

저칼슘 식이 섭취시 식염첨가가 흰쥐의 골격대사에 미치는 영향

최 미 자 · 조 현 주

계명대학교 가정대학 식품영양학과

Effect of Sodium Chloride Supplementation on Bone Metabolism in Rats Consuming a Low Calcium Diet

Choi, Mi Ja · Jo, Hyun Joo

*Department of Nutrition and Food Sciences, College of Home Economics,
Keimyung University, Daegu, Korea*

ABSTRACT

This study was performed to evaluate the effect of sodium chloride supplementation on bone metabolism in female rats consuming a low calcium diet. Twenty five female rats were divided into three dietary groups(control Na : 0.1038%, 1% Na : 1.036%, 2% Na : 2.072%). All experimental diets contained 0.27% Ca and were fed to rats with deionized water for 7 weeks. Bone mineral density(BMD) and bone mineral content(BMC) of total body, spine and femur were measured using dual energy x-ray absorptiometry(DEXA) by small animal software. Then Ca efficiency was calculated from BMD and BMC. Serum Ca, P, Na and urine Ca, P, Na were determined. Urinary pyridinoline, serum ALP were measured to monitor bone resorption. Following 7 weeks, sodium chloride supplemented groups had higher urinary Ca excretion, urinary pyridinoline, crosslinks value and serum ALP. There was no significant difference in case of serum Ca among all groups. Sodium chloride supplemented groups had lower Ca efficiency of total, spine and femur BMD and BMC than that of control group. In conclusion high salt intake not only increases urinary Ca excretion as urinary Na excretion does but also increases bone resorption and decreases Ca efficiency of each bone. It is been suggested that high salt intake may be harmful for bone maintenance. Therefore, the decrease of salt intake to the level of recommendation would be desirable. (*Korean J Nutrition* 29(10) : 1096~1104, 1996)

KEY WORDS : sodium chloride level · urinary calcium excretion · bone density · Ca efficiency.

서 론

최근 우리나라도 경제발전예 따른 영양, 의료, 위생 및 주거환경의 변화로 평균수명이 점차 증가 추세이며 노령
채택일 : 1996년 5월 21일

화에 따른 골격대사 이상 또는 칼슘대사의 불균형으로 인한 질환 중 대표적인 것으로 골다공증을 들 수 있다. 골다공증의 유발요인은 다요인적이고 복합적인 것으로 알려져 있는데 식이도 골격손실에 영향을 미치는 중요한 인자 중 하나로 인식되어지고 있다¹⁾. 성인기에 도달하는 최대골질량(peak bone mass)을 높게 유지하고, 노화

에 따른 골손실 속도를 억제하므로써 골다공증을 예방하며 그 진행을 막을 수 있는 가장 중요한 식이 인자로 지속적이고도 충분한 칼슘섭취를 들고 있다^{12,31}. 이외에 칼슘대사 또는 골격대사와 관련있는 식이인자로 단백질⁴⁵⁾, 인⁶⁾, 비타민 D⁷⁾, 비타민 C, 나트륨, 지방, 유당, 섬유소, 카페인 등⁸⁾을 들고 있다.

칼슘과 나트륨은 신장에서의 재흡수 기전을 공유하므로 고나트륨 섭취는 신장으로의 칼슘배설에 영향을 주는 요인중의 하나로 인식되고 있다. 1961년 Walsler⁹⁾가 개를 대상으로 나트륨과 칼슘의 renal clearance 사이에 직접적인 관계가 있음을 제시한 것을 시작으로 1968년 Dale¹⁰⁾이 젊은 성인 남자를 대상으로 칼슘과 나트륨의 뇨중 배설 사이에 직접적인 관계가 있음을 보고 하였고 그 이후로, 사람과 실험동물을 대상으로 식염 섭취 수준과 뇨중 칼슘 배설 사이에 상관 관계가 있음이 여러 논문에서 보고 되고 있다. 조와 백¹¹⁾은 중년여성과 여대생을 대상으로 한 연구에서 뇨중 칼슘 배설량과 뇨중 나트륨과 인 배설량 사이에 유의적인 양의 상관관계가 있다고 보고 하였으며, 송 등¹²⁾은 건강한 성인 남자를 대상으로 한 연구에서 소변중의 칼슘 배설량과 나트륨의 배설량 사이에 유의한 양의 상관성을 나타냈다고 보고하였다. 정상 성인 남녀 이외에도 hypercalciuria 환자¹³⁾, 결석 환자¹⁴⁾, 갑상선 기능 이상자¹⁵⁾ 또는 폐경 후 여성¹⁶⁾^{17,18)} 등을 대상으로 이에 대한 연구가 보고 되었다.

나트륨에 의한 칼슘 배설율이 칼슘섭취 수준에 의해서 영향을 받는지에 대하여 Phillips¹³⁾은 저칼슘 식이 보다 정상 칼슘식이 섭취시에 칼슘의 뇨중 배설량이 높았다고 보고 하였으며 Zarkadas¹⁶⁾과 Castenmiller¹⁹⁾은 식염 첨가로 인한 뇨중 칼슘 배설 증가 현상이 칼슘섭취 수준에는 유의적인 영향을 받지 않았다고 하여 서로 상반된 결과가 보고 되고 있다.

또한, 나트륨에 의한 뇨중 칼슘배설의 증가에 있어서는 개인간의 변이가 있는 것으로 보고^{20,21)}된 바 있으며 또한 건강한 사람들은 부갑상선 호르몬에 의한 장내 칼슘흡수의 증가로 나트륨에 의해 유도된 요중 칼슘배설에 적용한다고 제안하고 있다^{15,17,22)}. 이러한 적응기전이 모든 사람들에게 작용하는 것 같지는 않으며 손상된 부갑상선 기능을 가진 사람, 골다공증이 있는 폐경후 여성 또는 일부 건강한 폐경후 여성의 경우에는 이러한 적응기전이 작용하지 않을 수 있으며 적용되어 보이는 사람들의 경우에도 그 적응능력은 낮은 식이 칼슘섭취, 빈약한 비타민 D 상태, 손상된 신장기능, 장내 칼슘흡수의 저하에 의해 제한을 받을 수 있다고 보고하였다²¹⁾.

