수소수 음용이 운동에 의해 생성된 생체 내 ROS 제거 효능에 미치는 영향

신동성¹, 정성훈², 홍은영², 신연호², 박재여², 정명희^{1,3}, 노재열^{2,4}

¹가천대학교 의과대학 약리학교실, ²현성바이탈 생명과학연구원, ³가천대학교 의과대학 이길여암·당뇨연구원, ⁴성균관대학교 의과대학 약리학교실

Removal Effect of Hydrogen Water Drinking on Exercise-induced Production of Reactive Oxygen Species in Adult Men and Women

Dong-Sung Shin¹, Sung-Hoon Jung², Eun-Young Hong², Youn-Ho Shin², Jae-Yeo Park², Myung-Hee Chung^{1,3}, Jai Youl Ro^{2,4}

¹Gil Hospital Clinical Trail Center, Department of Pharmacology, Gachon University, Incheon; ²Hyunsung Vital Co., Ltd., Life & Science Research Center, Seoul; ³Gil Ya Cancer & Diabetes Institute, Gachon University, Incheon; ⁴Department of Pharmacology, Sungkyunkwan University School of Medicine, Suwon, Korea

PURPOSE: This study aimed to investigate whether hydrogen (H₂) water drinking reduced oxidative damage products (8-hydroxy-2-deoxyguanosine [8-oxo-dG], malondialdehyde [MDA], L-lactate) produced in blood after exercise-induced oxidative stress.

METHODS: Men (n=7) and women (n=8) (systolic blood pressure [BP]: 90-150 mmHg, diastolic BP: 60-100 mmHg) were recruited. Exercise was performed for 20 minutes (8 km/hr) using treadmill. Placebo or test group drunk water and hydrogen water (1.2-1.5 ppm, 1,000 mL), respectively, right after exercise. Three days after, the same experiment was performed in the cross-over manner. Blood samples were obtained 30 minutes before exercise, right after exercise, and 30, 60, 120 minutes after exercise. 8-oxo-dG, MDA and L-lactate in serum were determined using ELISA kit.

RESULTS: The blood levels of 8-oxo-dG were significantly increased after exercise (from 381 ± 9.4 to 524 ± 14.9 ng/mL for male; from 367 ± 13.5 to 509 ± 10.7 ng/mL for female). In the placebo group, the increased 8-oxo-dG at each time was not significantly different from the peak level induced by the exercise except that at 120 minutes in female. In the test group, its levels at each time were significantly lower than that in the peak level. The effect of hydrogen water was more pronounced in female than in male. The results obtained with MDA were quite similar to those with 8-oxo-dG. The L-lactate levels were not significant statistically in both groups.

CONCLUSIONS: The data suggest that the one time drinking of hydrogen water may suppress the exercise-induced oxidative stress.

Key words: Hydrogen water, ROS, 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-oxo-dG), Malondialdehyde (MDA), L-lactate

서론

2007년 Ohsawa et al. [1]은 흰쥐 뇌조직에 허혈-재 관류로 생성된 활성산소(reactive oxygen species, ROS)에 의한 뇌조직 손상이 수소(H₂)

흡입으로 억제되었고, 이어 수소는 ROS 중 반응성이 가장 높은 Hydroxyl Radical (HO·)만을 특이적으로 제거함을 관찰하고 수소의 항산화작용을 보고하였다. 이후 수소가 녹아 있는 수소수 음용에 의해 서도 동물에서 실험적으로 유발된 ROS가 관여하는 각종 질환[2] 및

Corresponding author: Jai Youl Ro Tel +82-70-4854-4807 Fax +82-70-4854-4853 E-mail jyro426@skku.edu

Co-corresponding author: Myung Hee Chung Tel +82-31-899-6025 Fax +82-32-899-6025 E-mail mhchung@gachon.ac.kr

*이 연구는 2018년도 (주) 현성바이탈 연구비로 수행되었음.

Keywords Hydrogen water, ROS, 8-oxo-dG, MDA, L-lactate

Received 30 Aug 2018 **Revised** 4 Oct 2018 **Accepted** 25 Oct 2018

© This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ROS가 관여한다고 알려지고 있는 여러 인체 질환[3]이 개선되고 있음이 보고되고 있다.

적당한 운동은 심폐기능 향상 및 근육량 유지 등 건강유지에 필수요건이 되고 있지만, 심한 운동은 과량의 ROS 생성을 유발하여 몸에 유해함이 알려져 있다[4]. 각종 항산화제가 운동에 의한 ROS 생성 억제 효과[5]가 있음이 관찰되어 운동 전후 항산화제 복용이 권장되고 있다. 이어 수소가 항산화작용이 보고되면서 사람에서 운동 후 나타나는 L-lactate 생성(피로도의 지표)[6], 심장기능[7] 및 대사성 산증(metabolic acidosis)[8]에 효과가 있음이 보고되었다.

