

만성 간헐적 저산소 환경에의
노출과 트레이드밀 운동이 생쥐의
혈액 조성에 미치는 영향

연세대학교 대학원
의 학 과
전 고 운

만성 간헐적 저산소 환경에의
노출과 트레이드밀 운동이 생쥐의
혈액 조성에 미치는 영향

지도 박 주 영 교수

이 논문을 박사학위 논문으로 제출함

2009년 7월 1일

연세대학교 대학원

의 학 과

전 고 운

전 고 윤의 박사 학위논문을 인준함

심사위원 _____인

심사위원 _____인

심사위원 _____인

심사위원 _____인

심사위원 _____인

연세대학교 대학원

2009년 7월 1일

감사의 글

의학도로서 갖 피워낸 꽃이 오늘은 자그마하지만 내일에는 옥토를 만드는 큰 거름이고 싶다.

바른길을 두고 에둘러만 다니는 큰딸을 너털웃음으로 지켜봐주시는 부모님께 말씀으로 다 못할 감사의 마음을 여기에 기록합니다. 제가 할 일을 모두 맡아 고생하시는 시부모님께 감사드립니다. 매사를 함께 의논할 수 있게 허락해 주는 든든한 남편과 동생들에게 감사함을 전합니다. 때 늦은 끼니를 넉넉함으로 채워주시는 아주머님께도 감사드립니다. 나의 고마운 아이들. 생각이 유연한 호연지기가 되기를. 너희들이 피울 꽃은 참으로 찬란할 것이다.

부족한 제자 탓에 많이 안타까우셨을 박주영 교수님께 큰 감사드립니다. 학위의 영광을 교수님께 올립니다. 소아과 레지던트 시절부터 제 못난 점들을 덮어만 주시던 김황민 교수님과 차병호 교수님, 두 분 덕택에 돌이켜 그려보는 그 시절이 참 곱습니다. 석사논문에 이어 두 번이나 심사를 해주신 어영 교수님과, 따뜻한 관심으로 저희 부부를 이끌어 주신 공인덕 교수님께 감사드립니다. 깊은 마음을 새겨 쉬 닳지 않게 하셨습니다. 본 연구에 몇 년간 헌신으로 도움을 주신 박현숙 선생님과 서희석 선생님께도 감사드리고, 진료시간 틈틈이 대학원 과정을 이수할 수 있도록 배려해 주시고 격려해 주신 호산부인과 김형우 원장님, 박제웅 원장님, 김병석 원장님, 김정욱 원장님, 양정화 선생님께 이 자리를 빌어 그간의 감사함을 전합니다. 무한한 발전이 있으시길 빕니다.

수저 쥐는 방법부터 논문 수정하는 방법까지, 저를 다듬어주신 모든 어른들께 감사함으로 큰 절 올립니다. 오래도록 건강하시어, 세상사는 바른길을 가르쳐주십시오.

2009년 7월 저자 올림

차 례

그림 차례	iv
표 차례	v
국문요약	vi
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	4
1. 재료	4
1) 실험 동물	4
2. 연구 방법	4
1) 저산소 환경	4
2) 운동 방법	5
3) 실험 디자인	5
4) 분석 방법	6
가) 혈액의 채혈과 분석	6
나) 혈중 젖산염 농도의 측정	7
3. 자료 처리	7
III. 결과	8
1. 성장과정 중의 변화	8
1) 몸무게	8
2) 적혈구 관련 지표	9
3) 백혈구	11
2. 성장완료 후 운동 능력의 평가	13
1) 몸무게	13

2) 적혈구 관련 지표	14
3) 백혈구	16
4) 혈중 젖산염 농도의 비교	19
IV. 고찰	20
V. 결론	28
참고문헌	30
영문요약	36

그림 차례

Fig. 1. Somatic growth	8
Fig. 2. Changes of hematologic parameters related to red cell indices	10
Fig. 3. Changes of hematologic parameters of leukocytes	12
Fig. 4. Body weight	13
Fig. 5. Comparisons of hematologic parameters related to red cell indices	15
Fig. 6. Comparisons of hematologic parameters of leukocytes	17
Fig. 7. Comparisons of hematologic parameters of leukocyte fraction	18
Fig. 8. Lactate concentration	19

표 차 례

Table 1. Experimental design for developing period	5
Table 2. Experimental design for exercise induced changes	6
Table 3. Changes of body weight	8
Table 4. Changes of hematologic parameters related to red cell indices	9
Table 5. Changes of hematologic parameters of leukocytes	11
Table 6. Comparisons of body weight	13
Table 7. Comparisons of hematologic parameters related to red cell indices	14
Table 8. Comparisons of hematologic parameters of leukocytes	16
Table 9. Comparisons of serum lactate concentration	19

만성 간헐적 저산소 환경에의 노출과 트레드밀 운동이 생쥐의 혈액 조성에 미치는 영향

저산소 상태에 노출될 때 신체는 여러 가지 항상성 유지반응을 보인다. 산소운반을 증가시키는 데 관여하는 혈액세포의 구성과 양이 바뀌거나 호흡관련 기능의 증가를 통해 산소의 부족을 보충하게 되는데 비슷한 저산소 환경에서라도 인류에 따라 적응하는 형태가 다르다. 본 연구에서는 간헐적인 저산소 자극을 출생 직후부터 장기간 적용하였을 때 적응하는 생쥐의 반응을 혈액학적 변화를 통해 알아보고자 하였고, 성체에서 트레드밀 운동 부하를 주었을 때의 반응을 혈액학적 변화와 산소대사의 혈액학적 지표를 통해 분석하였다. Balb/c mouse를 교배하여 얻은 신생 생쥐를 대상으로 생후 12시간 후부터 산소농도 13%의 저산소 환경에 두 시간마다 30분 동안 간헐적, 만성적으로 노출한 군과 대조군에서 백혈구와 적혈구 관련 검사를 생후 30일부터 60일까지 5일 간격으로 시행하여 각각 10마리씩 비교하였다. 성체의 운동은 정상 산소상태에서 1주일에 3일간 16~20 m/min의 속도로 30~40분간 트레드밀 운동을 10주간 시킨 후 대조군, 저산소군, 운동군, 그리고 간헐적 저산소 노출 운동 병행군으로 나누어 각각 20마리씩 백혈구, 적혈구 관련 지표와 젖산염을 채취하여 비교하였다. 그 결과 저산소군이 생후 40일 이전에서는 적혈구 수, 혈색소, 헤마토크리트가 증가하다가 40일 이후에는 정상화 되었고, 성장이 완료된 후에 시행한 1회의 트레드밀 운동에서는 저산소군과 저산소 노출 운동 병행군의 젖산염 증가가 작았다. 본 연구를 통해 간헐적이고 만성적인 저산소 환경의 노출과 트레드밀 운동은 혈액 내 산소 운반 능력을 향상시키며, 이러한 적응 반응은 한 세대 내에서 일어나는 것을 알 수 있었다.

핵심되는 말 : 간헐적 저산소, 혈액학적 적응, 젖산염, 트레드밀 운동, 산소운반 능력

만성 간헐적 저산소 환경에의 노출과 트레드밀 운동이 생쥐의 혈액 조성에 미치는 영향

<지도 박주영 교수>

연세대학교 대학원 의학과

전 고 운

I. 서 론

신체는 물리적 스트레스 자극에 대해 항상성을 유지하기 위하여 자율신경계의 조절에서 비롯되는 심폐혈관의 변화와 면역학적, 혈액학적, 내분비학적 변화 등의 여러 가지 반응을 한다.¹⁾ 심혈관계에 대한 운동의 보호 효과가 반복적이고 간헐적인 저산소 자극을 통해 유발된 심혈관계의 내성 증가 반응으로 이루어지는 것처럼²⁾ 운동은 신체적 스트레스의 기본원형으로 이를 통한 스트레스 자극을 반복적으로 시행하면 병적인 스트레스 상황에 노출될 때 이에 저항할 수 있는 능력이 증가하게 된다.³⁾ 운동의 기본적인 자극원은 세포에 대해 간헐적이고 반복적인 저산소 상태 환경을 조성하는 산소 관련 스트레스이다.⁴⁾ 저산소 자극을 주면 신체는 여러 가지 측면에서 반응을 보이는데 산소의 흡수량을 늘이기 위해 호흡량과 호흡횟수가 증가하고, 심박출량이 증가하며 혈액의 재분포가 일어나 주요장기를 보호하고자 한다. 혈액학적 측면에서는 적혈구 수와 혈색소가 증가하고 적혈구내의 2,3-diphosphoglycerate가 증가하여 산소해리곡선이 우측 편향되며 그로 인해 산

소의 조직운반이 증가한다. 저산소 노출에 대한 신체반응의 기전을 알기 위해 만성적으로 저산소에 노출되는 경우인 고산지대 토착민들에 대한 연구가 시행되어 왔다. 그러나 고도가 같더라도 지역마다 신체의 적응방식에 차이를 보인다는 사실이 밝혀지면서⁵⁾ 저산소 상태에 반응하는 신체의 방식의 우선순위에 대해 의문이 제시되었고 저산소 상태에서 일어나는 일련의 신체적인 변화들을 파악하기 위해 보다 적극적이고 직접적인 연구 검증이 필요하게 되었다. 또한 운동효과를 대체할 만큼의 저산소 환경 조성에 부가적으로 스트레스가 강한 운동을 동반해 지속적이고 반복적인 운동을 병행하게 되면 저산소 노출에 대한 신체의 반응이 증폭될 것이라는 가설 하에 진행된 저산소 고지적응 훈련은 운동선수들 신체내의 산소 이용효과를 증폭시켜 운동수행 능력을 향상시키고자 시도되었는데 고지의 산소농도와 기간, 운동병행 여부에 따라 결과가 다양하였다.⁶⁾ Bonetti 등이 발표한 meta-analysis 연구에 의하면⁷⁾ 저산소에 노출된 환경에서 일상생활을 하고 정상해수면상태에서 운동을 시행한 선수들의 운동능력 평가 결과가 최적의 훈련 능력 증가를 보인다고 하여 간헐적이고 반복적인 저산소 자극과 운동을 병행하면 신체반응의 정도와 반응속도가 배가될 것으로 사료되었다. 신체반응을 평가하기 위한 저산소 자극과 관련된 여러 가지 혈중지표들 중에 운동 시 증가하는 젖산은 무산소성 에너지를 생성하기 위해 미토콘드리아에서 ATP-PC 시스템과 해당작용(glycolysis)이 진행될 때 형성되는 부산물이다. 이 과정에서 발생하는 젖산은 세포내에서 젖산염으로 신속하게 전환되어 운동 직후에 혈액검사를 통해 젖산염을 채취하여 분석하면 그 증가 정도로 운동 수행 능력을 예측할 수 있다.⁸⁾ 이에 본 연구에서는 출생부터 성장시기 전반에 걸쳐 저산소 환경에 간헐적으로 노출된 생쥐의 저산소 환경에 대한 혈액학적 변이를 평가하여 혈액학적 적응여부와 변화양상을 평가해 보고자 하였고 특히 저산소 상태에 지속적으로 노출하는 보편적인 다른 연구들과는 달리 간헐적인 저산소 환경 자극을 전체 성장기간에 걸쳐 장기적으로 시행하여, 보다 위험성이 적으면서 효과적인 반복자극을 유발해 저산소 환경에 단기간에 적응하도록 시도하였다. 적응 여부의 비교는 산소농도에 민감하게 변화를 보이는 혈액학적 측면에서 접근하였고, 성장기 동안 규칙적인 간격으로 혈

액학적 변화 여부를 평가하였다. 또한 성장이 완료된 후에는 중등강도의 트레드밀 운동을 병행하여 운동에 의한 변화 여부와 차이를 혈액학적으로 분석하여 비교해 보았다.