다양한 각도에서 연구가 되고 있으나, 80년대 초 이전까지는 나트륨이 골격대사 또는 골밀도에 영향을 미칠

수 있는 식이 인자로 인식되지 못하였다. 최근들어 생화학적 지표를 이용하여 식염섭취와 골흡수 사이에 상관관계가 있음이 보고 되고 있으나 직접 골밀도를 측정 한 연구결과는 거의 없는 실정이다.

흰쥐를 대상으로 식염 첨가가 뇨중 칼슘 배설량에 미치는 영향에 대한 여러 선행연구^{22,23,24)}에서는 식이 1kg당 80g의 식염을 첨가하여 AIN에서 쥐에게 권장된 1.0g Na/kg diet수준²⁵⁾보다 36배나 높았고 식염첨가와 함께 칼슘섭취를 제한한 Goulding²²⁾등의 연구^{22,23)}에서는 칼슘수준을 0.1%로 하여 AIN에서 쥐에게 권장된 칼슘수준의 약 20% 수준이었다. 또한 선행된 연구^{13,15-17,19)}^{22,24,26-28)}의 대부분이 5일~2주 동안의 짧은 기간동안 이루어진 것이므로 이러한 짧은 기간동안의 연구에서는 일시적인 뇨중 칼슘 배설 현상은 알 수 있으나 골격에 미치는 영향을 알아보기에는 비교적 기간이 부족할 것이라 사료된다.

1992년 국민 영양 조사에 나타난 우리나라 국민의 칼슘 섭취 현황은 현재 성인 1일 권장량²⁹⁾인 700mg의 76.8%인 538mg을 섭취하였으며 성인 평균 영양 권장량의 56.1%인 400mg 미만을 섭취하는 가구가 조사대상 전체의 51.8%나 되며 섭취량 중 약 60%가 Ca 생체 이용률이 낮은 식물성 식품으로부터 섭취하였다고 보고 되었다³⁰⁾. 반면, 우리나라 성인의 1일 나트륨 섭취량은 170~260mEq(3910~5980mg)로 미국(NRC 1989)과 일본(일본후생성 1994)에서 제시하는 성인의 최소필요량인 22mEq(Na 500mg/d, NaCl 1.3g/d)과는 거의 10배정도의 큰 차이를 보이고 있으며³¹⁾, 미국의 'Estimated Safe and Adequate Daily Dietary Intake'인 1일 48~144mEq(1100~3300mg)³²⁾, 우리나라에서 권장하고 있는 1일 150mEq(Na 3450mg, NaCl 8.7g)²⁹⁾보다도 높은 수치이다.

그러므로 칼슘섭취는 부족한 반면 식염 섭취는 높은 우리나라 식습관을 고려해 볼 때 고식염 섭취가 골격대사에 미치는 영향에 대한 연구가 필요하다고 사료되므로 본 연구에서는 칼슘섭취가 부족한 상태에서 필요량 이상의 지나친 식염 섭취가 골격대사에 미치는 영향을 생화학적 골대사 지표와 골밀도 측정을 통해 알아 보고자 하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물 및 실험식이

1) 실험동물

평균 체중이 약 50g인 Sprague-Dawley종 female을

한국 생명공학 센터에서 구입하여 실험식이를 시작하기 전까지 고행사료(rat chaw, 삼양사)로 사육 하였다. 실험동물들의 평균체중이 약 230g에 도달하였을 때 25마리를 임의추출하여 3군으로 임의 배치하고 7주간 나트륨 수준을 달리한 3종류의 실험식이로 stainless-steel wire cage에서 한마리씩 분리 사육 하였다. 사육실의 온도는 $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도는 $63 \pm 5\%$ 로 유지하였고, 매일 광주기와 암주기를 12시간이 되도록 조절하였다.

2) 실험식이

식이중의 NaCl함량은 American Institute of Nutrition(AIN)-76 mineral mixture내에 포함되어 있는 NaCl을 기준으로 하여 이를 대조군 식이로 하고 실험식이로는 1%나트륨 식이, 2%나트륨 식이로 구분하였다. 총 실험식이 중의 나트륨 함량은 대조군이 0.1036% (NaCl 0.259%), 1%나트륨군이 1.036% (NaCl 2.59%), 2%나트륨군이 2.072% (NaCl 5.18%) 였다.

저칼슘식이를 만들기 위하여 실험식이 중의 칼슘함량을 American Institute of Nutrition(AIN)-76 mineral mixture내에 포함되어 있는 CaHPO_4 를 기준으로 하여 50%수준으로 제한하여 총 실험 식이중의 칼슘함량은 0.27%로 하였다. 칼슘급원으로는 CaHPO_4 를 사용하여 칼슘과 인의 비율은 AIN-76 mineral mixture의 비율과 같게 하였다.

물을 통한 무기질의 오염 또는 섭취를 막고 순수한 식이의 효과를 알아보기 위해 실험기간 동안 6차 이온교환수를 사용하였으며 실험식이와 이온교환수를 자유섭취법으로 7주간 공급하였다.

2. 시료수집

1) 식이섭취량 및 체중측정

식이섭취량은 이틀에 한번씩 일정한 시간에 측정하였으며 체중은 일주일에 한번씩 일정한 시간에 측정하였다. 실험기간 동안의 체중 증가량을 같은 기간 동안의 총식이 섭취량으로 나누어 식이효율을 구하였다.

2) 뇨 및 혈액 채취

뇨는 실험 마지막 7주째에 대사장으로 옮겨 24시간 동안 채취하여 뇨량을 잔 후 분석 전까지 -27°C 에서 냉동보관 하였다. 시료채취에 사용되는 모든 기구는 6차 이온교환수로 충분히 헹구어 사용하였다. 혈액은 희생시키기 전 대정맥에서 공복시 혈액을 채취하였고 채취한 혈액은 상온에서 30분간 방치한 후 3000rpm에서 20분간 원심분리하였다. 원심분리후 얻어진 혈청은 분석할 때까지 -27°C 에서 냉동 보관 하였다.

