

2009년 8월
박사학위논문

흰쥐의 적혈구내 항산화효소에
대한 인 성장호르몬의 효과

조선대학교 대학원

의 학 과

신 철 화

흰쥐의 적혈구내 항산화효소에 대한 인 성장호르몬의 효과

Effect of Human Growth hormone to Antioxidant
enzymes in Rat Erythrocyte

2009년 8월 25일

조선대학교 대학원

의 학 과

신 철 화

흰쥐의 적혈구내 항산화효소에
대한 인 성장호르몬의 효과

지도교수 정 혁

이 논문을 의학 박사학위 신청 논문으로 제출함

2009년 4월

조선대학교 대학원

의 학 과

신 철 화

신철화의 박사학위논문을 인준함

위원장 연세대학교 교수 박기현 _____인

위원 고신대학교 교수 김흥열 _____인

위원 조선대학교 교수 한세준 _____인

위원 조선대학교 교수 정혁 _____인

위원 조선대학교 교수 최광주 _____인

2009년 5월

조선대학교 대학원

목 차

도목차	i
ABSTRACT	ii
I. 서론	1
II. 연구대상 및 방법	3
A. 동물	3
B. 실험 방법	3
1. Catalase 측정	4
2. SOD 측정	4
3. MDA 측정	4
4. Hemoglobin과 단백질 정량	5
C. 통계 분석	5
III. 결과	6
A. Catalase 변화	6
B. Superoxide Dismutase(SOD)의 변화	7
C. Malondialdehyde(MDA)의 변화	8
IV. 고찰	10
참고문헌	13
국문초록	16

도 목 차

Figure 1. The changes of Catalase level in erythrocytes-----	6
Figure 2. The changes of Superoxide dismutase (SOD) level in erythrocytes-----	7
Figure 3. The changes of serum Malondialdehyde (MDA) level-----	8

ABSTRACT

흰쥐의 적혈구 내 항 산화효소에 대한 인 성장호르몬의 효과

Effect of Human Growth Hormone to Antioxidant
Enzymes in Rat Erythrocyte

Shin Chul Wha

Advisor : Prof. Jung Hyuk M.D., Ph.D.

Department of Medicine,

Graduate School of Chosun University

Objective: To observe whether any relationship exists between the dosage of growth hormone and the plasma concentration of malondialdehyde (MDA) or whether a relationship exists between the dosage of growth hormone and the activity of erythrocyte enzymes, superoxide dismutase (SOD) and catalase, on hypophysectomized male rats.

Methods: We used 40 hypophysectomized Sprague-Dewley rats randomly assigned to four groups. The first group (group A) was allowed to evolve freely with no growth hormone supply. Human growth hormone was administered subcutaneously to the other three groups at dose of 1 IU/kg/day (group B), 4 IU/kg/day (group C) and 8 IU/kg/day (group D) after 2 weeks of recovery date from operation and 4 weeks of growth

hormone treatment, blood samples were obtained from the four groups. The concentrations of MDA, the concentrations of erythrocyte catalase and SOD were determined.

Results: There were significant correlations between the dose of growth hormone and the concentrations of erythrocytes catalase and SOD in the group C,D Whereas catalase and SOD activities in erythrocyte was decreased in growth hormone group. Any relationship wasn't found between the growth hormone and plasma MDA levels in all groups.

Conclusion: These result suggested that the catalase and SOD in erythrocyte is related the dosage of growth hormone. This model may explain the contradictory findings presented by growth hormone with respect to their pro-oxidant action. The further study will be needed to evaluate the effect of growth hormone induced plasma lipid peroxidation.

Key Words: Human growth hormone, MDA, Catalase Superoxide dismutase, Hypophysectomized rat

I. 서론

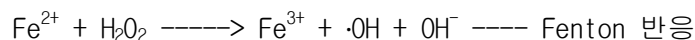
Free radical이란 산소 원자나 분자에 부대 전자가 존재하는 활성 산소 (reactive oxygen)를 말하는 것으로, 생체 내에서 생성되는 free radical의 종류로는 초산화 음이온(superoxide anion, O_2^-), 과산화수소(hydrogen peroxide, H_2O_2), hydroxyl radical(OH^\cdot), singlet oxygen($-O_2$), triplet oxygen($3O_2$) 및 peroxy radical(ROO^\cdot) 등이 있다.

이들은 탐식 작용, prostaglandin 합성과 같은 생리적 과정뿐만 아니라 많은 효소 촉매 반응의 중간물질로서 중요한 역할을 하고 있다. 그러나 강한 반응성 때문에 인접한 세포 성분들을 무차별 공격하여 세포 손상을 일으킬 수 있다.

또한 1956년 Harman에 의해 제기된 free radical 등에 의한 DNA 손상, 단백질 손상, 지질 손상 등의 유해한 손상이 축적되어 노화가 촉진된다는 free radical theory도 현재까지 각광받고 있다.¹

Free radical 중 생체 내에서 가장 빈번하게 출현하고 중요하게 취급되는 것이 산소 radical이다. 주요 산소 radical로는 superoxide(O_2^-), hydroxyl ($\cdot OH$), perhydroxyl(HO_2^\cdot), alkoxy(RO^\cdot), peroxy(ROO^\cdot) radical 등이 있다.

