

GABA가 함유된 클로렐라 섭취 및 자발적인 휠 달리기 운동이 자연발생고혈압쥐의 혈압, 주행량 및 항산화 효소에 미치는 영향

원상연 · 김정수 · 이미영 · 오광훈

공주대학교

Abstract

Won, Sang-Yeon., Kim, Jung-Soo., Lee, Mi-Young., Oh, Kwang-Hoon. The effect of GABA-enriched chlorella intake and voluntary wheel running on blood pressure, running distance and antioxidant enzyme in spontaneously hypertensive rats. *Exercise Science*, 22(1): 33-42. 2013. The purpose of this study was to investigate the effect of chlorella intake and voluntary wheel running on blood pressure, running distance and antioxidant enzyme in spontaneously hypertensive rats (SHR). Male SHR were divided into 4 groups : control(SHR-C), exercise(SHR-Ex), chlorella intake(SHR-CI) and chlorella + exercise(SHR-CEX) at a 6 weeks of age respectively. SHR-CI and SHR-CEX were administered GABA during the experimental period(0.5mg/kg/day). Exercised SHR were placed in cages with rotating wheels to allow voluntary running. Body weight, running distance, food consumption were measured every week. Blood pressure were measured every 2 weeks. After 12 weeks of feeding, values of antioxidant enzyme activity(superoxide dismutase ; SOD, glutathion peroxidase ; GPx, catalase ; CAT) and malondialdehyde(MDA) were measured on blood. The results were as follows. Blood pressure significantly decreased in SHR-CI and SHR-CEX($p<.01$), and SHR-Ex lower than SHR-C($p<.01$). Running distance significantly increased in SHR-CEX compared to SHR-Ex($p<.01$). SOD and GPx were significantly elevated in SHR-Ex and SHR-CEX but CAT showed no changes, MDA was significantly decreased in SHR-Ex and SHR-CEX and increased in SHR-C and SHR-CI. These results suggest that the combined treatment of chlorella intake and voluntary exercise can reduce blood pressure and increase running distance and antioxidant enzyme in male SHR.

Key words : Chlorella intake, Voluntary exercise, Blood pressure, Running distance, Antioxidant enzyme

초 록

원상연, 김정수, 이미영, 오광훈. GABA가 함유된 클로렐라 섭취와 자발적인 휠 달리기 운동이 자연발생고혈압쥐의 혈압, 주행량 및 항산화 효소에 미치는 영향. 운동과학, 제22권 제1호, 33-42, 2013. 본 연구의 목적은 클로렐라 섭취와 자발적인 휠 달리기 운동이 자연발생고혈압쥐(SHR)의 혈압, 주행량 및 항산화효소에 미치는 영향을 탐색하는데 있다. 본 실험에서는 6주령 SHR을 4그룹(통제군, 운동군, 클로렐라 섭취군, 클로렐라+운동 군)으로 각각 나누었으며, 클로렐라 섭취 군은 하루에 체중 1kg 당 0.5mg 비율로 GABA 성분을 섭취하도록 하였고, 운동군은 자발적인 휠 달리기 운동이 가능한 우리에서 사육하였다. 체중, 주행량, 식이섭취량은 매주, 혈압은 2주마다 측정하였으며, 혈중 항산화 효소는 실험 시작 전과 12 주간의 사육 후 측정하였다. 혈압은 SHR-CI와 SHR-CEX에서 유의하게 감소하였으며, SHR-Ex에서는 유의한 감소는 나타나지 않았지만 대조군에 비해 혈압이 유의하게 낮은 것으로 나타났다($p<.01$). 자발적인 휠 운동에 따른 주행량은 클로렐라와 운동을 병행한 SHR-CEX에서 유의하게 증가하였으며($p<.01$), SHR-Ex에서는 9주 후에 감소하는 양상을 나타냈다. 항산화 효소는 SHR-Ex와 SHR-CEX에서 SOD 및 GPx 값이 유의하게 증가하였으며($p<.01$), CAT 값에는 변화가 나타나지 않았다. MDA는 자발적 운동에 참여한 SHR-Ex 및 SHR-CEX에서 유의하게 감소하였으며, SHR-C 및 SHR-CI에서는 유의하게 증가하였다($p<.01$). 이와 같은 결과를 종합해 볼 때 클로렐라 섭취와 자발적인 운동의 복합 처치는 자연발생고혈압쥐의 혈압을 낮추고, 주행량 및 항산화효소를 증가시키는데 효과적임을 알 수 있었다.

주요어 : 클로렐라 섭취, 자발적인 운동, 혈압, 주행량, 항산화 효소

I. 서론

고혈압은 여러 가지 증증 질환을 일으키는 가장 중요한 위험 요인으로 인식되고 있으며, 장기간 관리가 되지 않을 때 심혈관계 질환 위험요인은 필연적으로 증가되게 된다(Akama et al., 2009). 혈압의 조절에는 중추신경과 말초신경에 영향을 미치는 교감신경 활동이 중요한 역할을 하며, 인간과 동물 모델에 있어 고혈압은 교감신경계 활동의 증가와 밀접한 관련이 있다(Kasparov & Teschemacher, 2008). 또한 혈액 내 지질 패턴과 활성산소종(reactive oxygen species ; ROS)로 인한 염증성 반응의 증가는 혈관의 점진적 변화를 일으켜 심근세포 횡단면적, 좌심실 비대, 중막 두께, 심장 세동 및 심장 세동맥의 중막/혈관 내 공간 비율을 증가시켜 혈류의 흐름을 방해하고 혈압을 증가시킨다(Rossoni et al., 2011 ; Yuan et al., 2012).

고혈압에 대한 약물적 처치는 안지오텐신 전환효소(angiotensin converting enzyme ; ACE) 억제제, 칼슘 경로 차단제, 이뇨제 등 여러 가지 약물적 처치가 있는데, 유병률의 증가 추세와 더불어 그 비용이 지속적으로 증가하고 있으며(Akama et al., 2009), 약물의 장기간 복용에 따른 부작용(side effects)도 문제가 되고 있다. 따라서 최근에는 정어리, 다랑어 등의 생선류에서 추출한 펩타이드를 활용하여 만든 채소 음료 및 발효음료 등과 같이 ACE 억제 효과를 통해 항고혈압 효과를 나타내는 여러 가지 식품들이 주목을 받고 있다(Kawasaki et al., 2000 ; Kawasaki et al., 2002 ; Tanaka et al., 2009).