II. 재료 및 방법

1. 재료

1) 실험 동물

총 253마리의 생쥐를 대상으로 하였다. 유전적 요인에서 오는 실험동물의 개체 차이를 줄이기 위해 Balb/c 수컷(10 weeks, n=3)과 암컷(10 weeks, n=30) (Orient Bio., Korea)을 직접 교배하여 새끼를 얻었다. 출생시기가 동일한 생쥐를 대상으로 출생 12시간 내에 무작위로 선정하여, 대조군(정상산소 비운동군)과 실험군(정상산소 상태 운동군, 간헐적 저산소 노출군, 간헐적 저산소 노출 운동 병행군)으로 구분하여 사용하였다(n=220). 저산소 노출군은 출생 12시간 이내에 저산소 챔버 내로 이동하였으며 사육 21일 후 암수를 구분하여 각각 분리 사육하였다. 사육 온도는 $22\pm 4^{\circ}\text{C}$, 습도는 $60\pm 10\%$ 로 유지하며 조명의 소등 및 점등은 각 12시간으로 제한하였다. 실험 중 사료와 물의 공급은 제한하지 않았다(연세대학교 원주의과대학 원주기독병원 IRB 승인 AE 07001).

2. 연구 방법

1) 저산소 환경

저산소 환경은 외부 공기와 차단되는 저산소 챔버를 사용하였으며 저산소 펌프 (Biomedtech, Australia)를 이용하여 챔버 속으로 산소농도 13%(해발 3,800 m 상당의 고도)의 공기를 2시간 간격으로 30분씩 주입하여 간헐적인 저산소 상태를 유지하였다.

2) 운동 방법

운동은 출생 10주 후부터 정상 산소(21%, 해수면 상당의 고도) 환경에서 실시하였다. 운동 방법은 트레드밀 (Panlab, Korea)을 사용, 처음 5분간 5 m/min의 속도에서 20 m/min의 속도로 서서히 상승 시킨 후 16~20 m/min의 속도로 30~40분씩 3회/주(월, 수, 금) 최소 10주간 실시하였으며 이후 20주가 될 때까지 순차적으로 실험에 사용하였다.

3) 실험 디자인

항상성 관련 반응을 평가하기 위해서 대조군과 간헐적 저산소 노출군을 각 10마리씩 암수구분 없이 생후 30일째부터 60일째까지 5일 간격으로 몸무게를 측정하고 혈액을 채취하였다(Table 1). 운동 능력의 평가를 위해서는 대조군, 정상산소 상태 운동군, 간헐적 저산소군, 간헐적 저산소 노출 운동 병행군으로 총 네 군으로 나누어 각각 수컷 20마리씩 혈액을 채취하였다. 네 군 모두 20주째에 몸무게 측정 및 1회의 트레드밀 운동 전후에 젓산염을 측정하였다(Table 2).

Table 1. Experimental design for developing period

Treatment	Age (days)						
	30	35	40	45	50	55	60
Normoxia	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10
	♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂
Hypoxia	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10	n=10
	♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂	♀ ♂

Blood samples were collected every 5 days from 30 days-old till 60 days-old. Experiments included both genders.

Table 2. Experimental design for exercise induced changes

Treatment	Group			
	Normoxia - Control	Normoxia - Exercise	Hypoxia - Control	Hypoxia - Exercise
O₂ level	Sea level (21%)	Sea level (21%)	Low level (13%)	Low level (13%)
Exercise	No exercise	16~20 m/min 30~40 min/day 3 days/week	No exercise	16~20 m/min 30~40 min/day 3 days/week
	n=20 †	n=20 †	n=20 †	n=20 †

Blood samples were collected after 20 weeks-old. Experiment included only male gender to exclude the hormonal effects of female gender.

4) 분석 방법

가) 혈액의 채혈과 분석

혈액은 capillary tube을 이용하여 후안와정맥총(postocular venous plexus)에서 채혈하였다. 채혈된 혈액의 일부는 EDTA tube에 넣어 이용하였으며, 혈액의 분석은 cell counter 검사법으로 자동혈액분석기 HEMAVET 950FS (Drew scientific Inc., USA)를 이용하여 적혈구 수(RBC), 백혈구 수(WBC), 림프구, 다형백혈구, 단핵구, 호산구, 호염기구, 혈색소(Hb, hemoglobin), 헤마토크리트(Hct, hematocrit), 적혈구평균용적(MCV, mean corpuscular volume), 적혈구혈색소량(MCH, mean corpuscular hemoglobin), 평균혈구내혈색소농도(MCHC, mean corpuscular hemoglobin concentration), 적혈구용적분포(RDW, red blood cell distribution width)를 분석하였다.

나) 혈중 젖산염 농도의 측정

혈중 젖산염(lactate) 농도의 측정은 1회의 트레드밀 운동을 전후하여 안정 시, 운동 직후, 운동 종료 12시간 후에 꼬리 정맥으로부터 채혈하여 Lactate Pro (Arkray, Inc., Japan)로 측정하고 분석하였다.

3. 자료 처리

SPSS for windows (Microsoft Co., version 11.0) 통계 프로그램을 이용하여 측정 항목별로 평균(M, mean)과 표준편차(SD, standard deviation)를 산출하였다. 순차적인 변화에 대해서는 일반선형모형-반복측정 분석 검사를 시행하였고 집단 간 차이를 알아보기 위해서는 Mann-Whitney U-검사를 적용하였으며 $p < 0.05$ 를 유의한 값으로 평가하였다.

III. 결 과

1. 성장과정 중의 변화

1) 몸무게

암수 구분 없이 각 군당 10마리씩 시행한 검사상 몸무게는 생후 30일부터 60일까지 대조군과 간헐적 저산소군 간에 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 3, Fig. 1).

Table 3. Changes of body weight

		Age (days)						
		30	35	40	45	50	55	60
Body weight (g)	NC	16.3±2.3	18.6±1.9	20.3±1.6	22.3±2.2	21.5±2.2	22.1±1.9	21.9±3.0
	IH	15.7±1.8	18.7±1.4	20.4±1.9	20.5±1.9	21.1±2.1	21.9±2.3	21.3±2.1

Values are mean±SD. NC, normoxia control (n=10 per group); IH, intermittent hypoxia group (n=10 per group).

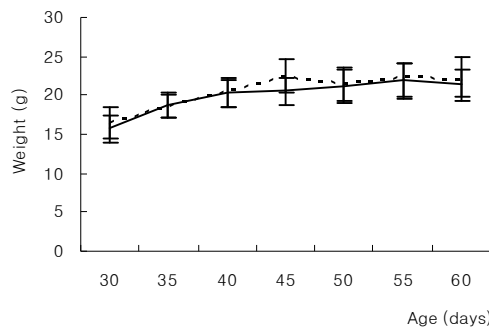


Fig. 1. Somatic growth. Average (mean±SD, n=10 per group) body weights measured at each postnatal age.: Mice exposed to intermittent hypoxia group (dashed line;—) experienced no statistical differences compared with normoxia control (dotted line;···).

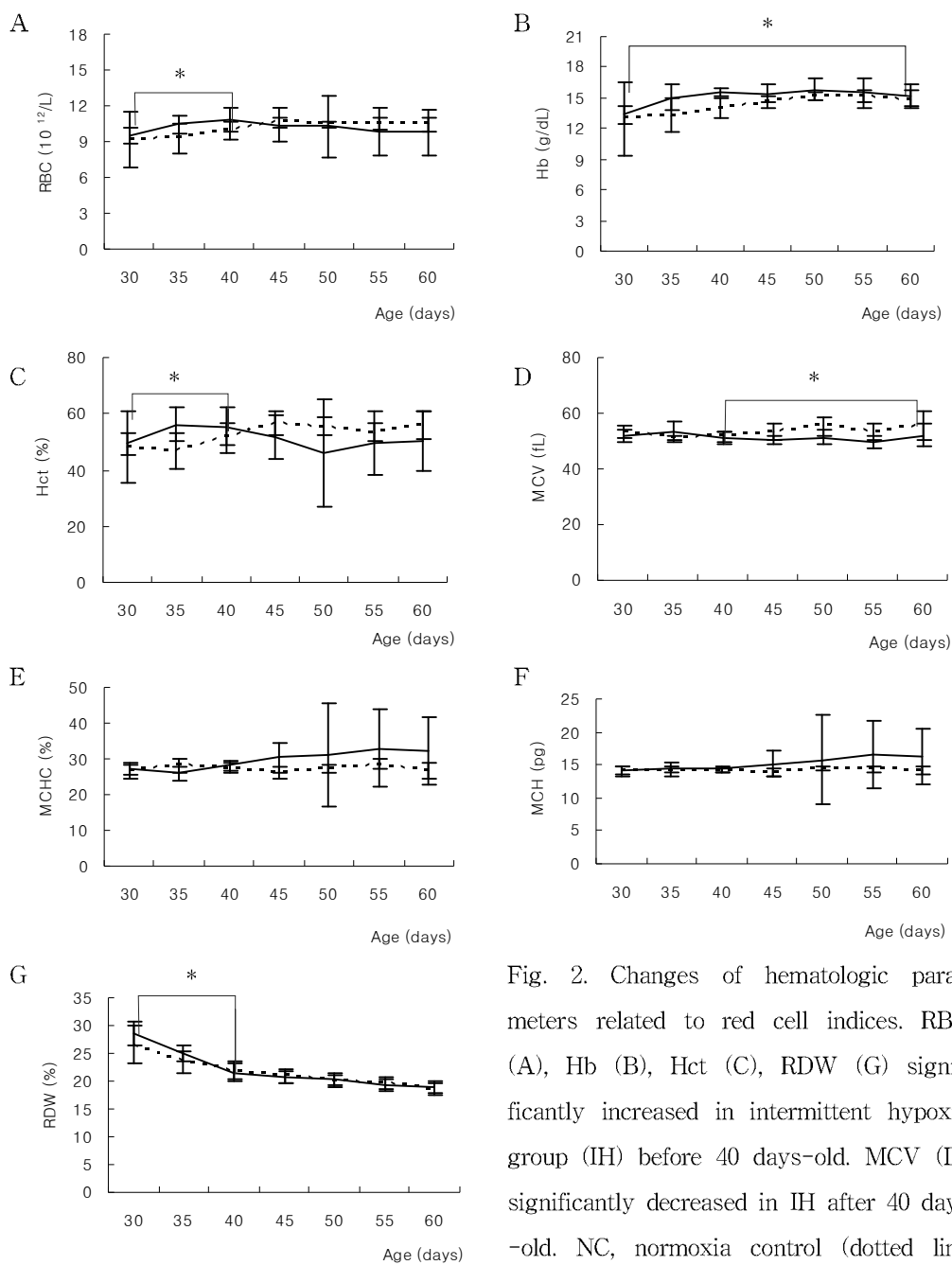
2) 적혈구 관련 지표

30일부터 60일까지의 전체적인 변화비교에서는 Hb과 MCV만 유의한 차이를 보였는데 간헐적 저산소군이 대조군보다 Hb은 유의하게 높았고($p<0.001$) MCV는 유의하게 감소하였다($p=0.002$). 그러나 40일을 기준으로 나누어 비교한 것에는 RBC ($p<0.001$), Hb ($p<0.001$), Hct ($p=0.002$), RDW ($p<0.05$)에서 40일 이전에는 간헐적 저산소군이 대조군보다 유의하게 증가하였다. 40일 이후에는 Hb은 계속 유의하게 높았으나 RBC, Hct, RDW는 대조군과 유의한 차이가 없었다. MCV는 40일 이전에는 대조군과 차이가 없었고 40일 이후에는 간헐적 저산소군에서 유의하게 낮아졌다($p<0.001$). MCH와 MCHC는 유의한 차이를 보이지 않았다(Table 4, Fig. 2).