Table 1. Composition of the experimental diets(g/100g of diet)

Ingredient	Dietary Group		
	Control	1% Na	2% Na
Casein	20.0	20.0	20.0
Corn Starch	65.7	63.1	60.5
Corn oil	5.0	5.0	5.0
Cellulose	3.8	3.8	3.8
Min.Mix (Ca & P free)	1.369	1.369	1.369
CaHPO_4	0.875	0.875	0.875
Vit.Mix	1.8	1.8	1.8
Choline	0.2	0.2	0.2
Added Nacl	-	2.59	5.18
NaCl Ratio	1	10	20

1) Casein 1% Protein(No. 160030), Mineral Mixture(Ca & P-free)(No. TD79055), Corn Starch, Vitamin Mixture(No. 40077), Choline Bitartrate(No. 30190) supplied by U.S. CORNING Laboratory Services company. TEKLAD TEST DIETS, Madison, Wisconsin, Biological test Material

2) Cellulose(No. C8002), Calcium Phosphate Dibasic (CaHPO_4)(No. C7236), Sodium Chloride(NaCl)(No. S9625) supplied by SIGMA Chemical Company,

3) Corn-oil, Dong-Bang Yuo-Ryang Co. Yangpyung-Dong 4-2, Youngdongpo-Gu Seoul(KSH 2102)

※ Mineral Mixture(Ca & P-free)(g/kg) : sodium chloride 193.73, potassium citrate monohydrate 575.96, potassium sulfate 136.13, magnesium oxide 62.83, magnanous carbonate 9.16, ferric citrate 15.70, zinc carbonate 4.19, potassium iodate 0.026, sodium selenite 0.026, chromium potassium sulfate 1.44.

※ Vitamin Mixture(g/kg) : thiamin HCl 0.6, riboflavin 0.6, pyridoxine HCl 9.7, niacin 3.0, calcium pantothenate 1.6, folic acid 0.2, biotin 0.02, vitamin B₁₂ 1.0, dry vitamin A palmitate(500,000U/g) 0.8, dry vitamin E acetate(500U/g) 10.0, vitamin D₃ tryturation(400,000U/g) 0.25, menadione sodium bisulfite complex 0.15, sucrose, fine powder 981.08

3) 골밀도 측정

실험 마지막 7주째에 마취제 ketamine hydrochloride(유한양행, 50mg/ml)를 사용하여 체중 1kg당 75mg의 용량으로 근육주사한 후 골밀도를 측정하였다.

골밀도는 LUNAR사의 양에너지 방사선 골밀도 측정기(dual energy X-ray absorptiometry, DEXA)를 이용하여 small animal software로 총 골밀도(total body bone mineral density : TBMD), 총 골무기질 함량(total body bone mineral content : TBMC), 총 골칼슘 함량(total bone calcium content : TBCa), 척추 골밀도(spine bone mineral density : SBMD), 척추 골무기질 함량(spine bone mineral content : SBMC), 대퇴 골밀도(femur bone mineral density : FBMD), 대퇴 골무기질 함량(femur bone mineral

content : FBMC)을 측정하였다.

측정된 골밀도치와 골무기질 함량치를 칼슘 섭취량으로 나누어 칼슘효율을 구하였다(칼슘효율=BMD 또는 BMC 또는 TBCa/1일 평균 칼슘 섭취량).

3. 시료의 생화학적 분석

노와 혈중 칼슘, 인, 나트륨을 측정하였고, 노중 pyridinoline, creatinine을 측정하여 crosslinks value를 구하였으며 혈중 alkaline phosphatase를 측정하였다.

노와 혈중 칼슘은 o-CPC법을 이용한 비색법³³⁾으로, 인은 UV direct법³⁴⁾으로 TECHICON CHEM™ SYSTEM을 이용한 자동분석기(automatic chemical analyzer)로 측정하였다. 노와 혈 중 나트륨은 SYNCHRON AS™ SYSTEM을 이용한 자동분석기(automatic chemical analyzer)로 측정하였다. 노중 pyridinoline, creatinine의 측정은 collagen crosslinks™ kit (cat. NO : 8001. Metra Biosystems Inc. U.S.A)를 이용하여 ELISA(enzyme-linked immuno sorvent assay)법에 의해 분석하였으며, 측정된 pyridinoline과 creatinine의 값으로 crosslinks value(pyridinoline/creatinine)를 구하였다. 혈청내 alkaline phosphatase의 측정은 PNPP를 이용한 효소법³⁵⁾으로 TECH-NICON CHEM™ SYSTEM을 이용한 자동분석기로 측정하였다.

4. 자료 처리 및 분석

통계처리는 SAS package를 이용하여 각 변인마다 평균과 표준편차를 구하였고, 식이군 간의 차이는 one-way ANOVA로 분석한 후 Duncans multiple range test에 의해 검증 하였다.

실험결과 및 고찰

1. 성장과 식이섭취량

7주간 식염수준이 다른 식이 공급에 의한 체중변화와 일일 평균 식이 섭취량, 일일 평균 칼슘 섭취량 및 식이 효율에 대한 결과는 Table 2와 같다. 식염수준이 다른

식이군 간의 체중증가 경향은 세 군 모두 유사 하였고, 식염 섭취량에 따른 체중변화의 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 흰쥐를 대상으로 한 10일간²²⁾, 16일간²⁴⁾, 8주간²³⁾의 연구에서도 식이중 식염의 첨가가 체중에는 영향을 미치지 않았다고 보고하여 본 실험의 결과와 일치 하였다.

식이 섭취량은 식염을 첨가한 1%나트륨군과 2%나트륨군이 대조군에 비해 높게 나타났고(p<0.05), 칼슘은 식이중 일정 비율로 들어 있으므로 식이 섭취량이 많은 1%나트륨군과 2%나트륨군이 칼슘섭취량도 대조군 보다 많이 섭취 하였다(p<0.05). 그러나 식이효율(FEP)에 있어서는 유의적인 차이를 나타내지 않았다. Goulding등¹⁵⁾의 연구에서는 식염 첨가군의 식이 섭취량이 다소 높은 경향을 나타내었으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

2. 혈청 칼슘, 인 및 나트륨의 농도

혈청내 칼슘, 인 및 나트륨의 함량은 Table 3에 나타내었다.