이중 γ -aminobutyric acid(GABA)는 최근 건강 기능성 식품의 주요 성분으로서 주목을 받고 있는데, 비단백성 아미노산의 일종인 GABA는 박테리아에서부터 고등 생물에 이르기까지 폭 넓게 존재하며, 특히 포유동물에 있어 중추신경계의 중요한 억제성 신경전달물질로 알려져 있다(Akama et al., 2009).

본태성 고혈압의 대표적 동물 모델인 자연발생고혈압쥐(spontaneously hypertensive rats ; SHR)를 대상으로 한 GABA 식이의 혈압강하 효과에 대해 Hayakawa 등(2004)은 GABA 성분의 단독 섭취 및 GABA가 풍부한 발효유(gaba-enriched fermented milk product ; FMG)를 급이 한 결과 두 가지 모두 섭취 4~8 시간 후에 유의하게 혈압이 강하되는 효과가 있음을 보고하였다. Akama 등(2009)도 GABA가 함유된 쌀을 SHR에 급이 한 결과 유의한 혈압강하 효과가 나타났음을 보고하였다. 또한 Tanaka 등 (2009)은 중등도 고혈압이 있는 자원

자들을 대상으로 글루타민산, 식초 및 마른 정어리를 이용하여 만든 GABA가 풍부한 발효 음료를 섭취하도록 한 결과 12주 후 수축기 혈압 및 이완기 혈압이 유의하게 감소되는 결과를 보고하였고, Shimada 등(2009)은 GABA 성분이 풍부한 클로렐라 섭취가 수축기 혈압의 유의한 감소와 이완기 혈압을 감소시키는데 효과가 있음을 보고하여, GABA 성분 추출물 및 GABA가 포함된 여러 식품들이 동물 및 인간 모두에게 유효한 혈압강하 효과가 있음이 확인되었다.

Hayakawa 등(2002)은 GABA 섭취의 항고혈압 효과 기전에 대한 연구에서 GABA의 섭취가 SHR의 장간동맥 혈관 주변 신경의 자극으로 유발되는 관류 혈압(perfusion pressure) 및 노르아드레날린 분비를 억제하여 유의하게 혈압의 상승을 억제하는 것으로 보고하였다. 이는 GABA의 항고혈압 억제 효과가 교감신경 및 그와 연관된 신경전달물질 분비 억제의 결과라는 것을 의미한다고 할 수 있다. 하지만 GABA의 섭취가 고혈압의 또 다른 원인이 될 수 있는 혈액 내 지질패턴의 변화나 ROS에 대한 항산화 효과에 미치는 영향에 대한 연구 결과는 거의 찾아 볼 수 없어 GABA 섭취로 인한 혈압강하 효과가 신경생리학적 측면에 국한된 것으로 보인다. 비록 Lee 등(2010)이 한국 남성 흡연자를 대상으로 6주간 클로렐라를 섭취하도록 한 결과 클로렐라에 포함된 다양한 항산화 물질이 혈중 항산화 효소 활성도를 증가시키는 것으로 보고하였고, Son 등(2009)은 카드뮴 섭취로 유발된 산화스트레스 상황에서 클로렐라 섭취가 항산화 효소 활성에 기여하였다는 보고를 하였으나, 두 연구가 흡연과 카드뮴이라는 산화스트레스 상황 속에서 이루어졌으며, 클로렐라에 포함된 특정 성분만을 추출하여 실험 처치를 한 것이 아니기 때문에 GABA 성분이 이 기전에 어느 정도 영향을 미쳤는지는 불분명하다.

운동이 고혈압 환자의 혈압을 떨어뜨리는 비 약물적 요법으로서 매우 효과적이라는 것은 이미 잘 알려진 사실이다. Roque 등(2012)은 SHR에 유산소 운동을 적용한 결과 산화스트레스(oxidative stress)의 감소나 산화질소(nitric oxide ; NO)의 생물학적 이용 가능성의 증가로 인해 장간막 동맥(mesentric arteries)의 콜라겐 축적을 감소시키고 혈관 내막 기능을 정상화시켜 혈압 감소에 긍정적 효과를 미치는 것으로 보고하였다. Ito(2012) 등도 SHR에 대해 운동을 적용한 결과 혈장과 소변 중 NOS(nitric oxide synthesis) 활동성 지표인 질산염/아질산염 비(nitrate/nitrite) 및 내막과 신경의 NOS 발현이 증가하여 혈압의 강하 및 이와 관련된 신장 보호 효과가 있음을 보고하였다.

운동의 종류에 따른 효과에 대해 Higuchi 등(1985)은 SHR을 대상으로 강제적 운동(forced exercise) 및 자발적 운동(voluntary exercise)를 적용한 결과 대동맥 콜라겐 축적 및 수축기 혈압이 강제적 운동군에 비해 자발적 운동군에서 유의하게 낮은 것으로 보고하였으며, Fukao 등(2010)도 자발적 운동이 항염효과를 통한 동맥경화성 병변 진행의 감소를 통해 혈관 내막 기능을 유의하게 보존 할 수 있는 것으로 보고하여 고혈압에 대한 자발적 운동의 효율성을 지적하였다. 하지만 SHR을 대상으로 24주간 동안 자발적 휠 운동을 할 수 있는 환경을 조성하고 운동이 대동맥 두께 및 맥파전파 속도에 미치는 영향에 대해 연구한 원상연 등(2012)의 연구 결과를 살펴보면 SHR 수컷의 경우 중막 두께 및 맥파전파 속도가 비운동군에 비해 운동군에서 유의하게 낮았으나 암컷의 경우와는 상반되게 주령의 진행에 따라 체중 및 혈압의 증가에 반비례하여 운동량도 동반하여 저하되는 문제점이 나타났다. 따라서 이를 보완할 수 있는 방법의 마련이 필요하다고 할 수 있다.

이에 관해 An 등(2006)은 ICR 마우스에게 클로렐라를 급여한 결과 강제적 수영훈련(forced swimming test)에서 초기 우울증과 유사한 반응(depression-like behavior)을 보이던 쥐들이 클로렐라 섭취 후 비활동성 시간(immobility time)이 줄어들고 지구력이 증대되는 효과가 나타난다고 보고하였다.

따라서 본 연구에서는 교감신경계 억제효과를 통해 혈압 강하 효과 및 지구력 증진 효과가 있다고 보고된 GABA 클로렐라 섭취와 자발적 운동의 복합처치가 자연발생고혈압쥐의 혈압, 주행량 및 항산화효소에 미치는 영향을 살펴보고자 한다.

