소종(reactive oxygen species: ROS)으로서 히드록시 라디칼(hydroxyl radical : $\cdot\text{OH}$), 수퍼옥시드 라디칼(superoxide radical : $\text{O}_2^{\cdot-}$), hydrogen peroxide(H_2O_2), nitric oxide(NO) 등의 활성산소(free radicals)의 생성 억제효과, 이들 활성산소에 의해 생성되는 산화적 스트레스(oxidative stress)로서 말론디알데히드(malondialdehyde: MDA)로서 대표되는 과산화지질(lipid peroxide: LPO)의 생성, 활성산소에 의한 단백질의 산화생성물로서 산화단백질(oxidized protein : OP)의 생성량도 카르보닐화합물(carbonyl compound)의 함량으로써 평가하였다.

이들 활성산소의 제거효소(scavenger enzymes)로서 수퍼옥시드 디스무타아제(superoxide dismutase: SOD) 및 이에 따른 Mn-SOD와 Cu/Zn-SOD, 글루타치온 퍼옥시다아제(GPx), 카탈라아제(CAT) 등의 생체 방어활동에 미치는 운동부하의 영향도 평가하였다. 생체의 항상성(homeostasis)의 유지를 위한 뇌조직 세포막의 유동성(membrane fluidity)도 평가하였다.

마지막으로 이들 운동부하량이 신경전달물질로서 acetylcholine(ACh)의 생성과 ACh의 합성효소로서 choline acetyltransferase(ChAT) 활성 및 신경전달의 발현에 직접 관계하는 acetylcholinesterase(AChE) 활성에 미치는 영향을 평가하고, 아울러 catecholamine계 신경전달물질의 파괴효소로서 monoamine oxidase-B(MAO-B) 활성 억제효과도 평가하였다.

따라서 이상의 실험결과를 바탕으로 하여 기억·학습장애를 수반하는 실험동물모델 SAMP8 mice를 사용하여 운동부하량 low($\dot{V}O_2$ max 25-33%), middle($\dot{V}O_2$ max 50%) 및 high($\dot{V}O_2$ max 66-75%)에 따른 수명의 연장, 성인병과 노화의 예방, 기억·학습장애의 개선 및 치매의 예방에 미치는 영향을 평가하여 유의적인 결과를 얻었다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물 및 사육실험

가. 시약 및 기타 재료

조제사료를 만드는데 이용된 starch(Daesang, Korea), casein은 Sigma (USA), lard(Sinhan, Korea), corn oil(Cheiljedang, Korea), cellulose는 Sigma (USA), vitamin 및 mineral mix(AIN-76)는 ICN사(USA), DL-methionine, choline chloride는 Sigma(USA) 제품을 사용하였다. 키트시약으로 측정된 TG시약은 Sigma(USA) 제품을 이용하였으며, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol 시약은 Eiken(Japan), Ferritin 측정용 시약은 DPC (USA) 제품을 이용하였다. 활성산소의 생성능 측정을 위한 probe로써 2',7'-dichlorofluorescein diacetate(DCF-DA)와 세포막 유동성 측정을 위한 probe로써 [1-(4-trimethylammoniumphenyl)-6-phenyl-1,3,5-hexatriene, p-toluenesulfonate] (TMA-DPH)는 Molecular probe 제품(USA)을 구입하여 사용하였다. DNA 분리 8-OHdG의 검출을 위한 proteinase K, Phenol, RNase A, T₁, chloroform, isoamylalcohol, nuclease P₁, *Escherichia coli* alkaline phosphatase 등은 분자생물학 연구용의 Sigma(USA)로 부터 구입하여 사용하였다. 그 외 실험에 사용된 모든 시약은 Sigma제(USA)의 시약 및 특급시약을 구입하여 사용하였다.

나. 실험동물 및 사육조건

한국화학연구소에서 구입한 SAMP8 mice(female, 18±2g)을 부경대학교 동물사육실에서 2주간 예비사육 한 다음, 연령별로 4, 8개월 및 수명이 다할 때까지 각각 13마리씩으로 대조군과 실험군으로 분류하여 자유식으로

사육하면서 매일 오후 5 6시에 체중변화를 측정하였다.

Table 1. Composition of experimental diets

(g/ 100g)

Component	Content(%)
Carbohydrate	55.3
corn starch	42.0
sucrose	13.3
Protein	18.0
casein	18.0
Lipid	18.0
lard	13.0
corn oil	5.0
Cellulose	3.0
Vitamin mix (AIN- 76)	1.0
Mineral mix (AIN- 76)	3.5
DL- methionine	0.3
Choline chloride	0.2
Cholesterol	0.5
Sodium cholate	0.2
Energy level(kcal/ g)	4.28

각 개월마다 혈액을 채취·분석을 통해 SAMP8 mice에 미치는 영향을 평가하였다. 그리고 동물사육실은 항온항습($22\pm 2^{\circ}\text{C}$, $65\pm 2\%$ RH)하에서 12시간 사이클(06:00 18:00)로 명암이 자동 조절되도록 하였다.

다. 실험용 조제사료의 제조

실험에 사용할 조제사료의 조성은 에너지비로서 탄수화물 55.3%(α -starch: 42.0% + sucrose 13.3%), 단백질 18.0%(sodium-free casein), 지질은 lard 13.0%, corn oil 5.0%가 되도록 첨가하고, 여기에 비타민과 무기질(AIN-76 mixture)을 각각 1.0%, 3.5%을 첨가하였으며, 그 밖에 섬유소(3.0%), DL-methionine(0.3%), choline chloride(0.2%)를 첨가·제조하였다 (Table 1).

라. 운동부하실험

본 연구는 Table 2에서와 같이 대조군과 실험군으로 나누어 Dual-Treadmill (DJ-4024; Seoul)을 이용하여 treadmill running을 실시하였고, 운동강도는 Bedford 등(1979)의 방법을 보완하여 사용하였고, 운동빈도는 주당 5회 실시하였다.

Treadmill running은 13마리의 SAMP8이 동시에 달릴 수 있는 레인을 설치(한 개의 레인은 폭 14 cm, 길이 90 cm, 높이 14 cm)하였고, 트레드밀의 경사도 0° 20° 로 조절이 가능하고, 속도 2.0 m/min 50.0 m/min으로 조절할 수 있도록 제작하였다.

Table 2. Training procedures of exercise groups

Periods	Exercise groups								
	Low			Middle			High		
	ES	ET	TEA	ES	ET	TEA	ES	ET	TEA
4	5	5	25	5	10	50	5	15	75
8	10	10	100	10	15	150	10	20	200

ES : exercise speed(m/min); ET : exercise time(min); TEA : total exercise ;
amount(m) (n=13).

마. $\dot{V}O_2\text{max}$ 의 산출방법

인체의 경우를 결정하는 요인을 살펴보면,

1. 예측최대 심박수에 도달(예측최대 심박수 = 220 - 연령)
2. 젖산 농도가 4 mmol/dl 이상일 때
3. R.Q(Respiratory Quotient)가 1.02이상일 때
4. $\dot{V}O_2\text{max}$ 가 leveling off일 때

이상의 4가지 가운데 2가지 이상 성립시 $\dot{V}O_2\text{max}$ 를 결정하게 되며, 사람의 경우는 $\dot{V}O_2\text{max}$ 에 도달되면 30초 이상 운동지속이 불가능하다. 그리고 total exercise amount(TEA) 기준으로 4개월째는 100%, 8개월째는 300%를 적용하여 $\dot{V}O_2\text{max}$ 를 산출하고, 동물모델 SAM에 적용한 것이기 때문에 이것에 대한 $\dot{V}O_2\text{max}$ 의 조작적 정의를 논문에 표시함이 타당하다고 사료된다. 그러므로 $\dot{V}O_2\text{max}$ 의 산출은 low group은 25 33%, middle group은 50%, high group은 66 75%로 적용하였다(Table 3.).

Table 3. Determination of $\dot{V}O_2\text{max}$ by total exercise amount(TEA)

Determination of $\dot{V}O_2\text{max}$			
Period(months)	Low	Middle	High
4	25	50	75
8	100	150	200
$\dot{V}O_2\text{ max}$	25 33%	50%	66 75%

바. 체중 및 비만도의 측정

사육실험 기간 중 실험용 SAMP8 mice의 체중변화는 매일 17:30분에 체중(body weight : BW) 및 체장(body length : BL)을 측정하여 비만도 (obesity degree)를 평가하기 위하여 최 등(1980)의 방법에 따라 Rohler index를 측정하였고, Tsuchimoto와 Miyata 등(1992)의 방법에 따라 TM index를 측정하여 운동부하가 비만에 미치는 영향을 평가하였다. 체지방 함량도 Tsuchimoto와 Miyata 등(1992)의 방법에 따라 다음 식에 따라 측정하여 평가하였다.

$$\text{Rohler index (RI)} = [\text{body weight (g)} / \text{Body length (cm)}] \times 10^3 \dots (1)$$

$$\text{T.M. index} = [\text{body weight (g)} / \text{body length (cm)}^{2.823}] \times 10^3 \dots (2)$$

$$\text{Body fat (BF)} = [0.581 \times \text{TM index}] - 22.03 (\text{g} / 100\text{g}) \dots (3)$$

또한 각 운동부하 그룹별로 사육이 끝나면 SAM을 단두하여 채혈한 다음 즉시, 뇌(brain)를 적출하여 인산완충용액으로 세척하고, 여과지로서 물기를 제거한 후, 분석하기 전까지는 인산완충용액에 넣어 동결고(-70°C)에

동결·보존하였다.

사. 혈액 채취 및 분리

실험동물의 처리는 실험최종일 12시간 전부터 절식(絶食)시킨 후 단두하여 채취한 혈액을 실온에 60분간 방치한 후 $700\times g$ 에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액(혈청)을 항응고제인 sodium heparine(sigma, 100,000 Units)을 혈액 1 ml당 0.05 ml로 처리한 complete blood cell count병(CBC, 녹십자사)에 넣어 동결고($-70^{\circ}C$)에 동결·보존하면서 분석하였다.

아. 뇌(Brain)의 분획

뇌 세포의 분획은 Choi 등(1989)이 사용한 방법에 따라 Fig. 1과 같은 방법으로 실시하였다. 저온실에서 완충용액(1.15% KCl/10 mM phosphate buffer + 5 mM EDTA, pH 7.4)을 사용, 뇌의 무게당 10배(w/v)의 완충용액으로 균질화 한 다음 $700\times g$ 에서 10분간 원심분리하여 얻은 상층액을 다시 $9,000\times g$ 에서 15분간 원심분리하였다. 이 때 생긴 잔사(pellet)는 완충용액으로 정용(g/ml)하여 미토콘드리아 획분(mitochondria fraction)으로 하였고, 다시 상층액은 $105,000\times g$ 에서 60분간 원심분리하여 얻은 잔사를 같은 완충용액으로 정용(g/ml)하여 마이크로솜 획분(microsome fraction)으로 하였고, 상층액은 시토졸 획분(cytosol fraction)으로 하였다.

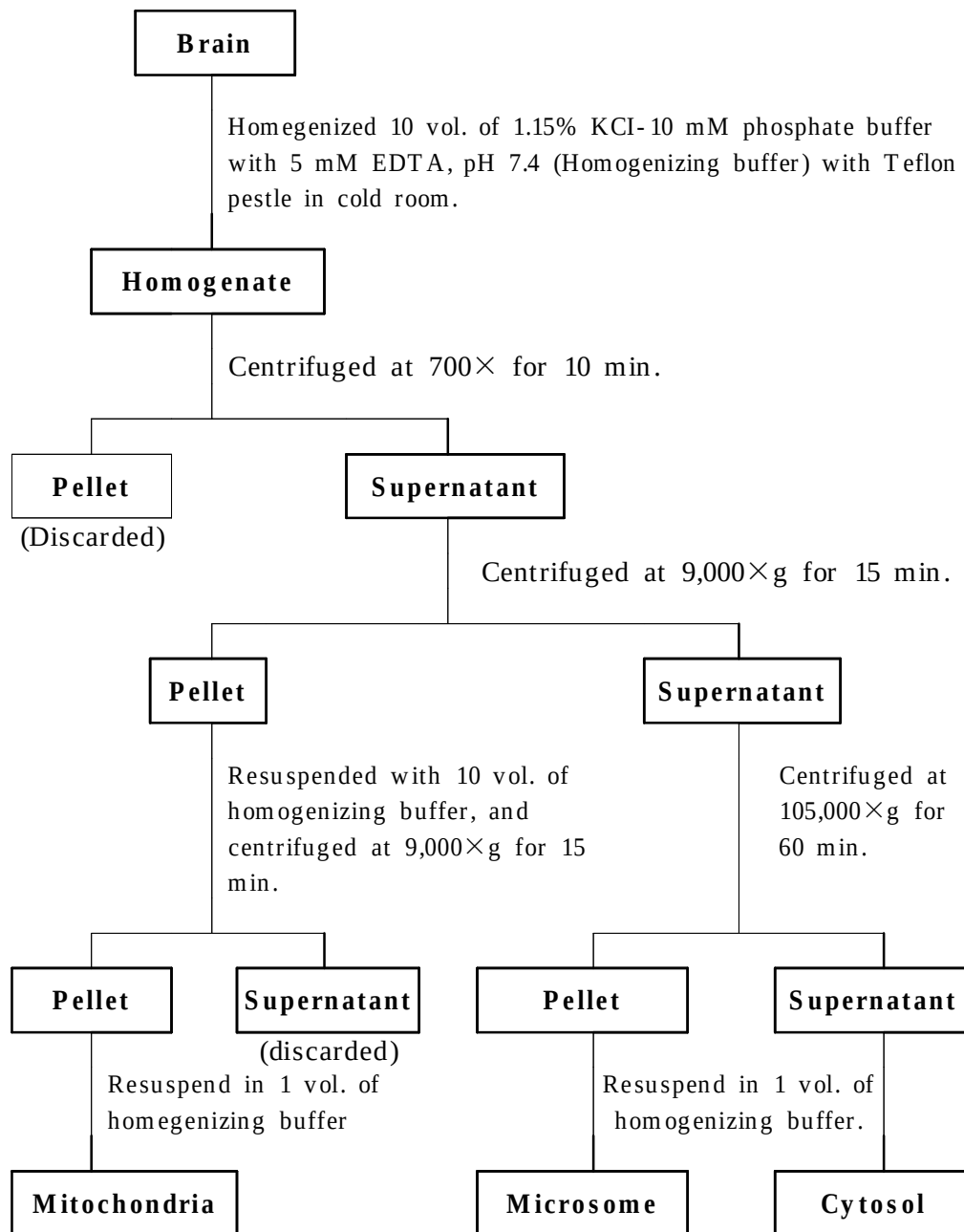


Fig. 1. Schematic procedures for brain subcellular fractions

자. 단백질 함량의 측정

혈액에서 분리한 혈청, 뇌세포 획분의 단백질의 함량은 Lowry 등(1951)의 방법에 따라 BSA법(bovine serum albumine)으로 측정하였다. 혈청 및 뇌세포 획분 20 μ l를 취하고 여기에 1.0% SDS 용액 12 μ l를 혼합하고, 증류수로써 120 μ l가 되도록 희석(6배)했다. 희석된 용액 15 및 20 μ l를 취해 증류수로써 80 및 85 μ l를 넣고 희석시켰다. 여기에 반응시약(0.5% copper sulfate solution : 1.0% sodium tartrate solution : 2.0% sodium carbonate solution = 0.5 : 0.5 : 49, v/v)을 1.0 ml씩 첨가하여 약 10초간 혼합한다. 그리고 20분간 실온에서 방치하였다. 이 후 발색시약으로써 1 N Folin시약을 0.1 ml씩 첨가하여 혼합하고 실온에서 30분간 방치한 다음, 분광광도계를 사용하여 525 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의하여 단백질의 함량(mg protein/ml serum)을 정량하였다.

2. 노화도 관련 평가

가. 수동회피시험의 평가

살아있는 상태에서 기억·학습능력을 평가하기 위한 방법으로 Yagi 등(1988)이 사용한 수동회피시험(passive avoidance test)의 방법을 일부 수정하여 acquisition trial과 retention test로 나누어 측정하였다. 실험동물을 light chamber(750 Lux)에 넣으면 습관적으로 dark chamber로 들어가는 데, 이 때 AC 0.5 mA의 전류로써 1초동안 전기적 자극을 준 다음, 전기 자극을 받은 마우스를 꺼내어 휴식시킨 후 원래의 light chamber에 넣었을 때 light chamber에 그대로 머무는 시간(latency, sec)을 acquisition trial(획득시험)이라고 한다. 이 때 light chamber에서 dark chamber에 들어가면 AC 0.5 mA의 전류가 3초동안 강력한 전기적 쇼크가 가해진다.

이 SAMP8 mice를 24시간 후 다시 light chamber에 넣었을 때 어제의 전기적 쇼크를 기억하고 300 sec까지 light chamber에 머물게 되면 기억의 회복효과로 인정할 수 있다. 즉 SAMP8 mice가 light chamber에서 dark chamber로 들어가서 전기적 자극을 받을 때까지를 획득시험(acquisition trial)이라 하였고, 기억시험(retention test)은 획득시험(aquisition trial) 실시한 후 24시간이 지난 다음에 다시 light chamber에 넣었을 때 dark chamber에 들어갈 때까지의 시간을 측정하여 기억시험(retention test)으로 평가하였다.

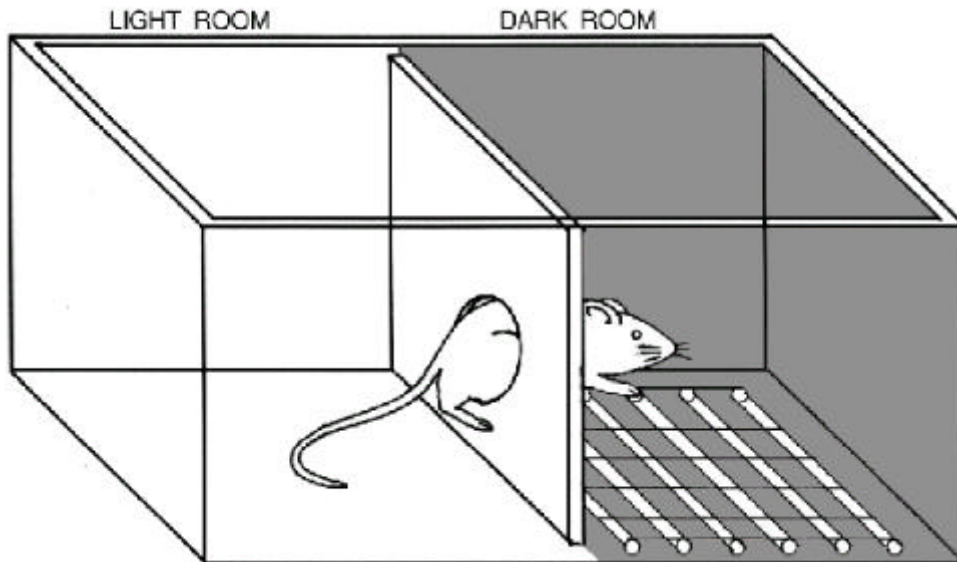


Fig. 2. Measurement method of passive avoidance test

A step-through passive avoidance apparatus with two compartment was used. A front, light chamber (8×8×25 cm; 750 lux at the floor) separated with a guillotine-type door (5×3 cm) was connected to a dark chamber (25×25×30 cm) equipped with a grid floor. Each SAMP8 mouse was placed in the front light chamber, once the mouse in light chamber entered in rear dark chamber on all 4 paws, the guillotine-type door was closed and AC 0.5 mA scrambled footshock (Grason-Stadler, Model 700) was applied to the floor grid for 1 sec. when the mouse was reintroduced to the light chamber, acquisition trial was measured by remaining time (latency, sec) in light chamber. As a mouse enters the rear dark chamber, the door is closed and AC 0.5 mA scrambled footshock was applied to the floor grid for 3 sec. After 24 hrs, retention test is examined by replacing the mouse in light chamber. The results were expressed by the number of mice reaching a criterion (300sec)

나. 리포푸신 함량의 측정

노화색소로서 리포푸신(lipofuscin : LF)의 측정은 Fletcher 등(1973)의 방법에 따라 조직의 표면에 과도한 수분과 오물을 제거한 후 뇌 조직 0.2 g에 chloroform-methanol(2:1, v/v) 혼합용액 4.0 ml에 첨가 후 1분간 균질화시켰다. 여기에 같은 양(4.0 ml)의 증류수를 첨가하고 다시 1분간 격렬하게 혼합하였다.

그 후 800×g에서 5분간 원심분리하고 chloroform층 2.0 ml를 분취하여, 형광광도계를 사용하여 345 nm(excitation)와 435 nm(emission)에서 표준용액(quinine sulfate $\mu\text{g/ml}$ of 0.1 N H_2SO_4)을 대조군으로 형광도를 측정하여 LF의 함량($\mu\text{g/mg protein}$)을 정량하였다.

3. 체내 지질대사성분의 측정

가. 중성지질 함량의 측정

혈청중의 중성지질로서 트리글리세리드(triglyceride : TG)의 함량은 TG 키트시약(Sigma, Co.)을 사용하였다. 먼저 혈청 10 μl , 표준용액(300 mg/dl) 10 μl 와 blank로 탈이온수 10 μl 에 TG키트시약 1.0 ml씩을 첨가하고 잘 섞은 후 37°C 수조상에서 5분간 반응시켰다. blank를 대조로 하여 540 nm에서 흡광도를 측정하여 TG의 함량(mg/dl serum)을 정량하였다.

나. 콜레스테롤 함량의 측정

혈청 및 뇌세포 획분중의 총콜레스테롤 함량은 Rudel 등(1973)의 방법에 따라 o-phthaldehyde법으로 측정하였다. 먼저 시료를 0.1 ml씩 취한 후 33% KOH용액 0.3 ml와 95% 에탄올 3.0 ml를 가하고 잘 혼합한 다음, 혈청은 15분간, 뇌세포 획분은 60분간 60°C 수조에서 가열 후 냉각하였다.

여기에 hexan 5.0 ml를 가하여 혼합하고 다시 증류수 3.0 ml를 가한 다음 1분간 잘 혼합한 후 층을 분리하여 1.0 ml의 hexan층을 취했다. 이 hexan층을 질소로 농축·건조시키고, o-phthaldehyde시약을 2.0 ml를 가하여 잘 혼합하고 10분 후 발색시약으로서 진한황산을 1.0 ml를 가하여 혼합하였다. 황산 첨가 후 10분에서 90분 이내에 분광광도계를 사용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였고, 표준검량선에 의하여 총콜레스테롤의 함량(mg/dl serum)을 정량하였다.

다. 리포단백-콜레스테롤 함량의 측정

혈청중의 HDL 및 LDL-콜레스테롤 함량의 측정은 HDL-콜레스테롤(HDL-C 555, Eiken, Japan), LDL-콜레스테롤(BLF, Eiken, Japan) 키트시약을 사용하였다.

①. HDL-콜레스테롤 함량의 측정

혈청 0.3 ml를 시험관에 넣고 여기서 침전 시약 0.3 ml를 넣어 잘 혼합한 다음 실온에서 10분간 방치후 $700\times g$ 에서 10분간 원심분리한다. 그 후 상층액 50 μl , 표준용액(100 mg/dl) 50 μl , blank로 증류수 50 μl 에 각각 HDL발색시약 3.0 ml씩을 첨가하고 잘 섞은후 37°C 수조상에서 5분간 가온시킨다. blank를 대조로 하여 555 nm에서 흡광도를 측정하여 HDL-콜레스테롤의 함량(mg/dl serum)을 정량하였다.