상기 실험에서는 수소의 효과를 관찰하기 위하여 수소수 마시기를 반복하였고 실험에 따라서는 일일 2 L씩 마시기를 2주간 반복하였다. Ohsawa et al. [1]은 수소는 ROS 중 반응성이 가장 강한 HO·만을 제거할 뿐만 아니라, 기체가기 때문에 조직으로의 침투가 빠르고, 뇌-혈관장벽(Blood-Brain Barrier)을 잘 통과하고, 세포 내의 모든 소기관(Organelle)에 고루 침투하여 신속히 효과를 나타낼 수 있는 장점이 있다고 하였다. 이런 이유로 뇌졸중 발병 초기와 같은 응급 시에 유용한 치료제가 될 수 있다는 가능성을 제시하였다.

이에 본 연구에서는 운동에 의한 ROS 생성에 운동 직후 수소수 단 1회 복용으로 제거효과를 나타내는지를 관찰하여 수소수 효과의 신속성을 검토하기로 하였다. 운동 직후 단 1회 투여에 대한 효과는 말(馬)에서 실시된 경우[9]는 있어도 사람을 대상으로 실시한 연구는 없다. 현재 수소수 복용이 일반화되고 있는 현실을 고려할 때 수소수 효과의 신속성은 소비자에게 유용한 정보가 될 수 있다고 생각된다.

연구 방법

1. 연구 대상

본 연구의 사람 대상실험은 먼저 가천대학교 길병원 임상시험센터의 임상시험심사위원회(Institutional Review Board, [IRB])의 승인과 모

든 규약은 지역윤리위원회(local ethics committee)의 승인을 받았다. 또한 현재 실험은 Helsinki 선언에 따라서 행하였다.

모집 대상은 특별한 질환이 없는 35-45세 사이의 건강한 남자(7명, n=7)와 여자(8명, n=8) 중 수축기 혈압이 90 이상 150 이하, 이완기 혈압이 60 이상 100 이하인 자를 대상으로 하였다. 특히 간, 신장, 신경계, 호흡기계, 소화기계, 내분비계, 혈액, 중앙, 심혈관계, 생식기계, 정신질환, 안과질환, 피부질환 및 악성종양의 병력이 있었거나 현재 질환이 있는 사람은 제외하였다. 실험 전 피험자들에게 위험인자들을 인지시키고 시험에 대한 목적과 내용을 충분히 설명하여 적극적으로 실험에 참여하도록 동의를 구한 후 실험을 실시하였다. 본 연구의 피험자들의 신체적 특성은 Table 1과 같다.

2. 실험 설계

1) Placebo 실험군

피험자는 남자 7명(n=7), 여자 8명(n=8)으로, 시간당 8 km (8 km/hr)로 30분간 트레드밀(RC 7000L, Drax Corporation Ltd, Korea)에서 뛰게 하였다. 운동 30분 전, 운동 직후 혈액 2 mL를 채취하였다. 그리고 생수 1,000 mL를 1분 내에 마시게 한 후, 30, 60, 120분에 혈액 2 mL씩 총 5회 채취하였다. 운동량 설정은 남자 3인을 대상으로 실시한 예비실험에서 시간 당 10 km/hr 10분 하였을 때 혈청 내 DNA 손상물 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-oxo-dG)[10] (운동 전 352 ng/mL에서 564 ng/mL로 약 60% 증가)과 지질 손상물 malondialdehyde (MDA)[11] (운동 전 26 ng/mL에서 운동 후 41 ng/mL로 약 58% 증가)가 유의하게 증가함이 관찰되었다. 그러나 3인 중 2인이 10 km/hr의 속도를 몹시 힘들어 하면서 10분을 뛰었다. 이를 감안하여 본 실험에서는 속도를 시간 당 8 km (8 km/hr)로 낮추고 운동시간을 30분으로 늘려 실시하였다.

2) 수소수 실험군

예비실험에서 운동 후 증가된 혈청 내 8-oxo-dG와 MDA가 5시간에

Table 1. Subject characteristics.¹

ID	Men (n=7)				ID	Women (n=8)			
	Age (yr)	SBP (mmHg)	DBP (mmHg)	PR (beats/min)		Age (yr)	SBP (mmHg)	DBP (mmHg)	PR (beats/min)
R02	36	129	75	75	R01	45	105	70	68
R03	45	147	85	97	R05	38	149	93	83
R04	40	140	83	69	R06	45	134	91	77
R08	44	140	84	67	R07	38	121	76	66
R09	40	120	80	64	R10	44	108	60	87
R11	44	142	94	91	R13	42	141	89	93
R12	40	139	98	90	R14	41	112	71	80
					R15	45	120	71	71
Mean±SE	41±4.5	137±13.5	86±11.5	79±16.5		42±3.5	137±13.5	78±16.5	78±13.5

PR, pulse rate; SBP, systolic blood pressure; DBP, diastolic blood pressure.