II. 연구 방법

1. 실험동물 및 처치

본 실험의 대상 동물은 4주령 된 SHR 수컷 24마리를 분양 받아 실험실 환경에서 2주간의 적응기간을 둔 후 무작위 표

본 추출법으로 아래와 같이 4개 그룹으로 분류하였고, 클로렐라 급여 군의 경우 클로렐라 섭취 적응을 위해 별도로 2주간의 적응기간(혼합 급여) 기간을 두었다. 그룹 별 특징은 <표 1>과 같다.

- (a) SHR 통제군 (SHR control ; SHR-C)
- (b) SHR 운동군 (SHR voluntary exercise ; SHR-Ex)
- (c) SHR 클로렐라 섭취군 (SHR chlorella intake ; SHR-CI)
- (d) SHR 복합처치군 (SHR cholorella intake and voluntary exercise ; SHR-CEx)

실온은 사육 기간 중 에 21 ℃ ~ 25 ℃ 사이를 유지하였다. 하루 중 아침 7시부터 밤 7시까지를 낮(明期)으로 삼아 실내를 밝히고, 그 뒤 밤 7시부터 아침 7시까지를 밤(暗期)으로 삼았다. 사료는 통제군 및 운동군의 경우 익스트루전 고품 사료를 생수와 함께 자유롭게 섭취하도록 하였으며, SHR 클로렐라 섭취군 및 복합처치(클로렐라 급여+자발적 운동)군은 클로렐라 섭취의 적응을 위하여 2주 동안 클로렐라/고형사료 분말의 배합비율을 30, 40, 50, 70, 80, 100 %을 적용하였다. 클로렐라 급여 적응기간 후에는 체중 1 kg 당 0.5 mg의 GABA 양을 계산하여 적용하였다. 클로렐라에 함유된 영양소의 양은 <표 2>와 같다.

사육환경은 42×26×19h (cm) 의 특수제작한 우리 안에서 사육하였으며, SHR 운동군 및 복합처치군은 비운동군과 같은 크기의 우리 측면에 지름 36 cm, 폭 10 cm의 쳄바퀴가 설치되어 자발적인 운동이 가능한 우리(Panlab, Rodent Activity Wheel, LE904) 안에서 사육하였다.

2. 실험동물의 체중, 혈압 및 주행량 측정

체중은 매주 1회 일정한 시간에 CAS社의 체중계를 이용하여 측정하며, 식이섭취에 의한 체중 변화를 막기 위해 체중 측정 1시간 전에 사료와 음료의 섭취를 제한하였다. 혈압의 측정은 일본 Muromachi kikai社의 BP Monitor MK-1100를 이

Table 1. Characteristics of animals

	n	WT(g)	SBP(mm/Hg)	DBP(mm/Hg)
SHR-C	6	156.96±8.67	144.40±5.33	90.30±4.94
SHR-Ex	6	157.98±10.45	143.80±4.20	93.00±5.09
SHR-CI	6	161.56±10.02	147.20±3.80	97.20±2.86
SHR-CEx	6	152.48±15.78	143.00±4.94	89.40±3.78

Note. Values are mean±SD. WT : body weight ; SBP : systolic blood pressure ; DBP : diastolic blood pressure.

용하여, 혈압 측정 중 움직임을 방지하기 위하여 체중에 맞는 크기의 플라스틱 홀더(animal holder)로 몸체를 고정하였으며, 고정된 실험동물은 35 °C로 유지되는 플라스틱 챔버에서 최대한 안정을 취할 수 있게 한 후, 홀더를 측정기에 고정시키고 꼬리에 tail-cuff를 연결시켜 측정을 하였다. 측정은 총 6회로 하였으며, 최고치와 최저치를 제외하고, 4개 값의 평균값을 계산하였다.

우리 안에서 사육된 쥐는 우리의 고정된 부분과 쳃바퀴 부분 사이를 자유롭게 이동할 수 있도록 하였다. 쳃바퀴를 회전시키는 활동을 자발적인 운동으로 보고 쳃바퀴에 카운터를 부착하여 회전수를 1주일마다 측정하였으며, 회전수에 원의 길이를 곱하여 주행량을 산출하였다. 또한 체중 및 식이섭취량도 원칙적으로 1주일마다 측정하였다.

3. 항산화효소 측정

1) Superoxide dismutase(SOD) 활성도 측정

혈청 SOD 활성의 측정은 Oyanagui의 방법에 따라 정량화

하였다. 혈청을 인산칼륨 완충액으로써 100배 희석하여 그 중의 100 µl를 시험관에 넣고 여기에 증류수 500 µl, 시약 A [3 mM hydroxylamine / 3 mM hypoxanthine] 200 µl 및 시약 B [7.5 mU/mL xanthine oxidase(XOD) with 0.1 mM edta-2Na] 200 µl를 넣고 vortex에서 혼합한 다음, 37 °C 수조에서 40분간 정치한다. 반응액에 시약 C [300 mg of sulfanilic acid/5.0 mg N-1-naphthyl-ethyl-enediamine in 500 ml of 16.7 % acetic acid] 2.0 ml를 넣어 혼합하여 실온에서 20분간 동안 정치한다 다음 550 nm에서 흡광도를 측정하여 표준 검량선에 준하여 혈청 중의 superoxide dismutase 활성을 측정한다.

2) Malondialdehyde(MDA) 변화량 측정

혈청 lipid peroxide의 함량은 Yagi의 방법에 따라 혈청에 1/12N H₂SO₄와 10 % 인텡스텐산(phosphotungstic acid)을 가하여 25 °C에서 5분간 사전배양(preincubation)한 후 원심분리하여 침전물인 혈청단백질만 취하여 다시 1/12N H₂SO₄와 10 % 인텡스텐산을 가하여 원심분리한 후 침전물만을 취하여 증류수 1 ml 와 0.67 % 티오바르비투르산(thiobarbituric acid)과 50 % 아세트산을 가하여 95 °C에서 50분간 반응시켜 실온에서 냉각 후 n-BuOH을 5 ml를 첨가하여 10분간 원심분리하여 생성된 홍색의 n-BuOH층을 취하여 분광형광계를 사용하여(Ex : 515 nm, EM : 553 nm) 흡광도를 측정하여 표준곡선에서 그 함량을 혈청 1 ml malondialdehyde nmole로 표시한다.

3) Catalase(CAT) 활성도 측정

Aebi 방법에 따라 측정한다. 50 mM 인산완충액(pH 7.0)으로 희석시킨 측정 시료 2.0 ml에 30 mM H₂O₂용액 1.0 ml를 넣은 후 20 °C에서 파장 240 nm에서의 흡광도 변화를 측정한다. 효소의 활성도는 1분 동안 1 umol의 H₂O₂를 분해시키는 효소의 양을 1 unit로 표시한다.