그 외 radical은 아니지만 반응성이 강한 산소 종으로 과산화수소(H_2O_2)와 singlet oxygen이 있다. 이들을 활성 산소라 부르며 이는 생체 내의 다양한 반응 속에서 발생하며 이때 철이나 구리 같은 전이 금속 이온이 이들의 발생을 촉진시킨다. 또한 활성 산소는 여러 가지 반응을 통하여 서로 전환되는데 다음은 그 대표적인 예이다.



생체는 이상의 free radical을 소거함으로써 자신을 보호하는 항산화제들 (antioxidants)을 가지고 있다. 주요 생리적 항산화제로는 superoxide radical을 제거하는 superoxide dismutase(SOD), 과산화수소를 제거하는 catalase, glutathione peroxidase 및 기질 특이성이 다른 몇 종의 peroxidase와 같은 효소와 vitamin E, vitamin A, reduced glutathione

(GSH), ascorbate, histamine, urate, ubiquinone 같은 비효소적 물질이 알려져 있다.

노화에 따라 성인병의 발생이 점차 증가하며 근래에 들어 암, 동맥경화증, 자가 면역질환, 관절염, 폐질환, 당뇨병, 심근경색증, 뇌 및 신경질환 등의 발생과 진행 경과에 free radical이 관여하고 있다는 연구들이 많이 보고되고 있으며,² 이러한 성인병은 성장호르몬의 감소와도 밀접한 관계를 가지고 있는 것으로 알려져 있다.

30대 이후부터 성장호르몬이 점차적으로 감소하기 시작해 노년기에 들어서면 성장호르몬이 거의 고갈되어 성인병 발생 위험도가 급격히 증가하는데 이것이 free radical의 증가와 밀접한 관련이 있을 것이라는 여러 보고가 대두되고 있으나,³ free radical의 증가가 어떤 경로를 통하는지 과연 노년기에 free radical이 증가되는지 이러한 변화가 성장호르몬과 같은 호르몬과의 직접 관련이 있는지에 대해서는 아직 명확하게 밝혀진 것이 없으며 이러한 작용이 성장호르몬과 용량 의존성(dose dependent)인지도 명확히 규명되어 있지 않다.⁴

기존의 연구들에 의하면 성장호르몬 감소에 따른 free radical의 증감을 알기 위한 연구들이 있으나, 노년기라도 혈중에 미량이나마 성장호르몬이 잔존하고 또 각자의 혈중치가 다르기 때문에 성장호르몬과 free radical의 관계를 확연히 구분하기 위해서는 성장호르몬을 분비하는 뇌하수체를 제거한 동물 실험이 필요하리라 생각되어 뇌하수체를 완전히 절단한 쥐를 이용하였다.

Free radical의 변화는 free radical의 변화와 밀접한 관계가 있는 항산화 효소인 SOD, catalase와 free radical에 의한 세포 손상 시에 증가되는 malondialdehyde(MDA)의 변화를 측정하여 성장호르몬의 free radical에 대한 작용을 간접적이거나 확인하고자 하였다.

II. 연구대상 및 방법

A. 동물

본 연구에 사용된 동물은 국내에서 사육 중인 생후 20주된 웅성 Sprague-Dawley rat를 para-pharyngeal method로 뇌하수체 절제 후 2주간의 안정기를 지나서 성장호르몬을 4주간 투여하였다. 제 A군은 뇌하수체를 절제한 후 성장호르몬을 투여하지 않은 대조군이었으며(n=10), 제 B,C,D군(연구군)은 뇌하수체를 절제한 후 각각 성장호르몬을 투여하였다(n=10). 온도와 명암이 조절되는 곳에서 실험에 사용될 때까지 사육하였으며, 사료와 물은 무제한으로 급여하였다.

B. 실험 방법

뇌하수체 절제로 인해 부신피질호르몬과 갑상선호르몬이 결핍되므로 부신피질호르몬과 갑상선호르몬을 투여하였다.

대조군의 경우는 성장호르몬을 투여하지 않았고(A group), 연구군은 각 군에 따라서 1 IU/kg/day의 성장호르몬(B group), 4 IU/kg/day의 성장호르몬(C group), 8 IU/kg/day의 성장호르몬(D group)을 각각 투여하였으며, 각 군당 10 마리씩으로 하였다. 성장호르몬의 투여는 1일 2회 오전 8시와 오후 5시에 목덜미 피하주사로 분할 투여하였다. 본 연구에서 사용한 성장호르몬은 (주)LG화학에서 제조한 것으로 역가는 2.9 IU/mg이었다. 이렇게 총 6주간 경과한 후 모든 동물들을 전신 마취 시킨 후 heparin 처리된 주사기를 이용하여 혈액을 채취하였다. 채취된 혈액으로부터 적혈구와 혈청을 분리하기 위해서는 heparin 처리된 주사기를 이용하여 혈액을 수집한 다음 15ml용 conical tube에 옮겨 4°C에서 2,500g로 5분간 원심분리 하였다. 상층액은 혈청 층이므로 5ml용 test tube에 분주하여 사용 직전까지 -70°C deep freezer에 냉동 보관하였다.