Table 4. Changes of hematologic parameters related to red cell indices

Red cell indices		Age (days)						
		30	35	40	45	50	55	60
RBC ($10^{12}/L$)	NC	9.2±2.4	9.3±1.3	9.9±0.8	10.6±0.4	10.5±0.3	10.5±0.5	10.4±0.5
	IH	9.5±0.7	10.5±0.7	10.9±1.0	10.4±1.5	10.3±2.6	9.8±2.0	9.8±1.9
Hb (g/dL)	NC	13.0±3.6	13.3±1.7	14.0±1.0	14.6±0.6	15.2±0.5	15.1±0.6	14.8±0.9
	IH*	13.4±0.9	15.0±1.3	15.5±0.3	15.4±0.8	15.8±1.1	15.5±1.4	15.2±1.0
Hct (%)	NC	48.2±13.0	46.9±6.4	51.4±5.1	56.6±3.9	55.3±3.2	53.2±3.2	55.9±5.1
	IH	49.2±4.2	56.3±6.1	55.4±6.9	51.7±7.7	46.0±19.3	49.7±11.3	50.2±10.4
MCV (fL)	NC	53.5±2.0	51.0±1.1	51.7±1.9	53.2±3.2	55.3±3.2	53.2±3.2	55.9±5.1
	IH*	52.1±2.4	53.8±3.1	50.9±2.2	50.1±1.4	51.4±2.6	49.7±2.0	52.0±4.0
MCH (pg)	NC	14.1±0.8	14.3±1.1	14.1±0.4	13.8±0.5	14.5±0.3	14.4±0.4	14.2±0.5
	IH	14.1±0.6	14.4±0.5	14.3±0.3	15.1±2.0	15.8±6.7	16.7±5.1	16.3±4.3
MCHC (%)	NC	26.4±1.8	28.2±1.9	27.4±1.3	26.1±1.7	27.5±1.1	28.5±1.2	26.7±2.4
	IH	27.3±1.5	25.9±2.1	28.2±1.2	30.3±4.1	31.3±14.5	32.9±10.8	32.1±9.3
RDW (%)	NC	26.6±3.4	23.5±2.0	21.9±1.5	20.9±1.3	20.2±1.4	19.6±19.2	18.7±1.1
	IH	28.6±2.1	24.9±1.5	21.6±1.6	20.8±1.0	20.2±1.0	19.2±1.1	19.0±1.1

Values are mean±SD. * $p<0.05$ means significantly different between normoxia control (NC; n=10 per group) and intermittent hypoxia group (IH; n=10 per group).



n=10 per group). * $p < 0.05$ versus NC.

Fig. 2. Changes of hematologic parameters related to red cell indices. RBC (A), Hb (B), Hct (C), RDW (G) significantly increased in intermittent hypoxia group (IH) before 40 days-old. MCV (D) significantly decreased in IH after 40 days-old. NC, normoxia control (dotted line (···); n=10 per group), IH (dashed line(-);

3) 백혈구

백혈구는 30일째부터 60일째까지의 변화비교에서는 다형백혈구를 제외한 총 백혈구 수와 림프구, 단핵구, 호산구, 호염기구에서 모두 간헐적 저산소군이 대조군보다 유의하게 낮았다($p<0.05$). 하지만 40일을 기준으로 나누어 비교해 본 결과에서는 총 백혈구 수, 림프구, 다형백혈구, 단핵구에서 40일 이전에는 대조군과 유의한 차이가 없었고 40일 이후에는 간헐적 저산소군에서 대조군에 비해 유의하게 감소하였고 60일째에는 정상과 비슷한 수치를 보였다($p<0.05$)(Table 5, Fig. 3).

Table 5. Changes of hematologic parameters of leukocytes

Leukocytes($10^9/L$)		Age (days)						
		30	35	40	45	50	55	60
WBC	NC	4.4±2.2	5.6±2.1	5.7±1.1	6.8±1.9	6.8±1.3	5.3±1.6	5.3±1.5
	IH*	4.6±1.9	4.9±1.2	5.6±1.7	5.1±1.7	4.8±1.8	4.8±2.1	4.7±1.9
PMNL	NC	0.7±0.5	0.9±0.6	0.7±0.3	1.1±0.7	1.0±0.3	0.8±0.4	0.9±0.3
	IH	0.7±0.4	0.9±0.3	1.0±0.3	0.7±0.3	0.6±0.4	0.7±0.4	0.7±0.3
Lymphocyte	NC	3.3±1.6	4.3±1.5	4.4±0.8	5.2±0.6	5.4±1.1	4.2±1.1	4.1±1.3
	IH*	3.6±1.6	3.6±1.0	4.3±1.3	4.1±1.4	3.7±1.4	3.8±1.8	3.8±1.5
Monocyte	NC	0.3±0.2	0.3±0.2	0.3±0.1	0.4±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1
	IH*	0.2±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.3±0.1	0.2±0.1	0.2±0.1
Eosinophil	NC	0.07±0.08	0.09±0.11	0.06±0.06	0.10±0.12	0.04±0.03	0.06±0.06	0.03±0.03
	IH*	0.05±0.05	0.05±0.07	0.05±0.06	0.04±0.04	0.04±0.04	0.02±0.01	0.03±0.04
Basophil	NC	0.02±0.03	0.03±0.03	0.01±0.02	0.03±0.04	0.01±0.01	0.02±0.02	0.01±0.01
	IH*	0.01±0.02	0.01±0.01	0.01±0.02	0.01±0.01	0.01±0.02	0.00±0.01	0.01±0.01

Values are mean±SD. WBC, white blood cell; PMNL, polymorphonuclear leukocyte; NC, normoxia control (n=10 per group); IH, intermittent hypoxia group (n=10 per group).

* $p<0.05$ versus NC.

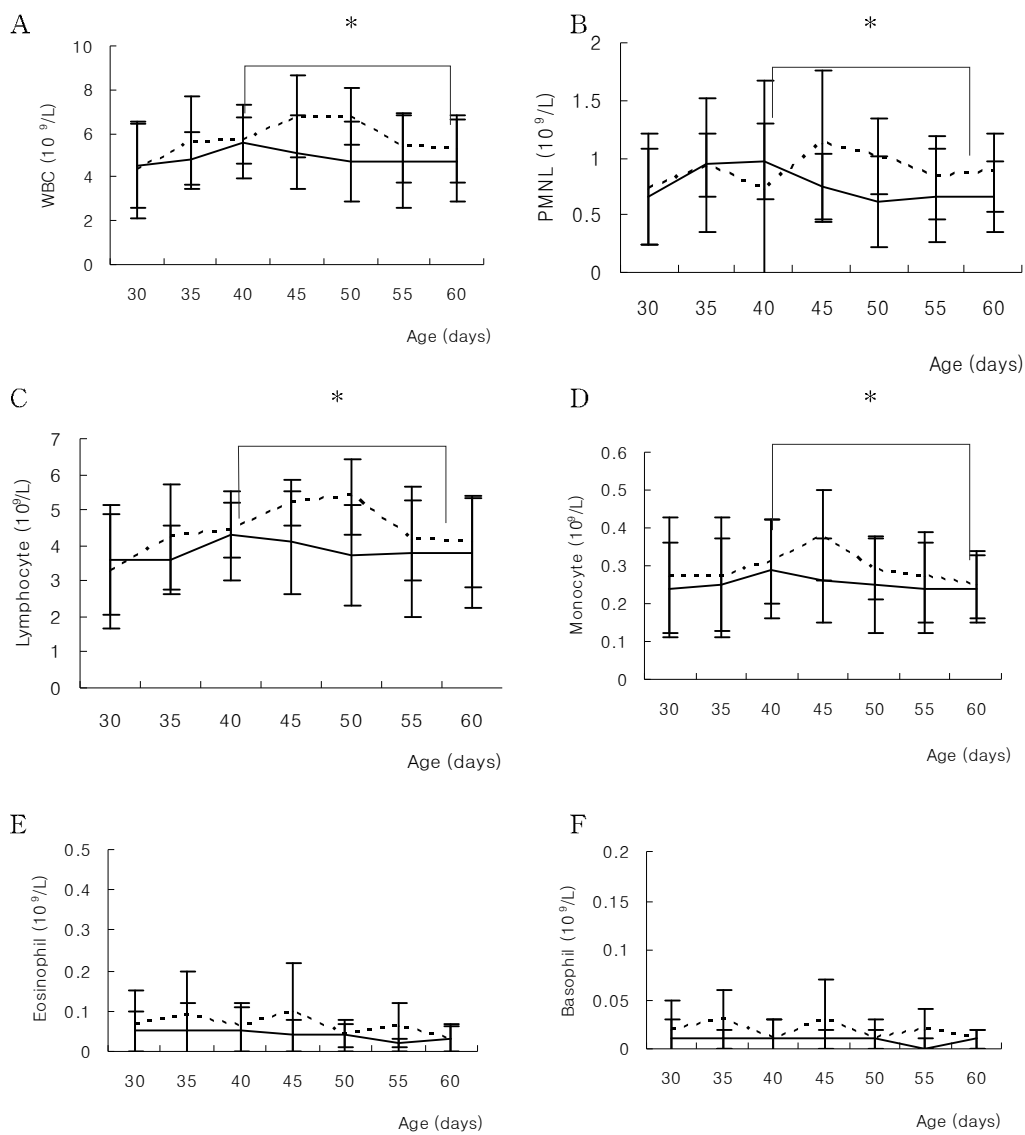


Fig. 3. Changes of hematologic parameters of leukocytes. WBC (A), polymorphonuclear leukocyte (B), Lymphocyte (C), Monocyte (D) significantly decreased in intermittent hypoxia group after 40 days-old. * $p < 0.05$ means significantly different between normoxia control (dotted line(···); n=10 per group) and intermittent hypoxia group (dashed line (-); n=10 per group).

2. 성장완료 후 운동 능력의 평가

1) 몸무게

생후 20주째에 각 군당 20마리의 수컷을 측정된 몸무게는 간헐적 저산소군이 29.6 g으로 대조군인 31.9 g에 비해 유의하게 낮았고($p=0.002$) 간헐적 저산소 노출 운동 병행군 역시 28.5 g으로 대조군에 비해 유의하게 낮았다($p=0.006$). 간헐적 저산소군은 운동군인 30.7 g에 비해서도 유의하게 낮았다($p<0.05$). 대조군에 대한 평균 몸무게의 비율은 운동군과 간헐적 저산소군 그리고 간헐적 저산소 노출 운동 병행군이 각각 96%, 93%, 89%이었다(Table 6, Fig. 4).