¹Water drinking test date after exercise (first test): 2018. 02. 19. Hydrogen drinking test date after exercise (2nd test): 2018. 2. 22.

운동 전 수준으로 떨어졌다(data not shown). 따라서 3일이면 충분히 운동 전 상태로 회복된다고 판단하여 placebo 실험을 수행하고 3일 후에 같은 실험을 행하였다. 운동 30분 전, 운동 직후 혈액 2 mL를 채취하였다. 그리고 현성바이탈 복합형 또는 휴대용 수소수 제조기를 사용하여 제조된 수소수 1,000 mL를 마시게 한 후, 30, 60, 120분에 혈액 2 mL씩 총 5회 채취하였다.

3) 수소수 제조

(주) 현성바이탈이 제작한 복합형 수소수 제조기(Jivaqua 200) 혹은 휴대용 수소수 제조기(Jivaqua 350)를 사용하였다. 복합형 수소수 제조기는 수도관에 연결하여 곧바로 수소수(최고 1.3-1.4 ppm)를 생성할 수 있으며, 휴대용 수소수 제조기는 일반이 사용하는 500 mL 생수 페트병을 연결하고 전원으로 휴대전화 배터리에 연결하여 5분이면 1.1-1.2 ppm의 수소수가 생성된다. 이렇게 5분 동안 수소수 제조기에 연결하여 만들어진 수소수는 만든 직후 마시도록 하였다. 수소수 효능을 관찰한 많은 실험에서 수소수 농도는 실험에 따라 차이를 보이는데 최저 0.4 ppm에서 최고 1.2 ppm였다.

4) 혈청 분리

채취한 혈액은 30분 동안 상온에서 방치한 후, 원심분리로 혈청을 채취한 후 섭씨 -20°C 이하에서 냉동 보관하였다. 혈청을 이용하여 ROS에 의한 DNA 손상물 8-oxo-dG [10,11]와 MDA [12,13]를 측정하여 ROS의 생성 정도를 가늠하였다. 그리고 피로측정 지표로 사용되는 L-lactate [6,14]를 측정하여 피로에 미치는 영향을 알아보고자 하였다.

3. 측정 방법

1) 8-oxo-dG 측정

ROS에 의한 DNA guanine 염기의 변형물로서 ROS의 생성 여부를 측정하는 대표적인 지표인 8-oxo-dG 측정은 ELISA 방법을 사용하였다(Abcam, Cambridge, UK). 간단히 설명하면, 8-oxo-dG 항체를 96 well plate에 24시간 동안 코팅시킨 후 sample (피험자로부터 얻은 혈청)을 가하여 24시간 동안 반응시켰다. 반응 후, 세척용액(washing buffer)으로 5회 세척하였다. 그리고 samples를 각 well에서 HRP 효소에 대한 기질과 함께 반응하였다. 효소-기질 반응의 산물은 파란색 복합체를 형성하며, 마지막으로 반응 정지용액(stop solution)을 첨가하여 반응을 정지하였다. 색상 강도를 microplate reader에서 450 nm 분광 광도계로 측정하였다. 표준(standard) 물질인 8-oxo-dG (Cayman, Michigan, USA)를 기질로 사용하여 얻은 표준 곡선(standard curve)을 이용해서 각 8-oxo-dG 농도를 산출하였다[15].

2) MDA 측정

ROS에 의한 지질 분해 산물로서 생성되는 대표적인 지표인 MDA를 ELISA kit로 측정하였다(MyBioSource, San Diego, USA). 분석 samples (피험자로부터 얻은 혈청) 및 완충액을 MDA-HRP 접합체가 미리 코팅된 플레이트(pre-coated plate) well에 넣고 1시간 동안 반응하였다. 반응 후, 세척 용액(washing buffer)으로 5회 세척하고, 각 well에 HRP 효소에 대한 기질과 함께 반응하였다. 효소-기질 반응의 산물은 파란색 복합체를 형성하며, 마지막으로 반응 정지용액(stop solution)을 첨가하여 반응을 정지하였다. 색상의 강도는 microplate reader에서 450 nm 분광 광도계로 측정하였다. 표준(standard) 물질인 MDA (Cayman, Michigan, USA)를 기질로 사용하여 얻은 MDA 농도별 표준 곡선(standard curve)을 이용하여 각 MDA 농도를 산출하였다[16].