②. LDL-콜레스테롤 함량의 측정

혈청 0.1 ml, 표준혈청 0.1 ml를 시험관에 넣고 여기에 BLF키트시약 I, II를 각각 4.0 ml씩 넣은 후 5초간 잘 혼합한 다음 실온($25\pm 3^{\circ}C$)에서 25분간 방치 후 10분 이내에 증류수를 대조로 하여 650 nm에서 흡광도를 측정하여 LDL-콜레스테롤의 함량(mg/dl serum)을 정량하였다.

라. 동맥경화지표(Atherogenic Index)의 계산

동맥경화지표(atherogenic index : AI)는 Haglund 등(1991)에 의하여 총콜레스테롤에 HDL-콜레스테롤의 함량을 뺀 다음, 이것을 다시 HDL-콜레스테롤로 나누어 계산하였다.

4. 과산화지질 함량의 측정

가. TBA법에 의한 과산화지질(MDA)의 측정

혈청 및 뇌세포 획분중의 과산화지질의 함량은 Choi 등(1990)이 사용한 방법에 따라 TBA법으로 malondialdehyde (MDA) 함량을 측정한 것이다. 혈청 및 뇌세포 획분 20 μl 에 증류수 180 μl 을 혼합한 것을 각 시험관에 취하고 8.1% SDS (sodium dodecyl sulfate)용액 200 μl 를 가하여 약 5초

간 혼합한 후 20% 초산 1.5 ml를 넣어 다시 5초간 혼합하고, 1.2% TBA(thiobarbituric acid)시약 1.0 ml 첨가하여 깨끗한 구슬로 마개한 뒤 30분간 수조에서 가열하였다. 이 반응액을 800×g에서 10분간 원심분리하여 상층액을 분광광도계를 사용하여 532 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 따라 과산화지질의 함량(nmole/ml serum)을 정량하였다.

나. 형광법에 의한 과산화지질 (LPO)의 측정

혈청중의 과산화지질의 함량은 Yagi 등(1987)의 방법에 따라 측정하였다. 0.02 ml의 혈청에 1/12 N H₂SO₄를 4.0 ml, 10% phosphotungstic acid를 0.5 ml를 가하여 혼합하고, 5분간 방치한 후 900×g에서 10분간 원심분리하였다. 원심분리후 상층액은 제거하고 잔사에 1/12 N H₂SO₄ 2.0 ml, 10% phosphotungstic acid 0.3 ml를 첨가하여 위의 과정을 반복하였다. 다시 원심분리후의 잔사에 3.0 ml의 증류수와 TBA시약(0.67% TBA 시약+빙초산 = 1:1, v/v, pH 3.5)을 1.0 ml를 첨가하여 95°C 수조에서 1시간 동안 반응시킨 후에 냉각시켰다. 이 용액에 n-부탄올을 5.0 ml 가하고 900×g에서 15분간 원심분리한 후 반응액의 형광성을 가진 n-부탄올층을 다른 시험관에 2.0 ml 옮긴 뒤 반응액의 형광강도를 형광광도계를 사용하여 515 nm(excitation)와 553 nm(emission)의 파장에서 측정하여 과산화지질 함량(nmol/ml serum)을 정량하였다.

5. 활성산소종 (ROS) 생성량의 측정

가. 히드록시 라디칼의 함량 측정

Deoxyribose의 파괴 정도로 hydroxyl radical($\cdot$ OH)의 생성 정도를 측정하는 방법으로서 반응성 산소대사물에 의해 deoxyribose가 파괴되어 aldehyde가 생성되며 이 aldehyde는 산성용액에서 thiobarbituric acid와 반

응하여 발색되는 것을 이용한 Halliwell 등(1981)의 방법에 따라 측정하였다. 혈청과 뇌세포 획분의 $\cdot\text{OH}$ 라디칼의 측정은 먼저 0.1 M의 인산완충용액(pH 7.4), 10 mM의 NaN_3 , 7 mM의 deoxyribose, 5 mM의 ferrous-ammonium sulfate, 0.54 M NaCl 시약을 각각 33.3 μl 씩 첨가하고 검체군은 시료(15 μl)와 증류수(185 μl)을 합하여 200 μl 되게 하여 이 혼합된 용액을 37°C 항온수조에서 15분간 가온하였다. 그러나 대조군은 시료(30 μl)와 증류수(170 μl)를 첨가한 후 가온과정은 생략하였다. 검체군과 대조군 각각의 반응액에 8.1% SDS용액 75 μl 와 20%의 acetic acid 500 μl , 증류수 25 μl 를 추가하여 넣고 1.2% TBA용액 333 μl 를 넣어 잘 섞었다.

그 후 30분간 끓인 다음, 실온에서 식힌 후, 800×g에서 5분간 원심분리하여 얻은 상층액을 분광광도계를 이용하여 532 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량곡선에 의하여 검체군과 대조군의 흡광도 차이를 이용하여 $\cdot\text{OH}$ 라디칼(nmole/mg protein /min)의 생성량을 계산하였다.

나. 수퍼옥시드 라디칼의 함량 측정

수퍼옥시드 라디칼(superoxide radical : $\text{O}_2^{\cdot-}$)의 생성은 McCord 등(1969)과 Chan 등(1974)의 방법에 따라 superoxide dismutase(SOD)를 억제할 수 있는 ferricytochrome C의 환원속도를 측정하였다. 즉 0.1 mM EDTA를 함유한 인산완충용액(pH 7.8) 420 μl 에 cyanide의 농도가 50 μM 이 되도록 20 mM cyanide 용액을 가한 후 37°C에서 10분간 가온하였다. 이 용액에 시토줄 300 μl 와 0.1 mM cytochrome C 50 μl 를 넣어 분광광도계를 사용 550 nm에서 흡광도를 시간에 따라 측정하였다. 이 때 cytochrome C의 양은 분자흡광계수 $19,500\text{M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ 로 계산하였다.

다. 과산화수소의 함량 측정

과산화수소(hydrogen peroxide: H_2O_2)의 생성량은 Thurman 등(1972)의 방법에 따라 뇌세포의 microsome획분에서 생성된 hydrogen peroxide에 의하여 생성되는 붉은 색의 ferrithiocyanate 복합체를 기초로 400 mM 인산 완충용액(pH 7.4) 400 μl , 200 mM nicotinamide 200 μl , 100 mM $MgCl_2$ 200 μl , 50 mM NaN_3 200 μl 와 시료 64.1 μl , 증류수 735.9 μl 첨가·혼합한 뒤 60 mM NADPH 200 μl 를 첨가하여 총 2 ml가 되게 하여 37°C 항온 수조에서 15분간 가온시킨 후에 1.2 M TCA (tri-chloroacetic acid)를 1.0 ml 첨가, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 1.0 ml 취하였다. 상층액에 ferrous ammonium 200 μl 첨가 후 2.5 M KSCN(potassium thiocyanate)을 100 μl 넣어 혼합하여 실온에 10분 방치하였다. 분광광도계를 이용하여 파장 480 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의해 과산화수소(nmol/mg protein/min)의 함량을 정량하였다.

라. NO의 생성량 측정

총 NO의 생성량을 Miesel 등(1996)의 방법을 이용하여 정량하였다. 혈청 100 μl 를 준비한 시험관에 6.5 M HCl 25 μl , 37.5 mM sulfanilic acid 25 μl 를 각각 첨가하였다. 10분간 방치한 후, 12.5 mM N-(1-naphthyl)-ethylenediamine 25 μl 를 첨가한 후 실온에서 30분간 방치한 후에 10,000×g에서 5분간 원심분리하였다. 단백질성분이 제거된 상층액을 540 nm에서 흡광도를 측정하여 sodium nitrate에 의한 표준검량선으로 정량하였다.

뇌 조직중의 NO의 생성량은 Yu 등(1994)의 방법에 의하여 뇌 조직을 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 1.0 ml로 균질화한 후에 600×g에서 5분간 원심분리한 후 얻어진 상층액 200 μl 에 90 mUnit nitrate reductase 100 μl , 0.28 mM NADPH 100 μl , 3.5 μM FAD 100 μl , 0.1 M potassium phosphate buffer(pH 7.5) 200 μl 를 각각 첨가하여 25°C에서 1

시간 동안 incubation하였다. 그 후 3분간 끓이면 모든 반응은 중지되었다. 그 후 Griss시약(2% sulfanilic acid/5% H_3PO_4 : 0.2% N-(1-naphtyl)-ethylenediamine/water; 1:1)을 700 μl 을 첨가한다. 다시 60°C에서 10분간 가온시킨 후 546 nm에서 흡광도를 측정하여 sodium nitrate에 의한 표준검량선으로 정량하였다.

6. 활성산소종 제거효소의 활성 측정

가. 수퍼옥시드 디스무타아제(SOD)의 활성 측정

Oyanagui 등(1984)의 방법에 따라 수퍼옥시드 디스무타아제(superoxide dismutase : SOD)의 활성은 혈청 및 뇌세포 획분을 인산완충용액(pH 8.2)으로 30배로 희석한 용액 0.1 ml에 증류수 0.5 ml, A시약(52.125 mg of hydroxylamine + 102.1 mg of hypoxanthine/250 ml D.W) 0.2 ml, B시약(20 μl of xanthine oxidase + 0.9939 mg ethylene diaminetetraacetic acid/26.7 ml phosphate buffer, pH 8.2) 0.2 ml를 첨가·혼합하여 37°C 항온수조에서 40분간 가온 후 C시약(300 mg of sulfanilic acid + N-1-naphthylethylenediamine acid /500 ml of 16.7% acetic acid) 2.0 ml를 첨가·혼합하여 실온에서 20분간 방치 후 분광광도계를 사용, 550 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량선에 의해 수퍼옥시드 디스무타아제(unit/mg protein)를 정량하였다.

나. 카탈라아제(CAT)의 활성 측정

Rigo 등(1977)의 방법에 의해 혈청에서 카탈라아제(catalase : CAT)활성의 측정은 시험관에 인산완충용액(130 mM, pH 7.0) 250 μl , 증류수 330 μl , 혈청 20 μl 에 15 mM의 과산화수소용액 900 μl 을 첨가, 5초간 잘 섞은

다음, 즉시 분광광도계를 사용하여 240 nm에서 시간에 대한 흡광도의 변화를 2분간 측정하여 1unit는 1분간 과산화수소 1 μmol 의 분해로 계산하였다.

다. 글루타치온 퍼옥시다아제 (GPx)의 활성 측정

Lawrence 등(1978)의 방법에 따라 글루타치온 퍼옥시다아제(glutathione : GPx)의 활성을 시간에 대한 NADPH의 감소량으로 표시하였다. 먼저 뇌 획분중의 시토졸에서 GPx의 활성 측정은 먼저 시료를 인산완충용액(0.3 M/4.0 mM EDTA)으로 10배 희석하여 사용하였다. 각각 시험관에 인산완충용액(0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA, pH 7.2) 0.1 ml, 증류수 1.295 ml, 26.56 mM sodium azide용액(86.33 mg of NaN_3 /50 ml of D.W) 0.5 ml, 294.37 mM GSH용액(452.34 mg of glutathione/5.0 ml of 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 60 μl , 8.4 mM NADPH(35.0 mg NADPH/5.0 ml of 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 110 μl , glutathione reductase(5 mg of GSH-Re/1.0 ml of 0.3 M phosphate buffer with 4.0 mM EDTA) 5 μl , 1 mM hydroperoxide 320 μl 를 첨가한 후, 10배로 희석된 시토졸 30 μl 를 첨가하여 5초간 잘 혼합한 후 즉시 분광광도계를 사용하여 340 nm에서 흡광도를 15초 간격으로 2분간 측정하여 표준검량선에 의해 GPx($\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g protein}$)의 활성을 계산하였다.

7. 단백질 산화 생성물의 측정

뇌세포의 획분인 mitochondria와 microsome의 산화된 단백질(oxidized protein : OP)의 생성량은 Levine 등(1990)의 방법에 따라 carbonyl group(>C=O)의 생성량을 측정하여 정량하였다. 0.1 ml의 시료에 30% TCA (trichloroacetic acid)를 0.5 ml 혼합, 3,000 rpm에서 10분간 원심분리

한 후 상층액을 제거한 뒤 잔사에 10mM DNPH (dinitrophenyl hydrazine) 0.5 ml 첨가, 15분마다 혼합하며 1시간 동안 실온에 방치 후 3000 rpm에서 10분간 원심분리하였다.

상층액을 제거한 후 잔사에 ethanol/ethyl acetate (v/v 1:1) 3.0 ml를 첨가하여 실온에서 10분간 방치 후 다시 3,000 rpm에서 10분간 원심분리 후 잔사를 얻은 뒤, 6 M guanidine(20mM potassium phosphate buffer pH 2.3) 1.0 ml 첨가·혼합하여 37°C의 항온 수조에서 15분간 가온한 후, 3,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 상층액을 얻었다. 이때 carbonyl기의 양은 360 nm와 370 nm사이의 흡광도의 파장에서 분자흡광계수($E = 22,000$)를 이용하여 계산하였다.

8. Total, Non-heme Iron함량의 측정

산화반응에 관여하고 있는 비헴철로서 Fe^{2+} 이나 Fe^{3+} 의 함량, 그리고 total iron의 함량은 Brumby 등(1967)의 방법에 따라 측정하였다. 먼저 혈청, 뇌세포 획분의 total iron의 측정은 0.1 ml의 시료, 60% perchloric acid 0.1 ml을 넣고 잘 혼합한 다음, 100°C에서 10분간 끓였다. 여기에 30% hydrogen peroxide 0.2 ml 첨가하고 20분간 끓인 다음, 다시 30% hydrogen peroxide 0.1 ml을 넣고 갈색이 없어질 때까지 30분 정도 끓인다. 이 혼합액을 실온까지 식힌 다음, 여분의 perchloric acid을 제거하기 위하여 pyridine 0.1 ml을 넣고 잘 섞은 다음, 여기에 D.W 0.1 ml, 0.1% 1,10- phenanthroline 0.15 ml, 1% ascorbic acid 0.05 ml, ammonium acetate(saturated) 0.02 ml, 12.6% ammonia 0.03 ml를 각각 첨가·혼합하여 실온에서 10분간 방치한 다음 분광광도계를 이용하여 파장을 510 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 검량곡선에 의하여 철의 총 함량을 정량하였다.

Non-heme iron의 측정은 0.3 ml의 시료에 20% TCA를 0.5 ml 첨가 후 실온에 10분간 방치한 후 5,000 rpm에서 10분간 저온에서 원심분리하여 얻은 상층액 0.1 ml을 2개의 시험관에 넣고, 여기에 0.65 ml의 D.W, 0.1% 1.10-phenanthroline 0.15 ml을 넣고 잘 혼합하였다. 하나의 시험관에는 0.06 N acetic acid 0.05 ml(Fe^{2+} 측정용)을, 또 다른 하나의 시험관에는 0.06 N ascorbic acid 0.05 ml(Fe^{3+} 측정용)을 넣고 잘 혼합하였다. 여기에 포화된 ammonium acetate 0.05 ml을 넣고 실온에서 10분동안 방치한 다음, 분광광도계를 이용하여 파장 510 nm에서 흡광도를 측정하여 표준검량 곡선에 의하여 non-heme iron으로서 Fe^{2+} 및 Fe^{3+} 의 함량을 측정하였다.

9. 세포막 유동성의 측정

뇌세포의 획분인 mitochondria와 microsome의 세포막 유동성(membrane fluidity)은 형광 probe로서의 1,6-diphenyl-1,3,5-hexatriene(DPH)을 사용한 Heron 등의 방법 (1980)에 의한 형광분광법에 따라 측정하였다. 50 mM 인산완충용액(pH 7.2 2,750 μl), 증류수(250 μl), 시료(100 μl)를 첨가·혼합하여 37°C 항온 수조에서 5분간 방치한 다음 probe인 0.167 nM TMA-DPH [1-(4-tri-methylammoniumphenyl)-6-phenyl-1,3,5-hexatriene, p-toluenesulfonate] 용액을 6.67 μl 를 첨가·혼합하여 37°C 항온 수조에서 shaking하면서 30분간 반응시킨 후 37°C를 유지하면서 형광광도계를 이용하여 360 nm(excitation)와 430 nm(emission)에서 측정하였다.

10. 신경전달물질 및 관련효소의 측정

가. 아세틸콜린(ACh)의 함량 측정

아세틸콜린(acetylcholine :ACh)의 측정은 Hestrin 등(1949)의 방법에 의하여 alkaline hydroxylamine을 가진 O-acyl 유도물의 반응을 기초로 측

정하였다. 모든 hydroxylamic acid는 산용액에서 ferric ion과 결합하여 붉은 자줏빛의 색을 나타내었다. 시료를 50 μl 를 취하여 1% hydroxylamine 50 μl 를 첨가·혼합하고 HCl을 이용하여 pH를 1.2 ± 0.2 조절하였다. FeCl_3 (10% in 0.1 N HCl)을 500 μl 를 첨가 후 혼합하여 분광광도계를 이용하여 파장 530 nm에서 acetylcholine(ng/mg protein)의 함량을 측정하였다.

나. 콜린아세틸트랜스퍼라아제 (ChAT)의 활성 측정

Ellman(1959)의 방법에 의한 DTB에 의한 기질로서 acetyl-CoA를 이용하여 반응을 생성하여 이 기질시약의 흡수가 감소하는 것을 이용한 방법으로 뇌세포의 획분의 콜린아세틸트랜스퍼라아제(choline acetyltransferase: ChAT)의 측정은 0.2 mM acetyl-CoA, 10 mM choline chloride, 0.2 M KCl, 10 mM potassium phosphate with 1.0 mM EDTA를 각각 0.2 ml씩 첨가·혼합하여 총 0.8 ml의 부피로 만든 다음 choline acetyltransferase를 1.0 μl , cytosol 100 μl , 1.0 M Tris buffer 190 μl , DTB (5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoate)를 5 μl , 20% TCA (trichloroacetic acid) 250 μl 의 양으로 각각 첨가·혼합하여 분광광도계를 이용해 파장 412 nm에서 2분 간격으로 ChAT의 활성을 측정하였다.

다. 아세틸콜린에스테라아제 (AChE)의 활성 측정

뇌세포에서 아세틸콜린에스테라아제(acetylcholinesterase: AChE) 활성 측정은 Galgani 등(1992)의 방법에 의해 측정하였다. 각 microplate well에 0.1 M Tris buffer, pH 8.0(Trizma HCl + Trizma base)을 300 μl , 0.01 M dithionitro-benzoic acid(DTNB) 20 μl , enzyme suspension(상층액) 10 μl 을 연속적으로 첨가하였다. 그리고 흡광도 측정직전에 기질시약인 0.1 M acetylthiocholine chloride 10 μl 을 첨가하였다. Microplate reader(ELISA reader)를 이용하여 405 nm에서 흡광도 변화를 5분동안 관찰하여 AChE의

활성(unit/min/mg protein)을 측정하였다.

라. 모노아민옥시다아제(MAO)의 활성 측정

모노아민옥시다아제(monoamineoxidase: MAO)-B의 활성 측정은 Kalaria 등(1987)의 방법에 따라 H_2O_2 의 생성능을 기초로 측정하였다. 각 시험관에 100 mM Na-Pi buffer(pH 7.4)용액 460 μ l, 30 mM sodium azide용액 70 μ l, brain homogenates (mitochondria) 100 μ l를 넣은 후 기질시약인 10 mM benzylamine을 70 μ l을 넣으면서 37°C 항온수조에서 30분간 가온시켰다. 그리고 항온수조에서 시험관을 꺼내면서 1.8 mM 2,2'-azino-bis (3-ethyl benz-thiazoline-6-sulfonic acid) 500 μ l을 넣었다. 5초 후 저온상태로 보관되어 있는 5 units horseradish peroxidase 50 μ l을 넣는 동시에 5초간 잘 혼합시켰다. 10초가 지난 후 0.75 M hydrochloric acid containing 5% NaDodSO₄ (sodium dodecyl sulfate) 250 μ l을 각 시험관에 넣으면서 다시 5초간 잘 혼합시켰다. 기질시약인 10 mM benzylamine을 넣지 않은 blank를 대조로 하여 분광광도계를 이용하여 414nm에서 흡광도를 측정하여 MAO-B 활성을 측정하였다.

11. 분석결과의 통계처리

본 연구의 모든 실험결과는 통계처리하여 평균치와 표준편차를 계산하였고, 각 군간의 유의성 검정은 Student's t-test(Steel et al., 1960)로 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 체중의 변화

포유동물의 건강을 평가하는데 가장 중요한 것이 바로 체중의 변화이다. 그만큼 체중(body weight)이 우리 몸의 생리·생화학반응의 총화라고 평가할 수 있기 때문이다. 이미 MaCay 등(1935)은 칼로리 제한(小食)의 수명(lifespan) 연장효과를 설명할 때 체중, 특히 대사체중(metabolic rate)이 감소하기 때문이라고 평가하는 것을 보더라도 체중과 건강, 더 나아가서 수명과의 관계는 매우 중요한 건강·장수의 바로미터라고 할 수 있다.

본 실험에서도 대조군과 실험군으로 나누어 기억·학습장애를 수반하는 실험동물모델 SAMP8계의 체중변화에 미치는 영향을 비교하여 보면 Fig. 3과 같다. 대조군과 실험군의 체중은 연령에 따라 계속적으로 증가하다가 12개월부터는 체중이 급격히 감소하는 경향을 보이고 있음을 알 수 있다.

또한 운동부하(exercise training)에 있어서 운동강도에 따라 살펴보면 high group($\dot{V}O_2$ max 66-75%)에서는 다른 low group($\dot{V}O_2$ max 25-33%)이나 middle group($\dot{V}O_2$ max 50%)보다 낮은 체중변화 곡선을 나타내고 있었다. 이러한 사실은 운동부하(exercise training)에 따른 체력의 소모로서 체중 감소로 나타나기 때문으로 판단된다.

이러한 현상은 SAMP8의 평균수명이 12-13개월이라는 사실과 Kohno 등(1985)이 보고한 것처럼 amyloidosis의 침착으로 인한 사망과 관련한 병리학적 소견을 보이는 점으로 보아 체중의 변화가 낮게 나타나는 것으로 판단된다. 이러한 사실은 high group($\dot{V}O_2$ max 66-75%)의 운동부하가 수명이 체중이 가장 낮을 뿐만 아니라 평균수명도 가장 짧다는 사실과 잘 일치한다고 볼 수 있다. 수명과 체중과의 관계는 이미 Yu 등(1984)이 발표한 40%의 칼로리 제한(calorie restriction)이 자유식(ad libitum)보다 체중도 정확히 40%정도 유의적으로 낮다는 놀라운 사실이다.

또한 Choi 등(1994)의 보고처럼 SAMP8의 평균수명이 12개월로 미루어 보아 4개월에서 8개월까지 체중이 약간 증가하였지만, 운동부하 low group($\dot{V}O_2 \text{ max}$ 25-33%)는 4개월과 8개월에 관계없이 대조그룹과 뚜렷한 체중변화를 발견할 수 없었다. 그러나 운동부하량이 높은 middle group($\dot{V}O_2 \text{ max}$ 50%) 및 high group($\dot{V}O_2 \text{ max}$ 66-75%)은 체중증가가 유의적으로 운동부하량에 따라 감소하였지만, 그 정도는 어린 4개월에서 더 심하게 나타났다(Table 4.). 어떻든 운동부하 high group에서는 4개월에서는 약 20%, 8개월에서는 10%의 유의적인 체중감소가 인정되었다. 그렇지만, middle group에서는 4개월에 10%, 8개월에 4%의 체중감소효과가 나타났다.