혈청 칼슘과 인의 농도는 식염 섭취 수준에 따른 유의적 차이가 나타나지 않았다. 식염수준이 혈청 칼슘과 인에 미치는 영향에 있어서는 상반된 결과가 보고 되고 있다. Meyer등³⁶⁾은 정상인과 부갑상선기능감퇴증 환자를 대상으로 식염수준을 9mEq에서 249mEq로 증가시켰을 때 혈청 칼슘 수준이 유의적으로 감소되었다고 보고 하였으며 이외에도 식염첨가는 혈중의 이온화된 칼슘 농도를 낮춘다는 결과가 보고 된 있다³⁷⁾. 그러나, Zarkadas등¹⁶⁾의 연구에서는 0, 51, 102 mmol/day의 식염을 보충공급 하였을때 식염 섭취수준의 증가와 함께 혈중 칼슘 수준이 현저히 증가 하였다고 보고하고 있다. 반면, Mccarron등²⁷⁾은 정상인을 대상으로 칼슘 섭취량을 1일 400mg으로 고정시킨 후 나트륨 수준을 달리한 식이(10, 300, 800, 1500mEq/day)를 공급한 실험에서 혈청 칼슘은 나트륨 섭취량에 영향을 받지 않았다고 보고하였다. 그리고 동물실험의 경우 Goulding등²³⁾이 흰쥐를 대상으로 한 실험에서도 식염첨가시(8g/100g diet) 혈청 칼슘과 인에는 유의적인 변화가 나타나지 않았다고

Table 2. Body weight, food intake, Ca intake and FER for groups of different Na intake

	Initial b.w(g)	Final b.w(g)	Food intake(g/day)	Ca intake(mg/day) ³⁾	FER ⁴⁾
Control	226.64 ± 8.24 ^{1)a2)}	252.73 ± 4.48 ^a	12.97 ± 0.84 ^a	35.00 ± 2.30 ^a	0.0327 ± 0.01 ^a
1% Na	239.50 ± 5.03 ^a	255.28 ± 10.95 ^a	13.74 ± 0.58 ^{ab}	37.19 ± 1.50 ^{ab}	0.0241 ± 0.03 ^a
2% Na	228.45 ± 5.31 ^a	251.70 ± 8.40 ^a	13.93 ± 0.86 ^b	37.60 ± 2.30 ^b	0.0294 ± 0.02 ^a

1) Mean ± SD

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple-range test

3) Ca intake is calculated from food intake

4) FER=body weight gain(g)/food intake(g)

Table 3. Effect of dietary Na level on serum concentrations of Ca, P and Na

	serum Ca(mg/dl)	serum P(mg/dl)	serum Na(mEq/dl)
Control	10.37±0.93 ^{1a2)}	5.98±0.89 ^a	13.62±2.32 ^a
1% Na	11.37±1.07 ^a	6.43±1.07 ^a	13.28±5.33 ^a
2% Na	10.25±1.71 ^a	5.95±1.33 ^a	13.26±0.48 ^a

1) Mean±SD

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple-range test

보고하여 본 실험의 연구 결과와 일치하였다.

식염수준에 의한 혈청 나트륨의 변화에 있어서 Mul-downey등¹⁴⁾이 신장결석 환자를 대상으로 한 연구에서 식이중의 식염함량을 200mEq/day에서 80mEq/day로 낮추었을때 혈청 나트륨의 농도에는 변화가 없었으며 폐경후 여성을 대상으로 Zarkadas등¹⁶⁾이 0, 51, 102 mM/d의 식염을 각각 5일간 섭취케 하였을 때도 혈청 나트륨에는 차이가 나타나지 않았다고 보고하여 본 연구 결과와 일치하였다.

3. 노중 칼슘, 인 및 나트륨의 배설

노중 칼슘, 인 및 나트륨의 배설량은 Table 4에 나타내었다. 노중의 나트륨 배설량은 1%나트륨군과 2%나트륨이 대조군보다 유의적으로 높았으며($p<0.05$), 두군간의 유의적인 차이는 나타나지 않았으나 2% 나트륨군의 나트륨 배설량이 1% 나트륨군에 비해 높은 경향이 있었다.

노중 나트륨의 배설 증가와 함께 노중 칼슘 배설량도 증가하여 정상 나트륨군에 비해 1%나트륨군이 26% 증가 하였으며 2% 나트륨군이 47% 증가하여 식이중의 나트륨 함량이 증가할수록 노중 칼슘 배설량도 증가하였다. 그러나 2%나트륨군만이 대조군과 유의적인 차이를 나타내었다($p<0.05$).

노중 인의 배설량도 노중 나트륨과 칼슘의 배설량과 같은 경향이었으나 유의적인 차이는 나타나지 않았다.

식염 섭취 증가로 인한 노중 칼슘배설의 증가에 대해서는 사람과 동물을 대상으로 이미 여러 논문에서 보고된 바 있으며 본 연구에서도 식염섭취의 증가로 인한 칼슘 배설 증가의 이러한 결과를 확인할 수 있었다. Sabto등²⁵⁾은 일일 400mg의 칼슘을 함유한 식이를 섭취한 38명의 정상인에게서 칼슘과 나트륨의 노중 배설 사이에 유의한 상관관계가 나타났다고 보고하였고, 동물을

대상으로 10일간 0.1%의 칼슘결핍식이와 함께 식염을 첨가 하였을 때²²⁾와 충분한 칼슘을 공급받는 성장기 흰 쥐에서 16일간 식염을 보충 공급하였을 때²³⁾ 모두 노중 칼슘과 인의 배설이 증가 하였다고 보고 하였다. 한편, Phillips등¹⁴⁾은 칼슘 섭취 수준이 750mg/d와 200mg/d인 경우 각각 식염을 첨가 하였을 때, 노중 칼슘 배설량이 저칼슘군 127mg/d, 저칼슘+식염첨가군 170mg/d, 정상칼슘군 241mg/d, 정상칼슘군+식염첨가군 319mg/d의 순으로 나타났다고 보고하여 저칼슘군과 정상칼슘군 모두에서 식염첨가로 노중 칼슘배설이 증가 하였으며 같은량의 식염을 섭취하더라도 칼슘 섭취 수준에 따라 노중 칼슘 배설량이 증가 또는 감소할 수 있음을 시사하였다.