Table 6. Comparisons of body weight

Body weight	NC	NE	HC	HE
Mean±SD (g)	31.9±1.2	30.7±1.3	29.6±2.0 [*]	28.5±1.4 [*]
Relative level from NC (%)	100%	96%	93%	89%

Values are mean±SD. ^{*} $p<0.05$ versus NC, normoxia control; [†] $p<0.05$ versus NE, normoxia exercise group; HC, hypoxia control; HE, hypoxia exercise group. n=20 per group.

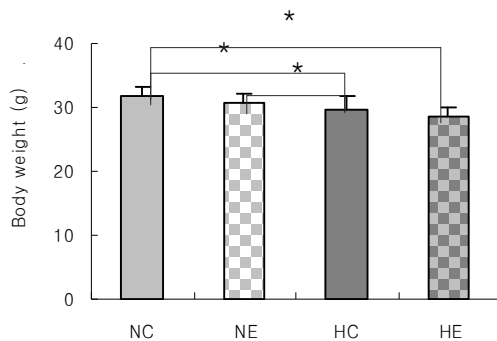


Fig. 4. Body weight. Average (mean±SD, n=20 per group) body weights measured at 20th week.: HC, hypoxia control and HE, hypoxia exercise group were significantly decreased than NC, normoxia control. HC also significantly decreased than NE, normoxia exercise group. ^{*} $p<0.05$.

2) 적혈구 관련 지표

간헐적 저산소군은 Hb에서 14.4 g/dL로 대조군 12.7 g/dL에 비해 증가하였고 ($p<0.05$), MCHC에서 27.4%로 대조군 25.5%에 비해 유의한 증가소견을 보였다 ($p<0.05$). 운동군은 Hb에서 15.1 g/dL로 간헐적 저산소군 14.4 g/dL보다 높았고 ($p<0.05$), MCH는 15.5 pg과 간헐적 저산소군 14.8 pg으로($p<0.001$), MCHC는 28.4%와 간헐적 저산소군 27.4%로($p=0.005$), RDW는 21.0%와 간헐적 저산소군 18.7%로($p=0.001$) 모두 운동군이 유의하게 높았다. 간헐적 저산소 노출 운동 병행군은 MCV가 51.3 fL로 대조군 55.3 fL에 비해 유의하게 낮았고($p<0.05$) MCHC는 26.2%로 대조군 25.5%보다($p=0.004$) 유의하게 높았으며 RDW도 20.2%로 대조군 18.6%보다($p=0.001$) 유의하게 높았다. 운동군과의 비교에서는 간헐적 저산소 노출 운동 병행군이 Hb은 13.3 g/dL로 운동군 15.1 g/dL보다 낮았고($p<0.001$), MCV는 51.3 fL와 운동군 54.6 fL로($p<0.05$), MCH는 13.4 pg과 운동군 15.5 pg으로 ($p<0.001$), MCHC는 26.2%와 운동군 28.4%로($p<0.001$), RDW는 20.2%와 운동군 21.0%로($p=0.001$) 모두 유의하게 낮았다. 간헐적 저산소의 RDW는 18.7%로 간헐적 저산소 노출 운동 병행군 20.2%보다 유의하게 낮았다($p=0.001$)(Table 7, Fig. 5).

Table 7. Comparisons of hematologic parameters related to red cell indices

Red cell indices	NC	NE	HC	HE
RBC ($10^{12}/L$)	9.0±1.0	9.8±0.5*	9.7±1.3	9.9±1.3
Hb (g/dL)	12.7±1.4	15.1±0.7*	14.4±1.9*†	13.3±1.6†
HCT (%)	50.0±6.0	53.1±2.8	52.4±6.3	50.7±6.4
MCV (fL)	55.3±2.1	54.6±4.5	54.1±3.5	51.3±2.3*†
MCH (pg)	14.1±0.9	15.5±1.2*	14.8±0.5†	13.4±0.6†
MCHC (%)	25.5±1.5	28.4±1.1*	27.4±1.4*†	26.2±1.0*†
RDW (%)	18.6±1.2	21.0±4.1*	18.7±1.1†	20.2±0.9*†

Values are mean±SD. * $p<0.05$ versus normoxia control (NC); † $p<0.05$ versus normoxia exercise group (NE); ‡ $p<0.05$ versus hypoxia control (HC). HE, hypoxia exercise group. n=20 in each group.

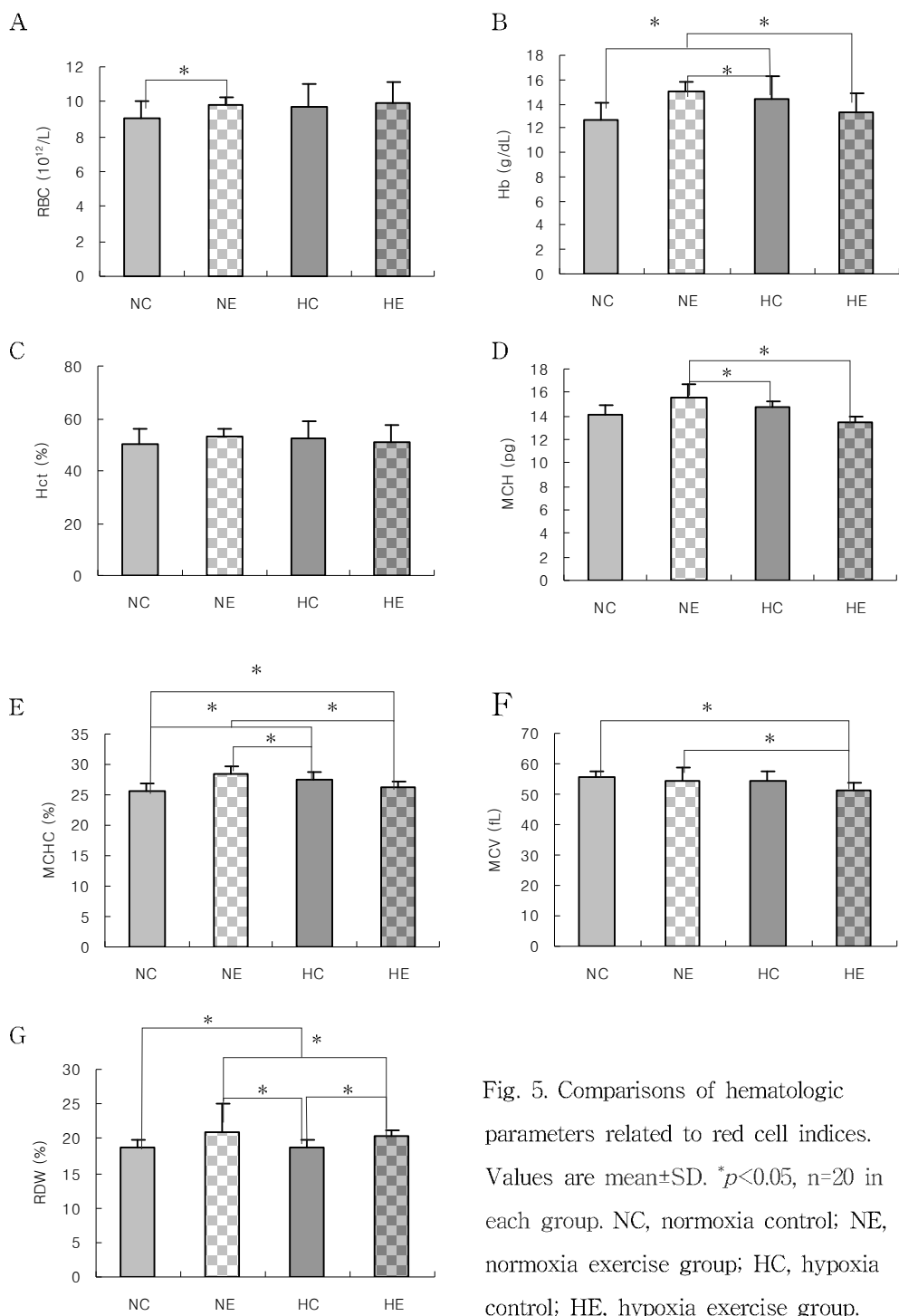


Fig. 5. Comparisons of hematologic parameters related to red cell indices. Values are mean \pm SD. * p <0.05, n =20 in each group. NC, normoxia control; NE, normoxia exercise group; HC, hypoxia control; HE, hypoxia exercise group.

3) 백혈구

백혈구는 다형백혈구와 단핵구에서만 유의한 차이를 보였다. 운동군과 간헐적 저산소군은 단핵구가 운동군 $0.3 \times 10^9/L$ 로 간헐적 저산소군 $0.2 \times 10^9/L$ 보다 유의하게 높았다($p < 0.05$). 간헐적 저산소 노출 운동 병행군은 다형백혈구가 $1.4 \times 10^9/L$ 로 대조군 $1.0 \times 10^9/L$ 에 비해 유의하게 증가되었고($p < 0.05$) 간헐적 저산소군에 비해서도 다형백혈구가 $1.4 \times 10^9/L$ 로 간헐적 저산소군 $1.2 \times 10^9/L$ 에 비해 높았고($p < 0.05$) 단핵구가 $0.3 \times 10^9/L$ 로 간헐적 저산소군 $0.2 \times 10^9/L$ 보다 유의하게 높았다($p < 0.05$)(Table 8, Fig. 6). 백혈구 내 분획에 대한 비교에서는 간헐적 저산소군은 운동군에 비해 다형백혈구 비율이 32.5%로 운동군 37.7%보다 유의하게 낮았고($p < 0.05$), 림프구 비율은 61.7%로 운동군 54.9%보다 높았다($p = 0.004$). 간헐적 저산소 노출 운동 병행군은 다형백혈구 비율이 33.9%로 간헐적 저산소군 32.5%에 비해 높았고($p < 0.05$) 림프구 비율은 59.1%로 간헐적 저산소군 61.7%에 비해 낮았다($p = 0.022$)(Table 8, Fig. 7).

Table 8. Comparisons of hematologic parameters of leukocytes

Leukocytes	NC	NE	HC	HE
WBC ($10^9/L$)	3.4±1.5	4.7±1.6	3.9±1.8	4.1±1.0
PMNL ($10^9/L$)	1.0±0.5	1.8±0.7	1.2±0.5	1.4±0.5 [*]
Lymphocyte ($10^9/L$)	2.1±1.0	2.6±1.2	2.4±1.1	2.4±0.6
Monocyte ($10^9/L$)	0.2±0.1	0.3±0.2	0.2±0.2 [†]	0.3±0.2 [‡]
Eosinophil ($10^9/L$)	0.04±0.07	0.01±0.01	0.02±0.06	0.03±0.07
Basophil ($10^9/L$)	0.01±0.02	0.00±0.00	0.00±0.00	0.01±0.03
PMNL (%)	31.2±6.1	37.7±9.9 [*]	32.5±4.9 [†]	33.9±6.4 [‡]
Lymphocyte (%)	62.2±7.4	54.9±11.9 [*]	61.7±4.2 [†]	59.1±7.8 [‡]
Monocyte (%)	5.3±2.4	7.1±3.4	5.4±2.8	6.0±2.8
Eosinophil (%)	1.0±1.5	0.3±0.2	0.3±0.3	0.8±1.4
Basophil (%)	0.4±0.5	0.1±0.1	0.1±0.1	0.2±0.5

Values are mean±SD. WBC, white blood cell; PMNL, polymorphonuclear leukocyte.