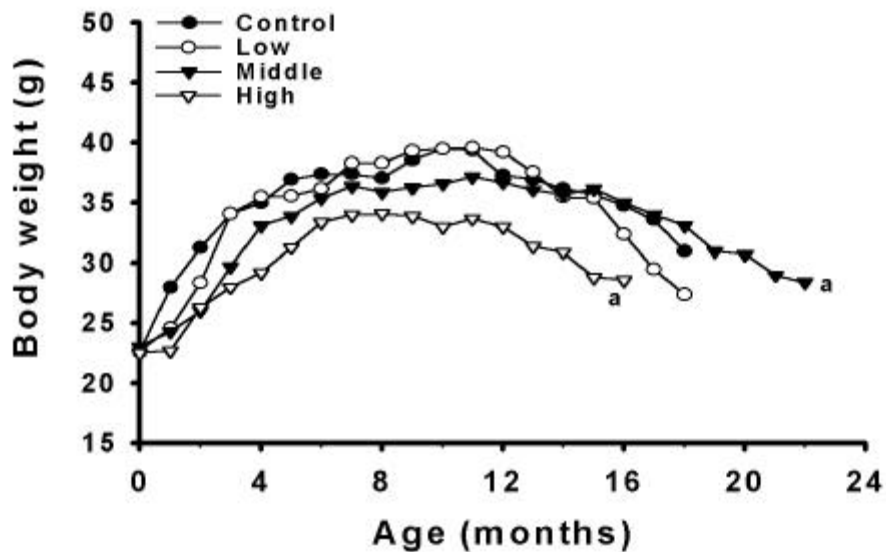


Fig. 3. Effects of exercise training on body weight in SAMP8 mice

^ap<0.05 compared with control group.

Table 4. Effect of exercise training on body weight in SAMP8 mice

Age (months)	Control	Exercise training groups			
		Low		Middle	High
$\dot{V}O_2$ max	0%	25	33%	50%	66 75%
4	36.00±0.80 [*]	35.50±0.34		33.10±1.20 ^a	29.20±0.70 ^b
	-	98.6% ^{**}		91.9%	81.1%
8	37.60±0.70	38.40±1.10		36.20±1.00	34.10±1.10 ^a
	-	102.1%		96.3%	90.7%

^{*}Mean(g)±SD with 10 mice per group; ^{**}Percent of control values; ^ap<0.05; ^bp<0.01 compared with control group.

2. 운동부하가 비만 및 체지방에 미치는 영향

Goodrick 등(1983) 및 Holloszy 등(1985; 1991), 지금까지의 연구결과에 의하면 운동이 건강과 장수에 도움이 된다는 사실은 운동부하에 따른 체지방을 비롯한 에너지의 소모에 의한 칼로리 제한(calorie restriction)의 효과를 보는 경향이다. 따라서 운동부하에 따른 체중변화 및 비만, 이에 따른 체지방의 변화 등을 비교하여 보면 Table 5와 같다.

4개월의 운동부하로서 low group, middle group 및 high group의 체중은 각각 35.5±1.1 g, 33.1±1.2 g 및 29.2±0.7 g으로서 대조그룹의 체중(36.0±0.8 g : 100.0%) 대비 각각 98.6%, 91.9% 및 81.1%로서 각각 1.4%, 8.1%, 19.9%의 체중 감소효과가 인정되었고, 또한 8개월의 운동부하로서 low group, middle group 및 high group의 체중은 각각 38.4±1.1 g, 36.2±1.0 g 및 34.1±1.0 g으로서 대조그룹의 체중(37.6±0.7 g : 100.0%) 대비 각각 102.1%, 96.3% 및 90.7%로서 각각 2.1%의 체중 증가, 3.7%, 9.3%의 체중 감소효과가 인정되었다. 역시 똑같은 운동부하량이라도 8개월 때보다

4개월 때에 받은 물리적 스트레스가 더 큰 것으로 판단된다.

운동부하량에 따른 Rohler index에 의한 비만 억제효과도 운동부하량 의존적으로 체중의 감소효과가 인정되었다. 또한 비만의 중요한 지표로 사용되고 있는 TM index도 Rohler와 마찬가지로 운동부하량에 따라 유의적으로 억제됨을 알 수 있었다.

Table 5. Effect of exercise training on body weight, body fat and obesity index in SAMP8 mice

Age (months)		Control		Exercise training groups		
				Low	Middle	High
4	BL ^{a)}	10.8±0.2 [*]	-	10.9±0.3 (109.9%) ^{**}	10.7±0.2 (99.1%)	10.3±0.1 (95.4%)
	BW ^{b)}	36.0±0.8	-	35.5±1.1 (98.6%)	33.1±1.2 ^a (91.9%)	29.2±0.7 ^a (81.1%)
	RI ^{c)}	28.6±0.5	-	27.4±0.7 (95.9%)	27.0±0.6 (94.5%)	26.7±0.8 (93.5%)
	TM ^{d)}	43.5±1.3	-	41.8±0.8 (96.1%)	41.1±1.0 (94.5%)	40.3±0.8 (92.6%)
	BF ^{e)}	3.24±0.23	-	2.26±0.3 ^c (69.8%)	1.85±0.2 ^c (57.1%)	1.38±0.08 ^c (42.6%)
8	BL	11.0±0.2	-	11.1±0.2 (100.9%)	11.1±0.2 (100.9%)	10.9±0.3 (99.1%)
	BW	37.6±0.7	-	38.4±1.1 (102.1%)	36.2±1.0 (96.3%)	34.1±1.0 ^a (90.7%)
	RI	28.2±0.3	-	28.1±0.7 (99.4%)	26.5±1.3 (93.7%)	26.3±0.3 (93.2%)
	TM	43.2±1.1	-	43.0±0.6 (99.5%)	40.5±0.7 (93.8%)	40.2±0.5 (93.1%)
	BF	3.07±0.18	-	2.95±0.11 (96.1%)	1.50±0.20 ^f (48.9%)	1.33±0.14 ^c (43.3%)

^{*}Mean±SD with 7 rats per group; ^{**}Percent of control values; ^ap<0.05; ^bp<0.01; ^cp<0.001 compared with control group. ^{a)}BL : body length(cm); ^{b)}BW : body weight(g); ^{c)}RI : Rohrer index=[BW/BL]×10³; ^{d)}TM index=[BW/BL^{2.823}]×10³; ^{e)}BF(body fat)=[0.581×TM index]-22.03(g/100g)

이러한 사실은 체지방의 감소와 밀접한 관계가 있을 것으로 판단되기 때문에 체지방 함량(body fat : BF)을 비교하여 보면 4개월의 운동부하로서 low group, middle group 및 high group의 BF의 함량은 각각 2.26±0.3 g, 1.85±0.2 g 및 1.38±0.08 g로서 대조그룹의 BF의 함량(3.24±0.23 g:

100.0%) 대비 각각 69.8%, 57.1% 및 42.6%로서 각각 30.2%, 42.9%, 57.4%의 체지방 감소효과가 인정되었고, 또한 8개월의 운동부하로서 low group, middle group 및 high group의 BF의 함량은 각각 2.95 ± 0.11 g, 1.50 ± 0.20 g 및 1.38 ± 0.14 g으로서 대조그룹의 BF의 함량(3.07 ± 0.18 g : 100.0%) 대비 각각 96.1%, 48.9% 및 43.3%로서 각각 3.9%, 51.1% 및 46.7%의 체지방 감소효과가 인정되었다.

결국 운동부하는 에너지 소모를 유도하여 체지방을 효과적으로 억제하여 비만을 효과적으로 감소시킨 결과로서 Goodrick 등(1983) 및 Holloszy 등(1985; 1991)의 칼로리 제한(calorie restriction)의 효과로 평가할 수 있을 것으로 기대된다.

3. 운동부하가 수명에 미치는 영향

본 연구가 “치매는 운동으로 방지할 수 있다”라는 가설에서 출발했기 때문에 운동부하가 수명에 미치는 영향은 매우 중요한 결론이 될 수 있다. 치매실험동물모델 SAMP8 mice의 평균수명 및 최대수명에 미치는 영향을 비교하여 보면 Table 6과 같다.

Table 6에서 보면 기억·학습장애를 수반하는 치매동물모델 SAMP8 mice에 있어서 control group의 평균수명은 454.8 ± 94.8 일(15.2개월)이었고, 운동부하 low group($\forall O_2$ max 25 33%)의 평균수명은 486.0 ± 63.6 일(16.2개월)로 대조군 대비 6.9%의 평균수명의 연장효과가 인정되었지만, 운동부하 middle group($\forall O_2$ max 50%)에서의 평균수명은 561.6 ± 68.4 일(18.7개월)에 해당되므로 대조군 대비 평균수명이 23.5%나 현저히 연장되고 있음을 알 수 있었다.

그렇지만, 운동부하 high group($\forall O_2$ max 66 75%)에서는 평균수명이

393.0±101.8일(13.1개월)로서 대조군 대비 평균수명이 86.4%로서 오히려 운동을 부하하지 않은 그룹보다 14%나 평균수명이 감소된다는 사실을 알 수 있었다.

Holloszy 등(1985; 1991)은 실험동물을 통한 운동부하가 수명에 미치는 영향에서 최대수명에는 영향을 미치지 못하지만, 평균수명은 15~20%의 평균수명 연장효과가 인정된다고 보고하면서, 이러한 사실은 결국 운동에 의한 30%정도의 칼로리 제한(calorie restriction)의 결과로 평가할 수 있다고 보고했다. 한편 Goodrick 등(1983)은 칼로리 제한한 실험동물에 운동을 부하하면 오히려 평균수명이 14주나 감소하여 약 10%의 평균수명의 감소효과가 인정된다고 보고하여 운동부하의 역효과를 지적하였는데, Stalicky 등(1980)은 늙은 실험동물(aging rats)일수록 운동의 유익한 효과가 더욱 감소된다고 보고하고 있다.

이러한 선행 연구결과로써 본 연구결과를 고찰한다면 운동부하 middle group($\dot{V}O_2$ max 50%)까지는 운동의 순기능으로서 평균수명의 연장효과가 인정되지만, 운동부하 high group($\dot{V}O_2$ max 66~75%)은 운동의 역효과로서 약 14%의 평균수명의 감소효과와 잘 일치한다고 말할 수 있다.

이들 실험에서 운동부하가 최대수명에 미치는 영향을 비교하여 보면 Table 6에서 보는 바와 같이 control group의 최대수명이 566일(18.5개월)인데 반해 low, middle 및 high exercise training groups의 최대수명은 각각 594일(19.8개월), 660일(22.0개월) 및 489일(16.3개월)로서 대조군 대비 각각 4.9%, 18.7% 및 -12.1%로서 운동부하 middle group까지의 최대수명은 매우 유의적으로 연장하였지만, 운동부하 high group은 대조군 대비 12.1%의 최대수명 감소효과로서 Stalicky 등의 연구결과가 잘 적용되고 있었다.

그러나 선행연구에서 운동부하에 의한 평균수명의 연장효과는 인정되지

만, 운동부하가 최대수명에는 거의 영향이 없다고 보고한 사실(Holloszy & Schechtman; 1991)과는 거리가 멀다는 사실을 알 수 있다. 이러한 사실은 Yu 등(1985)이 이미 칼로리 제한이 평균수명 뿐만 아니라 최대수명도 효과적으로 연장한다고 보고한 사실에서 알 수 있듯이 운동부하에 의하여 평균수명 뿐만 아니라 최대수명에도 영향을 미칠 것으로 판단된다.

Table 6. Effect of exercise training on median and maximal lifespan in SAMP8 mice

	Median lifespan(days)		Changes
Control	454.8±94.8 [*]	(15.2 months)	100.0%
Low	486.0±63.6	(16.2 months)	106.9%**
Middle	561.6±68.4 ^b	(18.7 months)	123.5%
High	393.0±101.8 ^{△b}	(13.1 months)	86.4%
	Maximal lifespan(days)		Changes
Control	566	(18.5 months)	100.0%
Low	594	(19.8 months)	104.9%
Middle	660 ^b	(22.0 months)	118.7%
High	489 ^{△a}	(16.3 months)	87.9%

*Mean (day)±SD with 10 mice per group; **Percent of control values; ^ap<0.05; ^bp<0.01 compared with control group.

Fig. 4에서 exercise training group중에서 middle group($\dot{V}O_2$ max

50%)이 가장 높은 생존율을 나타내고 있지만, 운동강도가 가장 높은 high group($\dot{V}O_2$ max 66-75%)에서는 과도한 운동에 따른 활성산소(oxygen radicals)의 공격에 의한 산화적 스트레스(oxidative stress)로 인하여 각종 장기에 대한 심한 산화적 손상(oxidative damages)을 받아서 생존율이 현저히(약 14%) 감소된 것으로 평가할 수 있다(Singh, 1992).

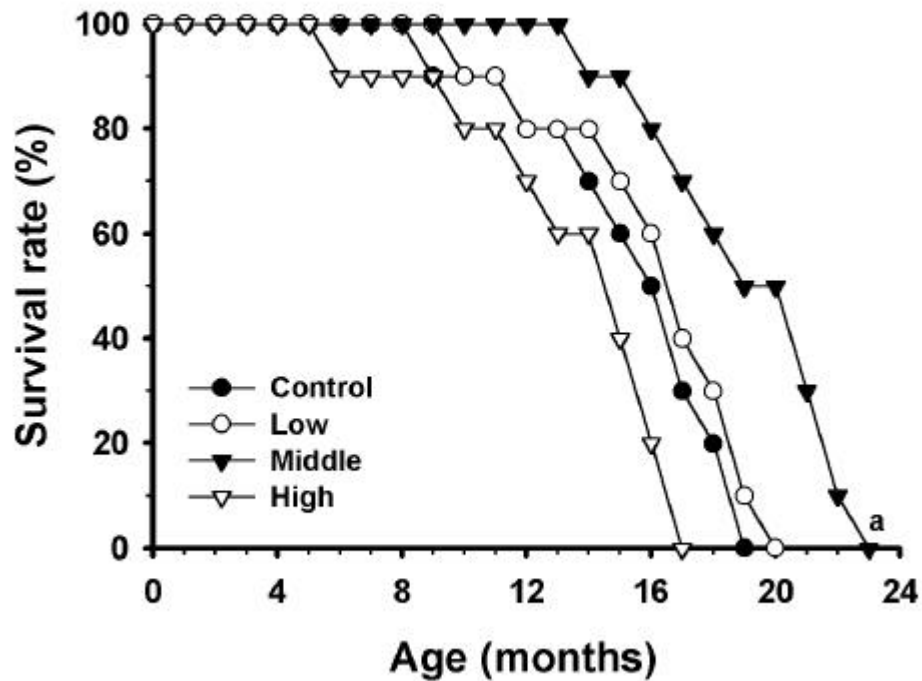


Fig. 4. Effects of exercise training on survival rates in SAMP8 mice

^ap<0.05 compared with control group.

그런데 SAMP8의 평균수명은 약 10개월로 알려져 있지만(Takeda 등,

1981; Hosokawa 등, 1984), 그러나 본 실험에서는 수명에 상당한 차이가 나타나는 것은 사육환경과 시설, 그리고 암컷(female mice)을 사용한 점(Umezawa 등, 1990) 등으로 인한 차이점에서 오는 것으로 사료된다.

4. 운동부하에 의한 기억력의 개선효과

운동부하가 기억·학습장애를 수반하는 실험동물모델 SAMP8 mice을 사용하여 4 및 8개월에서 운동부하량으로서 low group($\dot{V}O_2$ max 25 33%), middle group($\dot{V}O_2$ max 50%) 및 high group($\dot{V}O_2$ max 66 75%)에 따라 운동부하가 기억·학습장애의 개선효과에 미치는 영향을 수동회피 시험(passive avoidance test)을 통해 측정·검토하여 본 결과는 Fig. 5와 같다.

Fig. 5(A)에서 보는 바와 같이 4개월에서 운동부하량에 따른 low, middle 및 high group의 획득시험은 각각 80.12 ± 5.14 , 81.25 ± 2.45 및 90.15 ± 2.11 sec로서 대조군의 획득시험(70.10 ± 6.72 sec) 대비 각각 114.3%, 115.9% 및 128.6%로서 대조군 대비 14 29%의 유의적인 기억의 일시적인 개선효과가 인정되었다. 그렇지만, 8개월에서는 운동부하량에 따른 low, middle 및 high group의 획득시험은 각각 70.12 ± 5.14 , 80.15 ± 5.45 및 77.80 ± 2.41 sec로서 대조군의 획득시험(70.15 ± 6.12 sec) 대비 각각 100%, 114.3% 및 110.9%로서 대조군 대비 low group을 제외하고 11 14%의 유의적인 기억의 일시적인 개선효과가 인정되었다.

Fig. 5(B)에서 기억·학습개선효과를 비교하여 보면 4개월에서 운동부하량에 따른 low, middle 및 high group의 기억시험은 각각 80.22 ± 4.16 , 80.15 ± 5.42 및 91.26 ± 4.45 sec로서 대조군의 기억시험(70.05 ± 5.55 sec) 대비 각각 114.5%, 114.4% 및 130.3%로서 대조군 대비 15 30%의 유의적인 기억·학습의 개선효과가 인정되었다.

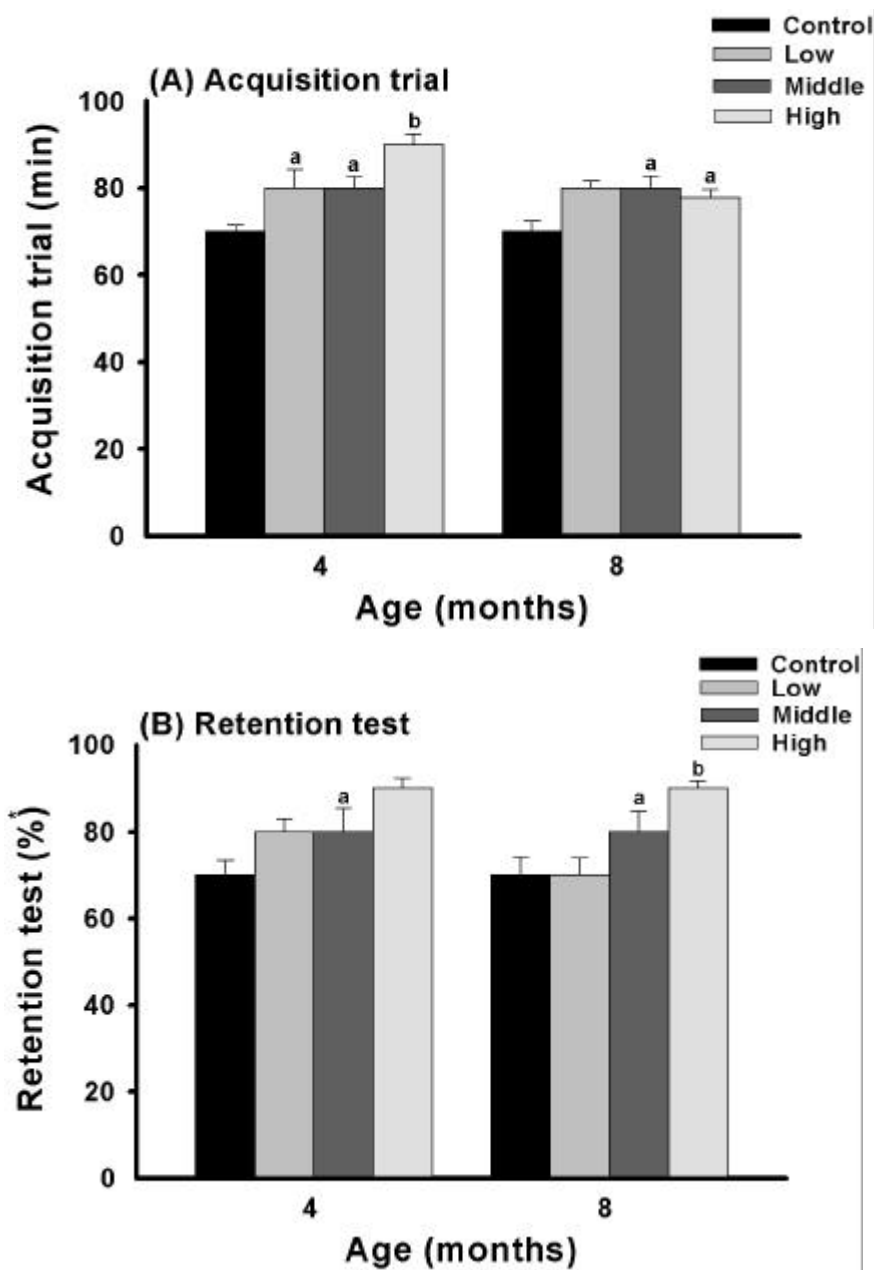


Fig. 5. Effects of exercise training on passive avoidance test in SAMP8 mice

*Rat numbers(%) reached to criterion(300sec)

^ap<0.05; ^bp<0.01 compared with control group.

또한 8개월에서도 운동부하량에 따른 low, middle 및 high group의 기억시험은 각각 71.34 ± 4.38 , 80.12 ± 6.48 및 88.97 ± 6.45 sec로서 대조군의 기억시험(70.10 ± 6.12 sec) 대비 각각 101.8%, 114.3% 및 126.9%로서 대조군 대비 low group을 제외하고 14 27%의 유의적인 기억·학습의 개선효과가 인정되었다.

이상의 수동회피시험의 결과에서 볼 때 기억·학습장애를 수반하는 치매성 실험동물모델 SAMP8 mice에 대한 운동의 부하가 기억·학습장애를 매우 효과적으로 개선하는 것으로 보아 치매의 예방 및 치료 가능성을 예견할 수 있을 것으로 기대된다.

이러한 사실들은 Miyamoto 등(1986; 1992), Yagi 등(1988), Flood 등(1993), Choi 등(1994, 1995, 1997, 2001)의 보고에서 SAMP8 mice를 사용한 미로시험, 스트레스반응시험, 수동회피시험 등을 통해 일부 생약 등의 약물 등의 투여에 의한 생리효과로서 획득시험이나 기억시험 등을 평가한 실험결과와 거의 일치한다는 사실을 알 수 있다.

5. 리포푸신(Lipofuscin)의 함량 비교

리포푸신(lipofuscin : LF)은 소모성 색소로서 ceroid, lipochrome, 노화 색소 등으로 부르는 황갈색 색소로서 가령(aging), 영양장애(malnutrition), 만성소모성 질환(chronic degenerative disease : 성인병) 등에 있어서 뇌, 간장, 신장, 심근, 부신 등의 위축성 장기의 세포내에 침착하는 황갈색 부정형의 색소성 과립을 말한다. 따라서 이 색소는 가령이나 만성 소모성 질환 등에 따라 유의적으로 증가하기 때문에 중요한 노화의 지표로 사용되고 있다. LF의 생성 메카니즘에 대해서는 아직 확실하게 밝혀져 있지 않지만, 초기의 LF은 과산화지질을 0.5% 1.5%정도 함유하고 있는 것으로 알려져

있다(Tappel, 1975).

또한 이것은 지질의 과산화반응의 결과 생성된 endoperoxide의 분해시에 생성되는 말론알데히드(malondialdehyde : MDA)와 카르보닐화합물(carbonyl compound)이 생체내 성분과 가교결합에 의해 생성된 형광물질로 알려져 있다(Chio, 1969). Mann 등(1974)도 사람 뇌속에 있는 LF는 가령과 함께 축적량이 증가되며 생체내 다른 기능의 퇴화에도 관계한다고 보고하고 있다. 또한 Ulf 등(1997)도 LF는 인간과 동물의 RPE(retinal pigment epithelial) 세포안에서 나이에 따라 축적된다고 보고하였다.