3) L-lactate 측정

ROS는 세포 내 L-lactate의 생성으로 인하여 피로-유발 요인이 되고 있다. L-lactate는 ELISA kit방법으로 측정하였다(Abcam, Cambridge, UK). 분석 samples (피험자로부터 얻은 혈청) 및 완충액을 L-lactate-HRP 접합체로 미리 코팅된 플레이트(pre-coated plate)에 첨가 후, 각 well에서 HRP 효소에 대한 기질과 함께 30분 동안 반응하였다. 효소-기질 반응의 산물은 파란색 복합체를 형성하며, 색상의 강도는 microplate reader에서 450 nm 분광 광도계로 측정하였다. 표준(standard) 물질인 L-lactate (Sigma-Aldrich, St Louis, USA)를 기질로 사용하여 얻은 L-lactate 농도별 표준 곡선(standard curve)을 이용하여 각 L-lactate 농도를 산출하였다[17].

4. 자료 통계처리

수소수 음용군과 음용 후 시간에 대한 영향을 분석하기 위하여, 선형혼합모형(generalized linear mixed effect model)을 이용한 분산분석 통계 모형을 이용하여 비교, 분석하였다. 본 통계 모형에서는 성별, 수소수 음용군, 음용 후 시간은 고정효과로 하고, 참여 대상자는 임의효과로 설정하였다. 분산분석 결과에서는 수소수 음용군과 음용 시간의 고정효과를 유의수준 .05에서 검정하였다.

연구 결과

1. 트레드밀 운동으로 인해 생성된 활성 산소종(ROS)이 DNA 염기변이에 미치는 영향

트레드밀 운동 직후, 남자(n=7)의 혈청 내 8-oxo-dG 생성은 운동 전과 비교하였을 때 현저히 증가하였다(381 ± 9.3 ng/mL에서 524 ± 14.9 ng/mL로 증가)(Fig. 1A). 운동 직후 1,000 mL 생수를 음용하였을 경우, 운동 직후와 비교하였을 때 시간에 따라 8-oxo-dG 생성량이 약하게

Fig. 1. Inhibitory effects of hydrogen water drinking on the production of 8-hydroxy-2-deoxyguanosine after exercise. Exercise were performed for 20 minutes at 8 km/hr in men ($n=7$) and women ($n=8$) using treadmill. Water or hydrogen water (1,000 mL, each group) was drunk right after exercise. Blood samples (2 mL) or drinking test were obtained as described in 'Methods'. 8-oxo-dG was determined in serum using ELISA kit. 8-oxo-dG, 8-hydroxy-2-deoxyguanosine. Experimental data are shown as mean $\pm$ SEM. *** $p<.001$ versus the before exercise. $^+p<.05$; $^{++}p<.01$; $^{+++}p<.001$ versus the right after exercise. $^{++}p<.01$ versus the placebo.

Fig. 2. Inhibitory effects of hydrogen water drinking on the production of malondialdehyde after exercise. Experimental details were described in the Fig. 1 legend. Malondialdehyde (MDA) was determined in serum using ELISA kit. MDA, malondialdehyde. Experimental data are shown as mean $\pm$ SEM. *** $p<.001$ versus the before exercise. $^+p<.05$; $^{++}p<.01$; $^{+++}p<.001$ versus the right after exercise. $^+p<.05$; $^{++}p<.01$ versus the placebo.

감소하였으나 유의성은 없었으며, 정상 수치로 회복되지도 않았다. 그러나, 1,000 mL 수소수를 음용하였을 경우, 수소수 음용 30분 이후부터 점진적으로, 유의성 있게 8-oxo-dG 생성량이 감소하여 정상 수치로 회복되었다. 수소수 음용 그룹과 생수 음용 그룹 간의 통계적 유의성은 없으나, 상호 차이를 나타내었으며, 수소수 음용군만이 음용 120분에 정상 수치로 회복되었다.

운동 직후 여자($n=8$)의 혈청 내 8-oxo-dG 생성량은 운동 전과 비교하였을 때 현저히 증가하였다(367 ± 13.5 ng/mL에서 509 ± 10.7 ng/mL로 증가)(Fig. 1B). 운동 직후 생수(1,000 mL)를 음용하였을 경우, 운동 직후와 비교하였을 때 8-oxo-dG 생성량이 시간에 따라 점진적으로 감소하여 생수 음용 120분에 통계적 유의성 있게 감소되었다($p<.05$). 그러나 정상 수치로 회복되지 않았다. 운동 직후 수소수(1,000 mL)를 음

용하였을 경우, 8-oxo-dG 생성량이 수소수 음용 30분 후부터 현저히 감소현상을 나타내었다($p<.001$). 또한 수소수 음용은 생수 음용과 비교 시 통계적으로 유의하게 감소를 나타내었다. 그리고 운동 직후 증가된 남자와 여자의 혈청 내 8-oxo-dG 생성은 생수 음용보다, 수소수를 음용하였을 경우 더 빠르게, 더 강하게 감소되었으며, 남자($p<.01$)보다 여자($p<.001$)가 더 강한 8-oxo-dG 제거 효과를 나타내었다.