^{*} $p < 0.05$ versus normoxia control (NC); [†] $p < 0.05$ versus normoxia exercise group (NE);

[‡] $p < 0.05$ versus hypoxia control (HC). HE, hypoxia exercise group. n=20 in each group.

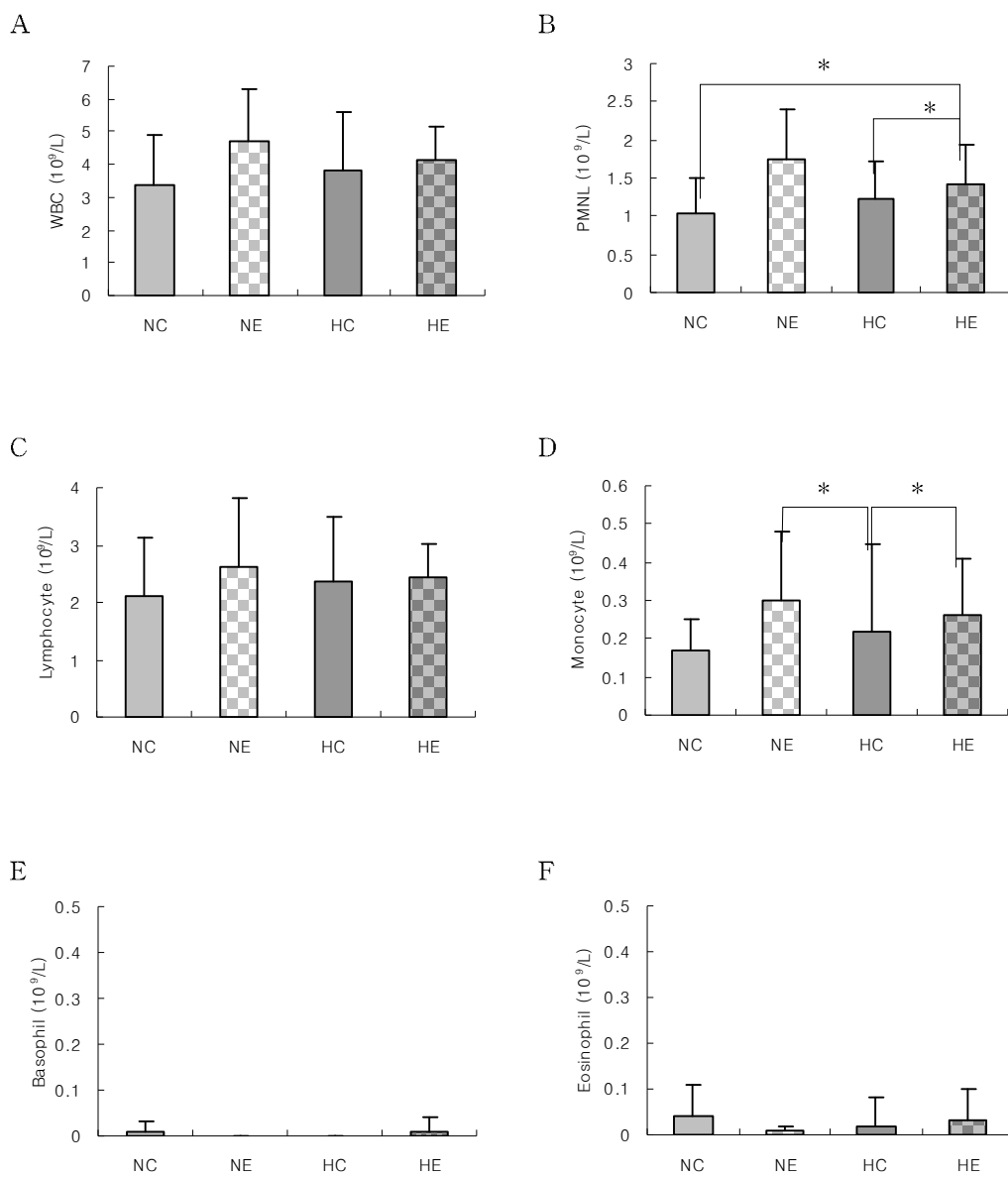


Fig. 6. Comparisons of hematologic parameters of leukocytes. Values are mean \pm SD. WBC, white blood cell; PMNL, polymorphonuclear leukocyte. * p <0.05 versus normoxia control (NC); † p <0.05 versus normoxia exercise group (NE); ‡ p <0.05 versus hypoxia control (HC). HE, hypoxia exercise group. n=20 in each group.

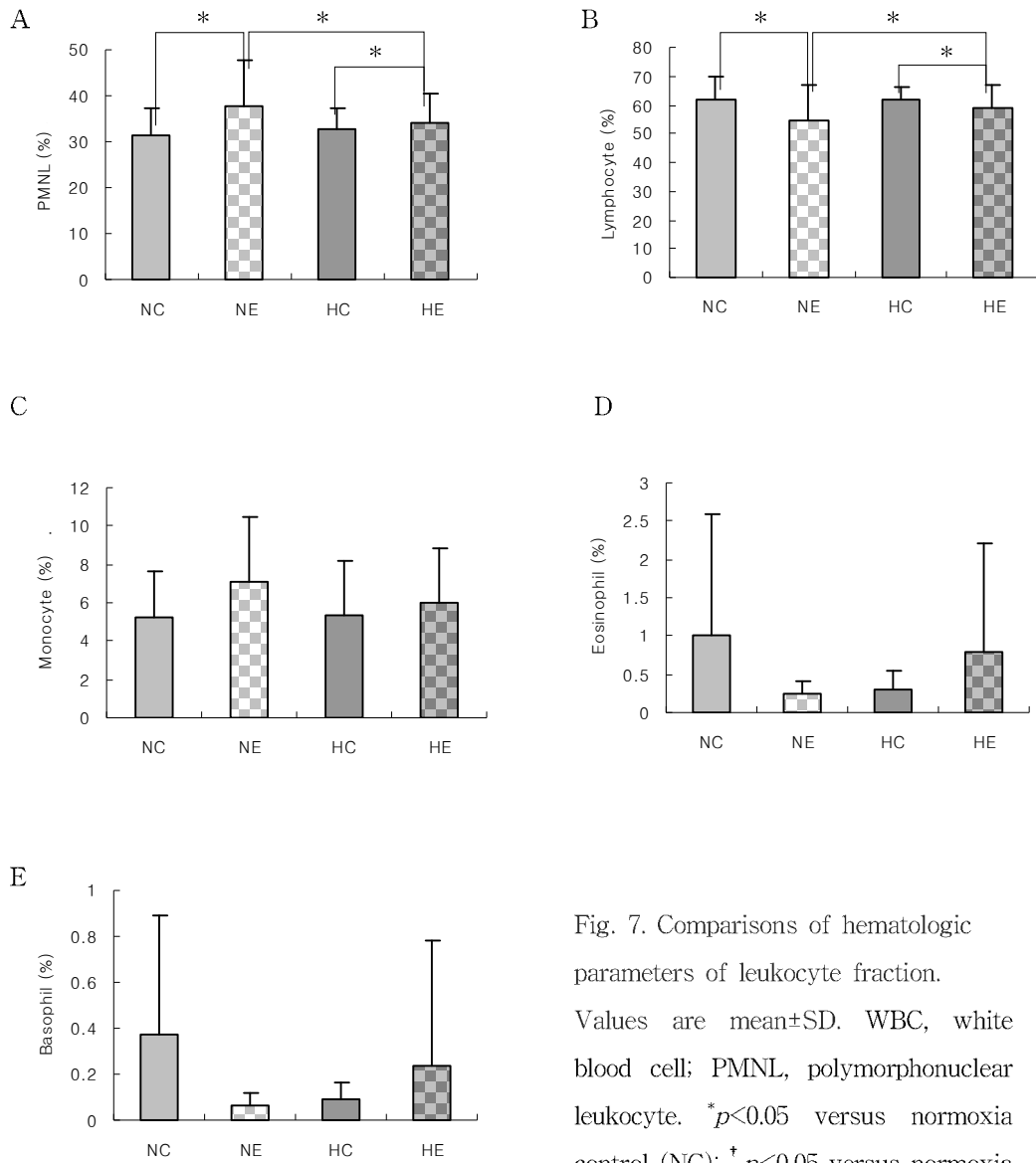


Fig. 7. Comparisons of hematologic parameters of leukocyte fraction. Values are mean±SD. WBC, white blood cell; PMNL, polymorphonuclear leukocyte. * $p < 0.05$ versus normoxia control (NC); † $p < 0.05$ versus normoxia exercise group (NE); ‡ $p < 0.05$ versus hypoxia control (HC). HE, hypoxia exercise group. n=20 in each group.

hypoxia control (HC). HE, hypoxia exercise group. n=20 in each group.

4) 혈중 젖산염 농도의 비교

1회의 운동 시 혈중 젖산염 농도 변화는 대조군은 안정 시 3.2 mmol/L에서 운동 직후 5.0 mmol/L로 1.8 mmol/L(56%) 증가하였고 간헐적 저산소군은 안정 시 2.8 mmol/L에서 운동 직후 4.2 mmol/L로 1.4 mmol/L(51%) 증가하였다. 그러나 운동을 지속적으로 수행한 운동군은 2.9 mmol/L에서 3.4 mmol/L로 0.5 mmol/L(18%) 증가하였고 간헐적 저산소 노출 운동 병행군은 2.9 mmol/L에서 3.2 mmol/L로 0.3 mmol/L(10%) 증가하였다. 운동 직후 젖산염 증가량의 비교에서는 운동군과 간헐적 저산소 노출 운동 병행군이 0.5 mmol/L와 0.3 mmol/L로 간헐적 저산소군 1.4 mmol/L에 비해 유의하게 낮았다($p < 0.05$)(Table 9, Fig. 8).

Table 9. Comparisons of serum lactate concentration

Groups	At rest (A)	Immediately after exercise(B)	12hr after exercise	Changes (B-A)
NC	3.2±0.7	5.0±1.4	3.3±0.4	1.8±2.0
NE	2.9±0.8	3.4±0.6	2.5±0.4	0.5±0.8*
HC	2.8±0.9	4.2±0.9	2.8±0.3	1.4±1.2
HE	2.9±0.5	3.2±0.7	2.8±0.2	0.3±0.7*

Values are mean±SD. NC, normoxia control; NE, normoxia exercise group; HC, hypoxia control; HE, hypoxia exercise group. * $p < 0.05$ versus HC. n=20 in each group.