적혈구 층은 ice cold saline으로 세 번 정도 washing한 다음 적혈구 pellet에 4배 volume의 ice cold 증류수로 재 용해시킨 다음 100 μ l와 250 μ l를 eppendorf tube에 분주하여 사용 직전까지 -70°C deep freezer에 냉동 보

관하였다.

1. Catalase 측정

냉동 보관된 적혈구 $100\mu\text{l}$ 가 들어있는 eppendorf tube에 sample diluent를 400배 희석하여 사용하였다. 희석된 시료 $30\mu\text{l}$ 에 $10\text{mM H}_2\text{O}_2$ 를 $500\mu\text{l}$ 첨가하여 정확하게 1분 동안 실온에서 방치하였다가 stop reagent를 $500\mu\text{l}$ 첨가한 후 뚜껑을 닫고 위아래로 흔들면서 혼합한 후 catalase를 측정하였다.

측정방법은 그 혼합물 $20\mu\text{l}$ 에 HRP/chromogen reagent 2ml을 첨가하여 잘 혼합한 후 10분간 방치하였다가 spectrophotometer를 이용하여 520nm 에서 흡광도를 측정하였다. Catalase 측정은 Bioxytech 사의 catalase-520을 구입하여 사용하였다.

2. SOD 측정

냉동 보관된 적혈구 $250\mu\text{l}$ 가 들어있는 eppendorf tube에 차가운 extraction reagent(ethanol/chloroform : 62.5/37.5)를 $400\mu\text{l}$ 첨가한 후 30초 동안 진탕 혼합하여 4°C , $3,000\text{Xg}$, 5분간 원심분리 후 상층액만을 분리하여 새로운 eppendorf tube에 옮겨서 SOD를 측정하는데 사용하였다. 증류수로 흡광도 525nm 에서 spectrophotometer를 0으로 맞춘 뒤 각각의 tube에 buffer $900\mu\text{l}$ 를 첨가한 후 준비된 시료 $40\mu\text{l}$ 와 R2 $30\mu\text{l}$ 를 첨가하여 vortexing 하였다.

그런 다음 37°C 에서 1분간 incubation 후 R1 $30\mu\text{l}$ 를 첨가하여 가볍게 진탕 혼합한 후 즉시 cuvette에 옮겨 흡광도 525nm 에서 바로 읽고, 30초, 1분 후에 각각 읽어서 SOD 활성도를 측정하였다. SOD 측정은 Bioxytech 사의 SOD-525를 구입하여 사용하였다.

3. MDA 측정

냉동 보관된 혈청을 녹여서 $210\mu\text{l}$ 를 채취하여 MDA 측정하는데 사용하였다. Tube에 BHT(500mM) $11\mu\text{l}$ 를 분주한 후 냉동 보관된 혈청을 녹여서 $210\mu\text{l}$ 와

HCl 5.3 μ l를 첨가하여 잘 혼합한 다음 60 $^{\circ}$ C에서 80분 동안 incubation 한 후 실온에 방치하였다. 희석된 R1 680 μ l를 첨가하여 잘 혼합한 후 13,000g에서 5분 동안 원심 분리하여 새로운 eppendorf tube에 상층액을 660 μ l 옮겼다. 그런 다음 R2 115 μ l를 첨가하여 잘 혼합한 후 45 $^{\circ}$ C에서 60분 동안 incubation 하였다가 13,000Xg에서 5분간 원심분리 후 그 상층액으로 spectrophotometer를 이용하여 흡광도 572nm를 읽어서 MDA를 측정하였다. MDA 측정은 Bioxytech 사의 MDA-586을 구입하여 사용하였다.

4. Hemoglobin과 단백질 정량

Hemoglobin은 Salvati 등의 cyanomethemoglobin법에 의해, 단백질은 Lowry 등의 방법에 의해 측정하였고 표준단백질로는 bovine serum albumin을 사용하였다.

5. 통계 분석

통계는 먼저 Kruskal Wallis test를 이용하여 전체 그룹과 MDA, 적혈구 내 catalase와 SOD 값들이 서로 유의한 차이를 나타내었는지를 알아보았고, Mann-Whitney test를 이용하여 각 그룹 간의 비교를 통하여 P-value가 0.05 이하를 유의한 차이점이 있는 것으로 하였다.