2. 트레드밀 운동으로 인해 생성된 활성 산소종(ROS)이 지질 과산화에 미치는 영향

트레드밀 운동 직후, 남자의 혈청 내 MDA 생성은 운동 전과 비교하였을 경우, 현저히 증가하였다(28 ± 0.6 ng/mL에서 40 ± 0.7 ng/mL로 증가)(Fig. 2A). 운동 직후 생수(1,000 mL)를 음용하였을 경우, 운동 직후

Fig. 3. Inhibitory effects of hydrogen water drinking on the production of L-lactate after exercise. Experimental details were described in the Fig. 1 legend. L-lactate was determined in serum using ELISA kit. Experimental data are shown as mean $\pm$ SEM. * $p < .05$; ** $p < .01$; *** $p < .001$ versus the before exercise. + $p < .05$; + $p < .01$; +++ $p < .001$ versus the right after exercise.

와 비교하였을 때 시간에 따라 MDA 생성량이 생수 음용 60분 후부터 통계적으로 유의성 있게 감소하였으나($p < .05$), 정상 수치로 회복되지 않았다. 수소수(1,000 mL)를 음용하였을 경우, 수소수 음용 60분 이후부터 유의성 있게 MDA 생성량이 감소하였으며($p < .01$), 수소수 음용 120분 후에는 정상치 이하로 감소하였다($p < .001$). 또한, 수소수 음용과 생수 음용을 비교 시 통계적으로 유의성 있는 감소효과를 나타내었다($p < .05$).

운동 직후 여자의 혈청 내 MDA 생성량은 운동 전과 비교하였을 때 현저히 증가하였다(28 ± 1.2 ng/mL에서 45 ± 0.8 ng/mL로 증가)(Fig. 2B). 운동 직후 1,000 mL 생수를 음용하였을 경우, 운동 직후와 비교하였을 때 MDA 생성량이 수소수 음용 30분 후부터 유의하게 감소하였으나($p < .05$), 정상 수치로 회복되지 않았다. 그러나 수소수(1,000 mL)를 음용하였을 경우, 수소수 음용 30분 후부터 현저히 MDA 생성량 감소 현상을 나타내었다($p < .01$ at 30분; $p < .001$ at 120분). 또한, 수소수 음용은 생수 음용보다 현저히 강하게 MDA 생성량을 감소시켰다. 그리고 운동 직후 증가된 여자의 혈청 내 MDA 생성량($p < .001$)은 수소수를 음용하였을 경우 남자($p < .01$)보다 더 빠르게, 더 강하게 MDA 제거 효과를 나타내었다.

3. 트레드밀 운동으로 인해 생성된 활성 산소종(ROS)이

L-lactate 생성에 미치는 영향

트레드밀 운동 직후, 남자의 혈청 내 L-lactate 생성은 운동 전과 비교하였을 경우, 증가하였다(12 ± 0.8 nmol/μL에서 16 ± 0.3 nmol/μL로 증가)(Fig. 3A). 운동 직후 생수(1,000 mL)를 음용하였을 경우, 운동 직후와 비교하였을 때, 시간에 따라 L-lactate 생성량이 점진적으로 감소하여 120분에 유의하게 감소하였으나($p < .05$), 정상 수치로 회복되지는 않았다. 수소수(1,000 mL)를 음용하였을 경우, 수소수 음용 이후 점진

적으로 L-lactate 생성량이 감소하였으나 통계적 유의성은 없었다. 그리고 생수 음용과 수소수 음용군 간의 상호 유의성 또한 없었다.