4) Glutathione peroxidase(GPx) 활성도 측정

검체는 헤파린으로 처리된 전혈을 넣었으며, 전 처리과정은 kit속에 들어있는 reagent diluent 1 mL에 헤파린으로 처리된 전혈 0.05 mL를 가한 후 5분간 실온에서 배양한다. 위의 용액에 double strength Drabkin's solution 1mL을 추가한 후, 다시 Drabkin's solution을 가한 후, 자동분석기를 이용하여 20분 이내에 검사를 실시한다.

이 후 Drabkin's 농축액(20 mL)을 480 mL의 증류수에 희석하여 사용하였으며, 340 nm의 흡광도로 측정한다.

Table 2. The ingredient of chlorella

	(mg/100g)		(mg/100g)
Glutamic acid	5061	GABA	0.3
Lysine	4460.3	CGF	0.25
Leucine	4041.4	Calcium	1005.2
Aspartic acid	3935.7	Cystine	734
Alanine	3690.4	Potassium	686.9
Arginine	2946.9	Magnesium	481.3
Glycine	2494.2	Folic acid	116.7
Valine	2464	β-carotene	37.6
Chlorophyll	2325.2	Sodium	30.2
Tyrosin	2100.7	Niacin	20.67
Proline	2094.4	Vitamin D	8.8
Threonine	2084	Zinc	6.5
Phenylalanine	2002.3	Pantothenic acid	2.1
Serine	1875.7	Pheophorbide	0.2
Histidine	1807.6	Copper	0.1
Tryptophan	1643.9	Chrome	0.05
Isoleucine	1531.9	Iodine(µg/100g)	99.9
Methionine	1201.4	Vitamine K(")	26
Phosphorus	1028.1	Vitamine D(")	8.8

Note. Adapted from "Antifatigue effect of chlorella vulgaris in mice," by An, H. J., Seo, S. W., Sim, K. S., Kim, J. S., Kim, E. H., Lee, M. O., et al., 2006, Korean J. Food & Nutr., 19, p. 172.

5. 자료처리 방법

SPSS-PC (version 18.0)를 이용하여 평균과 표준편차 (M±SD)를 산출하였고, 12주간의 프로그램 실시에 따른 측정값의 변화를 알아보기 위하여 측정시기와 집단을 각각 독립변인으로 하는 반복측정 이원변량분석(two-way ANOVA with repeated measure)을 실시하여 결과를 산출하였다. 또한 집단 간 각 변인의 차는 일원변량분석(one-way ANOVA)을 이용하여 검증하였으며, 사후검증(post-hoc analysis)은 LSD 기법을 이용하였다. 모든 통계는 $p < .05$ 수준에서 통계적 유의도를 검정하였다.

III. 연구 결과

1. 체중, 주행량 및 혈압의 변화

실험 기간 중 각 군 별 체중의 변화를 나타낸 것은 <그림 1>과 같다. 고형사료를 자유롭게 섭취한 SHR-C 및 클로렐라 섭취 SHR-CI 군에 비해 운동을 실시한 두 군 모두 체중의 증가가 낮은 양상이 나타났으며, SHR-CEX 경우 18주에 이르러서는 다른 세군에 비해 체중이 유의하게 낮은 것으로 나타났다($p < .01$).

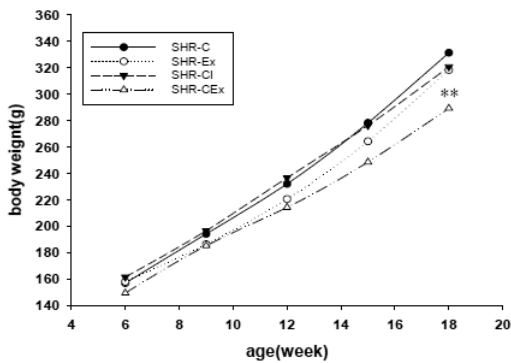


Fig. 1. Body weight of each group

** $p < .01$ significantly different from control group

실험 기간 중 자발적 휠 달리기 운동을 실시한 SHR-Ex 및 SHR-CEX 군의 주행량을 나타낸 것은 <그림 2>와 같다. 두 군 모두 실험 시작 후 10주 까지 가파르게 주행량이 증가하는 모습을 볼 수 있었는데, 10주 이후 주행량이 서서히 감소하는 양상을 보인 SHR-Ex 군에 비해 클로렐라 섭취와 운동

을 병행 한 SHR-CEX 군에서는 주행량이 감소되지 않고 유지되는 양상이 나타났으며, 10주 이후에는 두 군 간 통계적으로 유의한 차이가 나타났다 ($p < .01$).

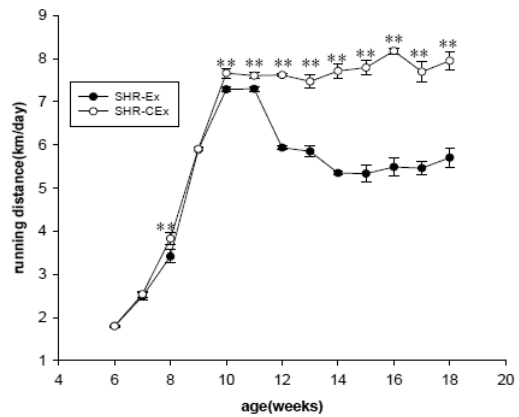


Fig. 2. Running distance of each group

** $p < .01$ significantly different from SHR-Ex group

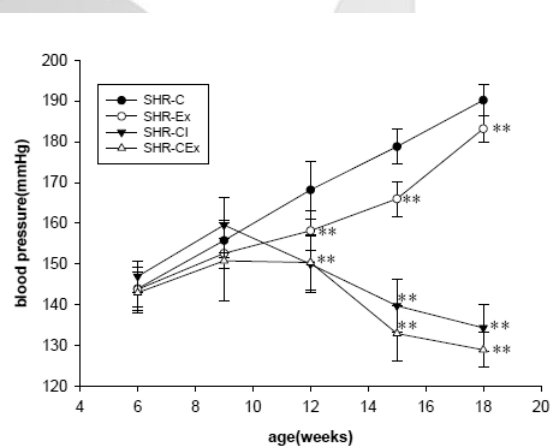


Fig. 3. Systolic Blood pressure of each group

** $p < .01$ significantly different among groups

실험 기간 중 혈압의 변화 각 군 별 혈압의 변화를 나타낸 것은 <그림 3>과 같다. 실험 시작 후 9주 까지는 각 군 모두 증가하는 양상을 나타내었고, 그 후 SHR-C와 SHR-Ex에서는 지속적으로 증가하는 양상을 나타냈으나, 클로렐라를 섭취한 SHR-CI 군과 클로렐라 섭취와 운동을 병행한 SHR-CEX 군에서는 SHR-C에 비해 혈압이 유의하게 떨어지는 양상을 보였다($p < .01$). SHR-Ex군은 클로렐라 섭취 군에 비해 혈압이 상승되는 경향이 나타났으나, 12주 이후 부터는 SHR-C에 비해 유의하게 낮은 것으로 나타나 비록 클로렐라 섭취군에 비해 그 정도는 작았지만 자발적인 휠 달리기 운동이 혈압 강하에 효과가 있는 것으로 나타났다($p < .01$). 또한 클로렐라