따라서 운동부하가 LF의 생성량에 미치는 영향을 비교하여 보면 Table 7과 같다. Table 7에서 보는 바와 같이 4개월의 운동부하로서 low group, middle group 및 high group의 LF의 축적량은 각각 $4.92 \pm 0.35 \mu\text{g}$, $4.62 \pm 0.49 \mu\text{g}$ 및 $4.84 \pm 0.41 \mu\text{g}$ 로서 대조그룹의 LF의 축적량($4.73 \pm 0.19 \mu\text{g}$: 100.0%) 대비 각각 104.0%, 97.7% 및 102.3%로서 middle group에서만 LF의 축적 감소효과가 나타났지만, 운동부하가 심한 high group에서는 오히려 LF의 축적효과가 나타나서 바람직하지 못한 경향을 나타내고 있었다.

또한 8개월의 운동부하로서 low group, middle group 및 high group의 LF의 축적량은 각각 $5.28 \pm 0.18 \mu\text{g}$, $4.74 \pm 0.27 \mu\text{g}$ 및 $5.88 \pm 0.16 \mu\text{g}$ 으로서 대조그룹의 LF의 축적량($5.15 \pm 0.15 \mu\text{g}$: 100.0%) 대비 각각 102.5%, 92.0% 및 114.2%로서 4개월과 마찬가지로 middle group에서만 LF의 축적량 감소효과가 인정되었다. 그렇지만, 운동 부하량이 가장 큰 high group($\forall \text{O}_2 \text{ max } 66 \sim 75\%$)에서는 LF의 축적량이 14.2%나 매우 심하게 나타나서 $\forall \text{O}_2 \text{ max } 66 \sim 75\%$ 정도의 운동부하는 건강과 수명에 역작용을 할 것으로 판단된다.

**Table 7. Effect of exercise training on lipofuscin(LF) levels
in brain of SAMP8 mice**

Age (months)	Control	Exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	4.73±0.19 [*]	4.92±0.35	4.62±0.49	4.84±0.41
	-	104.0% ^{**}	97.7%	102.3%
8	5.15±0.15	5.28±0.18	4.74±0.27 ^a	5.88±0.16 ^b
	-	102.5%	92.0%	114.2%

^{*}Mean(μ g/mg protein)±SD with 10 mice per group; ^{**}Percent of control values;

^bp<0.01 compared with control group.

6. 중성지질 및 콜레스테롤 대사에 미치는 영향

운동부하가 기억·학습장애를 수반하는 실험동물모델 SAMP8 mice에 미치는 중성지질(triglyceride: TG) 및 콜레스테롤 대사에 미치는 영향을 비교하여 보면 Table 8과 같다.

운동부하가 TG의 함량에 미치는 4개월의 영향을 비교하여 보면 low, middle 및 high group의 TG의 함량은 각각 106.19 ± 4.57 , 89.04 ± 1.61 및 99.22 ± 4.78 mg/dl serum로서 대조군의 TG 함량(110.87 ± 4.76 mg/dl serum : 100%) 대비 각각 95.8%, 80.3% 및 89.5%로서 middle group만이 19.7%나 매우 효과적으로 중성지질이 억제됨을 알 수 있었지만, 예상과는 달리 high group에서는 10.5%의 중성지질의 억제효과가 인정될 뿐이었다. 8개월의 영향을 비교하여 보면 low, middle 및 high group의 TG의 함량은 각각 155.84 ± 2.60 , 131.09 ± 7.94 및 144.38 ± 11.11 mg/dl serum로서 대조군의 TG 함량(160.24 ± 10.39 mg/dl serum : 100%) 대비 각각 97.3%, 81.8%

및 90.1%로서 middle group만이 18.2%나 매우 효과적으로 중성지질이 억제됨을 알 수 있었고 high group에서는 9.9%의 중성지질의 억제효과가 인정되어 4개월 및 8개월이 거의 유사한 경향을 나타내고 있었다.

또한 연령이 따라 TG의 함량이 증가하였는데, 이러한 실험결과는 Choi 등(1991)이 보고한 흰쥐에서 TG의 함량이 자유식은 나이에 따라 증가한다는 보고와 일치하고 있다. 그렇지만, 운동부하로 중성지질의 함량을 효과적으로 억제할 수 있다는 사실을 의미한다. 이러한 사실은 이미 전항 2에서 운동부하가 비만 및 체지방에 미치는 영향의 실험결과에서도 입증된 바 있다.

Table 8. Effect of exercise training on triglyceride(TG) levels in serum of SAMP8 mice

Age (months)	Control	Exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	110.87± 4.76 [*]	106.19±4.57	89.04± 1.61 ^b	99.22±4.78 ^a
	-	95.8%**	80.3%	89.5%
8	160.24±10.39	155.84±2.60	131.09±7.94 ^b	144.38± 11.11 ^a
	-	97.3%	81.8%	90.1%

^{*}Mean(mg/dl serum)±SD with 10 mice per group; ^{**}Percent of control values;

^ap<0.05; ^bp<0.01 compared with control group.

또한 성인병 문제로 가장 인구에 회자되고 있는 공포의 식품성분으로 알려진 총 콜레스테롤의 함량에 미치는 운동부하의 영향을 비교하여 보면 Table 9와 같다. Table 9에서 보는 바와 같이 운동부하 low 및 middle group에서는 뚜렷한 차이를 발견할 수 없었지만, 운동부하 high group에서 총 콜레스테롤의 함량은 4개월에서 111.83±6.58 mg/dl serum, 8개월에서

115.04±5.84 mg/dl serum으로서 대조군(100%) 대비 각각 90.3% 및 88.6%로서 약 10~12% 정도의 콜레스테롤 억제효과가 인정되었다.

Table 9. Effect of exercise training on total cholesterol levels in serum of SAMP8 mice

Age (months)	Control	exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	123.85±0.62*	123.44±7.86	126.18±4.90	111.83±6.588 ^a
	-	103.7%	101.9%	90.3%
8	129.78±11.05	130.52±9.73	122.92±2.48	115.04±5.84 ^a
	-	100.6%	94.7%	88.6%

*Mean(mg/dl serum)±SD with 10 mice per group; **Percent of control values;

^ap<0.05 compared with control group.

한편 콜레스테롤중에서도 혈관벽에 침착하여 동맥경화를 유발하는 등 성인병의 발병인자로 알려진 LDL-cholesterol의 축적에 미치는 운동부하가 기억·학습장애를 수반하는 실험동물모델 SAMP8 mice을 사용하여 4 및 8개월에서 운동부하량으로서 low group(VO₂ max 25~33%), middle group(VO₂ max 50%) 및 high group(VO₂ max 66~75%)에 따라 운동부하가 혈중 LDL-콜레스테롤의 혈관침착에 미치는 영향을 분석·평가하여 본 결과는 Table 10과 같다.

4개월에서 low, middle 및 high group의 LDL-콜레스테롤의 축적량은 각각 82.13±4.96, 75.23±5.28 및 73.22±3.55 mg/dl serum으로서 대조군의 LDL-콜레스테롤의 축적량(81.86±4.80 mg/dl serum) 대비 각각 100.3%, 91.9% 및 89.4%로서 대조군 대비 운동부하 middle group이상의 운동량 부하에서 약 10%의 유의적인 LDL-콜레스테롤의 억제효과가 인정되었다. 그

렇지만, 8개월의 갱년기의 SAMP8 mice에서는 운동의 효과가 더욱 현저히 나타남을 알 수 있었다. low group의 운동부하를 제외하고 LDL-콜레스테롤의 침착 억제효과가 13~16%까지 인정됨을 알 수 있었다.

Table 10. Effect of exercise training on LDL-cholesterol levels in serum of SAMP8 mice

Age (months)	Control	Exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	81.86±4.80 [*]	82.13±4.96	75.23±5.28 ^a	73.22±3.55 ^a
	-	100.3% ^{**}	91.9%	89.4%
8	94.35±5.57	87.22±6.87 ^b	79.61±4.39 ^b	82.26±0.96 ^b
	-	92.4%	84.4%	87.2%

^{*}Mean(mg/dl serum)±SD with 10 mice per group; ^{**}Percent of control values;

^ap<0.05; ^bp<0.01 compared with control group.

한편 운동부하에 따라 항콜레스테롤인자(anti-cholesterol factor) 또는 장수인자(longevity factor)로까지 불려지고 있는 혈청중의 HDL-콜레스테롤의 함량에 미치는 영향을 비교하여 보면 Table 11과 같다.

4개월에서 low, middle 및 high group의 HDL-콜레스테롤의 함량은 각각 28.37±1.22, 31.85±0.85 및 33.80±0.48 mg/dl serum으로서 대조군의 HDL-콜레스테롤의 축적량(30.76±1.39 mg/dl serum : 100%) 대비 각각 92.2%, 103.5% 및 109.9%로서 대조군 대비 운동부하 middle group이상의 운동량 부하에서 운동 부하량에 따라 10%까지 유의적인 HDL-콜레스테롤의 증가효과가 인정되었다. 이러한 경향은 8개월에서도 운동 부하량 middle group이상에서 약 20%까지 HDL-콜레스테롤의 증가효과가 인정되었다. 운동의 놀라운 효과라고 평가할 수 있다.

HDL-cholesterol은 말초조직 혈관 내의 LDL-cholesterol을 간장으로 운반하여 산화시키는 역할을 하기 때문에 혈중 HDL-cholesterol이 높을수록 관상심장 질환이나 동맥경화증 등의 유발을 방지한다(Baek. 1994)는 사실이 입증되었다고 말 할 수 있다.

또한 규칙적인 유산소성 운동이 지질대사의 장애에 대한 예방효과와 TG의 감소 및 HDL-cholesterol의 증가, LDL-cholesterol의 감소로 동맥경화증 등 성인병의 발병을 효과적으로 억제하기 때문에 운동은 매우 좋은 건강·장수를 위한 최선의 방법이 될 수 있다고 기대할 수 있다(Han 등, 1999).

Table 11. Effect of exercise training on HDL-cholesterol levels in serum of SAMP8 mice

Age (months)	Control	Exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	30.76±1.39*	28.37±1.22	31.85±0.85	33.80±0.48 ^a
	-	92.2%**	103.5%	109.9%
8	29.50±1.51	30.12±0.80	35.34±1.02 ^b	35.14±1.54 ^b
	-	102.1%	120.8%	119.1%

*Mean(mg/dl serum)±SD with 10 mice per group; **Percent of control values;

^ap<0.05; ^bp<0.01 compared with control group.

7. 동맥경화지수 (AI)의 비교

성인병의 발병지표로서 널리 활용되고 있는 동맥경화지수(atherogenic index : AI)에 미치는 기억·학습장애모델 SAMP8 mice에 미치는 운동의 영향을 검토하여 본 결과는 Table 12와 같다.

Table 12에서 보는 바와 같이 4개월의 운동부하 low group에서는 대조

군 대비 110%로서 운동의 효과는 거의 기대할 수 없었지만, 운동부하 high group에서는 대조군 대비 76.2%로서 약 24%의 매우 유의적인 AI의 감소로 성인병을 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 기대된다. 마찬가지로 8개월에서도 middle 및 high group에서 대조군 대비 각각 72.9% 및 66.8%로서 각각 27% 및 33%의 매우 효과적인 AI의 감소로 성인병을 매우 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 기대된다.

Table 12. Effect of exercise training on atherogenic index (AI) in serum of SAMP8 mice

Age (months)	Control	Exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	3.03±0.18 [*]	3.35±0.13	2.96±0.14	2.31±0.05 ^c
	-	110.6% ^{**}	97.7%	76.2%
8	3.40±0.14	3.33±0.14	2.48±0.07 ^c	2.27±0.09 ^c
	-	97.9%	72.9%	66.8%

^{*}Mean±SD with 10 mice per group; AI(atherogenic index) = [Total cholesterol—HDL cholesterol]/HDL cholesterol; ^{**}Percent of control values; ^cp<0.001 compared with control group.

8. 활성산소종(ROS)의 생성변화

활성산소(oxygen radicals)란 분자 혹은 원자의 최외각전자궤도에 부대 전자(unpaired electron)를 가진 불안정한 산소화합물로서 좁은 의미에서는 ·OH, O₂^{·-}, H₂O₂, NO 등을 말하며 넓은 의미로는 지방산과 반응할 수 있는 peroxy radical(LOO·)이나 alkoxyl radical(RO·)등도 포함한다.

나이가 들어감에 따라 활성산소에 의한 조직손상이 증가하는데, 활성산소는 단백질의 SH기와 반응해서 효소의 활성을 잃게 하거나 가교결합(cross-linking bridge)의 형성, DNA 및 RNA의 공격, 효소 및 세포막을 손상시키고 결국 세포(細胞)의 사멸(死滅)을 가져오는 병적 노화나 암 등의

여러 가지 만성 퇴행성 질병(chronic degenerative disease)을 초래한다.

그러므로 생체내에서 프리 라디칼(free radicals)로서 수퍼옥시드 음이온(superoxide anion : $O_2^{\cdot-}$), 히드록시 라디칼(hydroxyl radical : $\cdot OH$), 과산화수소(hydrogen peroxide : H_2O_2), 산화질소(nitric oxide : NO) 등의 활성 산소종(reactive oxygen species: ROS)의 생성은 여러가지 성인병을 유발할 뿐만 아니라 노화과정을 촉진하는 것으로 알려져 있다.

최근의 Laura(1997)의 보고에 의하면 이러한 독성 활성산소의 공격에 의하여 기억력 감퇴를 비롯한 노인성 치매로서 Alzhemier's disease를 유발한다고 보고하고 있다. 이미 Singh(1992)의 'Nutrition and Exercise'라는 특집 Review를 통하여 활성산소의 생성 메카니즘으로서 오염물질, 깃연, 합성의약품, 식품첨가물, 중금속, 농약, 다이옥신이나 TBT, PCB 등의 환경호르몬, 자외선의 조사, 체내 대사중의 효소반응, 각종 염증반응 등이 원인이 되어 oxygen free radicals을 생성하고 이것은 1) 세포막의 지질성분, 2) DNA나 RNA 등의 핵산, 3) 체내 단백질 성분을 공격하여 생성되는 산화적 스트레스로서 과산화지질(lipid peroxide : LPO)의 생성량은 TBA법이나 형광법에 의한 malondialdehyde(MDA)의 분석으로 평가하고, 산화단백질(oxidized protein : OP)의 생성량은 carbonyl group($>C=O$)의 측정으로 평가하며, 또한 핵산의 변이생성물(mutation)은 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OHdG)의 분석으로 평가할 수 있다.

활성산소에 의한 산화적 스트레스는 1) 폐기종, 노화(aging), 성인병(cardiovascular disease), 백내장, 암(cancer), 심지어는 신경장해로서 파킨슨병을 비롯하여 노인성 치매까지 활성산소의 공격에 의한 산화적 스트레스의 원인이라고 알려져 있다.

가. 수퍼옥시드 라디칼 생성량의 변화

가장 먼저 생성되는 강력한 활성산소로서 superoxide radical($O_2^{\cdot-}$)은 삼

중항산소(triplet oxygen)가 전자를 받아서($3O_2 + e^- \rightarrow O_2^{\cdot -}$) 수퍼옥시드 라디칼이 생성되는데, 이것이 hydroperoxide radical($\cdot OOH$), hydrogen peroxide 및 hydroxyl radical($\cdot OH$)이나 일중항산소(singlet oxygen)를 생성하는 것으로 되어 있기 때문에 free radical damage 중 초기단계에서 가장 강력한 활성산소로 보고되어 있다(Kim 1999).

따라서 체내 superoxide radical이 생성되고 이 radical은 다시 H_2O_2 로 전환된다. 이렇게 생성된 H_2O_2 는 뇌조직 중에 존재하는 Fe^{2+} 와 반응하여 즉 $H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow \cdot OH + OH + Fe^{3+}$ 의 Fenton 반응을 일으켜 hydroxyl radical ($\cdot OH$)을 생성하고 이렇게 생성된 hydroxyl radical이 뇌조직 단백질의 여러 아미노산 잔기에 작용하여 carbonyl기를 생성하는 것으로 알려져 있다.

뇌조직의 cytosol획분중에 들어있는 superoxide radical의 생성에 미치는 운동부하량의 영향을 비교하여 보면 Table 13과 같다. 4개월에서 운동부하 low, middle 및 high group의 뇌조직 $O_2^{\cdot -}$ 의 생성량은 각각 45.87 ± 2.95 , 43.01 ± 2.46 및 53.23 ± 3.87 mg/dl serum으로서 대조군의 생성량(47.33 ± 1.67 mg/dl serum : 100%) 대비 각각 96.9%, 90.9%, 112.5%로서 운동부하 low group에서는 거의 변화가 없었지만, middle group에서는 약 10%의 $O_2^{\cdot -}$ 의 생성억제효과가 인정되었지만, 과도한 운동부하군으로서 high group에서는 112.5%의 $O_2^{\cdot -}$ 의 생성 증가효과가 인정되어 과도한 운동은 엄청난 스트레스를 받는 것을 알 수 있다. 또한 8개월에서도 운동부하 low, middle 및 high group의 뇌조직 $O_2^{\cdot -}$ 의 생성량은 각각 49.80 ± 1.48 , 45.20 ± 2.43 및 55.53 ± 3.08 mg/dl serum으로서 대조군의 생성량(50.62 ± 3.14 mg/dl serum : 100%) 대비 각각 98.4%, 89.3%, 109.7%로서 4개월의 경우와 마찬가지로 운동부하 low group에서는 거의 변화가 없었지만, middle group에서는 약 10%의 $O_2^{\cdot -}$ 의 생성억제효과가 인정되었지만, 과도한 운동부하군으로서 high group에서는 약 10%의 $O_2^{\cdot -}$ 의 생성 증가효과가 인정되어 과도한 운

동이 나쁘다는 사실을 알 수 있었다.

이러한 사실은 이미 운동부하의 유익에 대한 연구(Powell 등, 1989; Gaby emd, 1991a-c)와 과도한 운동의 장애에 대한 연구(Freeman 등, 1982; Cross 등, 1987; Halliwell 등, 1987; Southorn and Powis, 1988; Jackson, 1990; Davies 등, 1982)가 보고되어 있듯이 적당한 운동은 건강에 유익하겠지만, 지나친 운동은 건강에 해롭다는 사실이 입증되어 있다.

Table 13. Effect of exercise training on superoxide radical($O_2^{\cdot -}$) generation in brain cytosol of SAMP8 mice

Age (months)	Control	Exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	47.33±1.67 [*]	45.87±2.95	43.01±2.46 ^{△a}	53.23±3.87 ^b
	-	96.9% ^{**}	90.9%	112.5%
8	50.62±3.14	49.80±1.48	45.20±2.43 ^{△a}	55.53±3.08 ^a
	-	98.4%	89.3%	109.7%

^{*}Mean (mg/dl serum)±SD with 10 mice per group; ^{**}Percent of control values;

^ap<0.05; ^bp<0.01 compared with control group.

나. 히드록시 라디칼 생성량의 변화

히드록시 라디칼(hydroxyl radical : $\cdot OH$)은 superoxide radical($O_2^{\cdot -}$)이 생성되면 H_2O_2 와 반응하여($O_2^{\cdot -} + H_2O_2 + H^+ \rightarrow \cdot OH + O_2 + H_2O$) hydroxyl radical($\cdot OH$)을 생성한다. 성인병을 유발하거나 노화를 촉진하는 것으로 알려진 프리라디칼 중에서도 가장 강력한 활성산소로 알려진 $\cdot OH$ 라디칼의 생성에 미치는 운동부하량의 영향을 검토하여 본 결과는 Table 14와 같다.

4개월에서 운동부하량 low, middle 및 high group의 $\cdot OH$ 의 생성량은

각각 7.05 ± 0.66 , 6.25 ± 0.41 , 7.12 ± 0.31 nmol/mg protein으로서 대조군(7.36 ± 0.22 nmol/mg protein : 100%) 대비 각각 95.8%, 84.9%, 96.7%로서 운동 부하에 따라 $\cdot\text{OH}$ radical의 생성이 어느 정도 억제되고 있지만, 운동부하양 middle group에서만 약 15%의 유의적인 $\cdot\text{OH}$ radical의 감소효과가 인정되었다.

한편 8개월에서 운동부하량 low, middle 및 high group의 $\cdot\text{OH}$ 의 생성량은 각각 7.56 ± 0.22 , 5.88 ± 1.13 , 8.07 ± 0.49 nmol/mg protein으로서 대조군(8.23 ± 0.72 nmol/mg protein : 100%) 대비 각각 91.9%, 71.4%, 98.1%로서 운동부하에 따라 $\cdot\text{OH}$ radical의 생성이 어느 정도 억제되고 있지만, 운동 부하량 low 및 middle group에서 약 10% 및 28%의 유의적인 $\cdot\text{OH}$ radical의 감소효과가 인정되었다.

이상과 같은 사실은 운동부하량에 따라 건강에 유익한지 해로운지를 연구했던 선행연구(Powell 등, 1989; Gaby 등, 1991; Freeman 등, 1982; Cross 등, 1987; Halliwell 등, 1987; Southorn and Powis, 1988; Jackson, 1990; Davies 등, 1982)와 거의 일치하는 연구결과로서 본 연구에서 $\forall \text{O}_2 \text{ max}$ 50%로 설정한 middle group이 가장 바람직한 운동 부하방법이라고 판단된다.

Table 14. Effect of exercise training on hydroxyl radical($\cdot\text{OH}$) formation in serum of SAMP8 mice

Age (months)	Control	Exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	$7.36 \pm 0.22^*$	7.05 ± 0.66	6.25 ± 0.41^b	7.12 ± 0.31
	-	95.8%**	84.9%	96.7%
8	8.23 ± 0.72	7.56 ± 0.22^a	5.88 ± 1.13^c	8.07 ± 0.49
	-	91.9%	(71.4%)	(98.1%)

*Mean (nmol/mg protein) $\pm$ SD with 10 mice per group; **Percent of control values;

^ap<0.05; ^bp<0.01; ^cp<0.001 compared with control group.

운동부하량에 따른 뇌조직의 mitochondria와 microsome획분에서 생성되는 $\cdot\text{OH}$ radical의 생성량은 Fig. 6과 같다.

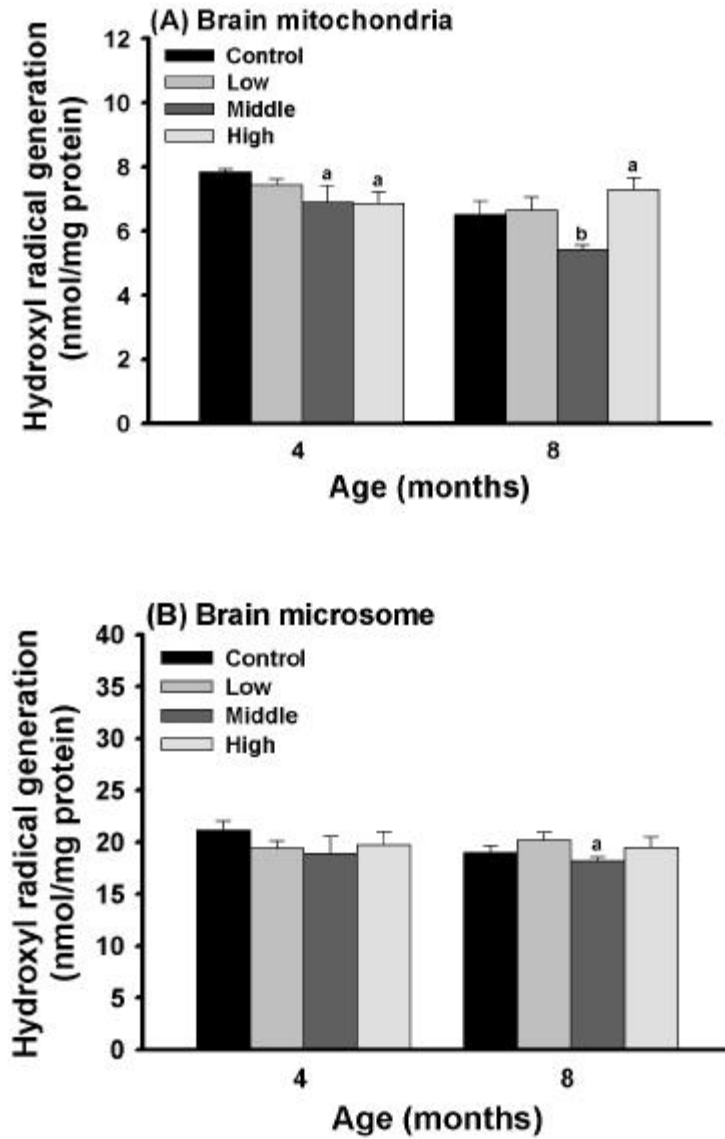


Fig. 6. Effects of exercise training on hydroxyl radical generation in brain of SAMP8 mice
^a $p < 0.05$; ^b $p < 0.01$ compared with control group.