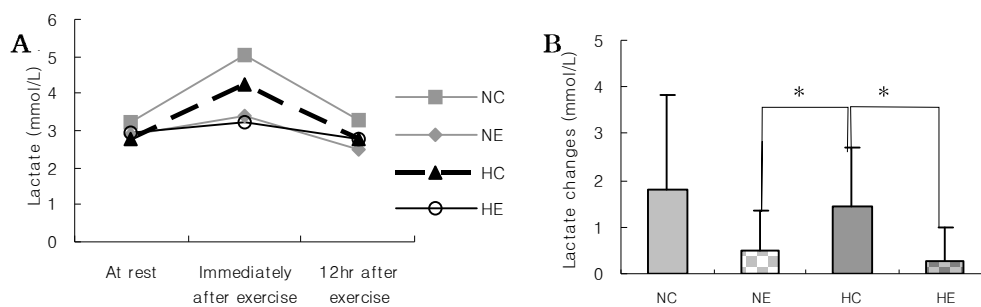


Fig. 8. Lactate concentration. A: Lactate concentration at rest, immediately after and 12 hours after one bout of exercise. B: Lactate changes immediately after one bout of exercise. Values are mean±SD. NC, normoxia control; NE, normoxia exercise group; HC, hypoxia control; HE, hypoxia exercise group. * $p < 0.05$. n=20 in each group.

IV. 고 찰

간헐적 저산소 환경이란 수분에서 수일간 저산소 상태에 1회 이상 반복해서 노출하는 것으로 반복노출 사이에는 저산소 상태보다 높거나 정상적인 산소농도(해수면 산소농도) 상태로 회복되는 것을 말한다. 운동과 관련된 신체의 반응이 일련의 저산소에 대한 신체의 보상반응(항상성 유지 반응)이라는 관점에서 저산소 노출에 대한 반응의 기전 연구는 항상성 유지 기전 및 병적 상태 조절기전을 밝히기 위한 기초 연구로 활발히 진행되고 있다. 하지만 지속적으로 저산소 환경에 노출되는 것은 면역체계의 강화와 혈액학적으로 산소섭취 및 전달률을 높이는 점에서는 긍정적이나 저산소 자체에 의한 부정적인 영향 즉, 만성 염증으로 인한 신체의 기능 저하, 지속적인 고혈압과 폐동맥의 비대, 및 감소된 혈장량이 신장의 호흡성 알칼리증 보상 과정에 미치는 영향 등을 배제할 수 없고⁹⁾ 출생 직후부터의 저산소 노출은 신경학적 발달과 장기의 발육과정에 역효과를 일으킬 수 있다는 점¹⁰⁾을 간과할 수 없다. 이에 본 연구에서는 출생시부터 장기적으로 간헐적인 저산소에 노출시키는 방식으로 지속적인 저산소 자극보다 완화된 환경을 조성하는 한편 반복적인 저산소 환경을 만들어 꾸준한 자극원으로 이용해 보았다. 반복적인 저산소 상태의 노출은 자극이 제거된 상태에서도 신체반응을 정상으로 회복시키지 않고 재자극이 주어지면 더 쉽고 빠르게 자극에 반응하는 이력현상(hysteresis)이나 기억효과를 통해 세포신호 전달 체계의 기초적인 과정이나 시냅스의 구조를 변화시킬 수 있다.⁹⁾ 신체의 항상성 유지 기전에 대한 연구 중에 고산지대 거주민의 고지적응 방식이 지역마다 다르다는 흥미로운 연구 결과가 있다. 동일한 고도에서도 티벳 지역 거주자는 안정 시 호흡횟수와 저산소자극 시 호흡반응의 정도가 높은 반면, 안데스 지역 거주자는 산소 포화도와 혈색소 농도가 높았다.^{5,11)} 여러 가지 연구를 통해 원인을 분석해 보았지만 뚜렷한 근거가 없어 Brutsaert¹²⁾는 유전적 차이에서 기인한 것이라고 주장하였다가 다시 유전적 차이에 대한 주장의 한계를 제시하기도 하였다.¹³⁾ 이에 원인분석의 일환으로 저자는 저산소 자극에 출생 후부

터 노출되었을 때 우선적으로 변화하는 것이 무엇인지 혈액학적 측면에서 확인하고자 하였다. 간헐적인 저산소에 장기간 노출하는 실험들에는 크게 고강도 저산소에 짧은 시간을 반복적으로 노출하는 경우와¹⁴⁾ 긴 시간동안 반복적으로 노출하는 실험들이 있다.¹⁵⁾ 지속적인 저산소 노출보다 간헐적인 저산소 노출에 관심을 갖는 이유는 지속적 저산소 상태의 부작용을 완화시키는 측면에서도 중요하지만 일반적인 생활을 하는 사람들은 간헐적인 저산소 환경에 노출될 가능성이 더 크기 때문이다. 병태생리 측면에서 볼 때 신생아의 무호흡증이나 수면무호흡증, 만성 폐질환 환자들의 무호흡 상태에서 볼 수 있듯이 간헐적이고 반복적인 저산소증에 노출될 가능성은 지속적으로 노출되는 저산소증의 빈도보다 높다. 또한 운동의 측면에서도 반복적인 저산소 자극에 대한 신체의 저항성이 학습을 통해 견고해지듯이 간헐적인 저산소 자극을 통해서는 긍정적인 효과를 기대할 수 있다. 병적인 간헐적 저산소 상태는 비교적 짧은 시간에 일어나는 자극이다. 이에 비해 운동 시의 저산소 자극은 보다 긴 시간에 걸친 자극이다. 운동을 할 때 지방대사가 탄수화물 대사를 초과하여 운동 에너지 생성의 주원료로 사용되는 시점이 20분 이후이므로¹⁶⁾ 지방대사와 관련된 운동의 긍정적인 효율성은 30분 이상의 운동을 할 때로 평가할 수 있다. 본 연구에서는 간헐적인 저산소 자극을 운동효과와 견주기 위해 30분씩 저산소 자극을 주는 것으로 시행하였다. 간헐적 저산소 자극의 최적 효과 기준은 규정된 바 없다. 본 실험에서는 저산소 챔버가 13%의 산소농도에서 다시 해수면 상태로(21%) 자연 복구되는 시간인 90분의 간격으로 재 자극을 시도하였는데 본 연구의 결과를 비롯해 반복자극 효과의 기준점을 마련하는 대단위 연구가 향후 시행되어야 할 것이다. 산소농도를 측정하는 데는 고도에 관련된 산소량을 기준으로 하였는데 해발 고도 12,000피트(약 3,930 m) 이상에 노출되면 1~2%에서 폐부종을 일으킬 수 있다.¹⁷⁾ 그래서 저산소의 단점을 최대한 보호하기 위해 해발 3,800 m 수준인 산소농도 13%(PiO_2 : 90 mmHg)¹⁸⁾의 상태로 저산소 자극을 시행하였다. 저산소 노출에 대한 항상성 유지 기전 중에 산소의 효율적인 흡수 및 전달을 위한 요소인 혈액세포에 초점을 맞추어¹⁹⁾ 출생시부터 시간에 따른 혈액 구성요소의 변화에 대해 검사하였다. 유전적인 요소, 성별을 동일하게 적용한 생쥐실

험 결과, 생후 40일까지는 RBC, Hb, Hct, RDW가 증가하였고 40일 이후에는 대조군과 비슷한 수준이 되었다. 이는 생후 40일까지 신체의 보상기전으로 적혈구계의 용적이 증가하고(RBC, Hb, Hct) 신생 적혈구 조혈이 증가하다가(RDW) 40일을 기준으로 정상 수준으로 적응하는 것으로 사료된다. RDW가 증가하면서 MCV가 감소하는 경우는 철결핍성 빈혈이나 적혈구 용혈의 경우에 나타날 수 있다. 이는 적혈구의 조혈작용이 시작되면서 상대적으로 철결핍성 빈혈이 일어나는 결과일 수 있어 이 때의 철분과 총철결합능 또는 저장철의 상태에 대해 연구해 보아야 하겠지만 고지대 거주민을 분석한 결과상 철결핍 빈혈의 소견은 보이지 않아⁵⁾ 궁극적인 차이를 반영하는 중요한 기전을 설명하는 결과는 아니라고 생각된다. 총백혈구 수와 림프구, 호산구, 호염기구는 초기에는 대조군과 비슷했으나 40일경을 전후로 대조군보다 유의하게 낮았고 60일경에는 대조군과 비슷해졌다. 다형백혈구는 40일째에 대조군보다 증가하다가 40일 이후에는 유의하게 감소하는데 이는 급성 저산소 자극에 림프구가 감소하고 다형백혈구가 증가하는 연구 결과와 부분적으로 흡사하여,²⁰⁻²²⁾ 간헐적인 저산소 자극이 강하고 짧은 급성 저산소 상태에 대한 반응을 반영하는 것으로 생각된다. 생쥐의 성장발달의 생리학적인 면에 대해 고려해 보면 암컷의 경우 생후 3주부터 난포발육이 시작되어 생후 30일에 성성숙이 완성이 되고 수컷의 성성숙은 2주정도 늦어 생후 35일경 정자를 형성할 수 있게 된다.^{23,24)} 이는 본 연구의 혈액학적 변화가 40일을 기준으로 대조군과 간헐적 저산소군에서 차이를 보이는 것을 설명하는 한 가지 지표로, 발달과정 중에는 간헐적 저산소 환경에 대해 RBC, Hb, Hct, RDW의 증가로 산소의 전달을 증가시키기 위해 보다 예민한 조절반응을 보이다가 성장이 완료되는 40일 이후부터는 성체로서 정상과 비슷하게 적응하는 것으로 사료된다. 적혈구 관련 인자가 정상화되는 40일을 전후로 유의하게 감소하는 백혈구의 변화반응은 간헐적 저산소 환경이 지속적으로 자극을 주고 있음을 입증하는 결과로, 본 연구를 통한 적혈구 관련 지표의 정상화 반응이(적응반응) 저산소 자극 환경을 충분히 유지하는 상태에서 유발된 것으로 평가할 수 있다.

성체가 되기까지 혈액반응이 유의하게 변화하다가 대조군과 최종적으로 차이를

보이지 않고 빠르게 정상화하는 것은 간헐적인 저산소 노출 자극이 반복적으로 작용하여 혈액학적 적응의 속도가 빨라진 것이라고 생각된다. 고도에 따른 저산소 환경에 적응하는 신체의 반응은 혈색소의 증가를 통한 산소의 운반능력을 증가시켜 적응하기도 하고 폐용적과 환기의 증가를 통해 적응하기도 하지만¹²⁾ 우선적으로 시도하는 적응반응은 혈액학적인 변화일 것으로 추측하는데 그 이유는 티벳 사람들의 고산지대 거주시기가 더 오래되고 안데스 지역사람들의 거주시기가 비교적 짧은 것을 고려해 볼 때²⁵⁾ 만성적인 저산소 환경에 노출되면 첫 세대에서는 산소의 포화능력을 우선적으로 향상시키는 쪽으로 적응할 것으로 예측하였다. 또한 티벳지역 거주민을 대상으로 시행한 다른 실험 결과 4,850~5,450 m의 고지에서는 티벳지역 거주민들도 혈색소 증가반응을 보였다.²⁶⁾ 초기에 혈액학적 적응을 시도하여 티벳 거주민들이 혈액학적으로 안정된 상태가 되더라도 더 강한 저산소 자극에서는 혈액학적 적응을 재 시도하고 있다는 것을 제시하는 결과이다.