섭취군의 경우 SHR-C 및 SHR-CI 군에 비해 혈압이 유의하게 낮았으나, 두 군 간에 혈압에 있어 클로렐라 섭취와 운동을 병행한 군이 혈압이 낮은 값을 나타냈으나 두 군 간 유의한 차이는 없었다.

2. 항산화 효소

실험 기간 전, 후 군 별 SOD의 변화 값은 <그림 4>와 같다. SHR-C 및 SHR-CI의 경우 실험 전, 후 SOD 값의 유의한 변화가 없었으며, SHR-Ex 및 SHR-CEx의 경우 실험 전에 비해 실험 후 SOD의 유의한 증가가 나타났다. 그룹 간 비교에서는 SHR-CEx가 SHR-CI에 비해 실험 후 유의하게 SOD 값이 증가한 것으로 나타났다($p < .01$).

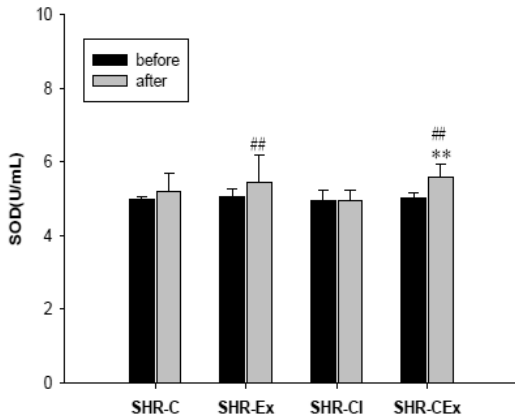


Fig. 4. Values of SOD

^{**} $p < .01$ significantly different from SHR-CI group,
^{##} $p < .01$ significantly different within group

실험 기간 전, 후 GPx 활성도의 변화는 <그림 5>와 같다. SHR-C 및 SHR-CI의 경우 실험 전, 후 GPx 값의 유의한 변화가 없었으며, SHR-Ex 및 SHR-CEx의 경우 실험 전에 비해 실험 후 GPx의 유의한 증가가 나타났다($p < .01$). 그룹 간 비교에서는 SHR-Ex 및 SHR-CEx가 SHR-C 및 SHR-CI에 비해 실험 후 유의하게 GPx 값이 증가한 것으로 나타났으나($p < .01$), SHR-Ex와 SHR-CEx 간에는 유의한 차가 나타나지 않았다.

실험 기간 중 각 군 별 CAT 값의 변화는 <그림 6>과 같으며, 어떤 그룹에서도 집단 내 및 집단 간 유의한 차가 나타나지 않았다.

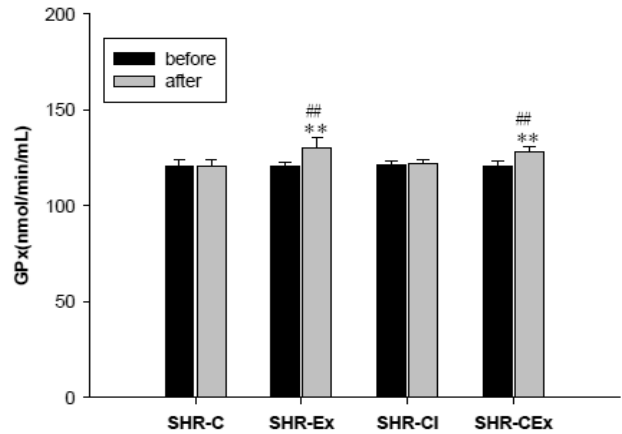


Fig. 5. Values of GPx

^{**} $p < .01$ significantly different among groups
^{##} $p < .01$ significantly different within group

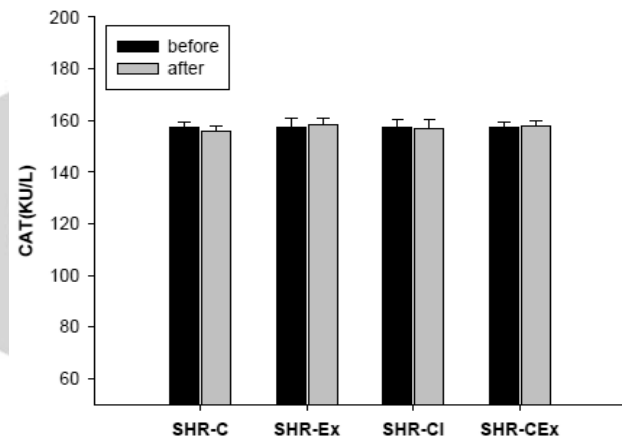


Fig. 6. Values of CAT

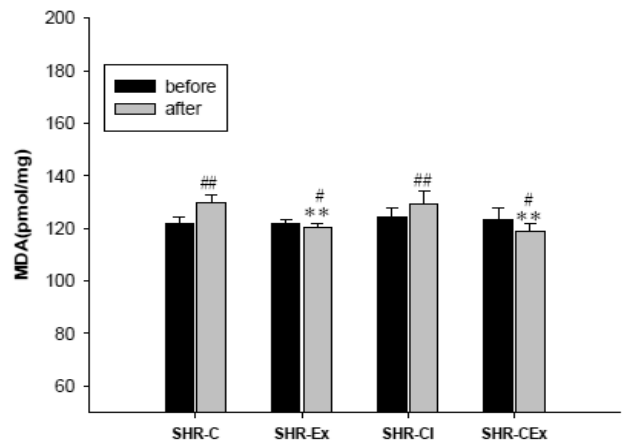


Fig. 7. Values of MDA

^{**} $p < .01$ significantly different among groups
[#] $p < .05$ significantly different within group
^{##} $p < .01$ significantly different within group

실험 기간 중 각 그룹 별 MDA 값의 변화는 (그림 7)과 같다. 실험 전에 비해 실험 후 모든 집단에서 집단 내 MDA 값의 유의한 변화가 있었는데, SHR-C 및 SHR-CI 그룹에서는 통계적으로 유의하게 증가되었으며($p < .01$), SHR-Ex 및 SHR-CEx에서는 유의하게 감소되었다($p < .05$). 또한 그룹 간 차이에 있어서는 SHR-Ex 및 SHR-CEx에서 SHR-C 및 SHR-CI에 비해 유의하게 감소되었다($p < .01$).