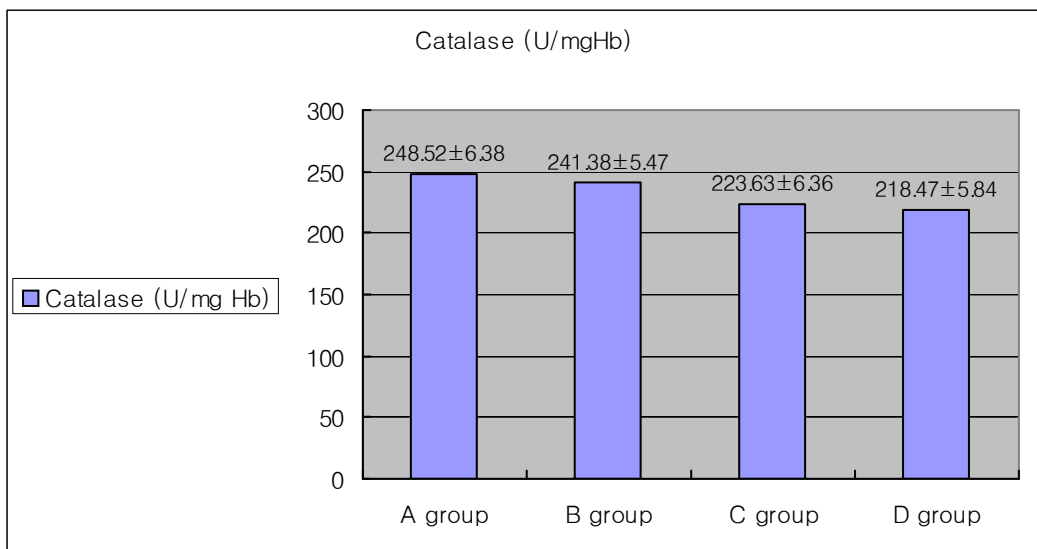
III. 결 과

A. Catalase의 변화

성장호르몬을 투여하지 않았던 group A의 적혈구 내 평균 catalase 값은 248.52 ± 6.38 U/mgHb 였다. group B, group C, group D에서의 평균값은 각각 241.38 ± 5.47 U/mgHb, 223.63 ± 6.36 U/mgHb, 218.47 ± 5.84 U/mgHb 였다.

성장호르몬을 투여하지 않은 대조군 group A에 비해 group C, group D에서 적혈구 내 평균 catalase 값은 통계적으로 유의하게 감소하였다.

Figure 1. The changes of Catalase level in erythrocytes



Kruskal Wallis test : $P < 0.05$

Mann-Whitney test

P value between A and B group : $P > 0.05$

P value between A and C group : $P < 0.05$

P value between A and D group : $P < 0.05$

P value between B and C group : $P < 0.05$

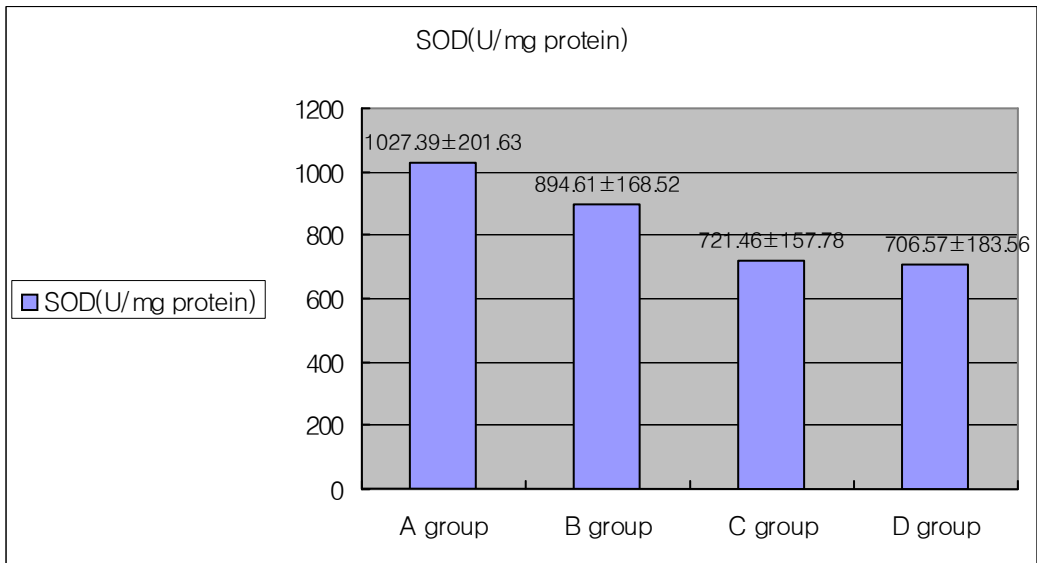
P value between B and D group : $P < 0.05$

P value between C and D group : $P > 0.05$

B. Superoxide dismutase (SOD)의 변화

성장호르몬을 투여하지 않았던 대조군 group A의 적혈구 내 평균 SOD 값은 $1,027.39 \pm 201.63 \text{U/mg protein}$ 였다. group B, group C, group D에서의 평균 값은 각각 $894.61 \pm 168.52 \text{U/mg protein}$, $721.46 \pm 157.78 \text{U/mg protein}$, $706.57 \pm 183.56 \text{U/mg protein}$ 였다. 성장호르몬을 투여하지 않은 group A에 비해 group C, group D에서 적혈구내 평균 SOD 값은 유의하게 감소되었다.