4. 생화학적 골형성 지표와 골분해 지표

골흡수에 대한 생화학적 지표로서 pyridinoline의 crosslinker는 파골세포에 의하여 뼈가 흡수될 때에 유리되고 신장을 통하여 배설된다.³⁶⁻⁴⁰⁾ 소변내 pyridinoline의 대부분은 뼈의 흡수로부터 생성된 것으로 체내에서 더이상 대사되지 않으며, 소변내에 포함된 crosslinker의 양은 식이에 전혀 영향을 받지 않기 때문에 골흡수의 지표로서 우수하다고 인정되고 있다.⁴⁰⁾

혈청 alkaline phosphatase(ALP)은 골형성 지표로서 대사성 골질환 등 골대사회전이 활발할 때 즉, 골재형성시 조골세포의 활동이 증가되어 골교체율이 빠를때 혈청내 농도가 증가 되는 것으로 가장 흔하게 이용되는 골형성 생화학적 지표이다.⁴⁰⁾

Table 5에 노중 pyridinoline과 creatinine, crosslinks value 및 혈중 alkaline phosphatase(ALP)를 나타내었다. Crosslinks value는 노중 creatinine에 대한 pyridinoline의 비로 나타낸다. 노중 pyridinoline, creatinine과 crosslinks value는 식이에 의한 유의적

Table 4. Effect of dietary Na level on the excretion of urinary Ca, P and Na

	Ca(mg/day)	P(mg/day)	Na(mEq/day)
Control	0.17±0.04 ^{1a2)}	1.58±0.99 ^a	0.17±0.10 ^a
1% Na	0.22±0.09 ^a	2.66±1.56 ^a	0.55±0.12 ^b
2% Na	0.25±0.11 ^b	2.78±2.69 ^a	0.69±0.14 ^b

1) Mean±SD

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at $p<0.05$ by Duncan's multiple-range test

Table 5. Effect of dietary Na level on urinary pyridinoline, creatinine, crosslinks value and serum alkaline phosphatase (ALP)

	Pyridinoline(nM)	Creatinine(mM)	Crosslinks value(nM/mM) ³⁾	ALP(U/l)
Control	1363.40± 967.02 ^{1)a2)}	5.12±0.86 ^a	250.06±141.18 ^a	32.57±14.98 ^a
1% Na	1934.99±2147.10 ^a	6.11±2.33 ^a	262.58±190.20 ^a	48.50±10.72 ^b
2% Na	2405.46±1627.08 ^a	7.20±3.17 ^a	315.32±107.88 ^a	54.16±14.90 ^c

1) Mean ± SD

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple-range test

3) Crosslinks value(nM/mM)=Pyridinoline(nM)/Creatinine(mM)

인 차이는 나타나지 않았으나 대조군이 250.06(nM/mM), 1%나트륨군이 262.58(nM/mM), 2%나트륨군이 315.32(nM/mM)의 순으로 높게 나타났으며 ALP는 식염섭취수준의 증가와 함께 유의적으로 증가(p<0.05)하여 식염 섭취 수준이 증가함에 따라 노중 갈슘 배설의 증가와 함께 골흡수가 증가하고 이에 따른 골재형성이 증가하는 것으로 사료되며 이것은 필요량 이상의 식염 섭취에 의해 골흡수가 촉진될 수 있는 가능성을 나타낸다고 볼 수 있다.

식이중의 식염섭취가 pyridinoline과 crosslinks value에 미치는 효과에 대한 보고는 거의 없는 실정이다. 특히, 동물을 대상으로 한 결과는 아직 보고된 바 없어 타연구의 pyridinoline 측정결과와 직접 비교하기는 어렵다. 따라서 본 논문에서는 골흡수 지표로 pyridinoline이외에 흔히 사용되고 있는 hydroxyproline 측정결과와 경향성을 비교하였다.

Need⁴⁾은 59명의 폐경여성을 대상으로 한 연구에서 갈슘 배설은 나트륨 배설에 의존적이며 hydroxyproline배설은 갈슘 배설에 의존적이라고 하였으며 노중 나트륨 배설을 낮춤으로 노중 hydroxyproline을 감소시킨다고 하여 식염의 제한이 특히, 평소 식염 섭취 수준이 높을 때 폐경후 여성에게 있어서 골흡수를 감소시키는 한 방법이 될 수 있다고 주장하였다. Mcparland¹⁷⁾, Nordin¹⁸⁾, Goulding과 McIntosh²²⁾의 연구에서도 식염섭취량을 낮추었을 때 노중 나트륨 배설의 감소와 함께 노중 갈슘과 hydroxyproline의 배설도 낮추었다고 보고하여 식염섭취가 높을때 골흡수가 증가됨을

밝혔다. 이것은 식염 첨가량이 많을수록 혈중 ALP와 노중 crosslinks value가 높게 나타나는 경향을 나타낸 본 연구의 결과와도 일치한다고 보겠다. 그리고 본 실험에서 crosslinks value가 식염섭취 수준이 높은 군에서 높게 나타났으나 통계적 유의성이 나타나지 않은 것은 본 실험에서 사용된 1% 나트륨 식이(25.9 NaCl/kg diet)와 2% 나트륨 식이(51.8 NaCl/kg diet)가 선택된 동물 실험에서 사용된 식염 첨가량(80g NaCl/kg diet) 보다 낮은 수준이었기 때문으로 사료된다.

5. 골밀도 측정치

총골밀도, 총골무기질 함량 및 총골갈슘 함량에 대한 측정결과와 총골밀도, 총골무기질 함량 및 총골갈슘 함량을 갈슘 섭취량으로 나눈 갈슘효율을 Table 6에 나타내었다. 갈슘효율을 구한 후 대조군에 대한 다른 두 군의 갈슘효율을 퍼센트로 나타내어 비교하였다. Table 7은 척추 골밀도 및 척추 골무기질 함량과 이에 대한 각각의 갈슘효율을 나타내었으며, Table 8는 대퇴 골밀도 및 대퇴 골무기질 함량과 이에 대한 각각의 갈슘효율을 나타내었다.