Fig. 6(A)에서 보는 바와 같이 mitochondria획분에서 4개월에서 운동부하량에 따라 $\cdot\text{OH}$ radical의 생성이 억제되었으나 유의성은 middle 및 high group에서만 인정되었다. 그러나 나이가 많은 SAMP8 mice에서는 middle group은 매우 효과적으로 $\cdot\text{OH}$ radical을 억제하였지만, high group에서는 $\cdot\text{OH}$ radical의 생성량이 오히려 증가하여 나이 많은 그룹에서 과도한 운동부하는 $\cdot\text{OH}$ 라디칼의 생성으로 인한 운동부하의 역작용을 나타낸다고 판단된다. 그렇지만, Fig. 6(B)에서 보는 바와 같이 microsome획분에서는 8개월의 운동부하 middle group을 제외하고는 유의성을 인정할 수 없었다.

다. 과산화수소 생성량의 변화

뇌조직의 microsome획분중에 들어있는 hydrogen peroxide의 함량을 비교하여 보면 Table 15와 같다.

Table 15. Effects of exercise training on hydrogen peroxide levels in brain microsome of SAMP8 mice

Age (months)	Control	Exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	$4.88 \pm 0.48^*$	5.18 ± 0.56	5.41 ± 0.12^a	4.54 ± 0.38
	-	106.1%**	110.9%	93.0%
8	4.44 ± 0.24	4.71 ± 0.48	4.63 ± 0.17	4.90 ± 0.39^a
	-	106.1%	104.3%	110.4%

*Mean (mg/dl serum) $\pm$ SD with 10 mice per group; **Percent of control values;

^ap<0.05 compared with control group.

Table 15에서 보는 바와 같이 연령에 따른 hydrogen peroxide의 함량의 차이점은 뚜렷하게 보이지 않았다. 또한 운동에 따른 영향으로서 4개월에서 low 및 middle group의 과산화수소의 함량은 5.18 ± 0.56 및 5.41 ± 0.12 mg/dl serum으로 대조군(4.88 ± 0.48 mg/dl serum : 100%) 대비 6% 및 11%정도의 hydrogen peroxide의 증가로서 바람직하지 못하였지만, 오히려 high group에서 약간 감소하는 경향이였다. 그렇지만, 8개월에서는 나이가 많은 그룹으로서 운동부하 어느 군에서도 hydrogen peroxide의 생성이 나타났지만, high group에서 가장 많이 생성되어 나이 많은 그룹에서의 과도한 운동은 좋지 않다는 사실이 증명되고 있다.

라. NO의 생성량 비교

NO는 NOS(NO synthase)에 의해 합성되는 가스상의 free radical로서 반응성이 높은 생체구성분자와 반응하여 독성을 발휘(Hibbs et al., 1988; Meldrum et al., 1990)하는 반면, 정보전달분자로서 혈관이완(Moncada et al., 1991), 혈소판 응집억제(Palmer et al., 1987), 신경전달(Schuman et al., 1991; Snyder et al., 1991), 살균, 면역 등 다양한 생리 기능을 갖는다. NO는 가스이므로 조직 속이나 세포막을 통해 자유롭게 확산될 수 있기 때문에 수용체를 매개로 하지 않고도 직접 세포 사이의 정보 전달이 가능하다.

그렇지만, NO의 바람직한 생리작용에도 불구하고 독성산소로서 혈청에서 NO의 생성량은 Fig. 7에서 보는 바와 같이 가령에 따라 증가하였지만, 현저한 차이는 없었다. 또한 운동부하량에 따른 NO의 생성을 측정한 결과, 4개월에서는 middle group에서 대조군에 비하여 낮았고, 8개월에서는 middle group이 8.75 ± 0.12 nmol/mg protein으로서 대조군의 NO의 함량(10.39 ± 0.02 nmol/mg protein) 대비 84.2%로서 약 15%정도 현저히 낮게 나타나서 그래도 middle group의 운동부하량이 나이에 관계없이 적당하다고 판단된다.

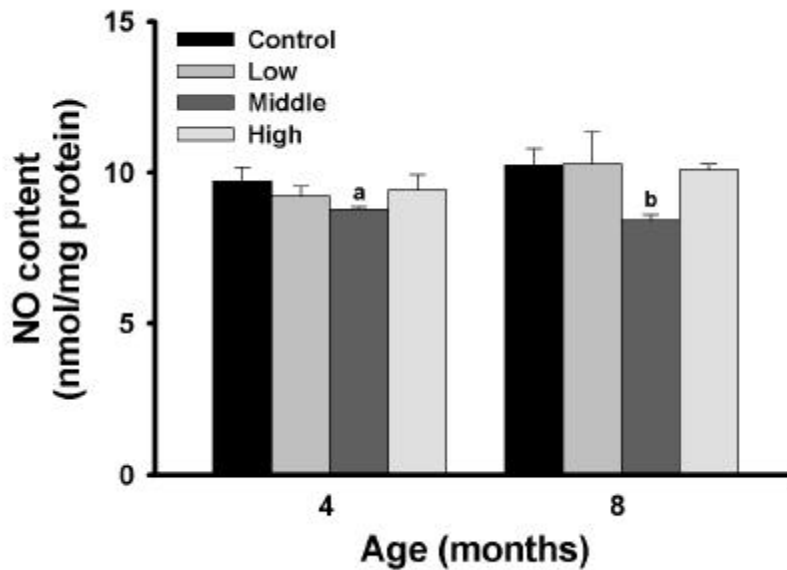


Fig. 7. Effects of exercise training on nitric oxide (NO) contents in serum of SAMP8 mice
^ap<0.05: ^bp<0.01 compared with control group.

9. 산화적 스트레스에 대한 운동의 영향

가. 과산화지질(LPO)의 생성에 대한 영향

활성산소의 산화적 스트레스로서 생체내 세포막을 비롯한 지질성분의 산화 생성물로서 과산화지질(lipid peroxide : LPO)은 생체내 지질성분이 활성산소의 공격에 의하여 생성되고, 생체내 단백질이 활성산소의 공격을 받게 되면 산화단백질(oxidized protein : OP), 그리고 DNA나 RNA 등의 핵산이 활성산소의 공격을 받아 돌연변이(mutation)가 생성되는 것으로 밝혀져 있다(Singh, 1992; Yu, 1998; Yu and Yang, 1998).

운동부하량 low($\dot{V}O_2$ max 25-33%), middle($\dot{V}O_2$ max 50%), high($\dot{V}O_2$ max 66-75%) group에서 과산화지질(LPO)의 생성에 미치는 영향을 비교하여 보면(Table 16), 4개월에서는 운동부하량 low group을 제외하고는 어느 것이나 LPO의 생성량 억제효과가 인정되었지만, 유의성은 인정할 수 없었다. 그렇지만, 8개월의 low group에서는 약간의 LPO의 생성량이 억제되었지만, middle group에서만 LPO의 생성량이 7.11 ± 0.13 nmol/ml serum으로서 대조군의 LPO의 생성량(8.17 ± 0.30 nmol/ml serum : 100%) 대비 87.0%로서 13%의 유의적인 LPO의 생성량 억제효과가 인정되었다. 그렇지만, 운동부하량 high group에서는 LPO의 생성량이 8.91 ± 0.67 nmol/ml serum)으로서 대조군의 LPO의 생성량(8.17 ± 0.30 nmol/ml serum : 100%) 대비 109.1%로서 오히려 거의 10%의 유의적인 LPO의 생성량 증가효과가 인정되었다. 이러한 사실은 SAMP8 mice의 경우, 평균수명이 1년 정도이기 때문에 8개월은 갱년기에 접어들었다는 사실을 감안한다면 갱년기에서의 지나친 운동은 오히려 건강을 해친다는 연구결과(Freeman 등, 1982; Cross 등, 1987; Halliwell 등)와 잘 일치하고 있다.

Table 16. Effect of exercise training on lipid peroxide(LPO) contents in serum of SAMP8 mice

Age (months)	Control	Exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	$7.94 \pm 0.04^*$	8.06 ± 0.11	7.61 ± 0.48	7.82 ± 0.16
	-	101.5%**	95.8%	98.5%
8	8.17 ± 0.30	8.02 ± 0.31	7.11 ± 0.13^b	8.91 ± 0.67^a
	-	98.2%	87.0%	109.1%

*Mean (nmol/ml serum) $\pm$ SD with 10 mice per group; **Percent of control values;

^ap<0.05; ^bp<0.01 compared with control group.

나. 산화단백질(OP)의 생성에 대한 영향

활성산소에 의해서 지질뿐만 아니라 단백질 또한 쉽게 산화된다(Singh, 1992). 지질과 단백질은 생체막에 같이 존재하면서 서로간에 긴밀한 관계를 유지하고 있다. 활성산소는 순간적으로 존재하므로 주된 발생 장소인 생체막에서 지질과 단백질이 쉽게 공격받으리라는 사실은 쉽게 짐작할 수 있을 것이다.

Oliver 등(1987a)은 활성산소에 의한 산화된 단백질은 carbonyl기를 형성한다고 하였으며, Carney 등(1991)은 늙은 동물의 뇌조직에서 carbonyl group($>C=O$)의 생성량이 증가된다고 보고하고 있다. 따라서 본 연구에서는 기억·학습장애 실험동물모델인 SAMP8 mice에서 분리한 뇌조직획분 중에서 생성되는 carbonyl group에 미치는 운동부하의 효과를 분석하여 평가하였다(Fig. 8).

Fig. 8(A)에서 mitochondria획분에서 보는 바와 같이 4개월이나 8개월에 관계없이 운동부하에 따라 carbonyl group의 생성량이 감소하였지만, 유의적인 carbonyl group의 감소효과는 운동부하 middle group에서만 인정되었다. 그러나 Fig. 8(B)에서 microsome획분에서는 4개월에서는 low group에서는 아무런 영향을 나타내지 않았지만, middle 및 high group에서는 유의적인 carbonyl group의 생성 억제효과가 인정되었지만, 8개월에서는 middle group에서만 유의적인 carbonyl group의 생성 억제효과가 인정되었다.

이상의 실험결과에서 볼 때 mitochondria나 microsome획분에 관계없이 운동부하량 middle group에서만 carbonyl group의 생성 억제효과가 인정되었다는 사실이다. 결국 운동부하량이 너무 적어도, 또는 운동부하량이 지나치게 높더라도 건강이나 장수에 별로 도움이 되지 않는다는 사실은 현대를 살아가는 우리 인간에게 시사하는 바가 크다고 하겠다.

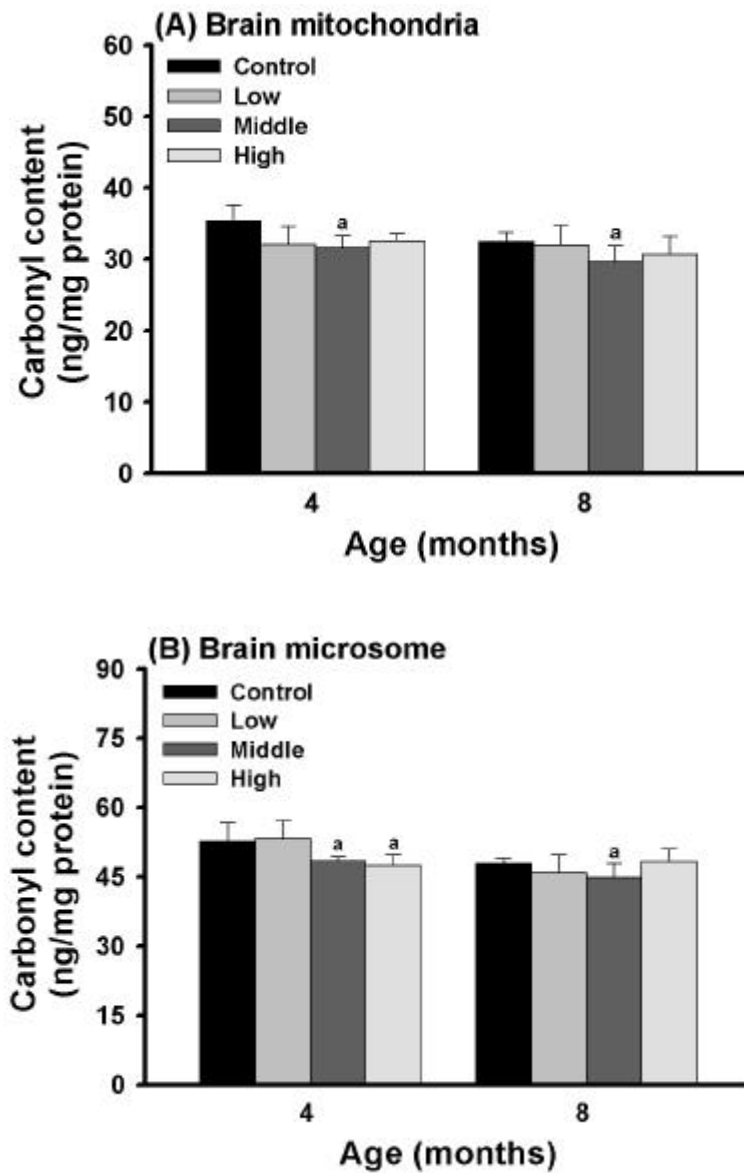


Fig. 8. Effects of exercise training on carbonyl contents of oxidized protein in brain of SAMP8 mice

^ap < 0.05 compared with control group.

10. 활성산소 제거효소 활성화에 대한 운동의 영향

운동중에는 휴식시보다 10-15배 이상으로 산소의 소비가 급격히 증가하기 때문에 우리 몸의 활성산소(oxygen free radicals)의 생성량이 10-15% 정도나 급격히 증가한다고 보고했다(Halliwell & Gutteridge, 1999). 이것은 유전자 핵과 단백질, 세포막 등에 산화적 손상(oxidative damages)을 입히게 된다는 사실이다(Somasundram 등, 2000 : Perry 등, 2000 : Murata 등, 2000 : Pamplona 등, 2000).

특히 운동 중에는 체온의 상승과 산소소비량의 증가 및 활성산소가 생성되는데, 인체 내에서는 free radical에 의해 생성되는 superoxide anion이나 hydrogen peroxide 및 hydroxyl group 등의 유해 독성산소를 제거하기 위한 여러가지 방어체계가 존재하는 것으로 밝혀져 있다. 이들 방어체계로서 superoxide dismutase(SOD), glutathione peroxidase(GPx), catalase(CAT) 등이 유해 활성산소의 생성이나 이미 생성된 활성산소를 제거하여 활성산소에 의한 생체의 산화적 손상을 효과적으로 제거하기 때문에 이들 효소를 scavenger enzymes이라고 부른다.

따라서 기억·학습장애 실험동물모델인 SAMP8 mice의 혈청 및 뇌조직 핵분 중의 활성산소의 생성에 대한 제거효소 활성화에 미치는 운동부하의 효과를 평가했다.

가. 수퍼옥시드디스무타아제 활성화의 변화

Superoxide dismutase(SOD)는 산소대사에서 초기에 발생하는 superoxide radical의 유해작용에 대하여 가장 중요한 방어효소의 하나로 알려져 있다. 이 효소는 superoxide radical을 제거하기 때문에 산소를 사용하는 생물들은 SOD 및 그에 상응하는 방어기구 없이는 살아갈 수가 없다. 또한 이 SOD의 농도는 수명연장과도 밀접한 관계를 나타내며 SOD의 농도와 최대잠재수명(MLSP)사이에는 직선관계가 성립된다(Tolmasoff 등 1980).

생체 방어효소 SOD 활성에 미치는 운동부하의 효과를 비교하여 보면 (Table 17), 운동부하량 low($\dot{V}O_2$ max 25-33%), middle($\dot{V}O_2$ max 50%) 및 high($\dot{V}O_2$ max 66-75%) group의 4개월에서의 혈중 SOD 활성은 각각 3.04 ± 0.18 , 3.34 ± 0.14 및 3.13 ± 0.21 Unit/mg protein으로서 대조군의 혈중 SOD 활성(3.02 ± 0.16 Unit/mg protein : 100%) 대비 각각 100.7%, 110.6% 및 103.6%로서 운동부하가 대조군에 비해 SOD 활성이 증가되고 있었지만, 유의적인 SOD 활성 증가는 middle group에서만 인정됨을 알 수 있었다.

8개월의 경우도 4개월과 거의 유사한 경향을 나타내고 있었지만, 운동부하 middle group에서만 상당히 높은 SOD 활성 증가효과가 인정됨을 알 수 있었다. 어떠한 운동부하 middle group에서 유의적으로 SOD 활성의 증가현상이 인정되었다는 사실은 운동부하량이 $\dot{V}O_2$ max 50%가 적당할 것으로 기대된다.

Table 17. Effects of exercise training on superoxide dismutase (SOD) activities in serum of SAMP8 mice

Age (months)	Control	Exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	$3.02 \pm 0.16^{**}$	3.04 ± 0.18	3.34 ± 0.14^a	3.13 ± 0.21
	-	100.7% ^{**}	110.6%	103.6%
8	3.12 ± 0.28	3.24 ± 0.18	3.35 ± 0.14	3.21 ± 0.18
	-	103.8%	107.4%	102.9%

*Mean (unit/mg protein) $\pm$ SD with 10 mice per group; **Percent of control values;

^ap<0.05 compared with control group.

운동부하량에 따라 뇌조직 세포내의 어떤 SOD가 관계하는지를 평가하기 위하여 기억·학습장애를 수반하는 실험동물모델 SAMP8 mice의 뇌조직중의 mitochondria획분중의 Mn-SOD와 cytosol획분중의 Cu/Zn-SOD 활성에 미치는 운동부하량의 영향을 평가하여 보면 Fig. 9와 같다.

Fig. 9(A)에서 생체 방어효소 Mn-SOD 활성을 비교하여 보면 4개월의 경우, low group을 제외하고 middle 및 high group에서는 Mn-SOD 활성이 증가하였지만, 유의적인 효과는 인정할 수 없었다. 그렇지만, 8개월에서 모든 운동부하군의 Mn-SOD 활성이 다같이 증가하였지만, 유의적인 증가는 middle group에서만 가능하다는 사실을 알 수 있었다.

그렇지만, Fig 9(B)에서 생체 방어효소 Cu/Zn-SOD 활성을 비교하여 보면 4개월 및 8개월에서 다같이 운동의 부하에 따라 Cu/Zn-SOD 활성이 증가하였지만, 어느 것도 유의적인 효과를 인정할 수 없었다. 이러한 사실은 뇌(brain)라는 특수조직이기 때문에 외부의 영향에 따라 크게 민감한 반응을 보이리라고는 생각하지 않는다.

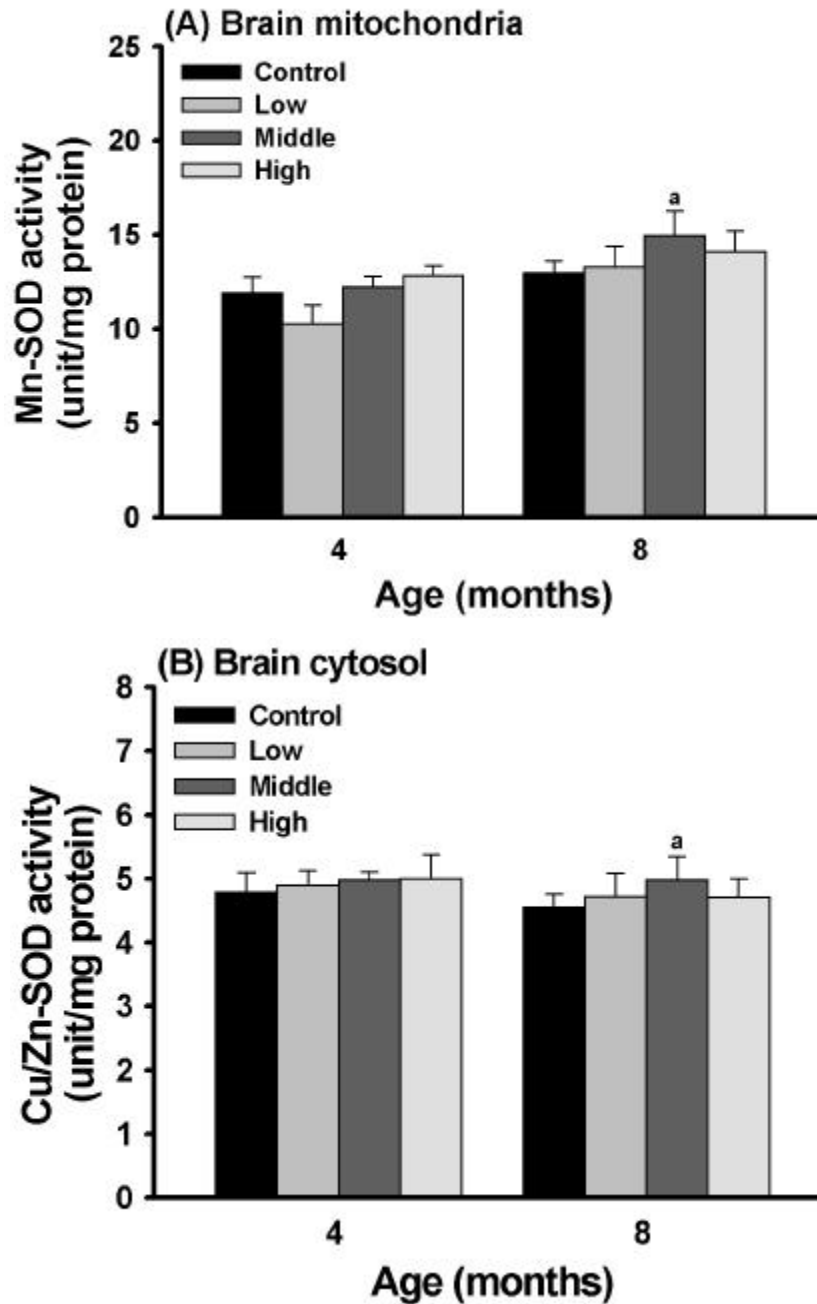


Fig. 9. Effects of exercise training on superoxide dismutase (SOD) activity in brain of SAMP8 mice

^ap < 0.05 compared with control group.

나. 글루타치온 퍼옥시다아제 활성의 변화

운동부하량에 따라 기억·학습장애를 수반하는 실험동물모델 SAMP8 mice의 뇌 조직중의 glutathione peroxidase(GPx) 활성에 미치는 운동부하량의 영향을 평가하여 보면 Table 18과 같다.