운동 직후 여자의 혈청 내 L-lactate 생성량은 운동 전과 비교하였을 때 현저히 증가하였다(8 ± 0.8 nmol/μL에서 16 ± 0.5 nmol/μL로 증가)(Fig. 3B). 운동 직후 1,000 mL 생수를 음용하였을 경우, 운동 직후와 비교하였을 때 L-lactate 생성량이 생수 음용 후부터 점진적으로 감소하여 120분 후에 유의하게 감소하였으나($p < .01$), 정상 수치로 완전히 회복되지는 않았다. 수소수(1,000 mL)를 음용하였을 경우, 수소수 음용 30분 후부터 점진적으로 감소하여 수소수 음용 60분 후에 유의성 있게 감소현상을 나타내었다($p < .01$ at 60분; $p < .001$ at 120분). 이와 같이 수소수 음용은 생수 음용보다 약간 강하게 L-lactate 생성량을 감소시켰다. 그러나 운동 직후 증가된 남자와, 여자의 혈청 내 L-lactate 생성은 생수 음용군과 수소수 음용군 간에 상호 차이를 나타내지 않았다. 남자의 운동 전 정상 L-lactate 생성량(정상 수치, 12 ± 0.8 nmol/μL)은 여자의 정상 수치(8 ± 0.8 nmol/μL)보다 약 40% 이상 높은 수치를 나타내었다.

논 의

본 연구에서는 수소가스(수소)가 항 산화작용을 가지고 있다는 보고[1]에 근거하여 수소가스가 단 일회 음용으로 심한 운동으로 생성된 ROS 제거 효과가 있는지를 직접 확인하고자 하였다. 8-oxo-dG, MDA 및 L-lactate 모두 운동에 의하여 유의하게 상승하였다. 세 물질의 이같은 상승은 모두 시간 경과에 따라 감소하였으나, 8-oxo-dG와 MDA의 경우 수소수를 음용한 그룹에서 유의하게 감소하였고, 이같은 감소는 여자 그룹에서 더 현저하였다. L-lactate의 경우에도 수소수 그룹에서 감소 효과를 나타내었으나 통계적 유의성은 없었다. 이상의 결과로부

터 수소수는 1회 음용으로 운동 후 생성된 ROS 제거에 효과가 있음을 알 수 있었다.

Aoki et al. [6]은 20세 남자 축구 선수 10명에게 실험 전날 오후 10시, 실험 당일 오전 5시, 그리고 오후 6시 20분에 각 500 mL씩, 총 1,500 mL의 수소수(0.92-1.02 ppm)를 음용하고 자전거 타기(최대 산소소비의 75%) 및 무릎 펴기(100회)를 시켰다. 수소수를 음용한 그룹에서 혈중 젖산 상승이 현저히 저하되었고, 무릎 펴기 힘의 세기가 커졌음을 관찰하였다. 본 연구에서는 L-lactate에 대한 수소수의 효과가 뚜렷하지 않았는데 아마도 운동의 강도가 낮아 L-lactate 생성이 적었기 때문이거나 또는 운동 전 수소수를 여러 회 나누어 마시게 하지 않고 운동 후 단지 1회 음용하게 한 것이 원인으로 추측된다.

Ohsawa et al. [1]에 의해 수소가스의 항산화작용이 쥐의 뇌졸중에 치료 효과가 있음이 보고된 이래 수소수의 항산화작용은 많은 동물 실험에서도 확인되었다. 심장[18], 폐[19] 및 간[20]에 허혈-재관류를 시행하면 ROS 생성으로 조직손상이 일어나는데 허혈-재관류 후 수소가스를 흡입시키면 각 장기에서 일어나는 조직손상이 유의하게 감소되었다. 같은 원리로 이식된 콩팥[21]에서 일어나는 손상도 수소수 복용으로 유의하게 경감되었다. 또한 6-hydroxydopamine 또는 MPTP (1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine) 처리에 의한 흑질의 파괴[22], cisplatin 투여에 의한 콩팥 손상[23], DDS (dextran disulfate) 투여에 의한 궤양성 대장염(ulcerative colitis)[24] 등 ROS 생성으로 조직 손상을 유발시키는 화합물에 의한 유해 작용도 수소수 복용으로 경감됨이 관찰되었다.

수소수의 효능은 임상실험에서도 관찰되었다. 당내성장장애(impaired glucose tolerance) 및 제2형 당뇨병(Type 2 diabetes mellitus) 환자에게 하루 900 mL 수소수(1.2 ppm)를, 다른 그룹은 900 mL의 증류수를 8주간 마시게 하였다. 12주 후 이번에는 수소수를 준 그룹에게는 증류수를, 증류수를 준 그룹에게는 수소수를 8주간 마시게 하였다. 수소수를 마신 그룹에서 혈중 콜레스테롤, LDL, 지방산 그리고 요에서 MDA 함량이 유의하게 감소하였고, 혈중 아디포넥틴(adiponectin) 및 SOD 농도가 증가하였다[25,26]. 그 외에도 투석 치료에 의한 부작용[27], 급성 뇌경색[28], 염증성 근육 질환[29], 홍반성 피부질환[30], 방사선 치료에 의한 부작용[31] 그리고 류마티스 관절염(rheumatoid arthritis)[32] 등의 환자에게 수소수 복용 또는 주사로 효과 있음이 보고되었다. 이상의 실험 결과에 의하여 수소가스의 항산화작용은 확인되었고 이에 근거하여 많은 연구자들은 수소가스의 치료제 개발에 집중하고 있다.