총골밀도, 총골무기질 함량 및 총골갈슘 함량과 이에 대한 각각의 갈슘효율은 식염수준이 증가함에 따라 감소하는 경향을 나타내었으나 그 감소량이 미세하여 통계적 유의성은 나타나지 않았다. 그러나 1%나트륨군과 2%나트륨군이 차례로 대조군에 비해 낮은 갈슘효율을 나타내었다. 특히, 총골무기질 함량(TBMC)과 총골갈슘 함량(TBCa)의 갈슘효율이 대조군에 비해 1%나트륨군

Table 6. Total body bone mineral density(TBMD), total body bone mineral content(TBMC) and total bone calcium content(TBCa) and Ca efficiency

	Total body BMD (g/cm ²)	Total body BMC(g)	TBCa(g)	Ca efficiency of total BMD ³⁾	Ca efficiency of total BMC	Ca efficiency of TBCa
Control	0.2636±0.0090 ^{1)a2)}	5.1013±0.8214 ^a	1.9366±0.3156 ^a	7.28±0.71%(100) ⁴⁾	140.8±36.0%(100)	53.49±13.81%(100)
1% Na	0.2590±0.0078 ^a	5.0036±0.5500 ^a	1.9000±0.2088 ^a	7.03±0.49%(96.5)	138.9±20.5%(98.6)	51.63± 7.81%(96.5)
2% Na	0.2550±0.0132 ^a	4.2563±0.4450 ^a	1.6133±0.1686 ^a	6.59±0.24%(90.5)	109.9± 8.7%(78.0)	33.93± 3.32%(63.4)

1) Mean ± SD

2) Values with different superscripts within the column are significantly different at p<0.05 by Duncan's multiple-range test

3) Calcium efficiency=BMD, BMC or TBCa/Ca intake

4) Relative percentage(%) when control group is considered as 100%

Table 7. Spine bone mineral density(SBMD) and bone mineral content(SBMC) and Ca efficiency

	Spine BMD(g/cm ²)	Spine BMC(g)	Ca efficiency of spine BMD	Ca efficiency of spine BMC
Control	0.2246 ± 0.0134 ^{1)a2)}	0.7453 ± 0.2149 ^a	6.20 ± 0.73 ^a (100) ³⁾	20.58 ± 0.85 ^a (100)
1% Na	0.2213 ± 0.0109 ^a	0.7613 ± 0.1595 ^a	6.01 ± 0.45 ^a (96.9)	20.68 ± 0.49 ^a (100.4)
2% Na	0.2110 ± 0.0026 ^a	0.5956 ± 0.0390 ^a	5.45 ± 0.19 ^a (87.9)	15.39 ± 0.77 ^a (74.4)

- 1) Mean ± SD
- 2) Values with different superscripts within the column are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple-range test
- 3) Relative percentage(%) when control group is considered as 100%

Table 8. Femur bone mineral density(FBMD) and bone mineral content(FBMC) and Ca efficiency

	Femur BMD(g/cm ²)	Femur BMC(g)	Ca efficiency of femur BMD	Ca efficiency of femur BMC
Control	0.2606 ± 0.0228 ^{1)a2)}	0.3596 ± 0.0743 ^a	7.19 ± 1.17 ^a (100) ³⁾	0.84 ± 0.12 ^a (100)
1% Na	0.2433 ± 0.0250 ^a	0.3493 ± 0.0760 ^a	6.61 ± 0.90 ^a (91.9)	9.52 ± 2.48 ^a (91.5)
2% Na	0.2426 ± 0.0061 ^a	0.3206 ± 0.0135 ^a	6.26 ± 0.06 ^a (87.1)	8.26 ± 0.17 ^a (76.1)

- 1) Mean ± SD
- 2) Values with different superscripts within the column are significantly different at p < 0.05 by Duncan's multiple-range test
- 3) Relative percentage(%) when control group is considered as 100%

이 1.4%와 3.5% 감소한데 반해 2%나트륨군은 22%와 36.6% 감소하여 2%나트륨군의 칼슘효율이 더욱 떨어지는 것으로 나타났다(Fig. 1).

부위별로 나누어 보았을때, 척추 골밀도(SBMD) 및 대퇴 골밀도(FBMD)와 각각 이에 대한 칼슘효율도 통계적 유의성은 없으나 대조군에 비해 다른 두군이 낮은 값을 나타내고 있다. 척추와 대퇴 골밀도의 칼슘효율의 경우, 대조군에 비해 1%나트륨군에서는 3.1%와 8.1% 감소한데 비해 2%나트륨군은 12.1%와 12.9% 감소하여 2%나트륨군의 칼슘효율이 더욱 떨어지는 경향이 있었다(Fig. 1).

골무기질 함량에 대한 칼슘효율에 있어서 척추(SBMC)에서는 대조군과 1% 나트륨군간의 차이가 없었으며 2% 나트륨군에서만 25.6% 감소하였고 대퇴골(FBMC)에서는 1%나트륨군이 8.5%, 2%나트륨군은 23.9% 감소하여 골무기질 함량에 대한 칼슘효율도 1% 나트륨군 보다 2%나트륨군이 더욱 낮은 것으로 나타났다(Fig. 1).

Goulding과 Campbell²³⁾은 8주간 0.01%의 극도의 칼슘제한 식이를 섭취하는 암컷 흰쥐를 대상으로 식이 100g당 8g의 식염을 첨가시켰을 때 식염첨가군과 첨가하지 않은 군 모두 실험초기보다 대퇴골의 회분량, 칼슘 함량과 부피당 칼슘(Ca per unit volume, mg/cm³)이 적었으며 식염첨가군과 첨가하지 않은 군의 대퇴골 칼슘 함량이 122mg과 108mg, 부피당 칼슘함량이 233mg/cm³과 204mg/cm³으로 식염첨가군이 낮았다고 보고하였다. Goulding과 Campbell²⁴⁾이 0.6%의 충분한 칼슘 식이를 공급받는 성장기 수컷흰쥐를 대상으로 한 연구에

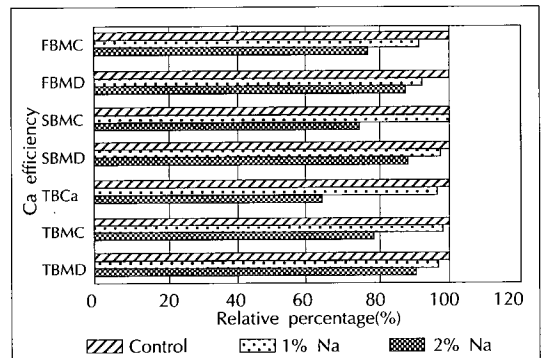


Fig. 1. Relative percentage of Ca efficiency when Ca efficiency of control group is considered as 100%.