IV. 논의

본 연구는 인간의 본태성 고혈압 및 심혈관계질환 동물 모델로 가장 일반적으로 사용되는 자연발생고혈압쥐 (SHR)에게 자발적 휠 달리기 운동을 할 수 있는 환경과 혈압 강화 효과가 있다고 알려진 GABA 성분이 풍부한 클로렐라 급이를 통해 자발적 운동, 클로렐라 급이, 클로렐라 급이 및 자발적 운동의 복합처치가 SHR의 혈압, 주행량 및 혈중 항산화 효소에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다.

신체적 특성인 체중변화에 있어 자발적 운동을 수행했던 운동군과 운동 및 클로렐라 복합처치군에서 통제군 및 클로렐라 단독 급이 군에 비해 체중의 증가가 적었다. 본 연구에서 제시하지는 않았지만 자발적 운동에 참가했던 두 그룹에서 비 운동군에 비해 식이섭취량이 줄어들지 않은 것은 자발적 운동의 특성 상 운동에 따른 큰 스트레스가 주어지지 않았다는 것을 의미하는 것으로 정상적 급이가 이루어졌음에도 비 운동군에 비해 체중의 증가가 적었다는 것은 자발적 휠 운동에 따른 체중 감소 효과를 나타내는 것이라 할 수 있다.

본 실험 기간 중 나타난 두 운동군의 휠 운동량을 살펴보면 10주 이후로 클로렐라를 섭취하지 않은 SHR-Ex에서는 운동량이 감소되는 경향이 나타났으나, 클로렐라 섭취한 SHR-CEx에서는 운동량이 줄어들지 않았다. SHR-Ex에서 운동량이 줄어든 것은 원상연 등(2012)의 실험결과와 유사한 것으로 SHR-CEx에서 9주 이후 혈압이 떨어지는 경향을 보인 것에 반해 비록 통제군 보다는 적었지만 운동군에서도 혈압이 지속적으로 증가한 것이 체중의 증가와 더불어 운동량 감소에 영향을 미친 것으로 생각된다. 클로렐라 섭취와 운동량과의 관계에 대해 An 등(2006)의 연구를 살펴보면 ICR 마우스를 대상으로 클로렐라를 섭취시킨 결과 강제수영 테스트(forced swimming test; FST)에서 비운동성 시간(immobility time)이 유의하게 감소되어 클로렐라 섭취가 항

피로 효과로 인한 지구력 증가 효과가 있는 것으로 보고하였다. Fukao 등(2010)은 apolipoprotein E-deficient 쥐를 대상으로 자발적 운동이 동맥경화성 병변 형성의 진행에 미치는 영향에 연구에서 1일 평균 주행거리와 동맥경화 병변 넓이 사이에 강한 부적 상관관계가 존재하며, 고지방 식이를 하였음에도 왕성한 활동력을 보인 그룹에서 내막 기능이 유의하게 보존되었다고 보고하였는데, 이와 같은 결과는 고혈압 및 동맥경화 환자에게 운동량의 유지가 매우 중요한 조건이 됨을 시사한다고 할 수 있다. 본 연구에서 클로렐라를 섭취한 운동군에서 유의하게 운동량이 증가 또는 유지된 것은 클로렐라 섭취로 인한 혈압 강하와 더불어 지구성 운동의 수행능력이 향상되었기 때문이라 생각되며, 인간의 실생활과 유사한 자발적 운동의 환경(Hägg et al., 2004)에서 운동을 지속하는데 도움을 주는 건강 보조제로서 클로렐라 섭취가 중요한 가치를 지니고 있음을 알 수 있다.

본 연구에서 나타난 혈압의 변화 양상을 살펴보면 클로렐라를 섭취한 SHR-CI 및 SHR-CEx에서는 혈압이 9주 이후 점점 떨어지는 양상을 나타냈지만, 클로렐라를 섭취하지 않은 통제군(SHR-C) 및 운동군(SHR-CEx)에서는 지속적으로 증가하는 양상을 보였다. 일반적으로 중추 또는 말초 신경에 대한 교감신경 활동이 혈압 조절의 중추적인 역할을 담당하고 있으며, 고혈압은 인간과 동물 모두 교감신경의 활동이 증가되어 있는 경우에 발생한다. 고혈압 동물 모델인 SHR의 경우 시상하부에서 안지오텐신 II가 노르에피네프린의 분비를 촉진하는 작용이 정상 혈압 쥐에 비해 현저한 것으로 보고되고 있다(Tsuda, 2012). 특히 성별에 있어 숫컷은 암컷에 비해 상대적으로 고혈압에 더 취약한데, 이는 암컷이 혈장 및 조직 내 안지오텐신 II 농도가 적으며 신장과 같은 표적기관 표면에 안지오텐신 T₁ 수용기(angiotension T₁ receptor : AT₁Rs)의 수가 적어서 이를 매개로 한 혈관수축작용이 약하고, 숫컷의 경우 Y chromosome이 교감신경의 흥분작용과 밀접한 관계가 있고, 성호르몬도 혈압의 조절에 중요한 역할을 하고 있는 것으로 보고되고 있다(Sandberg & Ji, 2012). 따라서 본 실험에 사용된 숫컷 SHR의 경우 고혈압을 일으키는 기전에 신경생리학적 측면이 중요한 역할을 담당하고 있는 것으로 보이며 실제 자발적 운동군인 SHR-Ex에 비해 자발적 운동이 없이 클로렐라만 섭취한 SHR-CI에서 더 큰 혈압강하 효과가 나타난 것이 이 사실을 뒷받침 한다고 할 수 있다. 물론 Zamo 등(2011)은 SHR에 수영운동을 적용한 결과 레닌-안지오텐신 시스템에서 혈청 내 안지오텐신 II의 함량이 저하되어 혈압강하 효과가 있었음을 보고하였

고, Rossoni 등(2011)도 장기간 낮은 강도부터 중강도 운동을 지속적으로 실시한 결과 혈압이 감소되었으며 고혈압으로 유발 될 수 있는 심실세동맥과 좌심실 비대 및 혈관 내 콜라겐 축적과 같은 것들을 완화시킬 수 있는 것으로 보고하였다. 하지만 본 연구에서는 대조군인 SHR-C에 비해서는 그 상승 정도가 유의하게 적었지만 SHR-Ex에서 지속적인 상승 양상을 나타낸 것은 아마도 운동의 강도에 따른 문제라 생각되어지며 자발적 휠 운동에서 운동의 양은 측정할 수 있으나 운동의 강도를 통제하기가 어려운 특성 상 차 후 이와 관련되어 잘 통제된 연구가 필요하리라 생각된다.