Figure 2. The changes of Superoxide dismutase (SOD) level in erythrocytes



Kruskal Wallis test : $P < 0.05$

Mann-Whitney test

P value between A and B group : $P < 0.05$

P value between A and C group : $P < 0.05$

P value between A and D group : $P < 0.05$

P value between B and C group : $P < 0.05$

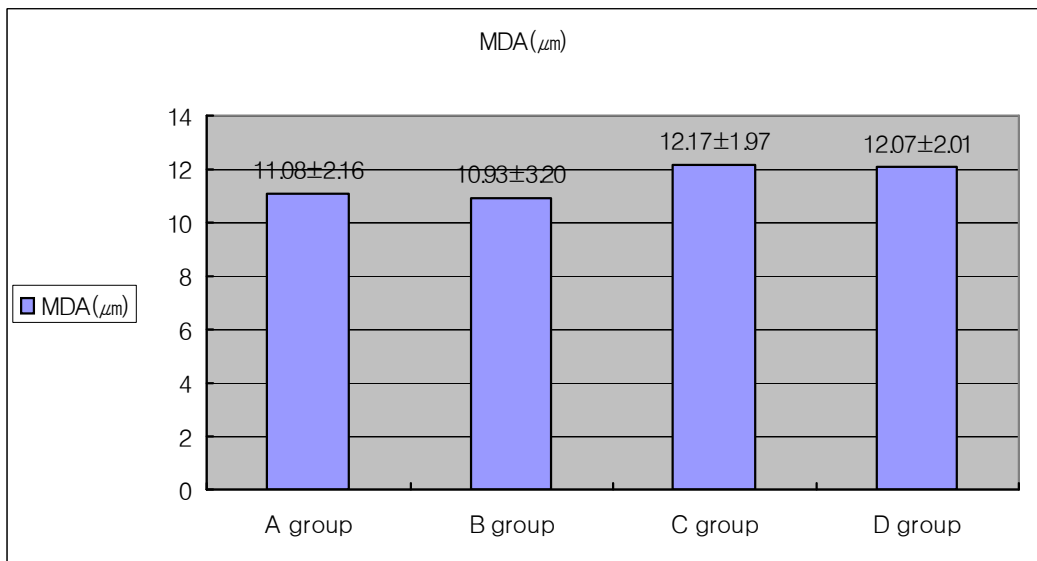
P value between B and D group : $P < 0.05$

P value between C and D group : $P > 0.05$

C. Malondialdehyde (MDA)의 변화

성장호르몬을 투여하지 않았던 group A의 혈장 내 평균 MDA 값은 $11.08 \pm 2.16 \mu\text{m}$ 였다. Group B, group C, group D에서의 평균값은 각각 $10.93 \pm 3.20 \mu\text{m}$, $12.17 \pm 1.97 \mu\text{m}$, $12.07 \pm 2.01 \mu\text{m}$ 이었다. 성장호르몬을 투여하지 않은 group A와 투여했던 group B, group C, group D 간에서 유의한 연관성은 관찰되지 않았다.

Figure 3. The changes of serum Malondialdehyde (MDA) level



Kruskal Wallis test : $p > 0.05$

Mann-Whitney test

P value between A and B group : $P > 0.05$

P value between A and C group : $P > 0.05$

P value between A and D group : $P > 0.05$

P value between B and C group : $P > 0.05$

P value between B and D group : $P > 0.05$

P value between C and D group : $P > 0.05$

이상의 실험 결과로 보아 성장호르몬이 항산화 효소에 영향을 미치는 것으로 보인다. 성장호르몬의 투여에 의해 항산화 효소인 SOD와 Catalase가 1 IU/kg/day의 성장호르몬 투여 군에서는 큰 변화가 없었으나, 4 IU/kg/day 이상의 성장호르몬 투여 군에서는 통계적으로 유의있게 항산화 효소가 감소하였으며 MDA는 큰 변화가 없었다.

이러한 실험 결과로 보아 두 가지로 해석할 수 있으리라 생각된다. 1 IU/kg/day의 성장호르몬 투여 군에서는 항산화 효소의 변화가 없었으나 4 IU/kg/day 이상에서는 SOD와 catalase가 유의있게 감소하였는데 성장호르몬이 일정한 혈중 치 이상에서 항산화 효소의 감소는 free radical에 대한 직접적인 감소 효과로 인해 이차적으로 항산화 효소인 SOD와 catalase가 감소하였거나, 성장호르몬이 직접 항산화 효소를 감소시킬 수 있다는 가능성이 다.

MDA는 성장호르몬의 투여 여부와 용량 변화에 따라 큰 의의가 없는 것으로 나타났으나 MDA의 경우는 실험상의 변화나 오차가 많기 때문에 이번 실험의 결과만으로 어떤 의의를 부여하기는 어려울 것으로 보이나 산화성 스트레스를 가하지 않는 일반적인 상황에서는 성장호르몬의 혈중 농도가 free radical에 의한 세포 손상에 영향을 주지 않아서 MDA 치의 변동이 없었던 것으로 사료된다.