신체적 성장을 평가하기 위해서 몸무게 측정을 하였다. 몸무게는 성장과정 중에는 30일부터 60일까지 대조군과 간헐적 저산소 노출군에서 차이를 보이지 않았으나 생후 20주가 경과한 후의 비교에서는 뚜렷한 차이를 보였다. 저산소 노출 급성기에 증가하는 에피네프린과 4일에서 6일 이상의 만성 노출 시에 작용하는 교감신경계의 반응에 의해서²⁷⁾ 급성기에는 β -아드레날린성 수용체의 자극으로 심박수와 심박출량 증가, 조직혈관 확장, 기관지 확장, 대사율 증가가 이루어지고, 만성기에는 교감신경계에서 분비되는 노르에피네프린의 영향으로 α -아드레날린성 수용체를 통해 조직혈액량, 혈압, 혈관 저항성 그리고 대사율이 증가하게 되어 몸무게가 감소된다.²⁸⁾ 또한 만성적인 저산소 상태에서는 에너지의 소비가 증가되고, 수분대사가 저하되며, 장내 수분 흡수도 감소하여 몸무게가 저하된다.²⁹⁾ 하지만 현저한 몸무게 감소 효과를 보려면 20주 이상의 간헐적 저산소에 노출해야 함을 보여준다.

성장이 완료된 이후, 운동과 간헐적 저산소 노출의 효과를 비교해 보기 위하여 대조군과 정상산소 상태 운동군, 간헐적 저산소 노출군 그리고 간헐적 저산소 상태에 노출하면서 해수면 산소농도의 상태로 운동을 시행한 군을 나누어 비교해

보았다. 본 연구에서는 간헐적인 저산소 노출의 트레드밀 운동 효과에 필적하는 긍정적인 결과를 찾고자 하였기 때문에 운동의 강도를 정하는데 있어 최대운동능력의 70%를 사용하는 범위에서 운동을 시행하였다. 생쥐의 일반적인 최대운동능력은 운동 3분 이내에 피로로 더 이상 트레드밀을 따라 달릴 수 없는 강도의 운동 속도를 일컫는데 평균 15~35 m/min의 속도이다. 미국 스포츠 의학회와 미국 심장학회는 심혈관 질환을 예방하기 위해서 최소한 최대심박수의 60~90% 이상을 올려주는 중강도 유산소 운동을 주 3~5회, 한 번에 20~60분간 시행하라고 권장하고 있고³⁰⁾ 운동능력의 70%에서 90분을 운동하게 되면 장내 투과도가 증가하여 오히려 염증반응이 증가되는 보고가 있어³¹⁾ 본 실험에서는 운동의 최적의 효과를 조성하기 위한 범위(최대운동 능력의 70%, 30분, 주 3회)에서 실험하고자 하였다. 그 결과 간헐적 저산소군은 Hb과 MCHC가 대조군에 비해 유의한 증가소견을 보였으나 Hb, MCH, MCHC, RDW에서 모두 운동군보다 유의하게 낮았다. 유의성은 없지만 평균값이 간헐적 저산소군이 대조군에 비해 RBC, Hct, MCH, RDW가 증가하고 MCV가 감소하였는데 이는 저산소 자극에 의한 유산소능력이 증가하는 것으로 사료된다. 하지만 그 효과가 10주일 동안 정상 상태에서 단순하게 운동을 하는 경우에는 미치지 못하므로, 저산소의 자극 강도와 최적의 운동효과를 견줄 수 있는 표준 값을 정하는 대단위 작업이 필요하다고 생각된다.

간헐적인 저산소 상태에서 생활하는 군에게 규칙적인 운동을 시행하게 되면 혈액학적으로 더 현저한 긍정적인 반응을 보일 것이고 운동 능력에 대해서도 더 증폭된 반응을 보일 것이라 생각하여 비교해 본 결과 간헐적 저산소 노출 운동병행군은 대조군에 비해 MCV가 유의하게 낮았고 MCHC와 RDW는 유의하게 높았다. 이는 조혈작용에 따르는 철결핍 빈혈의 초기단계라고 하기보다는 운동에 의한 적혈구 손상의 결과라고 생각한다. 상대적으로 Hb의 수치가 운동군이나 간헐적 저산소군에 비해 적게 증가하는 것도 적혈구 손상을 반영한다고 생각한다. 저산소 상태 노출 시 쥐의 적혈구 용혈검사를 시행한 연구에서 H₂O₂를 이용하여 유발한 용혈 실험 결과, 5,700 m에 해당하는 산소농도로 90분간 9일 동안 자극한 군과 6,300 m에 해당하는 산소농도로 30분간 15일 자극한 군에서 적혈구의 용해정도가

대조군보다 증가하였고, 삼투압 용혈 검사에서도 저산소 노출군의 용혈정도가 증가하여 적혈구 표면의 취약함을 증명한 바 있다.³²⁾ 세포 생리학적으로 적혈구는 세포막에 다불포화지방산(polyunsaturated)이 많고 세포 내 산소량과 혈색소가 많아 끊임없이 reactive oxygen species가 발생되며 이로 인한 손상을 방지하기 위해 지속적으로 항산화 효소들을 생성해 중화시킨다. 하지만 저산소 상태에 지속적으로 노출되면 적혈구 내 혈색소의 자동 산화반응으로 과산화기(superoxide radicals)의 유입이 증가되어 세포막이 취약해지고³³⁾ 이는 운동 자극으로 쉽게 손상될 수 있다. 간헐적 저산소 노출 운동 병행군과 간헐적 저산소군과의 비교에서는 RDW만 간헐적 저산소 노출 운동 병행군에서 유의하게 높았다. 이 결과는 운동을 병행하는 것이 간헐적 저산소 노출에 의한 산소운반 능력의 증대를 가속화시키지는 않는 것을 보여준다. 산소운반과 관련된 혈액학적 측면에서는 운동만 한 군이 가장 가시적으로 RBC와 Hb이 증가되었다. 하지만 순환계 세포의 차원에서는 대조군과 차이가 나지 않더라도 조직에서의 산소 이용 상태에 대해서는 확인이 필요하며 조직의 기능이 증가된 경우라면 혈액학적 적응을 완전하게 주장할 수 있을 것이다.

면역학적인 측면을 평가하고자 백혈구 성분을 검사한 결과 간헐적 저산소군이 대조군보다 림프구가 감소하고 다형백혈구가 증가하는 소견을 보이나 운동만 시행한 군보다는 저산소 노출군의 변화정도가 작고 저산소 상태에 운동을 병행한 군은 간헐적인 저산소군보다 조금 더 변화하나 역시 운동만 시행한 군보다는 증가량이 작았다. 이는 극한 운동 시에 증가된 백혈구의 과활성으로 감염, 노화, 피로 등의 역효과를 예방하기 위해 간헐적 저산소 노출을 병행한 운동훈련을 하면 다형백혈구가 상대적으로 작게 증가하여 피해를 줄일 수 있을 것임을 보여준다. 백혈구 성분의 분포율을 비교해 본 결과 림프구의 분포율이 감소하고 다형백혈구의 분포율이 증가하였는데 이에 대해서는 대단위 연구를 통해 면역기능 자체에 어떤 효과가 있는지 다형백혈구와 림프구의 산화 효소 생성량이나 탐식 기능을 확인해 보는 연구가 필요하다.

운동 능력을 측정하기 위해서는 최대산소섭취량(VO_{2max})을 평가하기도 하지만,

위양성 효과를 배제하기 어렵고, 시행자의 노력에 따라 결과가 달라져 평가가 부정확해질 수 있기 때문에³⁴⁾ 본 실험에서는 젖산염의 농도를 통해 운동 능력을 평가하였다. 정상에서는 93%의 에너지가 산소대사에 의해 생성되는데 저산소 상태에서는 84%의 에너지만 유산소성 에너지대사를 통해 생성된다. 즉 저산소성 상태에서는 무산소성 에너지 생성이 증가하여 상대적으로 젖산의 생성율이 증가하게 된다.²⁹⁾ 유의한 차이는 없지만 초기 1회의 운동 직전에 시행한 젖산염의 수치가 간헐적 저산소군이 대조군이나 운동군보다 더 낮은 것은 저산소 상태의 장기간 반복 노출에 대한 적응기전으로 생각된다. 장기간 고지에 노출한 경우 골격근 모세혈관의 밀도가 증가되고,³⁵⁾ 근육 미토콘드리아의 수와 유산소성 에너지 대사 효소가 활성화되며 미오글로빈의 농도가 증가하는 동시에 해당과정의 효소인 phosphofructokinase와 lactate dehydrogenase 등의 활성도가 억제 되어 젖산을 작게 형성하는 한편^{35,36)} 혈장 에피네프린 농도의 감소로 β -아드레날린성 수용체 자극을 통한 글리코겐 분해 자극이 감소하고 젖산이 감소하게 된다.³⁷⁾ 운동을 병행한 만성 저산소 노출군에서 운동직전 가장 작은 젖산염의 수치를 보인 것은 반복적인 운동에 의해서 심장 및 지근 타입의 골격근에서 젖산 제거 능력이 향상되고,³⁸⁾ 속근 타입의 골격근 세포에서 젖산 생성이 감소하며, 운동에 적응하는 근육이 운동시의 ADP 농도가 작게 증가하도록 대사작용을 조절하여 해당작용을 적게 하도록 하는 것으로³⁹⁾ 설명할 수 있다. 고지대 주민이나 고지적응 훈련 후에 나타나는 최대 운동 시의 낮은 젖산농도 증가율(lactate paradox) 역시 저산소의 만성 노출 시에 낮아지는 에피네프린과 세포내 ADP 감소를 통한 적응에 기인한다는 가설이 있는데^{40,41)} 도로 사이클 선수를 대상으로 해수면과 2,300 m에 해당하는 저압실에서 4주간 훈련을 실시한 실험에서 젖산농도가 훈련 전보다 두 집단 모두 낮았으나 고지훈련 집단에서 더욱 낮았다는 결과로 이를 뒷받침하였다.^{35,42)} 본 연구에서도 간헐적 저산소군과 간헐적 저산소 노출 운동 병행군의 젖산염 증가율이 낮아 운동 능력의 증대 효과를 기대할 수 있다.

간헐적 저산소 자극만 준 군에서 운동에 필적할 만한 차이를 보이는지 확인해 보기 위해 장기간의 운동군과 비교한 결과, 혈액학적인 면이나 운동 능력 면에서

운동만 시행한 군에 비해서는 효과가 작았다. 간헐적인 저산소 환경에서 장기간 운동을 반복적으로 병행한 경우는 혈액학적인 면에서는 뚜렷한 산소운반 능력의 증가소견이 보이지 않으나 운동 능력에 대해서는 잠재적인 능력이 증가하였다. 본 연구는 인공 챔버를 이용한 자극효과의 가능성을 확인한 실험으로 향후 효과의 최적점을 표준화한다면 지역적인 조건으로 저산소 환경을 접하기 어려운 상황에서 몸무게 감소 효과나 극한 운동에 대비한 훈련 등에 유용하게 사용할 수 있을 것이다.

본 연구를 통해 간헐적 저산소에 출생 직후부터 노출되면 혈액학적 변화 후에 다시 정상화되는 적응 과정을 겪게 되고, 산소운반에 대한 잠재적 능력이 증가하여 운동에 대한 반응이 좋아지는 것을 확인하였다.