운동부하량 low($\forall O_2$ max 25-33%), middle($\forall O_2$ max 50%) 및 high($\forall O_2$ max 66-75%) group의 4개월에서의 뇌 cytosol획분의 GPx 활성은 각각 5.61 ± 0.35 , 6.75 ± 0.28 및 5.47 ± 0.62 IU/g protein으로서 대조군의 뇌 cytosol획분의 GPx 활성(5.10 ± 0.42 IU/g protein : 100%) 대비 각각 110.0%, 128.8% 및 112.5%로서 어느 운동부하군에서도 매우 효과적으로 GPx활성을 효과적으로 증가하고 있었다.

또한 8개월에서는 운동부하량 middle group에서만 GPx 활성이 5.53 ± 0.55 IU/g protein으로서 대조군의 GPx 활성(4.91 ± 0.38 IU/g protein : 100%) 대비 112.6%만이 유의적인 GPx활성의 증가효과가 인정되었다.

Rao 등(1990)의 보고에서 연령에 따른 뇌 조직 SOD의 활성은 감소한 반면, GPx의 활성은 연령에 따른 차이는 인정할 수 없다는 했지만, Lui와 Mori(1993)는 SAM 뇌 조직의 GPx 활성은 나이에 따라 감소한다는 보고와 거의 일치하고 있다.

Table 18. Effects of exercise training on glutathione peroxidase(GPx) activities in brain cytosol of SAMP8 mice

Age (months)	Control	Exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	$5.10 \pm 0.42^*$	5.61 ± 0.35^a	6.57 ± 0.28^c	5.74 ± 0.62^a
	-	110.0%**	128.8%	112.5%
8	4.91 ± 0.38	4.48 ± 0.39^a	5.53 ± 0.55^a	5.28 ± 0.49
	-	91.2%	112.6%	107.5%

*Mean (IU/g protein)±SD with 10 mice per group; **Percent of control values;

^ap<0.05; ^bp<0.01 compared with control group.

다. 카탈라아제 활성의 변화

혈청 중에 들어있는 카탈라아제(catalase : CAT)의 활성에 미치는 운동 부하량의 영향을 비교하여 보면 Table 19와 같다.

운동부하량 low($\forall O_2$ max 25 33%), middle($\forall O_2$ max 50%) 및 high ($\forall O_2$ max 66 75%) group의 4개월에서의 serum중의 CAT 활성은 각각 1.39 ± 0.03 , 1.55 ± 0.07 및 1.67 ± 0.07 $\mu\text{mol/min/ml serum}$ 으로서 대조군의 혈청중의 CAT 활성(1.37 ± 0.10 $\mu\text{mol/min/ml serum}$: 100%) 대비 각각 101.5%, 113.1% 및 121.9%로서 low group을 제외하고는 매우 효과적으로 CAT 활성이 증가됨을 알 수 있었다. 8개월도 4개월과 거의 같은 경향으로서 middle 및 high group에서 대조군 대비 각각 16.4% 및 28.1%나 CAT 활성이 증가하고 있었다. 이상의 결과에서 볼 때 CAT 활성은 운동에 따라 매우 효과적으로 증가됨을 알 수 있어서 체내에서 대사과정 중에 생성되는 hydrogen peroxide 같은 활성산소를 매우 효과적으로 분해할 수 있을 것으로 기대된다.

Table 19. Effects of exercise training on catalase(CAT) activities in serum of SAMP8 mice

Age (months)	Control	Exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	$1.37 \pm 0.10^*$	1.39 ± 0.03	1.55 ± 0.07^b	1.67 ± 0.07^c
	-	101.5%**	113.1%	121.9%
8	1.46 ± 0.06	1.56 ± 0.07	1.70 ± 0.13^b	1.87 ± 0.20^c
	-	106.8%	116.4%	128.1%

*Mean ($\mu\text{mol/min/ml serum}$) $\pm$ SD with 10 mice per group; **Percent of control values; ^b $p < 0.01$; ^c $p < 0.001$ compared with control group.

12. 세포막 유동성의 비교

생체의 항상성(homeostasis)은 사람의 건강을 유지하면서 생활을 영위하는데 있어서 매우 중요하다. 이 항상성의 유지는 결국 세포막 유동성이 좋아야 한다는 사실은 말할 필요도 없을 것이다. 일정한 세포막 유동성의 유지는 정상적인 세포의 성장과 생식에 필수적이며, 생체막에 영향을 미치는 인자로는 주요 구성 성분인 고도불포화지방산이 과산화지질에 의해 지방산 조성이 변화되거나 콜레스테롤의 조성비 등이 변화된다는 사실이다(Kim 1999; Choi 등, 1994). Joseph 등(1997)은 세포막의 콜레스테롤은 신경세포막에 축적되며, 나이에 따라 그들의 구조를 변형시키는데 이러한 세포막의 콜레스테롤 축적은 오히려 산화적 손상으로부터 신경조직을 보호한다라고 보고하고 있다.

따라서 뇌 조직의 핵분인 mitochondria와 microsome의 세포막 유동성(membrane fluidity : MF)의 변화를 규명하기 위하여 기억·학습장애 실험 동물모델인 SAMP8의 뇌 조직 핵분중에서 세포막의 유동성에 미치는 운동의 효과를 비교하여 본 결과는 Table 20 및 Table 21과 같다.

Table 19에서 운동부하량 low($\dot{V}O_2$ max 25 33%), middle($\dot{V}O_2$ max 50%) 및 high($\dot{V}O_2$ max 66 75%) group의 4개월에서의 뇌 mitochondria핵분중의 MF는 4.24 ± 0.23 , 5.05 ± 0.43 및 $5.28 \pm 0.20\%$ polarization으로서 대조군의 MF ($4.66 \pm 0.24\%$ polarization : 100%) 대비 각각 91.0%, 108.4% 및 113.3%로서 low group을 제외하고는 매우 효과적으로 MF의 증가효과가 인정됨을 알 수 있었다.

Table 20. Effect of exercise training on membrane fluidity (MF) in mitochondria of SAMP8 mice

Age (months)	Control	Exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	4.66±0.24*	4.24±0.23	5.05±0.43 ^a	5.28±0.20 ^b
	-	91.0%**	108.4%	113.3%
8	4.52±0.23	4.22±0.37	4.98±0.18 ^a	4.76±0.09
	-	(93.4%)	(110.2%)	105.3%

*Mean (% polarization)±SD with 10 mice per group; **Percent of control values;

^ap<0.05; ^bp<0.01 compared with control group.

그러나 8개월의 나이 많은 군에서는 운동부하 middle group의 4.98±0.18% polarization으로서 대조군(4.52±0.23% polarization : 100%) 대비 10%이상의 MF 증가효과가 인정되었지만, 운동부하 high group에서는 MF가 감소됨을 알 수 있었다.

Table 21에서 운동부하량 low(√O₂ max 25 33%), middle(√O₂ max 50%) 및 high(√O₂ max 66 75%) group의 4개월에서의 뇌 microsome획분중의 MF는 운동부하 어느 그룹에서도 MF의 유의적인 증가를 인정할 수 없었지만, 8개월의 middle group에서 6.21±0.43% polarization으로서 대조군의 MF (5.53±0.11% polarization : 100%) 대비 각각 112.3%로서 약 12%의 MF의 증가효과가 인정되었다. 어쨌든 뇌조직의 mitochondria나 microsome획분에서 다같이 운동부하량 middle group이 MF를 효과적으로 증가하여 생체내의 항상성을 매우 효과적으로 유지할 수 있을 것으로 기대된다. 이러한 연구결과는 이미 최 등(1995)이 칼로리 제한한 Fischer 344 rats가 자유식한 rats에 비해 평균수명은 말할 것도 없고 세포막 유동성이 현저히 높다는 사실과 매우 잘 일치하고 있음을 알 수 있었다.

Table 21. Effects of exercise training on membrane fluidity (MF) in brain microsome of SAMP8 mice

Age (months)	Control	Exercise trainig groups		
		Low	Middle	High
4	7.87±0.88 [*]	7.34±0.36	8.17±0.15	7.79±0.52
	-	93.3% ^{**}	103.8%	99.0%
8	5.53±0.11	5.86±0.02	6.21±0.43 ^b	5.20±0.16
	-	106.0%	112.3%	94.0%

^{*}Mean (% polarization)±SD with 10 mice per group; ^{**}Percent of control values

^bp<0.01 compared with control group.

13. 신경전달물질 및 관련효소의 변화

체내의 신경전달물질에는 무수히 많지만, 그 중에서 대표적인 신경전달물질이 바로 아세틸콜린(acetylcholine : ACh)이다. 이러한 사실은 Fig 10에서 보는 바와 같이 1) 체신경계로서 중추신경에서 effector organ까지에 관계하는 신경전달물질이 ACh이고, 2) 자율신경계로서 부교감신경영역에서 중추신경에서 effector organ까지에 관계하는 신경전달물질도 ACh이며, 3) 자율신경계로서 교감신경영역에서 중추신경에서 effector organ까지에 관계하는 신경전달물질로서는 신경절에서는 ACh이 관계하며 effector organ까지는 norepinephrine(NE)이 관계하고 있다. 마지막으로 4) 혈류를 통해 전달되는 신경전달물질로서는 ACh를 비롯하여 epinephrine(Epi), NE, dopamine(DA) 및 일부 peptide가 관계하고 있다. 이상에서 보는 것과 같이 신경전달에서 가장 중요한 신경전달물질이 바로 acetylcholine(ACh)이라는 사실이다.

가. 아세틸콜린(ACh)의 함량 변화

이처럼 가장 중요한 신경전달물질인 ACh의 함량에 미치는 운동부하량 low,

middle 및 high group의 영향을 비교하여 보면 Table 22와 같다.

Table 22. Effect of exercise training on acetylcholine(ACh) levels in brain of SAMP8 mice

Age (months)	Control	Exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	69.28±6.84*	72.77±5.01	74.45±4.18 ^a	76.12±4.25 ^a
	-	105.0%**	107.5%	109.9%
8	68.31±3.20	66.12±4.59	72.81±6.64	74.15±1.81 ^a
	-	96.8%	106.7%	108.5%

*Mean (mg/dl serum)±SD with 10 mice per group; **Percent of control values;

^ap<0.05 compared with control group.

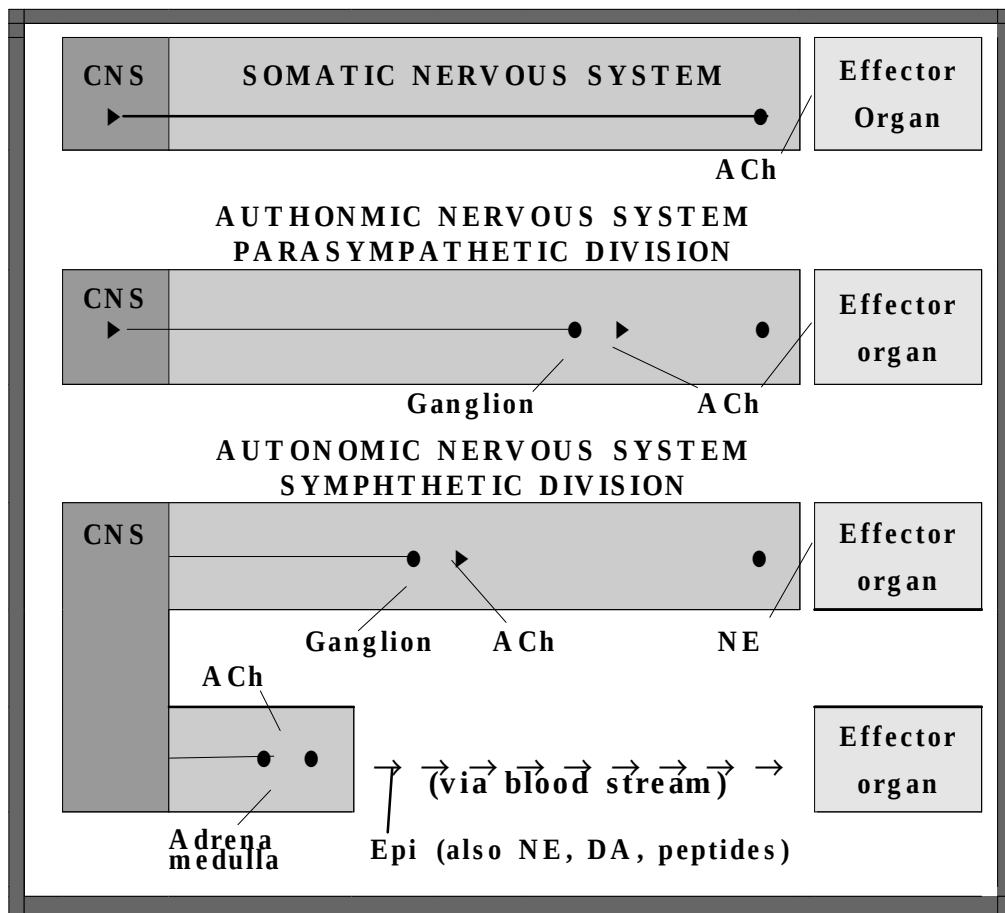


Fig. 10. Transmitters used in the various components of the peripheral nervous system (Vender et al., 1998)

Table 22에서 운동부하량 low($\dot{V}O_2$ max 25-33%), middle($\dot{V}O_2$ max 50%) 및 high($\dot{V}O_2$ max 66-75%) group의 4개월에서의 뇌조직중의 ACh의 함량은 각각 72.77 ± 5.01 , 74.45 ± 4.18 및 76.12 ± 4.25 mg/dl serum으로서 대조군의 ACh의 함량(69.28 ± 6.84 mg/dl serum : 100%) 대비 각각 5.0%, 7.5% 및 9.9%나 운동부하량 의존적으로 ACh의 함량의 증가효과가 나타나서 운동이 신경전달물질의 증가에 매우 효과적일 것으로 기대된다.

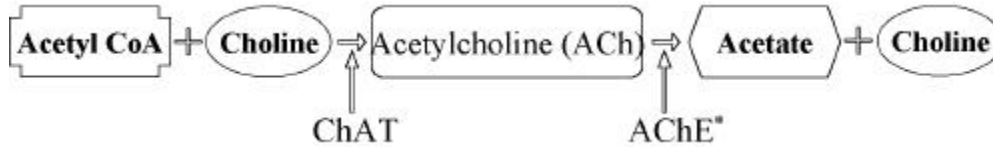
그렇지만, 8개월의 고령그룹에서는 운동부하량 middle 및 high group에서 ACh의 함량이 각각 72.81 ± 6.64 및 74.15 ± 1.81 mg/dl serum으로서 대조군의 ACh의 함량(68.31 ± 3.20 mg/dl serum : 100%) 대비 약 6.7% 및 8.5%로서 ACh의 함량이 운동부하에 따라 증가하고 있음을 알 수 있었다. 이상의 결과에서 볼 때 신경전달물질 ACh의 함량은 운동부하에 따라 매우 효과적으로 증가하고 있었다. 따라서 운동은 기억, 학습장애의 개선은 말할 필요도 없고 노인성 치매의 예방에도 매우 효과적일 것으로 기대된다.

나. 콜린아세틸트랜스퍼라아제 (ChAT)의 활성 변화

여러 가지 신경전달물질에 말초신경계의 다양한 변화를 보면 신경물질 중의 가장 대표적인 것으로 ACh로서, 신경은 뉴런이라는 단위로 구성되어 있고 뉴런세포는 연속적으로 연결되어 있는 것이 아니라 아주 미세한 간격으로 떨어져 있기 때문에 자극이 신경을 따라 전달될 때 뉴런과 뉴런 사이에 자극, 즉 신경전달을 하기 위해 다음 뉴런에 자극을 전달하는 물질의 대표적인 것이 ACh이다.

이것은 acetate와 choline로 분해되기도 한다(Fig. 11). 도파민과 노르에피네프린은 아민기(-NH₂)를 가지고 있으며 이들은 MAO(monoamine oxidase)효소에 의해 대사가 이루어지며 신경전달물질들의 신경세포내의 함량은 이 효소의 작용으로 제한된다.

Fig. 11에서 보는 바와 같이 acetylcholine은 acetyl coenzyme A와 choline으로부터 생합성되므로 아세틸콜린의 합성에 필요한 choline acetyltransferase (ChAT)의 활성은 매우 중요한 의미를 갖고 있다고 말할 수 있다. 그러므로 ACh의 합성에 필요한 ChAT 활성에 미치는 운동부하량의 영향을 비교하여 본 결과는 Table 22와 같다.



**Fig. 11. Changes in acetylcholine(ACh)- related enzymes
(Vender et al., 1998)**

Before a second impulse can be transmitted through the synapses, however, the acetylcholine(ACh) secreted after the first impulse must be hydrolyzed by the acetylcholinesterase(AChE) in the junction.

따라서 기억·학습장애 실험동물모델인 SAMP8 mice의 뇌조직 cytosol획분에서 acetylcholine(ACh)의 합성효소로서 choline acetyltransferase(ChAT)활성에 미치는 운동부하량의 영향을 비교하여 보면 Table 23와 같다.

Table 23에서 보는 바와 같이 운동부하량 low($\forall O_2$ max 25 33%), middle($\forall O_2$ max 50%) 및 high($\forall O_2$ max 66 75%) group의 4개월에서의 뇌조직중의 ChAT 활성은 각각 5.24 ± 0.12 , 5.57 ± 0.34 및 5.67 ± 0.48 $\mu g/dl$ serum으로서 대조군의 ChAT 활성(5.45 ± 0.22 $\mu g/dl$ serum : 100%) 대비 각각 96.1%, 102.2% 및 104.0%로서 대조군에 비해 운동부하량 low group을 제외하고는 운동부하량에 따라 서서히 증가하고 있긴 하지만 유의성은 인정할 수 없었다. 이러한 사실은 4개월의 SAMP8 mice는 인간의 청소년기에 해당되기 때문에 운동에 의해서 증가되지 않더라도 신경전달물질 ACh의 생성량이 충분할 것으로 생각될 뿐만 아니라 Table 21의 데이터에서도 잘 설명되고 있다.

그렇지만, 갱년기 연령에 해당되는 8개월의 SAMP8 mice에서는 뇌조직중의 ChAT 활성이 각각 4.51 ± 0.20 , 5.36 ± 0.34 , 5.44 ± 0.11 $\mu g/dl$ serum으로서 대조군의 ChAT 활성(4.86 ± 0.12 $\mu g/dl$ serum : 100%) 대비 각각 92.8%, 110.3% 및 111.9%로서 low group을 제외하고 middle 및 high

group에서는 각각 10% 및 12%의 매우 유의적인 ChAT활성의 증가효과가 인정되어 운동부하가 기억·학습장애의 개선이나 치매의 예방에 상당한 효과가 있을 것으로 기대된다.

Table 23. Effects of exercise training on choline acetyltransferase (ChAT) activity in brain cytosol of SAMP8 mice

Age (months)	Control	Exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	5.45±0.22*	5.24±0.12	5.57±0.34	5.67±0.48
	-	96.1%**	102.2%	104.0%
8	4.86±0.12	4.51±0.20	5.36±0.34 ^a	5.44±0.11 ^a
	-	92.8%	110.3%	111.9%

*Mean (μg/dl serum)±SD with 10 mice per group; **Percent of control values;

^ap<0.05 compared with control group.

다. 아세틸콜린에스트라아제 (AChE)의 활성 변화

가장 중요한 신경전달물질로서 acetylcholine(ACh)의 함량도 중요하고, ACh의 합성효소로서 choline acetyltransferase(ChAT) 활성도 중요하겠지만, 신경전달의 발현이 무엇보다 중요하다. ACh가 시냅스전 신경말단에서 분비되면 그것이 시냅스 후 수용체와 결합하여 신경세포 사이의 자극이 전달된다.

그러나 제2의 자극이 시냅스를 통해 전달되기 전에 제1자극시에 분비된 ACh은 AChE에 의하여 acetate와 choline으로 가수분해되어야만 한다는 사실이다.

그래서 기억·학습장애실험동물모델 SAMP8 mice를 사용하여 신경전달

의 발현에 직접 관계하고 있는 acetylcholinesterase(AChE) 활성화에 미치는 운동부하의 영향을 평가하여 보면 Fig. 12와 같다.

Fig. 12에서 보는 바와 같이 운동부하량 low($\forall O_2$ max 25 33%), middle($\forall O_2$ max 50%) 및 high($\forall O_2$ max 66 75%) group의 4개월에서의 뇌조직중의 AChE 활성화는 대조군과 비교해서 운동에 따른 유의적인 영향을 인정할 수 없었다. 그렇지만, 갱년기에 해당하는 8개월에서는 low 및 high group이 대조군에 비해 AChE 활성이 다소 감소하는 경향을 나타내고 있었지만, 갱년기라 할지라도 middle group에서는 AChE 활성화의 매우 유의적인 증가효과를 인정할 수 있었다.

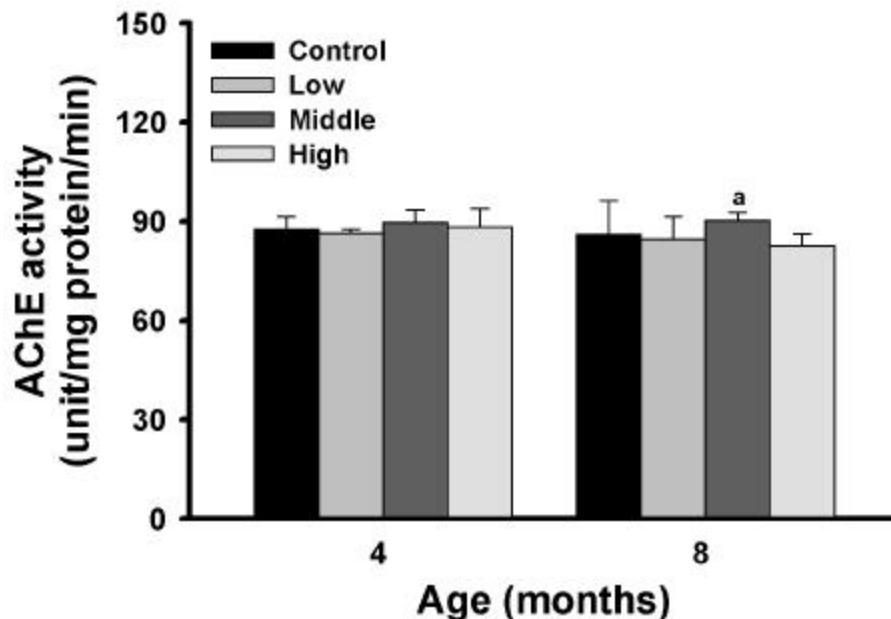


Fig. 12. Effects of exercise training on acetylcholinesterase(AChE) activity in brain of SAMP9 mice

^ap<0.05 compared with control group.

따라서 갱년기 그룹이라 할지라도 적당한 운동의 부하는 노화의 방지와 평균수명의 연장뿐만 아니라 기억·학습장애의 개선, 그리고 치매의 예방에도 상당한 도움이 될 것으로 기대된다.

라. 모노아민옥시다아제(MAO)의 활성 변화

MAO는 동물에 널리 분포되어 사람이나 동물의 뇌 조직이나 혈청에서 연령에 따라 증가한다는 사실이 밝혀졌고, 이 효소는 dopamine(DA)이나 serotonin, epinephrine(Epi), norepinephrine(NE) 등의 catecholamine계 신경전달물질을 파괴하는 효소로 알려져 있다.

운동부하량에 따라 기억·장애를 수반하는 실험동물모델 SAMP8 mice를 사용하여 catecholamine계 신경전달물질을 파괴하는 MAO-B 활성에 미치는 운동부하량의 영향을 평가하여 보면 Table 24와 같다.