이러한 결과로 보아 성장호르몬은 항산화 효소에 영향을 미치며, 성장호르몬의 증가에 따라서 항산화 효소의 용량 의존성(dose dependent)이 있을 가능성이 있다는 것이 실험 결과로 알 수는 있으나 성장호르몬이 직접 free radical을 증가시키는지 감소시키는지에 대해서는 보다 많은 연구가 필요하리라 생각된다.

IV. 고 찰

모든 유기체가 그렇듯이 세포 역시 신진대사 과정에서 노폐물을 방출한다. 그 과정에서 가장 골치 아픈 부산물 중의 하나가 free radical, 즉 여분의 전자를 가진 산소 분자이다. Free radical은 자신의 전기적 불균형을 해소하기 위해 빠른 속도로 이동하면서 다른 분자와 결합하려 한다.

Free radical의 이와 같은 행동이 세포에 손상을 입힐 수 있고, 나아가 암을 일으키거나 주름이나 관절염과 같은 일반적인 노화 증상과 노화에 따른 질환을 유발하는 인자로 생각할 수 있다. 이에 대해 산화 자극 상태를 조절하는 산화 방지제가 일반 건강 상태를 방어하는 주된 방패로 여겨진다. 인간 혈청은 vit C, α -tocopherol, β -carotene, 요산, bilirubin, albumin 같은 많은 산화 방지제를 함유하고 있다.⁵

Free radical과 노화의 관계는 free radical의 병리적 또는 생리적 역할에 대하여 광범위하게 연구되고 있으며, 유리 산소가 생체 내 여러 소기관 즉 소포체, 미토콘드리아 그리고 세포질에서 여러 산화 기전을 통해 생성되는 과산화수소와 함께 DNA 손상, 단백질 그리고 지질 등의 손상을 초래함으로써 노화의 촉진에 밀접한 관계가 있으리라는 가정으로부터 출발한다.⁶ 최근 많은 동물 실험에서 어떤 기관의 free radical 양과 그 기관의 노화 사이에 매우 밀접한 관계가 있음을 제시한 보고들이 있다.^{7,8}

성장호르몬은 소아에서 골격 성장 작용을 가지며 성장이 정지된 후 성인에서도 지속적으로 분비되나 노년기에 감소된다. 성장호르몬은 30대 초반부터 감소하기 시작하여 50대에 이르면 최저치에 도달하고 그 후 노년기에는 거의 존재하지 않는 것으로 알려지고 있다.⁹

성인에서 성장호르몬의 생리적 기능은 아직까지 정확하게 알려져 있지 않으나 당질, 지질, 단백질 등의 대사에 관여하는 것으로 알려지고 있으며,¹⁰⁻¹² 연령 증가에 따른 성장호르몬의 감소는 노화에 따른 골량과 근육량의 감소 및 체지방의 증가와 평행하므로 성장호르몬 결핍에 의해서 노화 현상이 더 가속도를 낼 것이라는 가능성도 제시되고 있다.¹³

최근 보고에 의하면 난소를 제거한 쥐에게 성장호르몬이나 멜라토닌, 에스

트로겐 같은 노화 관련 호르몬 등을 투여한 결과 항산화 작용이 보고되고 있으며,¹⁴ 성장호르몬은 또한 IGF-1을 통하여 전신 NO의 생 활성도를 증가시켜 심혈관 질환에 유익하게 작용한다는 보고도 있다.¹⁵

그러나 성장호르몬이 항산화 작용과 이로 인한 항노화 작용이 있다고 하더라도 이는 어느 한 호르몬에만 한정된 것이 아니고 여러 항산화, 항노화 작용을 하는 비타민 E, C, 카로티노이드(carotenoids)와 같은 항산화제, 성장호르몬, 테스토스테론, DHEA, 비타민 D와 같은 호르몬들이 같이 작용한다고 알려져 있다.¹⁶

Hemoglobin은 산소와 반응하여 유리 산소나, 과산화수소를 생성하기 때문에 적혈구는 항상 산소 독성에 노출되어 있다고 할 수 있다.¹⁷ 그러나 정상 생리적 상태에서는 SOD, catalase 및 glutathione peroxidase 등 항산화 효소, vitamin E, glutathione 및 SH기를 함유한 물질에 의해서 유리 산소나 과산화수소가 제거된다.¹ 따라서 이들 항산화 물질은 산화적 손상으로부터 세포를 보호하는 중요한 물질로써 생체 내에 광범위하게 분포되어 있는데,^{18,19} 특히 적혈구에서 항산화 효소의 활성은 매우 높다.²⁰⁻²²

산화 free radical은 사립체막이나 원형질막을 통한 확산이 매우 잘 일어나기 때문에 세포 내에서 생성된 산소 free radical은 세포 밖으로 쉽게 유출될 수 있다.²³ 세포 밖으로 유리된 산소 free radical은 세포외 액에 존재하는 항산화 물질이나, 적혈구 내의 항산화 물질에 의해 소거된다.