서는 16일간의 식염첨가(8g/100diet)가 노중 cyclic AMP와 노중 hydroxyproline의 증가와 함께 대퇴골과 경골에서 회분량과 칼슘함량을 감소시켰다고 보고하였다. 이처럼 Goulding의 연구에 의하면 저칼슘식이와 충분한 칼슘식이 섭취의 두 경우 모두 식염첨가로 골격의 칼슘함량이 감소하였다. 이러한 결과에 대해 Goulding은 무기질 배설의 증가에 의한 것이라고 추측했으며 아마도 증가된 부갑상선 호르몬이 신장과 골격에 영향을 미친 탓 일것 같다고 설명 하였다. 이와 같은 선행연구는 그 실험기간은 짧았으나 식염첨가 수준이 본 실험에서 사용된 식염수준보다 매우 높았으므로(AIN의 10배인 1% 나트륨 식이에 비해 약 3배, AIN의 20배인 2% 나트륨식에 비해 약 1.5배) 대퇴골 칼슘 함량을 낮추는 결과는 볼 수 있었던 것으로 사료된다.

Chan의 연구⁴²⁾에서도 고식염 섭취시(1.8% NaCl drink) 노중 칼슘배설현상의 유의적인 증가와 비정상적

인 골무기질 함량의 감소가 나타났다고 보고하였다. 그리고 8주간 저칼슘-고식염 식이(0.02% Ca diet)를 섭취한 군과 4개월간 정상칼슘-고식염 식이(0.6% Ca diet)를 섭취한 두 군의 대퇴골 칼슘 손실량이 유사하였다고 보고하여 고식염섭취는 특히 저칼슘 식이 섭취시 골무기질 함량을 감소시키는 것으로 사료된다.

골밀도 측정치에 대한 본 실험의 결과를 종합해 보면, 통계적 유의성은 없었으나 전신, 척추 및 대퇴골의 골밀도와 골무기질 함량에 대한 칼슘효율은 대조군에서 가장 높은 경향을 나타냈으며 식염수준이 증가함에 따라 칼슘효율이 떨어지는 경향을 나타내었다. 그리고 골무기질 함량과 골칼슘 함량이 있어서 전신, 척추 및 대퇴골 모두에서 2%나트륨군의 칼슘효율이 대조군과 1%나트륨군에 비해 더욱 낮은 경향을 띠었다.

요약 및 결론

본 실험은 저칼슘식을 섭취하는 흰쥐를 대상으로 식염수준이 노중 칼슘배설과 골밀도에 미치는 영향을 알아보기 위해 시도되었다.

실험동물을 식염수준을 달리한 세 종류의 실험식이(정상 나트륨 식이 : 0.1036%Na, 1% 나트륨 식이 : 1.036%Na, 2% 나트륨 식이 : 2.072%Na)로 나누어 7주간 사육 후, 뇨와 혈액을 채취하여 노중 칼슘, 인, 나트륨의 배설량을 측정하였으며 pyridinoline과 creatinine을 측정하여 crosslinks value를 구하였고 혈중에서 칼슘, 인, 나트륨의 농도와 alkaline phosphatase농도를 측정하였다. 회생시키기 전, 양에너지 방사선 골밀도측정기(dual energy x-ray absorptiometry)를 이용하여 전신, 척추 및 대퇴골에서 골밀도(BMD)와 골무기질 함량(BMC)을 측정하였고 이에 대한 칼슘효율을 구하였다.

그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1) 체중 증가량은 식이군간에 유의적인 차이는 없었으나, 식이섭취량은 나트륨 섭취가 많은 군에서 높게 섭취하였다($p < 0.05$).

2) 식염수준에 따른 혈중 칼슘, 인 및 나트륨의 농도에는 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

3) 노중 칼슘 배설량은 2% 나트륨군이 대조군보다 유의적으로 높았다($p < 0.05$). 노중 인과 나트륨 배설량도 식염수준이 증가할수록 높은 경향을 보였다.

4) Crosslinks value는 통계적 유의성은 없었으나 대조군이 250.06, 1% 나트륨군이 262.58, 2%나트륨군이 315.32로 식염수준이 높은 군에서 높게 나타났으며 혈중 ALP는 식염첨가량이 증가함에 따라 유의적으로 증가하였다($p < 0.05$).

5) 총골밀도와 골무기질 함량과 총골칼슘함량에 대한 칼슘효율은 통계적 유의성은 없었으나, 식염수준이 높을수록 낮은 경향을 나타내었으며 척추와 대퇴골의 골밀도와 골무기질함량 각각에 대한 칼슘효율도 통계적 유의성은 없었으나 식염수준이 높을수록 낮은 경향을 나타내었으며 2%나트륨군이 특히 낮은 것으로 나타났다.

본 실험에 대한 결과를 종합해 보면, 저칼슘 식이에서의 식염 첨가는 노중 나트륨의 배설 증가와 함께 노중 칼슘의 배설을 증가시키고 혈중 ALP농도와 노중 crosslinks value를 높였으며, 각 골격에 대한 칼슘효율을 낮추었다. 또한, 1% 나트륨군 보다 2% 나트륨군에서 이러한 효과가 두드러지므로 칼슘섭취가 부족한 상태에서 필요량 이상의 지나친 식염섭취는 노중 칼슘 배설을 증가시키는 것 뿐만 아니라 골흡수를 증가시키고 골밀도와 골무기질 함량에 대한 칼슘 효율을 낮추어 골격에 유익하지 못한 영향을 미칠 것으로 사료된다.

Literature cited

- 1) 김화영. 골다공증과 식이인자. *한국영양학회지* 27(6) : 636-645, 1994
- 2) Bess DH, Clantons PJ. Dietary Ca intake and bone loss from the spine in healthy postmenopausal women. *Am J Clin Nutr* 46 : 685-687, 1987
- 3) Polley KJ. Effect of calcium supplementation on forearm bone mineral content in postmenopausal women. *J Nutr* 117 : 1929-1935, 1987
- 4) Walker RM, Linkswiler HM. Calcium retention in the adult human male as affected by protein intake. *J Nutr* 102 : 1297-1302, 1972
- 5) Hegsted M, Linkswiler HH. Long term effects of protein intake on calcium metabolism in young adult woman. *J Nutr* 111 : 244-251, 1981
- 6) Mona Shies Calvo. Dietary phosphorus, calcium metabolism and bone. *J Nutr* 23 : 1627-1633, 1993
- 7) Riggs BL, Jowsey J, Kelly PJ. Effects of oral therapy with calcium and vit D in Primary osteoporosis. *J Clin Endo Metab* 42 : 1139-1141, 1989
- 8) Goodhart RS, Shils ME. Calcium and phosphorus. *Modern Nutrition in Health and Disease(7th)*. 294-309, 1980
- 9) Walser M. Calcium Clearance as a Function of Sodium Clearance in the dog. *Am J Physiology* 200 : 1099-1104, 1961
- 10) Dale NE. A study of the urinary calcium, phosphorus, creatinine and sodium excretion of young adults in sydney. *Med J Australia* 11 : 791-793, 1968
- 11) 조재현 · 백희영. 한국 젊은 성인 여성과 중년 여성의 소변 중 Ca 배설과 이에 영향을 미치는 요인 분석. *한국영양학*