V. 결 론

본 연구에서는 장기간에 걸친 저산소 환경의 노출과 트레드밀 운동이 유발하는 혈액학적 변화에 대해 연구하고자 하였고 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 간헐적 저산소 환경에 노출된 생쥐의 경우 성장 단계 초기에는 몸무게의 변화가 없었으나 성장 단계가 완료된 후로는 유의하게 감소되었으며 운동자극에 의해서도 몸무게가 감소하였다. 특히 성체의 경우 저산소 환경의 노출과 트레드밀 운동을 병행하는 경우 10% 이상의 몸무게가 감소하였다. 이를 통해 운동뿐 아니라 간헐적 저산소 환경에의 노출만으로도 몸무게 감량 효과가 있음을 확인하였다.
2. 간헐적 저산소 환경에 노출된 경우 성장 초기 단계에는 RBC, Hb, Hct 등 산소 운반에 관련된 혈액 인자들의 증가 양상을 보이다가 40일 이후로는 정상 산소 환경과 비슷하거나 낮아졌다. 또한 MCH와 MCHC는 정상 초기 정상 대기 환경과 비슷하였으나 40일 이후로 증가 하는 양상을 보였다. 이는 성장 초기 저산소 상태에 적응하기 위한 현상으로 사료된다.
3. 성장이 완료된 이후 트레드밀 운동 시 백혈구 수가 전반적으로 증가되었으며 이것은 운동이 면역기능에 긍정적 영향을 줄 수 있음을 나타낸다. 또한 적혈구 관련지표의 경우 RBC와 Hb이 증가되었다. 이는 적혈구 수의 증가와 더불어 혈액의 산소 운반 능력이 증가하여 유산소 능력이 발달함을 나타낸다.
4. 운동평가 전 기본 젖산염 수치는 모든 군에서 비슷하고 운동평가 직후 모두 젖산염 수치가 증가되며 12시간 후에는 운동평가 전으로 회복되었다. 그러나 운동군에서는 그 증가량이 적었고 저산소 환경에 노출된 군은 정상 산소군에 비하여 증가량이 낮은 경향을 보였다. 이를 통해 저산소 환경의 노출과 트레드밀 운동으로

유산소 능력이 발달함을 확인할 수 있었다.

이상의 결과로 간헐적이고 만성적인 저산소 환경의 노출과 트레드밀 운동은 혈액 내 산소 운반 능력을 향상시키며, 이러한 적응 반응은 한 세대 내에서 이루어진다는 것을 알 수 있다.

참 고 문 헌

1. Robert SM. Altitude, exercise and immune function. *Exerc Immunol Rev* 2005;11:6-16.
2. Powers SK, Demirel H, Vincent H, Coombs J, Naito H. Exercise training improves myocardial tolerance to in vivo ischemia-reperfusion in the rat. *Am J Physiol* 1998;275:1468-77.
3. Selye H. *The stress of life*. New-York. MacGraw-Hill. 1956.
4. Radak Z, Chung HY, Koltai E, Taylor AW, Goto S. Exercise, oxidative stress and hormesis. *Ageing Res Rev* 2008;7:34-42.
5. Cynthia MB, Gary MB, Kingman PS. Hemoglobin concentration of high-altitude Tibetans and Bolivian Aymara. *Am J Physic Physiol* 1998;106:385-400.
6. Chapman RF, Stray-Gundersen J, Levine BD. Individual variation in response to altitude training. *J Appl Physiol* 1998;85:1448-56.
7. Bonetti DL, Hopkins WG. Sea-level exercise performance following adaptation to hypoxia: a meta-analysis. *Sports med* 2009;39:107-27.
8. Casas H, Murtra B, Casas M. Increased blood ammonia in hypoxia during exercise in humans. *J Physiol Biochem* 2001;57:303-12.

9. Frank LP, Nathalie G. Mini review: Physiological effects of intermittent hypoxia. *High Alt Medicine Biol* 2000;1:125-36.
10. Singer D. Neonatal tolerance to hypoxia: a comparative-physiological approach. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 1999;123:221-34.
11. Cynthia MB. Andean, Tibetan, and Ethiopian patterns of adaptation to high-altitude hypoxia. *Integrat Comparat Biol* 2006;46:18-24.
12. Brutsaert TD. Population genetic aspects and phenotypic plasticity of ventilatory responses in high altitude natives. *Respir Physiol Neurobiol* 2007;30:151-30.
13. Brutsaert TD. Limits on inferring genetic adaptation to high altitude in Himalayan and Andean populations. *High Alt Med Biol* 2001;2:211-25.
14. Stephen RR, David G. Respiratory and metabolic response to early chronic intermittent hypoxia and sustained hypoxia in the developing rat. *Pediatr Research* 2006;60:680-6.
15. Benjamin DL. Intermittent hypoxic training: Fact and fancy. *High Alt Med Biol* 2002;3:177-93.
16. Ball-Burnett M, Green H, Houston M. Energy metabolism in human slow and fast twitch fibers during prolonged cycle exercise. *J Physiol* 1991;437:257-67.

17. Baird RE, McAninch GW. High altitude illness. *Am Fam Physician* 1989;39:30-1.
18. Zieliński J. Effects of intermittent hypoxia on pulmonary haemodynamics: animal models versus studies in humans. *Eur Respir J* 2005;25:173-80.
19. Wardyn GG, Rennard SI, Brusnahan SK, McGuira TR, Carlson ML, Smith LM et al. Effects of exercise on hematological parameters, circulation side population cells, and cytokines. *Exp Hematol* 2008;36:216-23.
20. Pedersen BK, Steensberg A. Exercise and hypoxia: effects on leukocytes and interleukin-6 shared mechanisms? *Med Sci Sports Exerc* 2002;34:2004-13.
21. Thake CD, Mian T, Garnham AW, Mian R. Leukocyte counts and neutrophil activity during 4 h of hypocapnic hypoxia equivalent to 4000 m. *Aviat Space Environ Med* 2004;75:811-7.
22. Abellán R, Remacha AF, Ventura R, Sardà MP, Segura J, Rodríguez FA. Hematologic response to four weeks of intermittent hypobaric hypoxia in highly trained athletes. *Haematologica* 2005;90:126-7.
23. Henry LF, James GF. *The Mouse in Biomedical Research* vol. 4. Academic press. 1982.
24. James GF, Stephen WB, Muriel TD, Christian E. *Laboratory Animal Medicine*. Newcomer Edition 2. Academic Press. 2007.

25. Moore LG. Human genetic adaptation to high altitude. *High Alt Med Biol* 2001;2:257-79.
26. Beall CM, Goldstein MC, Tibet Academy of Social Sciences. Hemoglobin concentration of pastoral nomads permanently resident at 4,850~5,450 meters in Tibet. *Am J Phys Anthropol* 1987;73:433-8.
27. Mazzeo RS, Wolfel EE, Butterfield GE, Reeves JT. Sympathetic responses during 21 days at high altitude (4300 m) as determined by urinary and arterial catecholamines. *Metabolism* 1994;42:1226-32.
28. Mazzeo RS, Child A, Butterfield GE, Braun B, Rock PB, Wolfel EE et al. Sympathoadrenal responses to submaximal exercise in women after acclimatization to 4000 m. *Metabolism* 2000;49:1036-42.
29. Ling Q, Sailan W, Ran J, Zhi S, Cen L, Yang X et al. The effect of intermittent hypoxia on body weight, serum glucose and cholesterol in obesity mice. *Pak J Biol Sci* 2008;15:869-75.
30. Haskell WL, Lee IM, Pate RR, Powell KE, Blair SN, Franklin BA et al. Physical activity and public health: updated recommendation for adults from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Med Sci Sports Exerc* 2007;39:1423-34.
31. Van Nieuwenhoven MA, Brouns F, Brummer RJ. Gastrointestinal profile of symptomatic athletes at rest and during physical exercise. *Eur J Appl Physiol* 2004 ;91:429-34.

32. Devi SA, Vani R, Subramanyam MV, Reddy SS, Jeevaratnam K. Intermittent hypobaric hypoxia-induced oxidative stress in rat erythrocytes: protective effects of vitamin E, vitamin C, and carnitine. *Cell Biochem Funct* 2007;25:221-31.
33. Rifkind JM, Zhang L, Levy A, Manoharan PT. The hypoxic stress on erythrocytes associated with superoxide formation. *Free Radic Res Commun* 1991;12-13:645-52.
34. Levine BD, Stray-Gundersen J. Point: positive effects of intermittent hypoxia (live high: train low) on exercise performance are mediated primarily by augmented red cell volume. *J Appl Physiol* 2005;99:2053-8.
35. Terrados N, Melichna J, Sylvén C, Jansson E, Kaijser L. Effects of training at simulated altitude on performance and muscle metabolic capacity in competitive road cyclists. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol* 1988;57:203-9.
36. Casas M, Casas H, Pagés T, Rama R, Ricart A, Ventura JL, et al. Intermittent hypobaric hypoxia induces altitude acclimation and improves the lactate threshold. *Aviat Space Environ Med* 2000;71:125-30.
37. Terrados N, Jansson E, Sylvén C, Kaijser L. Is hypoxia a stimulus for synthesis of oxidative enzymes and myoglobin? *J Appl Physiol* 1990;68:2369-72.
38. Mazzeo RS, Brooks GA, Butterfield GE, Cymerman A, Roberts AC, Selland

- M, et al. Beta-adrenergic blockade does not prevent the lactate response to exercise after acclimatization to high altitude. *J Appl Physiol* 1994;76:610-5.
39. Donovan CM, Brooks GA. Endurance training affects lactate clearance, not lactate production. *Am J Physiol* 1983;244:E83-92.
40. Fagard R, Bielen E, Amery A. Heritability of aerobic power and anaerobic energy generation during exercise. *J Appl Physiol* 1991;70:357-62.
41. Hochachka PW, Bianconcini MS, Parkhouse WS, Dobson GP. On the role of actomyosin ATPases in regulation of ATP turnover rates during intense exercise. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:5764-8.
42. Hochachka PW, Stanley C, Matheson GO, McKenzie DC, Allen PS, Parkhouse WS. Metabolic and work efficiencies during exercise in Andean natives. *J Appl Physiol* 1991;70:1720-30.

Abstract

Effects of treadmill training and exposure to chronic intermittent hypoxic environment on blood parameters in mice

Ko Woon Chun

*Department of Medicine
The Graduate School, Yonsei University*

(Directed by Professor Joo Young Park)

Chronic intermittent hypoxia (IH) will make effective changes of hematologic parameters (HP) to maintain homeostasis, but when the exposure starts promptly after birth to continue during developing period, it will elicit acclimatization. Through adaptation, the exercising ability will increase after the stimulation of strenuous exercise. To test the hypothesis, we analyzed HP of the IH group and the normal control group from birth to 60 days-old with serial sampling in increments of 5 days starting from 30 days-old. We also analyzed the lactate and HP after one bout of strenuous exercise among the IH group, the IH with exercise (treadmill training in room air, 16~20 m/min, 30~40 min/day, 3 days/week) group, the normoxia exercise group and the normal control group. Balb/c mice were exposed IH (alternating room air and 13% O₂, 30 min/2 hrs) elevated

RBC, Hb, Hct until 40 days-old, after which the levels were returned to normal. However, immediately after the strenuous exercise, the lactate level decreased the degree of elevation in the IH group and the IH with exercise group. In conclusion, hematologic adaptation is induced by chronic intermittent hypoxia within developing period, and the ability to deliver oxygen provoked by strenuous exercise is increased in mice.

Key words : Intermittent hypoxia, hematologic parameters, acclimatization, lactate concentration, treadmill training