따라서 적혈구 내의 항산화 물질은 적혈구 자체 내에서 생성된 산소 free radical 뿐만 아니라 다른 세포에서 생성되어 혈액 내로 유리된 산소 free radical의 제거에도 대단히 중요한 역할을 한다.

SOD는 유리 산소를 과산화수소($O_2^- + O_2^- + H_2O \rightarrow H_2O_2 + O_2$)로 전환시키는 효소로써 동물세포 내에서는 세포질에 구리와 아연을 함유한 Cu, Zn-SOD만 존재하며, SOD는 유리 산소 생성이 증가되면 합성이 유도되는 효소로 알려져 있는데, streptozotocine을 투여한 당뇨병에서의 적혈구 SOD 활성이 증가되는 것으로 보고하였으며,¹⁹ paraquat에 의해서도 SOD 합성이 유도되는 것으로 알려져 있다.²⁰

MDA는 free radical에 의하여 가장 많이 생성되는 지질 과산화 산물인데

흔히 free radical에 의한 세포 손상의 지표로서 사용된다. 하지만 본 연구에서 뇌하수체 절제 쥐에서 성장호르몬의 용량 변화에 따라 MDA의 변화는 큰 의의가 없는 것으로 나타났다. 이 결과는 산화성 스트레스를 가하지 않는 경우 성장호르몬의 혈중 증가가 free radical에 의한 세포 손상에 영향을 주지 않음을 반영하는 것인데 향후 산화성 스트레스를 가한 후 free radical에 의한 세포 손상에 뇌하수체 절제 쥐에서 성장호르몬에 의한 free radical의 보호 효과가 있는지를 규명해야 할 것으로 판단된다.

본 연구에서는 성장 호르몬을 투여함으로써 항산화 효소의 변화를 알아보고 이와 free radical의 관계를 파악하고자 하였다. 현재까지 성장호르몬은 free radical을 감소시킨다고 알려져 있으나, 어떠한 기전으로 free radical에 영향을 미치는 지도 정확히 알려져 있지 않다.

이번 흰 쥐의 뇌하수체를 절제한 실험에서 성장호르몬이 항산화 효소인 적혈구내 SOD와 catalase에 영향을 미치는 것으로 보아 성장호르몬은 항산화 작용이 있는 것으로 보인다. 특히 낮은 용량의 성장호르몬에서는 변화가 현저하지 않았고, 4 IU/kg/day 이상의 용량에서 항산화 효소가 변화하는 양상을 보였다. 그러나 성장호르몬이 실제로 free radical에 어떤 기전으로 영향을 미치는지에 대해서는 보다 많은 추가 연구가 있어야 하리라 생각된다.

또한 본 실험에서는 4주간의 성장호르몬을 투여한 후 항산화 효소를 측정하였으나 백서의 골수에서 적혈구의 turnover가 60일이므로 본 연구에서 사용된 적혈구 내 항산화 효소 작용을 통계적인 유의성을 입증하기 위해서는 성장호르몬이 보다 충분한 시간 동안 적혈구에 작용하도록 60일 이상의 투약 기간도 고려해 보아야 할 것이다.

참고 문헌

1. Harman D, Amstrong D, Sohal RS, Culter RG. "Free radicals and the origination, evolution and present status of the free radical theory of aging." Free radicals in molecular biology, aging and disease, ed Armstrong, D. Sohal, R.S. culter, R.G. and slater, T.F. Raven press, New York, 27: 1-12, 1984.
- 2 O'Connell A, Giesege SP, Stanley KK. Hypochlorite oxidation of Lp(a) and LDL causes cross-linking into a highly atherogenic form, Biochemica et Biophysica Acta 1225: 180-186, 1993.
3. Zadik Z, Chaiew SA, McCarter RJ. The influence of age on the 24-hour integrated concentration of growth hormone in normal individuals. J Clin Endocriol Metab 60: 513-516, 1985.
4. Csiszar A, Labinskyy N, Perez V, Recchia FA, Podlutzky A, Mukhopadhyay P et al. Endothelial function and vascular oxidative stress in long-lived GH/IGF-deficient Ames dwarf mice. Am J Physiol Heart Circ Physiol 882-94, 2008.
5. Callaghan TM, Wilhelm KP. A review of ageing and an examination of clinical methods in the assessment of ageing skin. Part I: Cellular and molecular perspectives of skin ageing. Int J Cosmet Sci 30(5): 313-22, 2008.
6. Figen G, Yyldyz OY, Onay Y. "Changes in enzymatic antioxidant defense system in blood and endometrial tissue of women after menopause." Research communication in molecular pathology and pharmacology. 97(1), July, 1997.
7. Siu PM, Pistilli EE, Alway SE. Age-dependent increase in oxidative stress in gastrocnemius muscle with unloading. J Appl Physiol 105(6): 1695-705, 2008.
8. Jaleel A. Ageing and health: free radicals and oxidative stress. J

Coll Physicians Surg Pak 18(8): 465-6, 2008.

9. Rudman D, Kutner MH, Rogers CM, Lubin JF, Fleming GA, Bain RP. Impaired Growth hormone secretion in the adult population, relation to age and adiposity. *J Clin Invest* 67: 1361-1369, 1981.