고혈압은 반응성 산소종(reactive oxygen species ; ROS)의 증가로 인해 신장 기능의 이상 및 손상으로 이어질 수 있으며, 특히 뇌혈관에서의 산화스트레스와 염증반응을 유발시켜 혈관의 수축·이완 기능을 손상 시키는 것으로 보고되고 있다(Gomes et al., 2012 ; Toth et al., 2012). 특히 SHR의 세포는 H₂O₂ 로 유발된 세포 사멸(cell death)에 정상 혈압 쥐인 WKY에 비해 더욱 민감하며, 항산화효소 활성도가 낮아 H₂O₂ 의 저하가 상대적으로 낮은 것으로 보고되고 있다(Gomes et al., 2012). 본 연구에서는 클로렐라 섭취와 자발적인 운동이 이에 대한 항산화방어 시스템의 활성도에 미치는 영향을 살펴보고자 하였는데, 비록 CAT는 유의한 변화가 나타나지 않았으나, SOD 및 GPx는 자발적인 휠 운동 실시 후 증가하였으며, MDA는 감소하는 결과가 나타나 운동이 항산화 효소의 유의한 증가 및 산화스트레스 감소에 영향을 미쳤음을 확인 할 수 있었다. 하지만 클로렐라를 단독 섭취한 SHR-CI에서는 항산화 효소 활성도에 유의한 변화가 나타나지 않았다.

운동이 항산화 효소 활성에 미치는 영향에 대한 결과는 다양하다. Roque 등(2012)은 유산소 운동이 SOD 감소에 의한 산화스트레스 증가를 정상화 시키고 산화질소(nitric oxide)를 증가시켰음을 보고하였고, Azizbeigi 등(2012)은 점진적인 저항운동을 통해 적혈구의 SOD가 유의하게 증가하고, MDA가 유의하게 감소하였으나 GPx는 유의한 차이가 없음을 보고하였다. 또한 김시영과 송욱(2009)은 HRR60 %, HRR80 %에서는 SOD와 MDA 값에 감소하였으나 고강도 운동 후 증가한 산화스트레스로 인해 SOD와 MDA 값이 증가하였고, GPx는 운동강도에 비례하여 증가하였음을 보고하였다. 이처럼 운동을 통한 항산화효소의 활성도에 대한 연구 결과는 운동의 종류 및 강도에 따라 다양하고 항산화 효소의 종류에 따라 조금씩 다른 결과가 나타났지만 전반적으로 운동이 지니고 있는 항산화 효소 활성 및 산화스트레스의

감소에 긍정적 영향을 미치는 것으로 나타났다. 한편 Lee 등(2010)은 남성 흡연자에게 클로렐라 보충제를 6주 동안 복용토록 한 결과 혈중 CAT 및 SOD 활성도가 증가하였다고 보고하였으며, Aliahmat 등(2012)은 C57BL/6 쥐에게 클로렐라를 급이 한 결과 SOD의 변화 없이 GPx 증가하였고 CAT와 MDA는 감소된 결과를 보고하였다. 하지만 본 연구에서 클로렐라 복용 그룹이 기대와는 달리 항산화 효소 및 MDA 값에서 어떠한 변화를 보이지 않아 추후 이와 관련된 추가 연구가 필요하리라 생각된다.

V. 결론

본 연구에서는 자연발생고혈압쥐(SHR)을 대상으로 GABA 성분이 풍부한 클로렐라 섭취와 자발적 휠 달리기 운동이 혈압, 주행량 및 항산화효소에 미치는 영향을 살펴보고자 하였으며, 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. GABA 성분이 풍부한 클로렐라의 섭취와 운동 모두 SHR의 혈압 감소에 효과가 있었으며, 클로렐라 섭취 및 운동의 복합처치가 고혈압의 장기적 관리 차원에서 더욱 효과적인 것으로 나타났다.
2. 클로렐라 섭취는 주령의 진행에 따라 나타난 SHR 수컷의 운동량 감소 문제를 보완하는데 효율적인 것으로 나타났다.
3. 자발적 휠 달리기 운동은 SHR 수컷의 혈중 항산화 효소 활성도에 긍정적 영향을 미치는 것으로 나타났으나, 클로렐라 섭취는 별다른 영향을 미치지 못하는 것으로 나타나 향후 이와 관련된 추가 연구가 필요하리라 생각된다.

참고문헌

- 김시영, 송욱(2009). 다양한 운동강도가 혈장 지질과산화물, 항산화효소 및 염증성 사이토카인에 미치는 영향. 운동과학, 18(1) : 1-10.
- 원상연, 김정수, 윤진환, 오광훈(2012). 자발적인 휠 달리기 운동이 자연발생고혈압쥐의 대동맥 두께 및 맥파전파속도에 미치는 영향. 운동과학 21(3) : 299-308.