Table 24. Effects of exercise training on monoamine oxidase (MAO-B) activity in brain of SAMP8 mice

Months	Control	Exercise training groups		
		Low	Middle	High
4	1.32±0.09*	1.28±0.13	1.26±0.04	1.35±0.06
	-	97.0%**	95.5%	102.3%
8	1.36±0.01	1.37±0.11	1.29±0.09	1.36±0.08
	-	100.7%	94.9%	100.0%

*Mean (IU/g protein)±SD with 10 mice per group; **Percent of control values;

운동부하량 low($\dot{V}O_2$ max 25-33%), middle($\dot{V}O_2$ max 50%) 및 high($\dot{V}O_2$ max 66-75%) group의 4개월에서의 MAO-B 활성은 각각 1.28 ± 0.13 , 1.26 ± 0.04 및 1.35 ± 0.06 IU/g protein으로서 대조군의 MAO-B 활성 (1.32 ± 0.09 IU/g protein : 100%) 대비 각각 97.0%, 95.5% 및 102.3%로서 운동부하 high group을 제외하고는 어느 정도 MAO-B 활성을 억제하는 것으로 나타났다. 또한 갱년기의 8개월에서는 운동부하 middle group만이 MAO-B 활성이 1.29 ± 0.09 IU/g protein으로서 대조군의 MAO-B 활성

(1.36 ± 0.01 IU/g protein : 100%) 대비 약 5%이상의 신경전달물질의 억제 효과가 인정되었다.

따라서 기억·학습장애 실험동물모델 SAMP8 mice에서 사람의 경우, 청소년기의 4개월 및 갱년기의 8개월의 어느 그룹에서도 적당한 운동의 부하는 catecholamine계 신경전달물질의 파괴효소인 MAO-B 활성을 매우 효과적으로 억제할 수 있을 것으로 기대된다.

IV. 요약

본 연구는 “치매는 운동으로 방지할 수 있다”는 가설하에서 기억·학습 장애를 수반하는 실험동물모델(senescence-accelerated mouse)에서 평균수명이 1년정도인 SAMP8 mice를 사용하여 운동부하량 low($\sqrt{O_2}$ max 25 33%), middle($\sqrt{O_2}$ max 50%) 및 high($\sqrt{O_2}$ max 66 75%)에 따른 수명의 연장, 성인병 및 노화의 방지, 기억·학습장애의 개선을 포함한 치매의 방지에 미치는 영향을 평가하였다.

SAMP8 mice를 대조군(control)과 실험군(exercise training groups)의 두 그룹으로 크게 나누고, 이것을 다시 4, 8 및 수명이 다할 때까지 사육하면서 운동을 부하하여 수동회피시험(passive avoidance test)을 통해 기억·학습장애의 개선 및 치매의 예방여부, 평균수명 및 최대수명의 연장 가능성 등을 평가하였다. 이들 실험동물을 4개월 및 8개월후 passive avoidance test를 실시한 후 단두하여 채혈하여 혈청을 사용하여 중성지질, LDL 및 HDL-콜레스테롤, 이를 통한 atherogenic index(AI)의 감소효과도 평가하였고, 이들 뇌의 생리기능에 미치는 활성산소종(reactive oxygen species: ROS)으로서 히드록시 라디칼(hydroxyl radical : $\cdot OH$), 수퍼옥시드 라디칼(superoxide radical : $O_2^{\cdot -}$), hydrogen peroxide(H_2O_2), nitric oxide(NO) 등의 활성산소(free radicals)의 생성 억제효과, 활성산소에 의해 생성되는 산화적 스트레스(oxidative stress)로서 과산화지질(lipid peroxide: LPO)의 생성량을 malondialdehyde(MDA)로써 측정하였고, 활성산소의 공격에 의한 단백질의 산화생성물로서 산화단백질(oxidized protein : OP)의 생성량은 carbonyl group($>C=O$)의 함량을 측정하여 평가하였다.

생체의 방어체계로서 이들 활성산소의 제거효소(scavenger enzymes)로서 수퍼옥시드 디스무타아제(superoxide dismutase : SOD) 및 이에 따른 Mn-SOD와 Cu/Zn-SOD, 글루타치온 퍼옥시다아제(GPx), 카탈라아제

(CAT) 등의 생체 방어활성에 미치는 운동부하의 영향도 평가하였다. 생체의 항상성(homeostasis)의 유지를 위한 뇌조직 세포막의 유동성(membrane fluidity)도 평가하였다. 운동부하량이 신경전달물질로서 acetylcholine(ACh)의 생성과 ACh의 합성효소로서 choline acetyltransferase(ChAT) 활성 및 신경전달의 발현에 직접 관계하는 acetylcholinesterase(AChE) 활성에 미치는 영향을 평가하였고, 아울러 catecholamine계 신경전달물질의 파괴효소로서 monoamine oxidase-B(MAO-B) 활성 억제효과도 평가한 결과는 다음과 같다.

1. 운동부하량 middle group($\forall O_2$ max 50%) 및 high group($\forall O_2$ max 66-75%)은 체중증가가 유의적으로 감소하였지만, 그 정도는 어린 4개월에서 더 심하게 나타났다. 운동부하 high group에서는 4개월에서는 약 20%, 8개월에서는 10%의 유의적인 체중감소가 인정되었지만, middle group에서는 4개월에 10%, 8개월에 4%의 체중감소효과가 나타났다.

2. middle group($\forall O_2$ max 50%)의 운동부하는 평균수명을 23.5%나 연장하였고, 최대수명도 18.7%나 연장하였으나 high group($\forall O_2$ max 66-75%)의 운동부하는 오히려 평균수명을 13.5%가 감소하였고, 최대수명은 12.1%나 감소하였다. 적당한 운동은 건강·장수에 유익하지만, 과도한 운동은 건강·장수에 역작용을 한다는 사실이 입증되었다.

3. 4개월 및 8개월에서의 체지방은 운동부하 middle group($\forall O_2$ max 50%)에서 43-51%로 감소한 반면 운동부하 high group($\forall O_2$ max 66-75%)에서는 57%나 감소하여 과도한 운동부하는 지나친 체지방 감소를 유발하여 수명을 단축하는 것으로 판단된다.

4. 운동부하 middle group($\forall O_2$ max 50%)의 평균수명(23.5% 증가) 및 최대수명(18.7% 증가)의 연장효과는 적당한 운동부하에 의한 에너지의 소모에 따른 칼로리 제한(calorie restriction)의 효과로 평가할 수 있다.

5. 운동부하에 의한 기억·학습개선효과는 middle 및 high group의 운동

부하가 효과적이었고, 4개월에서는 15 30%, 8개월에서는 14 27%의 기억·학습장애의 개선효과가 인정되어 치매의 예방 가능성을 시사하고 있다고 판단된다.

6. 노화색소로 알려진 lipofuscin(LF)의 축적은 갱년기에 해당하는 8개월의 경우, middle group($\dot{V}O_2$ max 50%)의 운동부하가 LF의 축적량 감소 효과가 인정된 반면 high group($\dot{V}O_2$ max 66 75%)의 운동부하에서는 LF의 축적량 증가효과가 나타나서 오히려 노화를 촉진하고 있음을 알 수 있다.

7. 운동부하는 중성지질의 억제는 물론이고 LDL-콜레스테롤의 함량은 middle group에서 8 16%, high group에서 10 13%의 감소효과가 인정되었고, HDL-콜레스테롤의 함량은 8개월의 middle 및 high group에서 다같이 20%나 매우 효과적으로 증가하고 있어서 운동의 건강효과를 기대할 수 있었다.

8. 총콜레스테롤과 HDL-콜레스테롤로써 평가한 atherogenic index(AI)로써 성인병의 발병 억제효과만을 진단한다면 4개월의 high group 및 8개월의 middle 및 high group에서 매우 효과적으로 성인병을 억제할 수 있을 것으로 기대된다. 그렇지만, high group의 운동부하는 활성산소 등의 장애로 인하여 수명을 단축하는 것으로 생각된다.

9. 활성산소로서 갱년기인 8개월의 경우, superoxide radical은 middle에서 10% 감소하는 대신 high에서는 10% 증가하였고, hydroxyl radical은 middle에서 거의 30%나 감소하는 대신 high에서는 거의 변화가 없었으며, hydrogen peroxide도 middle에서는 4% 증가에 거친 반면 high에서는 10% 이상이나 증가하였으며 nitric oxide는 middle에서만 유의적으로 감소하여 운동부하 middle group은 활성산소의 생성을 효과적으로 억제하였지만, 운동부하 high group은 활성산소의 생성을 촉진하는 것으로 나타났다.

10. 산화적 스트레스로서 갱년기인 8개월의 경우, lipid peroxide(LPO)의

생성량은 middle group($\forall O_2$ max 50%)에서 13%나 감소한 반면 high group($\forall O_2$ max 66 75%)에서는 오히려 거의 10%나 증가하였고, 산화단백질(oxidized protein : OP)의 생성량은 4 및 8개월에서 middle group에서만 유의적으로 감소하였다.

11. 활성산소 제거효소의 활성은 갱년기인 8개월의 경우, SOD 및 GPx의 활성은 middle group($\forall O_2$ max 50%)에서 7.4% 및 12.6%나 증가하였지만, high group($\forall O_2$ max 66 75%)에서는 2.9% 및 7.9%만 증가하였으며, 뇌조직의 Mn-SOD 및 Cu/Zn-SOD의 활성은 middle hroup에서만 유의적인 증가효과가 인정되었다. 그렇지만 CAT의 활성은 운동부하량에 관계없이 유의적인 증가효과가 인정되었다.

12. 생체내 항상성과 관계가 깊은 세포막 유동성은 갱년기인 8개월의 경우, 운동부하 middle group($\forall O_2$ max 50%)에서 10.2%(mitochondria), 및 12.3%(microsome)나 증가한 반면 high group($\forall O_2$ max 66 75%)에서는 5.3%(mitochondria) 및 -6.0%(microsome)로서 적당한 운동이 세포막 유동성의 유지에 매우 효과적일 것으로 기대된다.

13. 갱년기인 8개월의 경우, 신경전달물질 ACh의 함량은 middle group에서 6.7%이고 high group에서는 8.5%로서 거의 비슷한 경향을 나타내었고, ACh의 합성효소인 ChAT 활성도 middle group에서 10.3%이고 high group에서는 11.9%로서 거의 비슷한 경향을 나타내었지만, 직접 신경전달에 관계하는 ACh의 분해효소인 AChE 활성은 middle group에서만 유의적인 증가효과를 나타내고 있어서 운동부하 middle group이 기억·학습장애의 개선에 매우 효과적일 것으로 기대된다.

14. 신경전달물질을 파괴하는 효소로서 MAO-B 활성은 4개월 및 8개월에서 다같이 middle group에서는 4.5 5.1%나 감소한 반면 high group에서는 MAO-B 효소의 활성을 제어하지 못하는 것으로 나타났다.

이상의 실험결과를 종합하여 평가하여 볼 때 운동부하량 middle group ($\dot{V}O_2 \text{ max}$ 50%)이 평균수명 및 최대수명을 20%까지 연장할 수 있을 뿐만 아니라 성인병과 노화를 방지하고, 아울러 기억·학습장애의 개선은 말할 필요도 없고 노인성 치매의 예방에도 상당한 효과가 있을 것으로 기대된다.

V. 감사의 글

이 논문이 완성되기까지 많은 질책과 격려로 성장할 수 있게 도와주셨고, 언제나 자상한 지도와 끊임없는 사랑으로 이끌어 주신 최진호 지도교수님께 먼저 진심으로 감사를 드립니다.

바쁘신 중에서도 늘 변함 없는 친절과 정성으로 부족한 논문을 수정·보완해 주시고 도움 주신 동의대학교 김광석 교수님과 부산대학교 백영호 교수님께 깊은 감사를 드립니다.

부족한 논문을 다듬어 주시고 박사수학 중 늘 따뜻한 격려를 해 주신 변대석 교수님과 남택정 교수님께 감사 드리며, 박사과정 중 지도와 조언과 격려를 아끼지 않으셨던 류홍수 교수님, 최재수 교수님, 김형락 교수님께도 감사를 드립니다.

실험실에서 생활하면서 실질적인 도움과 배움을 많이 해 준 김동우 선생님에게도 감사하는 마음을 가지며, 항상 고생하면서도 마음의 위안이 되어 준 생화학 실험실의 수현, 대익, 정민, 승진, 민경, 연경, 은정, 옥정에게 고마움을 전하며 모든 식품생명과학과 대학원 선·후배님에게도 감사의 마음을 전합니다.

그리고 배움의 길을 물심양면으로 배려해 주신 공원희 교장 선생님, 김상곤 교장선생님, 손효익 교감선생님께도 진심으로 감사를 드립니다.

오직 자식이 잘되기만을 바라면서 살아오신 어머니와 형제들, 본 논문이 완성되기까지 염려해 주신 장인, 장모님, 어려운 여건 속에서 인내와 사랑으로 언제나 같이한 사랑하는 아내 정혜와 딸 자영, 아들 우찬에게 이 결실을 드립니다.

VI. 참고 문헌

- Alessio, H., Hagerman, A. and Fulkerson, B., Ambrose, J. (2000) Generation of reactive oxygen species after exhaustive aerobic and isometric exercise. *Med, Sci, Sports. Exerc. Sep*: 32(9), 1576- 1581.
- Baek, Y. H. (1994) Effects of detraining, retraining dependant upon different level of fat diets on cardiorespiratory function and blood comonents in male athletes. 58-80.
- Brumby, P. and Massey, V. (1967) Determination of nonheme iron and total iron, and copper. *Methods in Enzymology*, 10, 463-474..
- Carney, J. M, & Starke, R. P. E., Oliver, C. N., Landum, R. W., Cheng, M. S., Wu, J. F. and Floyd, R. A. (1991) Reversal of age-related increase in brain protein oxidation, decrease in enzyme activity, and loss in temporal and spatial memory by chronic administration of the spin trapping compound N-tert-butyl- α -phenylnitrone. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88, 3633-3636.
- Carp, R. I., Merz, G. S. and Wisniewski, H. M. (1984) Transmission of unconventional slow virus disease and the relevance to SD/SDAT transmission studies. In: J. Wertheimer and M. Marais (Eds). *Senile Dementia: Outlook for the furture, Alan R. Liss.* New York ,pp. 31-34,
- Chio, K. S., Reissu, U., Fletcher, B. L. and Tappel, A. L. (1969) Peroxidation of subcellular organelles formation of lipofuscin like fluorescent pigments. *Science*, 166, 1535- 1536.
- Choi, J. H.. and Yu, B. P. (1989) The effect of food restriction on kideny membrane structures of aging rats. *AGE*, 12, 133- 136.

- Choi, J. H. and Yu, B. P. (1990) Unsuitability of TBA test as a lipid peroxidation marker due to prostaglandin synthesis in the aging kidney. *AGE*, 13, 61-64.
- Choi, J. H. (1991) Lipid peroxidation, aging and food restriction. *Kor. J. Biochem.*, 23(1), 61-70.
- Choi, J. H. and Yu, B. P. (1991) The role of prostaglandins in the aging process. *Kor. J. Gerontol.*, 1(1), 28-34..
- Choi, J. H. (1991) Modulation of the aging process by food restriction. *J. Kor. Soc. Food Nutr.*, 20(2), 187-196.
- Choi, J. H. and Yu, B. P. (1994) Studies on age-related physiological changes in brain of senescence accelerated mouse(SAM). *Kor. J. Gerontol.*, 4(2), 61-70.
- Choi, J. H., Kim, J. I., Kim, D. W., Moon, Y. S., Kim, I. S. and Chung, H.Y. (1994) Age-related physiological changes in brain membranes of senescence accelerated mouse(SAM). In: Takeda, T. (Eds). *The SAM Model of Senescence, Elsevier Science B.V.* pp 321-324,
- Choi, J. H. and Yu, B. P. (1994) Modulation of age-related alterations of iron, ferritin, and lipid peroxidation in rat serum. *AGE*, 17, 93-97.
- Chung, H. Y., Kim, K. W., Choi, J. H., Oura, H. and Yokozawa, T. (1994) Effects of ginsenoside Rb₂ on the antioxidants in senescence-accelerated mice(SAMR1). In: Takeda, T. (Eds). *The SAM Model of Senescence, Elsevier Science B.V.* pp 149-152,
- Choi, J. H. and Yu, B. P. (1995) Brain synaptosomal aging. *Free Radicals and Membrane Fluidity*, 18(2), 133-139.
- Choi, J. H. and Yu, B. P. (1995) Brain synaptosomal aging : Free radicals and membrane fluidity. *Free Rad. Biol. & Med*, 18(2),

133- 139.

- Choi, J. H., Kim, J. I., Kim, D. W., Moon, Y. S., Kim, Y. S., Yoon, T. H. and Han, S. S. (1995) Effect of reed root extract on learning and memory impairments of brain in the senescence-accelerated mouse(SAMP8) strain. *Proceeding of SAM Symposium*, 11, 109-110..
- Choi, J. H., Kim, J. I., Kim, D. W., Moon, Y. S., Kim, Y. S., Yoon. T. H. and Yoon, H. S. (1995) Effect of docosahexaenoic acid(DHA) on learning and memory impairments of brain in the senescence-accelerated mouse(SAMP8) strain. *Proceeding of SAM Symposium*, 11, 115-116..
- Choi, J. H., Kim, J. I., Kim, D. W., Moon, Y. S., Kim, Y. S., Yoon, T. H., Han, S.S. and Shim, C. S. (1995) Effect of *Aloe vera* on learning and memory impairments of brain in the senescence-accelerated mouse(SAMP8) strain. *Proceeding of SAM Symposium*, 11, 111-112..
- Choi, J. H., Kim, D. W., Moon, Y. S., Kim, J. I. and Shim, C. S. (1996) Synergistic Effect of aloe/docosahexaenoic acid on learning and memory impairments of brain in the senescence-accelerated mouse(SAMP8). *Proceeding of SAM Symposium*., 12, 91-92..
- Choi, J. H., Kim, J. I., Kim, D. W., Moon, Y. S., Chung, H. Y. and Yu, B. P. (1996) Analysis of lipid composition and hydroxyl radicals in brain membranes of senescence-accelerated mice. *Age* (American Aging Association), 19, 1-5.
- Choi, J. H., Kim, D. W., Kim, J. H., Kim, K. S., Lee, J. S., Kim, J. I. and Han, S. S. (1997) Feeding Effect of garlic and onion extracts on learning and memory impairments of brain in the senescence-accelerated mouse(SAMP8) strain. *Proceeding of SAM Symposium*, 13, 53-54..
- Choi, J. H., Kim, D. W. and Yu, B. P. (1998) Modulation of age-related

- alterations of iron, ferritin and lipid peroxidation in rat brain synaptosomes. *J. Nutr. Health & Aging*. 2(3), 461-465.
- Choi, J. H. and Yu, B. P. (1998) Dietary restriction as a modulator of age-related changes in rat kidney prostaglandin production. *J. Nutr. Health & Aging*. 2(3), 456-460.
- Choi, J. H. and Yu, B. P. (1999) The effects of dietary restriction on age-related changes in rat serum prostaglandins. *Age & Nutrition*, 10(1), 47-51.
- Choi, J. H. and Kim, D. W. (2000) Effect of age and dietary restriction on lifespan and oxidative stress of SAMP8 mice with learning and memory impairments. 4(3), 182-186.
- Committee on Diet and Health, Food Nutrition Board Commission on Life Science , National Research Council (1999) Diet and Health: Implication for Reducing Chronic Disease Risk , *National Academy Press, Washington , DC*.
- Connor, J. R., Snyder, B. S., Beard, J. L., Fine, R. E. and Mufson, E. J. (1992) Regional distribution of iron and iron-regulatory proteins in the brain in aging and Alzheimer's disease. *J. Neurosci. Res.*, 31, 323-337.
- Cross, C. E., Halliwell, B., Borish, E. T., Pryor, W. A., Ames, B. N., Saul, R. A., NcCord, J, M. and Harman, D. (1987) Oxygen radicals and human disease. *Ann. Intern. Med.* 107, 526-545.
- Curtis, M. T., Gilfor, D. and Farber, J. L. (1984) Lipid peroxidation increases the molecular order of microsomal membranes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 235, 644-649.
- Davies, K. J. A. and Goldberg, A. L. (1987) Oxygen radicals stimulate

- intracellular proteolysis and lipid peroxidation by independent mechanisms in erythrocytes. *J. Biol. Chem.*, 262, 8220-8226.
- Davies, K. J. A., Quintanilha, A. T., Brooks, G. A. and Packer, L. (1982) Free radicals and tissue damage produced by exercise. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 107, 1198- 1205.
- Flood, J. F. and Moriey, J. E. (1993) Age-related changes in footshock avoidance acquisition and retention in senescence accelerated mouse(SAM). *Neurobiol. Aging*, 14, 153- 157.
- Floyd, R. A, Zaleska, M. M. and Harman, H. J. (1984) Possible involvement of iron and oxygen free radicals in aspects of aging in brain: In free radicals in molecular biology, aging, and disease. In: D Armstrong et al (Eds). *Raven Press*. New York. pp. 143- 161, .
- Freeman, B. A. and Carpo, J. D. (1982) Biology of disease: Free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.* 47, 412-426.
- Friedberg, E. C. and Hanawalt, P. (1981) DNA repair. *Marcel Dekker*, New York. pp. 99- 111,
- Fujibayashi, Y, Waki, A., Wada, K., Ueno. M., Magata, Y., Yonekura. Y., Konishi. J., Takeda. T. and Yokoyama, A. (1994) Differential aging pattern of cerebral accumulation of radiolabeled glucose and amino acid in the senescence accelerated mouse(SAM), a new model for the study of memory impairment. *Biol. Pharm. Bull.*, 17(1), 102- 105.
- Gaby, S. K. and Singh, V. N. (1991) Vitamin C. In: Vitamin Intake and Health: A Scientific Review (Gaby, S. K., Bendich , A., Singh, V. N. & Machlin, L. J., eds.), pp. 103- 161, Marcel Dekker, *New York, NY*.
- Gaby, S. K. and Machlin, L. J., (1991) Vitamin E. In: Vitamin Intake

- and Health: A Scientific Review (Gaby, S. K., Bendich, A., Singh, V. N. & Machlin, L. J., eds.), *Marcel Dekker, New York, NY*. pp. 71-101,
- Gershon, H. and Gershon, D. (1970) Detection of inactive enzyme molecules in aging organisms. *Nature*, 227, 1214-1217.
- Goodrick, C. L., Ingram, D. K., Reynolds, M. A., Freeman, J. R. and Cider, N. L., (1983) Differential effects of intermittent feeding voluntary exercise on body weight and lifespan in adult rats. *J. Gerontol*, 38, 36-45.
- Grote, S. S., Moses, S. G., Robins, E., Hudgens, R. W. and Croniger, A. B. (1974) A study of selected catecholamine metabolizing enzymes: A comparison of depressive suicides and alcoholic suicides with controls. *J. Neurochem*, 23, 791-802..
- Haglund, O., Luostarinen, R., Wallin, R., Wibell, L. and Saldeen, T. (1991) The effects of fish oil on triglycerides, cholesterol, fibrinogen and malondialdehyde in humans supplemented with vitamin E. *J. Nutr.*, 121, 165-169.
- Han, S. S. (1999) Effect of exercise intensity by treadmill on serum lipid hormone response in rat. 21-29.
- Halliwell, B. (1987) Oxidants and human disease: Some new concepts. *FASEB J.* 1, 358-364
- Halliwell, B. and Gutteridge, J. M. C. (1981) Formation of a thiobarbituric acid-reactive substance from deoxyribose in the presence of iron salts. *FEBS. Lett.*, 128, 347-350.
- Harman, D. (1956) Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry. *J. Gerontol.*, 11, 298-300.