10. Merimee TJ, Felig P, Martiss E, Fineberg SE, Cahill GF Jr. Glucose and lipid homeostasis in the absence of human growth hormone. *J Clin Invest* 50: 574-582, 1971.

11. Zachman M, Fernandez F, Tassinari D, Thakker R, Prader A. Anthropometric measurements in patients with growth hormone deficiency before treatment with human growth hormone. *Euro J pediatr* 133: 272-282, 1980.

12. Salomon F, Cuneo RC, Hesp R, Sonksen PH. The effect of treatment with recombinant human growth hormone on body composition and metabolism in adult with growth hormone deficiency. *N Engl J Med* 321: 1797-1803, 1989.

13. Kaiser FE: Aging and malnutrition, growth hormone therapy shows promise. *Geriatrics* 47: 85-90, 1992.

14. Kireev RA, Tresguerres AF, Vara E, Ariznavarreta C, Tresguerres JA. Effect of chronic treatments with GH, melatonin, estrogens, and phytoestrogens on oxidative stress parameters in liver from aged female rats. *Biogerontology* 8(5): 469-82, 2007.

15. Thum T, Fleissner F, Klink I, Tsikas D, Jakob M, Bauersachs J, Stichtenoth DO. Growth hormone treatment improves markers of systemic nitric oxide bioavailability via insulin-like growth factor-I. *J Clin Endocrinol Metab* 92(11): 4172-9, 2007.

16. Kamel NS, Gammack J, Cepeda O, Flaherty JH. Antioxidants and hormones as antiaging therapies: high hopes, disappointing results. *Cleve Clin J Med* 73(12): 1049-56, 2006.

17. Lynch RE, Fridorich I. "Effect of superoxide on the erythrocyte

membrane." J Biol chem 253: 1845, 1978.

18. Fridovich I. " Biological effects of superoxide radical." Arch Biochem Biophys 247: 1-15, 1986.

19. Halliwell B, Gutteridge J.M.C. "Roles of free radicals and catalytic metal ions in human disease." An overview. Methods Ezymology, Fleischer, S. and Packer, L. eds. Academic Press, Inc. New York, 186: 1-85, 1990.

20. Darid VG, Saleh AW, Maureen EG, Goumenioak AD. "Antioxidant enzyme alterations in experimental and clinical diabetics." Molecular and cellular Biochemistry 844: 223-231, 1988.

21. Chakraborty M, chosal J, Biswas T, Datta AG. "Effects of erythropoietin on membrane lipid peroxidation, superoxide dismutase catalase and glutathione peroxide of rat RBC." Biochem Med Metal Biol 40: 8-18, 1988.

22. Deligne P, Bonnardot JP, Conderc R, kerisit S, Perier JF, Lanelle P. "Lipid peroxidation levels and antioxidant activities of blood plasma in parturients and new-born infants immediately after normal delivery." Adr Exp Med Biol 264: 573-576, 1990.

23 Fred J, Yost J, Fridorich I. "Superoxide and hydrogen peroxide in oxygen damage." Arch Biochem Biophys 175: 514-519, 1976.

국문초록

목적: 본 연구는 뇌하수체가 절제된 백서에서 성장호르몬의 투여 용량에 따라서 혈장 내 MDA(malondialdehyde), 적혈구 내의 효소인 SOD(superoxide dismutase), catalase 간에 연관이 있는지를 알아보고자 시행하였다.

연구방법: 40마리의 백서를 4개의 그룹으로 무작위 할당하여 뇌하수체 절제 시행한 다음 2주를 키운 후 첫 번째 그룹(group A)은 성장호르몬을 투여하지 않았으며, 나머지 3군들은 성장호르몬을 각각 용량을 달리하여 하루에 1 IU/kg/day, 4 IU/kg/day, 8 IU/kg/day(group B,C,D) 경피를 통해 4주 동안 투여하였다. 4 그룹으로부터 혈액을 채취하여 혈장 내 MDA, 적혈구 내 catalase, SOD를 측정하였다.

결과: 그룹 C와 D에서 성장호르몬 투여 용량과 적혈구 내 catalase와 SOD의 활성도 간에 유의한 차이가 관찰되었다. 성장호르몬을 투여했던 그룹에서 적혈구 내 catalase와 SOD의 활성도는 감소한 반면에 모든 그룹에서 혈장 내 MDA 간에 유의한 차이는 발견되지 않았다.

결론: 이번 실험의 결과는 적혈구 내 catalase와 SOD의 활성도는 성장호르몬과 연관성이 있음을 암시한다. 이번 연구의 결과는 그동안 알려져 있는 성장호르몬의 친산화 또는 항산화 작용에 대하여 설명할 수 있는 실마리가 될 수도 있을 것이다. 성장호르몬에 의해 유발되는 혈장 내 지질 산화의 영향을 알아보기 위하여 더 많은 연구가 이루어져야 할 것이다.

중심단어 : Growth hormone, MDA, Catalase Superoxide dismutase, Hypophysectomized rat