그러나 현재 시중에는 아주 편리하게 수소수를 제조할 수 있는 기기가 판매되고 있어 일상생활에서 누구나 쉽게 수소수를 마실 수 있다. 이런 상황에서 수소수는 질병 치료에 앞서 질병 예방에 그 유용성이 있을 것으로 예상된다. 이와 관련하여 본 연구에서는 수소수의 ROS 제거 능력을 생활에서 자주 유발되는 산화적 스트레스 즉 운동에 의한 ROS 생성이 수소수 복용으로 신속히 억제되는지를 직접 확인하고

자 하였다. 본 연구에서는 운동 직후 1회 복용에 의해서도 ROS 감소효과를 관찰할 수 있었다.

결론

수소수는 단 1회 복용으로도 운동 후 급성으로 생성된 ROS를 제거하는 효과가 있음을 확인할 수 있었다. 따라서 이같은 수소수의 효능을 고려할 때 수소수 음용은 산화적 스트레스 해소에 도움이 되는 음료라고 생각된다.

REFERENCES

1. Ohsawa I, Ishikawa M, Takahashi K, Watanabe M, Ohta S, et al. Hydrogen acts as a therapeutic antioxidant by selectively reducing cytotoxic oxygen radicals. *Nat Med.* 2007;13(6):688-94.
2. Hayashida K, Sano M, Kamimura N, Yokota T, Suzuki M, et al. Hydrogen inhalation during normoxic resuscitation improves neurological outcome in a rat model of cardiac arrest independently of targeted temperature management. *Circulation.* 2014;130(24):2173-80.
3. Ohta S. Molecular hydrogen as a novel antioxidant: overview of the advantages of hydrogen for medical applications. *Methods Enzymol.* 2015;555:289-317.
4. Thirupathi A, Pinho RA. Effects of reactive oxygen species and interplay of antioxidants during physical exercise in skeletal muscles. *J Physiol Biochem.* 2018;74(3):359-67.
5. Radak Z, Ishihara K, Tekus E, Varga C, Posa A, et al. Exercise, oxidants, and antioxidants change the shape of the bell-shaped hormesis curve. *Redox Biol.* 2017;12:285-90.
6. Aoki K, Nakao A, Adachi T, Matsui Y, Miyakawa S. Pilot study: effects of drinking hydrogen-rich water on muscle fatigue caused by acute exercise in elite athletes. *Med Gas Res.* 2012;2:12.
7. Da Ponte A, Giovanelli N, Nigris D, Lazzer S. Effects of hydrogen rich water on prolonged intermittent exercise. *J Sports Med Phys Fitness.* 2018;58(5):612-21.
8. Ostojic SM, Stojanovic MD. Hydrogen-rich water affected blood alkalinity in physically active men. *Res Sports Med.* 2014;22(1):49-60.
9. Tsubone H, Hanafusa M, Endo M, Manabe N, Hiraga A, et al. Effect of treadmill exercise and hydrogen-rich water intake on serum oxidative and anti-oxidative metabolites in serum of thorough bred horses. *J Equine Sci.* 2013;24(1):1-8.
10. Svoboda P, Ko SH, Cho B, Yoo SH, Choi SW, et al. Neopterin, a mark-