- He, P. and Yasumoto, K. (1992) Effect of ingestion of excess methionine diet on aging of erythrocytes in mice. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 38, 7-68.
- He, P., Yasumoto, K. and Yasumoto, K. (1994) Effect of paraquat administration on antioxidative enzyme activities and oxidative damage in the blood and liver of senescence-accelerated mice. *Biosci. Biotech. Biochem.*, 58(1), 146-150.
- Heron, D. S., Shinitzky, M., Hershkowitz, M. and Samuel, D. (1980) Lipid fluidity markedly modulates the binding of serotonin to mouse brain membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 12, 7463-7467.
- Hibbs, J. B., Jr, Taitor, R. R., Vavrin, Z. and Rachlin C (1988) Nitric oxide: A cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 157, 87-94.
- Higuchi, K., Matsumura, A., Hashimoto, K., Jonma, A., Takeshita, S., Hosokawa, M., Yasuhira K and Takeda T (1983) Isolation and characterization of senile amyloid-related antigenic substance (SAS_{SAM}) from mouse. Apo SAS_{SAM} is a low molecular weight apoprotein of high density lipoprotein. *J. Exp. Med.*, 158, 1600-1614.
- Higuchi, K., Matsumura, A., Honma, A., Toda, K., Takeshita, S., Matsushita, M., Yonezu, T., Hosokawa M and Takeda T (1984) Age-related changes of serum apoprotein SAS_{SAM}, apoprotein A1 and low-density lipoprotein levels in senescence accelerated mouse(SAM). *Mech. Aging Dev.*, 26, 311-326.
- Holloszy, J. O., Smith, E. K., Vining, M. and Adams, S. A. (1985) Effects of voluntary exercise on longevity of rats. *J. Appl. Physiol.*

- 59, 826-831.
- Holloszy, J. O. and Schechtman, K. B. (1991) Interaction between exercise and food restriction: Effects on longevity of male rats. *J. Appl. Physiol.* 70, 1529- 1535.
- Hosokawa, M., Tsuboyama, T. and Kasai, R. (1984) Age-related changes in bone mass in the Senescence-Acelerated Mouse (SAM) SAM-R/3 and SAMP/6 as new murine model for senile osteoporosis. *Am. J. Pathol.*, 1 25, 276-283
- Hosokawa, M., Kasai, R., Higuchi, K., Takeshita, S., Shimizu, K., Hamamoto, H., Honma, A., Irino, M., Toda, K., Matsumura, A., Matsushita, M. and Takeda, T. (1984) Grading score system: a method for evaluation of the degree of senescence in senescence accelerated mouse(SAM). *Mech. Ageing Dev.*, 26, 91- 102.
- Hosokawa, M. (1994) Grading score system; a method of evaluation of the degree of senescence in senescence-accelerated mouse(SAM). In: Toshio Takeda (Eds). The SAM Model of senescence, *Elsevier Science B.V.* pp 23- 28,
- Ikegami, S., Shumiya S and Kawamura H. (1992) Age-related changes in radial-arm maze learning and basal forebrain cholinergic systems in senescence accelerated mice(SAM). *Behavioural Brain Reserach*, 51, 15- 22.
- Jackson, M. J. (1990) Free radicals and skeletal muscle disorders. In: Oxygen Radicals: Systemic Events and Disease Process(Das, D. k. & Essman, W. B., eds.), *Karger, Basel, Switzerland.* pp. 149- 171,
- Jellinger, K., Paulus, W., Crundke II, Reiderer, P and Youdim, M. B. H. (1990) Brain iron and ferritin in Parkinson's and Alzheimer's disease.

- J. Neural. Transm.*, [P-D sect] 2, 327-340.
- Jenkins, R, (1990) Free radical chemistry : relationship to exercise. *Sports Med.* 5(3), 156-170.
- Jenkins, R. and Goldfarb A (1993) Introduction: oxidant stress, aging, and exercise, *Med. Sci. Sports Exerc*, 25(5), 210-212.
- Joseph, J. A., Villalobos, M. R., Denisova, N. A., Erat, S. and Strain J (1997) A two-edged sword in brain aging. *Free Radical Biology & Medicine*, 22(3), 455-462..
- Juilliere, Y., Grentzinger, A., Houplon, P., Demoulin, S., Berder, V. and Suty-Selton, C. (2000). Role of the etiology of cardiomyopathies on exercise capacity and oxygen consumption in patients with severe congestive heart failure. *Int J Cardiol.* 31, 251-255.
- Kalaria, R. N., Mitchell, M. J. and Harik, S. I. (1987) Correlation of 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine neurotoxicity with blood-brain barrier monoamine oxidase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 84, 3521-3525.
- Keenan, K. P., Smith, P. F., Hertzog, P., Soper, K., Ballam, G. C. and Clark, R. L.(1994) The effects of overfeeding and dietary restriction on sprague-dawley rat survival and early pathology biomarkers of aging. *Toxicol. Pathol.*, 22(3), 300-315.
- Kim, D. W. (1999) Defense mechanism of learning and memory impairments in dementia animal model SAMP8 by calorie restriction 15-33
- Kim, J. I. and Choi, J. H. (1992) Effect of brown algae components on obese rats induced by a high fat diet. 1. Body weight, feed and gross efficiencies, body fat content, and obesity index. *Kor. J. Gerontol*, 2(2), 142-147.

- Kim, J. I., Ju, W. K., Choi, J. H., Kim, J., Choi, E. K., Carp, R. I., Wisniewski, H. M. and Kim, Y. S. (1999) Expression of cytokine genes and increased nuclear factor-kappa B activity in the brains of scrapie-infected mice. *Molecular Brain Research*, 73, 17-27.
- Kim, Y. S., Carp, R. I., Callahan, S. M. and Wisniewski, H. M. (1996) Incubation periods and histophysiological changes in mice injected stereotactically in different brain areas with the 87V scrapie strain. *Acta Neuropathol.*, 80, 388-392.
- Kitamura, Y., Zhao, X. H., Ohnuki, T., Takei, M. and Nomura, Y. (1992) Age-related changes in transmitter glutamate and NMDA receptor/channels in the brain of senescence-accelerated mouse. *Neuroscience Letters*, 137, 169-172.
- Kohno, A., Yonezu, T., Matsushita, M., Irino, M., Higuchi, K., Higuchi, K., Takeshita, S., Hosokawa, M. and Takeda, T. (1985) Chronic food restriction modulates the advance of senescence in the senescence accelerated mouse (SAM). *J. Nutr.*, 115, 1259-1266.
- Komura, S., Yoshino, K., Ohjishi, N. and Yagi, K. (1994) Serum lipid peroxide level of the senescence-accelerated mouse (SAM). In; Takeda, T. (Eds). *The SAM Model of Senescence, Elsevier Science B.V.* pp 141-144,
- Lacko, A. G., Carlisle, S. and Kudchodkar, B., J. (1984) Evaluation of lipid and lipoprotein metabolism in rats as a model for studying age-related physiological changes. *J. Gerontol.*, 39, 513-520.
- Laura, J. H., Michael, A. T. and Juan, C. T. (1997) Increased susceptibility of Alzheimer's disease temporal cortex to oxygen free radical-mediated processes. *Free Radical Biology & Medicine*, 23(2),

183- 190.

- Lawrence, R. A. and Burk, R. F. (1978) Species, tissue and subcellular distribution of non Se-dependent glutathione peroxidase activity. *Lipid*, 19, 444-452.
- Lebel, C. P., Odunze, I. N., Jr, A. and Bondy, S. C. (1989) Perturbations in cerebral oxygen radical formation and membrane order following vitamin E deficiency. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 163(2), 860-866.
- Levine, R. L., Garland, D., Oliver, C. N., Amici, A., Climent, I., Lenz, A. G., Ahn, B., Shaltiel, S. and Stadtman ER (1990) Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.*, 1986, 464-478.
- Liu, J. and Mori, A. (1993) Age-associated changes in superoxide dismutase activity, thiobarbituric acid reactivity and reduced glutathione level in the brain and liver in senescence accelerated mice(SAM): a comparison with ddY mice. *Mech. Ageing Dev.*, 71, 23-30.
- Lozowski, D. A., Ecclestone, N. A., Myers, A. M., Paterson, D. H., Tudor-Locke, C, Fitzgerald C, Jones G, Shima N and Cunningham DA (1999) A randomized outcome evaluation of group exercise programs in long-term care institutions. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 54M, 621-628
- McCay, C. M., Crowel, M. F. and Maynard, L. A. (1935) The effect of retarded growth upon the length of lifespan and upon the ultimate body size. *J. Nutr*, 10, 63-79.
- Matsumura, A., Higuchi, K., Hosokawa, M. and Hashimoto, K. (1982) Characterization of a novel amyloid fibril protein isolated from

- senescence-accelerated mouse. *Lab. Invest.*, 47, 270-275
- McCay, C. M., Crowell, M. F., and Maynard, L. A. (1935) The effects of retarded growth upon length of life span and upon ultimate body size. *J. Nutr.* 71, 255--263.
- McGee, P. L. and McGeer. (1975) Age changes in the human for some enzymes associated with metabolism of catecholamines, GABA, and acetylcholine. In: Ordy JM and Brizzee (Eds). *Neurobiology of Aging, Plenum Press*. New York. pp 287-305,
- Meguro, K., Yanai, K., Yokoyama, H., Sakurai, A., Maeyama, K., Watanabe, T. and Matsuzawa, T. (1992) Neurochemical studies on central histaminergic neuron system of senescence accelerated mice. *Biogenic Amines*, 8(5), 299-307.
- Meldrum, B. and Garthwaite, J. (1990) Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease. *Trends Pharmacol. Sci.*, 11, 379-387.
- Miyamoto, M., Kiyota, Y., Yamazaki, N. and Nagaoka, K. (1992) Senescence-accelerated mouse(SAM): Age-related reduced anxiety-like behavior in the SAMP8 strain. *Physiology & Behavior*, 51, 979-985.
- Miyamoto, M., Kiyota, Y., Yamazaki, N., Nagaoka, K., Matsue, T., Nagawa, Y. and Takeda, T. (1986) Age-related changes in learning and memory in the senescence-accelerated mouse(SAM). *Physiology & Behavior*, 38, 399-406.
- Murata, K., Yamashita, N., Inoue, S. and Kawanishi, S. (2000) Mechanism of oxidative DNA damage induced by carcinogenic allyl isothiocyanate. *Free Radic Med.* 28, 797-805

- Noda, Y., McGeer, P. L. and McGeer, E. G. (1982) Lipid peroxides in brain during aging and vitamin E deficiency: Possible relations to changes in neurotransmitter indices. *Neurobiol. Aging*, 3, 173-178.
- Nomura, Y., Kitamura, Y. and Zhao, X. H. (1991) Aging in the glutamatergic system with special reference to the NMDA receptor/ion channel complex in the brains of senescence accelerated mice. In: T. Kameyama et al. (Eds). NMDA Receptor Related Agents: Biochemistry. Pharmacology and Behavior, *NPP Books*. Ann Arbor. pp 287-298,
- Ohsawa, T. and Shumiya, S. (1991) Age-related alteration of brain gangliosides in senescence-accelerated mouse(SAM)-P/8. *Mech. Aging Dev.*, 59, 263-274.
- Ohta, A., Hirano, T., Yagi, H., Tanaka, S., Hosokawa, M. and Takeda, T. (1989) Behavioral characteristics of the SAMP8 strain in active avoidance task. *Brain Res.*, 498, 195-198.
- Oliver, C. N., Ahn, B., Moerman, E. J., Goldstein, S. and Stadtman, E. R. (1987b) Age-related changes in oxidized proteins. *J. Biol. Chem.*, 262, 5488-5491.
- Oliver, C. N., Levine, R. L. and Stadtman, E. R. (1987a) A role of mixed function oxidation reactions in the accumulation of altered enzyme forms during aging. *J. Am. Geriatr. Soci.*, 35, 947-956.
- Oyanagui, Y. (1984) Reevaluation of assay methods and establishment of Kit for superoxide dismutase activity. *Anal. Biochem.*, 42, 290-296.
- Palmer, R. M. J., Ferrige, A. G. and Mocada, S. (1987) Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature*, 327, 524-526.
- Pamplona, R., Portero-Otin, M., Riba, D., Requena, J. R. (2000) Low

- fatty acid unsaturation: a mechanism for lowered lipoperoxide modification of tissue protein in mammalian species with long life spans. *J. Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 55, B286-291
- Perry, G., Raina, A. K., Nunomura, A., Waraya, T. (2000) How important is oxidative damage? Lesson from Alzheimer's disease. *Free Radic Biol Med.* 28, 831-834
- Plaa, G. L. and Witschi, H. (1976) Chemicals, drugs and lipid peroxidation. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 16, 125-141.
- Player, T. J., Mills, D. J. and Horton, A. A. (1977) Age-dependent changes in rat liver microsomal and mitochondrial NADPH dependent lipid peroxidation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 78, 1397-1402.
- Powell, K. E., Caspersen, C. J., Koplan, J.p. and Ford, E. S. (1989) Physical activity and chronic diseases. *AM. J. Clin. Nutr.* 49, 999-1006
- Price, D. L. (1986) New perspective on alzheimer's disease. *Annu. Rev. Neurosci.*, 9, 489-517.
- Rajesh, N., Kalaria, M. J., Mitchell, M. and Sami, I. H. (1987) Correlation of 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine neurotoxicity with blood-brain barrier monoamine oxidase activity. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 84, 3521-3525.
- Richardson, J. H. (1993) Free radicals in the genesis of Alzheimer's disease. *Ann. NY Acad. Sci.*, 695, 73-76.
- Richter, C., Park, J. W. and Ames, B. N. (1988) Normal oxidative damage to mitochondrial and nuclear DNA is extensive. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 85, 8465-8467.

- Riggs, B. L. and Melton, L. J. (1983) Evidence for two distinct syndromes of involutional osteoporosis. *Am. J. Med.*, 75, 899-901.
- Rigo, A. and Rotilio, G. (1977) Simultaneous determination of superoxide dismutase and catalase in biological materials by polarography. *Anal. Biochem.*, 81, 157-166.
- Rogério, M. (1997) Iron homeostasis, oxidative stress, and DNA damage. *Free Radical Biology & Medicine*, 23(5), 783-792.
- Rudel, L. L. and Morris, M. D. (1973) Determination of cholesterol using o-phthalaldehyde. *J. Lipid. Res.*, 14, 364-366.
- Saller, C. E. and Salama, A. I. (1984) Rapid automated analysis of biogenic amines and their metabolites using reversed-phase high performance liquid chromatography with electro chemical detection. *J. Chromatography*, 309, 287-298.
- Schuman, E. M. and Madison, D. V. (1991) A requirement for the intercellular messenger nitric oxide in long-term potentiation. *Science*, 254, 1503-1506.
- Selkoe, D. J. (1994) Alzheimer's disease: a central role for amyloid. *J. Neuropath. Neurobiol.*, 53, 438-447.
- Semsei, I., Rao, G. and Richardson, A. (1989) A changes in the expression of superoxide dismutase and catalase as a function of age and dietary restriction. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 164(2), 620-625.
- Sheldon, W. G., Bucci, T. J., Hart, R. W. and Turturro, A. (1995) Age-related neoplasia in a lifetime study of ad libitum-fed and food-restricted B6C3F1 mice. *Toxicol. Pathol.*, 23(4), 458-476.
- Singh, V. A. (1992) A current perspective on nutrition and exercise. *J.*

- Nutr*, 122(3S), 760-765.
- Skalicky, M., Hofecker, G., Kment, G. and Neidermuller, H. (1980) Models of biological age of the rat. **II**. Multiple regression models in the study of influencing aging. *Mech. Ageing Dev.* 14: 361-377.
- Snyder, S. and Bredt, D. S. (1991) Nitric oxide as a neuronal messenger. *Trends Pharmacol. Sci.*, 12, 125-128.
- Somasundaram, S., Sigthorsson, G., Simpson, R. J., Wstts, J. (2000) Uncoupling of intestinal mitochondrial oxidative phosphorylation and inhibition of cyclooxygenase are required for the development of NSAID-enteropathy in the rat. *Aliment Pharmacol Ther.* 14, 639-650
- Southorn, P, A. and Powis, G. (1988) Free radicals in medicine.**II**. Involvement in human disease. *Mayo Clin. Proc.* 63: 390-403
- Steel, R. G. D. and Torrie, J. H. (1960) Principles and procedures of statistics. *McGrawhill, New York*.
- Strong, R., Hsu, L., Bartus, R. T. and Enna, S. J. (1980) Age-related alterations in the rodent brain cholinergic system and behavior. *Neurobiol. Aging.*, 1, 59-64.
- Suh, Y. H., Lee, I. S., Kim, S. S., Choi, W., Park, C. W., Chung, M. H. and Lim, J. K (1993) Ligand binding characteristics of [3H]dihydroalprenolol in cerebral cortical membranes of young and old senescence-accelerated mouse. *Comp. Biochem. Physiol.*, 104C(3), 423-426.
- Takeda, T. and Akiguchi, I. (1990) Behavioral and neuropathological studies on strains of SAM with spontaneous age-related deficits in learning and memory. *Proceeding of the XIth International Congress*

of Neuropathology, 371-374.

- Takeda, T., Hosokawa, M. and Higuchi, K. (1994) Senescence-accelerated mouse(SAM): A novel murine model of aging. In: Takeda T. (Eds). The SAM Model of Senescence, pp 15-22, *Elsevier Science B.V.*
- Takeda, T., Hosokawa, M., Takeshita, S., Irino, M., Higuchi, K., Matsushita, T., Tomita, Y., Yasuhira, K., Hamamoto, H., Shimizu, K., Ishii, M. and Yamamuro, T. (1981) A new murine model of accelerated senescence. *Mech. Aging Dev.*, 17, 183-194.
- Takeshita, S., Hosokawa, M., Irino, M., Higuchi, K., Shimizu, K., Yasuhira, K. and Takeda, T. (1982) Spontaneous age-associated amyloidosis in senescence accelerated mouse(SAM). *Mech. Ageing Dev.*, 20, 13-23.
- Tappel, A. L., Fletcher, B. and Deamer, D. (1975) Effect of antioxidants and nutrients on lipid peroxidation fluorescent products and aging parameters in the mouse. *J. Gerontol.*, 28, 415-424.
- Thurman, R. G., Ley, H. G. and Scholz, R. (1972) Hepatic microsomal ethanol oxidation. *Eur. J. Biochem.*, 25, 420-430.
- Tietze, F. (1969) Enzymic method for quantitative determination of nanogram amounts of total and oxidized glutathione. *Anal. Biochem.*, 27, 502-522.
- Tsuchimoto, M., Miyata, K., Matsuo, S., Osato, S., Kora, H., Misima, T. and Tachibana, K. (1992) Relationship between body fat content and body density in cultured red sea bresm. *Nippon suisan gakkai*., 58(2), 301-306.
- Uegima, Y., Fukuchi, Y., Teramoto, S., Tabata, R. and Orimo, H. (1993)

- Age changes in visceral content of glutathione in the senescence accelerated mouse(SAM). *Mech. Ageing Dev.*, 67, 129-139.
- Ueno, M., Akiguchi, I., Yagi, H., Naiki, H., Fujibayashi, Y., Kimura, J. and Takeda, T. (1991) Age-related changes in barrier function in mouse brain I. Accelerated age-related increase of brain transfer of serum albumin in accelerated senescence prone SAM-P/8 mice with deficits in learning and memory. *Arch. Gerontol. Geriatr.*, 16, 233-248.
- ULF, W., Anders, W., Karin, R., Sven, E. G. N. and ULF, T. B. (1997) Lipofuscin accumulation in cultured retinal pigment epithelial cells causes enhanced sensitivity to blue light irradiation. *Free Radical Biology & Medicine*, 22(7), 1229-1234.
- Umezawa, M., Hanada, K., Naiki, H., Chen, W. H., Hosokawa, M., Hosono, M., Hosokawa, T. and Takeda, T. (1990) Effects of dietary restriction on age-related immune dysfunction in the senescence accelerated mouse(SAM). *J. Nutr.*, 120, 1393-1400.
- Vender, A.J., Sherman, J. H. and Luciano, D. S. (1998) Human physiology : the mechanisms of body function. *McGraw-Hill co. 7th ed.* 213-216.
- Vorbrodt, A. W., Dobrogowska, D. H., Kim, Y. S., Lossinsky, A. S. and Wisniewsk, H. M. (1990) Ultrastructural studies of glycoconjugated in brain micro-blood vessels and amyloid plaques of scrapie-infected mice. *Acta. Neuropathologica.*, 75, 277-287.
- Weinsier, R. L., Hunter, G. R., Zuckerman, P. A., Redden, D. T., Darnell, B. E., Larson, D. E., Newcomer, B. R. and Goran, M. I. (2000). Energy expenditure and free-living physical activity in black and white women; comparison before and after weight loss. *AM J Clin Nutr.* 71, 1138-1146.

- William, R. M. (1997) Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease free radical. *Free Radical Biology & Medicine*, 23(1), 134-147.
- Wilson, T. M. and Tanaka, H. (2000). Meta-analysis of the age-associated decline in maximal aerobic capacity in men; relation to training status. *AM J Physiol Heart Circ Physiol* 278, H829-834.
- Wisniewski, H. M., Struman, J. A. and Shek, J. W. (1985) Aluminum chloride induced neurofibrillary changes in the developing rabbit: A chronic animal model. *Ann. Neurol.*, 8, 479-490.
- Witt, E. H., Reznick, A. Z., Viguie, C. A., Starke-Reed, P. and Packer, L. (1992) Exercise, oxidative damage and effects of antioxidant manipulation. *J. Nutr.*, 122(3S), 766-773.
- Yagi, H., Katoh, S., Akiguchi, I. and Takeda, T. (1988) Age-related deterioration of ability of acquisition in memory and learning in SAMP/8 as an animal model of disturbances in recent memory. *Brain Research*, 474, 86-93.
- Yagi, K. (1987) Lipid peroxides and human diseases. *Chemical and Physics of Lipids*, 45, 337-351.
- Youdim, M. B. H., Ben-Shachar, D. and Riederer, P. (1993) The possible role of iron in the etiopathology of Parkinson's disease. *Movement Disorders*, 8(1), 1-12.
- Yu, B. P., Masoro, E. J. and McMahan, C. A. (1985) Nutritional influences on aging of Fisher 344 rats: I. Physical, metabolic and longevity characteristics. *J. Gerontol*, 40, 657-670.
- Yu, B. P., Lee, D. W., Charles, G. M., Choi, J. H. (1990) Mechanism of food restriction: Protection of cellular homeostasis. *Soc. Exp. Biol. Med.*, 193, 13-15.

- Yu, B. P., Suescun, E. and Yang, S. Y. (1992) Effect of age-related lipid peroxidation on membrane fluidity and phospholipase A₂: Modulation by dietary restriction. *Mech. Aging Dev.*, 65, 17-33.
- Yu, B. P. (1996) Aging and oxidative stress : Modulation by dietary restriction. *Free Rad Biol. Med.*, 21, 651-668.
- Yu, B. P. and Yang, R. (1996) Critical evaluation of free radical theory of aging: A proposal of oxidative stress hypothesis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 786, 1-11.
- Yu, L., Gengaro, P. E., Burke, T. J. and Schrier, R. W. (1994) Nitric oxide: A mediator in rat tubular hypoxia/reoxygenation injury. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 91, 1691-1695.
- Zhao, X. H., Kitamura, Y. and Nomura, Y. (1992) Age-related changes in NMDA-induced [³H]acetylcholine release from brain slices of senescence- accelerated mouse. *Int. J. Devl. Neuroscience*, 10(2), 121-129.