- Aliahmat, N. S., Noor, M. R., Yusof, W. J., Makpol, S., Nqah, W. Z., & Yusof, Y. A. (2012). Antioxidant enzyme activity and malondialdehyde levels can be modulated by piper betle, tocotrienol rich fraction and chlorella vulgaris in aging C57BL/6 mice. *Clinics*, 67(12) : 1447-1454.
- Akama, K., Kanetou, J., Shimosaki, S., Kawakami, K., Tsuchikura, S., & Takaiwa, F. (2009). Seed-specific expression of truncated OsGAD2 produces GABA-enriched rice grains that influence a decrease in blood pressure in spontaneously hypertensive rats. *Transgenic Res.*, 18 : 865-867.
- An, H. J., Seo, S. W., Sim, K. S., Kim, J. S., Kim, E. H., & Lee, M. O., et al. (2006). Antifatigue effect of chlorella vulgaris in mice. *Korean J. Food & Nutr.*, 19(2) : 169-175.
- Azizbeiqi, K., Azarbayjani, M. A., Peeri, M., Aqha-Alinejad, H., & Stannar, S. (2012). The effect of progressive resistance training on oxidative stress and erythrocyte antioxidant enzymes activity in untrained males. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.*, Retrieved from <http://journals.humankinetics.com/ijsnem>
- Fukao, K., Shimada, K., Naito, H., Sumiyoshi, K., Inoue, N., & Lesaki, T., et al. (2010). Voluntary exercise ameliorates the progression of atherosclerotic lesion formation via anti-inflammatory effects in apolipoprotein E-deficient mice. *J Atheroscler Thromb.*, 17 : 1226-1236.
- Gomes, P., Simao, S., Amaral, J. S., & Soares-da-Silva, P. (2012). Loss of oxidative stress tolerance in hypertensive is linked to reduced catalase activity and increased c-Jun NH(2)-terminal kinase activation. *Free Radic Biol Med.*, advance online publication, doi : 10.1016/j.freeradbiomed.2012.11.017
- Hägg, U., Andersson, I., Naylor, A. S., Grönros, J., Jonsdottir, I. H., & Bergström, G., et al. (2004). Voluntary physical exercise-induced vascular effects in spontaneously hypertensive rats. *Clin Sci(Lond.)*, 107(6) : 571-581.
- Hayakawa, K., Kimura, M., & Kamata, K. (2002). Mechanism underlying gamma-aminobutyric acid-induced antihypertensive effect in spontaneously hypertensive rats. *Eur J Pharmacol.*, 438(1-2) : 107-113.
- Hayakawa, K., Kimura, M., Kasaha, K., Matsumoto, K., Sansawa, H., & Yamori, Y. (2004). Effect of a gamma-aminobutyric acid-enriched dairy product on the blood pressure of spontaneously hypertensive and normotensive Wistar-Kyoto rats. *Br J Nutr.* 92(3) : 411-417.
- Higuchi, M., Hashimoto, I., & Yamakawa, K. (1995). Effect of exercise training on aortic collagen content in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Eur J Appl Physiol.*, 53 : 330-338.
- Ito, D., Ito, O., Cao, P. Y., Mori, N., Suda, C., & Muroya, Y., et al. (2012). Effects of exercise training on nitric oxide synthesis in the kidney of spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol.*, advance online publication. doi : 10.1111/1440-1681.12040
- Kasparov, S., & Teschemacher, A. G. (2008). "Altered central catecholaminergic transmission and cardiovascular disease." *Experimental Physiology*, 93(6) : 725-740.
- Kawasaki, T., Seki, E., Osajima, K., Yoshida, M., Asada, K., & Matsui, T., et al. (2000). Antihypertensive effect of valyl-tyrosion, a short chain peptide derived from sardine muscle hydrolyzate, on mild hypertensive subjects. *J Hum Hypertens.*, 14(8) : 519-523.
- Kawasaki, T., Jun, C. J., Fukushima, Y., Kegai, K., Seki, E., & Osajima, K., et al. (2002). Antihypertensive effect and safety evaluation of vegetable drink with peptides derived from sardine protein hydrolysates on mild hypertensive, high-normal and normal blood pressure subjects. *Fukuoka Igaku Zasshi.* 93(10) : 208-218.
- Lee, S. H., Kang, H. J., Lee, H. J., Kang, M. H., & Park, Y. K. (2010). Six-week supplementation with chlorella has favorable impact on antioxidant status in Korean male smokers. *Nutrition*, 26(2) : 175-183.
- Roque, F. R., Briones, A. M., Garcia-Redondo, A. B., Galán, M., Martínez-Revelles, S., & Avendaño, M. S., et al. (2012). Aerobic exercise reduces oxidative stress and improves vascular changes of small mesenteric and coronary arteries in hypertension. *Br J Pharmacol.*, advance online publication. doi : 10.1111/j.1476-5381
- Rossoni, L. V., Oliveira, R. A., Caffaro, R. R., Miana, M., Sanz-Rosa, D., & Koike, M. K., et al. (2011). Cardiac

- benefits of exercise training in aging spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens.* 29(12) : 2349-2358.
- Sandberg, K., & Ji, H. (2012). Sex differences in primary hypertension. *Biology of Sex Differences.* 3(7). doi : 10.1186/2042-6410-3-7
- Shimada, M., Hasegawa, T., Nishimura, C., Kan, H., Kanno, T., & Nakamura, T., et al. (2009). Anti-hypertensive effect of gamma-aminobutyric acid(GABA)-rich chlorella on high-normal blood pressure and borderline hypertension in placebo-controlled double blind study. *Clin Exp Hypertens.*, 31(4) : 342-354.
- Son, Y. A., Shim, J. A., Hong, S., & Kim, M. K. (2009). Intake of chlorella vulgaris improves antioxidative capacity in rats oxidatively stressed with dietary cadmium. *Ann Nutr Metab.*, 54(1) : 7-14.
- Tanaka, H., Watanabe, K., Ma, M., Hirayama, M., Kobayashi, T., & Oyama, H., et al. (2009). The effects of gamma-aminobutyric acid, vinegar, and dried bonito on blood pressure in normotensive and mildly or moderately hypertensive volunteers. *J Clin Biochem Nutr.*, 45(1) : 93-100.
- Toth, P., Csiszar, A., Sosnowska, D., Tucsek, Z., Cseplo, P., & Springo, Z., et al. (2012). Treatment with the cytochrome P450 ω -hydroxylase inhibitor HET0016 attenuates cerebrovascular inflammation, oxidative stress and improves vasomotor function in spontaneously hypertensive rats. *Br J Pharmacol.*, advance online publication. doi : 10.1111/bph.12079
- Tsuda, K. (2012). Renin-angiotensin system and sympathetic neurotransmitter release in the central nervous system of hypertension. *Int J Hypertens.*, advance online publication. doi : 10.1155/2012/474870
- Yuan, N., Zhang, F. Zhang, L. L., Gao, J., Zhou, Y. B., Han, Y., & Zhu, G. Q. (2012). SOD1 gene transfer into paraventricular nucleus attenuates hypertension and sympathetic activity in spontaneously hypertensive rats. *Pflugers Arch.*, Retrieved from <http://www.springer.com/biomed/human+physiology/journal/424>
- Zamo, F. S., Barauna, V. G., Chiavegatto, S., Irigoven, M. C., & Oliveira, E. M. (2011). The renin-angiotensin system is modulated by swimming training depending on the age of spontaneously hypertensive rats. *Life Sci.*, 89(3-4) : 93-99.

논문투고일 : 2012. 11. 30
 심사일 : 2013. 01. 15
 심사완료일 : 2013. 01. 30