- er of immune response, and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, a marker of oxidative stress, correlate at high age as determined by automated simultaneous high-performance liquid chromatography analysis of human urine. *Anal Biochem.* 2008;383(2):236-42.
11. Seok MH, Shin YA. The effect of 16 weeks combined exercise training on lipid metabolism and DNA damage in middle-aged diabetic women. *Exerc Sci.* 2012;21(2):201-12.
12. Weber D, Stuetz W, Bernhard W, Franz A, Raith M, et al. Oxidative stress markers and micronutrients in maternal and cord blood in relation to neonatal outcome. *Eur J Clin Nutr.* 2014;68(2):215-22.
13. Kim TH, Lee SH, Kim YJ, Kim SJ, Kang JH, et al. Effect of acute resistance exercise with different level of blood flow restriction on acute changes in muscle thickness, blood lactate, CK, and oxidative stress in male adults. *Exerc Sci.* 2018;27(1):50-61.
14. Kim CS, Kim JY, Kim HJ, Kim JW, Min SK, et al. The comparisons of blood lactate concentration and removal rate after aerobic and anaerobic maximal exercise. *Exerc Sci.* 2017;26(4):239-47.
15. Singh A, Yashavardhan MH, Kalita B, Ranjan R, Bajaj S, et al. Podophyllotoxin and rutin modulates ionizing radiation-induced oxidative stress and apoptotic cell death in mice bone marrow and spleen. *Front Immunol.* 2017;8:183.
16. Yang L, Xie M, Yang M, Yu Y, Zhu S, et al. PKM2 regulates the Warburg effect and promotes HMGB1 release in sepsis. *Nat Commun.* 2014;5:4436.
17. Kapelouzou A, Tsourelis L, Kaklamanis L, Degiannis D, Kogerakis N, et al. Serum and tissue biomarkers in aortic stenosis. *Glob Cardiol Sci Pract.* 2015;4:49.
18. Hayashida K, Sano M, Ohsawa I, Shinmura K, Tamaki K, et al. Inhalation of hydrogen gas reduces infarct size in the rat model of myocardial ischemia-reperfusion injury. *Biochem Biophys Res Commun.* 2008;373(1):30-5.
19. Shi J, Yao F, Zhong C, Pan X, Yang Y, et al. Hydrogen saline is protective for acute lung ischaemia/reperfusion injuries in rats. *Heart Lung Circ.* 2012;21(9):556-63.
20. Fukuda K, Asoh S, Ishikawa M, Yamamoto Y, Ohsawa I, et al. Inhalation of hydrogen gas suppresses hepatic injury caused by ischemia/reperfusion through reducing oxidative stress. *Biochem Biophys Res Commun.* 2007;361(3):670-4.
21. Shingu C, Koga H, Hagiwara S, Matsumoto S, Goto K, et al. Hydrogen-rich saline solution attenuates renal ischemia-reperfusion injury. *J Anesth.* 2010;24(4):569-74.
22. Fu Y, Ito M, Fujita Y, Ito M, Ichihara M, et al. Molecular hydrogen is protective against 6-hydroxydopamine-induced nigrostriatal degeneration in a rat model of Parkinson's disease. *Neurosci Lett.* 2009;453(2):81-5.
23. Nakashima-Kamimura N, Mori T, Ohsawa I, Asoh S, Ohta S. Molecular hydrogen alleviates nephrotoxicity induced by an anti-cancer drug cisplatin without compromising anti-tumor activity in mice. *Chemother Pharmacol.* 2009;64(4):753-61.
24. Kajiya M, Silva MJ, Sato K, Ouhara K, Kawai T. Hydrogen mediates suppression of colon inflammation induced by dextran sodium sulfate. *Biochem Biophys Res Commun.* 2009;386(1):11-5.
25. Kajiya S, Hasegawa G, Asano M, Hosoda H, Fukui M. Supplementation of hydrogen-rich water improves lipid and glucose metabolism in patients with type 2 diabetes or impaired glucose tolerance. *Nutr Res.* 2008;28(3):137-43.
26. Nakao A, Toyoda Y, Sharma P, Evans M, Guthrie N. Effectiveness of hydrogen rich water on antioxidant status of subjects with potential metabolic syndrome-an open label pilot study. *J Clin Biochem Nutr.* 2010;46(2):140-9.
27. Nakayama M, Nakano H, Hamada H, Itami N, Nakazawa R, et al. A novel bioactive haemodialysis system using dissolved dihydrogen (H₂) produced by water electrolysis: clinical trial. *Nephro Dial Transplant.* 2010;583(13):3026-33.
28. Ono H, Nishijima Y, Adachi N, Tachibana S, Chitoku S. Improved brain MRI indices in the acute brain stem infarct sites treated with hydroxyl radical scavengers, Edaravone and hydrogen, as compared to Edaravone alone. A non-controlled study. *Med Gas Res.* 2011;1(1):12.
29. Ito M, Ibi T, Sahashi K, Ichihara M, Ito M, et al. Open-label trial and randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover trial of hydrogen-enriched water for mitochondrial and inflammatory myopathies. *Med Gas Res.* 2011;1(1):24.
30. Ono H, Nishijima Y, Adachi N, Sakamoto M, Kudo Y. Hydrogen treatment for acute erythematous skin diseases. A report of 4 patients with safety data and a non-controlled feasibility study with H₂ concentration measurement on two volunteers. *Med Gas Res.* 2012;2(1):14.
31. Kang KM, Kang YN, Choi IB, Gu Y, Kawamura T, et al. Effects of drinking hydrogen-rich water on the quality of life of patients treated with radiotherapy for liver tumors. *Med Gas Res.* 2011;1(1):11.
32. Ishibashi T, Sato B, Rikitake M, Seo T, Kurokawa R, et al. Consumption of water containing a high concentration of molecular hydrogen reduces oxidative stress and disease activity in patients with rheumatoid arthritis: an open-label pilot study. *Med Gas Res.* 2012;2(1):27.