- 회지 25(2) : 132-139, 1992
- 12) 송영득 · 이종호 · 안광진 · 정춘희 · 김미림 · 이관우 · 이명희 · 임승길 · 김경래 · 이현철 · 문수재 · 허갑범. 정상성인 남자의 칼슘섭취량 및 운동량과 골밀도와의 관계. *대한의학협회지* 34 : 83, 1991
 - 13) Phillips MJ, Cooke JNC. Relation between urinary calcium and sodium in patients with idiopathic hypercalcaemia. *Lancet* 24 : 1354-1357, 1967
 - 14) Muldowney FP, Freaney R, Moloney MF. Importance of dietary sodium in the hypercalcaemia syndrome. *Kidney International* 22 : 292-296, 1982
 - 15) Breslau NA, Mcguire JL, Zerwekh JE, Pak CYC. The Role of Dietary sodium on renal excretion and intestinal absorption of calcium and on vitamin D metabolism. *J Clin Endo and Metab* 55(2) : 369-373, 1982
 - 16) Zarkadas M, Rejeanne GR, Marliss EB, Block E, Mary AM. Sodium chloride supplementation and urinary calcium excretion. *Am J Clin Nutr* 50 : 1088-1094, 1989
 - 17) McParland BE, Goulding A, Campbell D. Dietary salt effects biochemical markers of resorption and formation of bone in elderly women. *Br Med J* 299 : 834-835, 1989
 - 18) Nordin BEC, Need AG, Morris HA, Horowitz M. The nature and significance of the relationship between urinary sodium and urinary calcium in women. *J Nutr* 123 : 1615-1622, 1993
 - 19) Castenmüller JJM, Mensink RP, Heihden L, Kouwenhoven K, Hautvast JG, Leeuw PW, Schaafsma J. The effect of dietary sodium on urinary calcium and potassium excretion in normotensive men with different calcium intakes. *Am J Clin Nutr* 41 : 52-60, 1985
 - 20) King JS, Jackson R, Ashe B. Relation of sodium intake to urinary calcium excretion. *Investigative Urology* 1 : 555-560, 1964
 - 21) Shortt C, Flynn A, Morrissey PA. Influence of dietary sodium intake on urinary calcium excretion in selected Irish individuals. *Euro J Clin Nutr* 42 : 595-603, 1988
 - 22) Goulding A, McIntosh J. Effects of NaCl on calcium balance, parathyroid function and hydroxyproline excretion in prednisolone-treated rats consuming low calcium diet. *J Nutr* 116 : 1037-1044, 1986
 - 23) Goulding A, Campbell D. Dietary NaCl loads promote calciuria and bone loss in adult oophorectomized rats consuming a low calcium diet. *J Nutr* 113 : 1409-1414, 1983
 - 24) Goulding A, Campbell D. Effects of oral loads of sodium chloride on bone composition in growing rats consuming ample dietary calcium. *Mineral Electrolyte Metab* 10 : 58-62, 1984
 - 25) American Institute of Nutrition. Report of the American institute of nutrition ad aommittee on standards for nutritional studies. *J Nutr* 107 : 1340-1348, 1977
 - 26) Sabto J, Powell MJ, Bredahl MJ, Gurr JW. Influence of urinary sodium on calcium excretion in normal individuals. *Med J Aust* 140 : 354-356, 1984
 - 27) McCarron DA, Rankin LL, Bennett WM, Krutzi S, McClung MR, Luft FC. Urinary calcium excretion at extremes of sodium intake in normal man. *Am J Nephrol* 1 : 84-90, 1981
 - 28) 김양애 · 승정자. 한국 성인 여자에 있어서 나트륨 섭취 수준이 체내 칼슘대사에 미치는 영향. *한국영양학회지* 20(4) : 246-257, 1987
 - 29) 한국영양학회. 제 6 차 영양권장의 개요. *한국인의 영양권장량 제6차개정*. p.14, 1995
 - 30) 보건사회부. *국민영양조사보고서*. 1992
 - 31) 이연숙 · 임현숙 · 안홍석. 다량 무기질 권장량. *한국영양학회 추계심포지움 초록집*. 1994
 - 32) Friedrich CL. Sodium, Chloride, Potassium. *In present knowledge in nutrition(fifth ed)* 441, 1984
 - 33) Gitelman HJ. An improved automated procedure for the determination of calcium in biological specimens. *Anal Biochem* 18 : 521-531, 1967
 - 34) Atkinson A, Gatenby AD, Lowe AG. The determination of inorganic orthophosphate in biological systems. *Biochem Biophys Acta* 320 : 195-204, 1973
 - 35) Morgenstern S, Kessler G, Auerbach J, Flor RV, Klein B. An automated p-nitrophenylphosphate serum alkaline phosphatase procedure for the autoanalyzer. *Clin Chem* 11:876-888, 1956
 - 36) Walter JM, Transbol Ib, Frederic CB, Catherine D. Control of calcium absorption : Effect of sodium chloride loading and depletion. *Metab Clin Exp* 25 : 989-993, 1976
 - 37) Pernot F, Berthelot A, Schleiffer R, Gairard A. Ionized serum calcium, urinary cAMP and immunoreactive PTH after DOGA+NaCl treatment in the rat. *Miner Electrolyte Metab* 2 : 258, 1979
 - 38) 조수현. 폐경과 골다공증. *대한의학협회지* 35(5) : 587, 1992
 - 39) 장준섭. 골조송증의 진단과 치료. *대한의학협회지* 35(1) : 101-108, 1992
 - 40) 임승길. Bone Turnover Marker의 임상적 의의와 응용. *골대사학회지* 1(1) : 1-11, 1994
 - 41) Need AG, Morris HA, Cleghorn DB, De Nichilo D, Horowitz M, Nordin BE. Effect of salt restriction on urine hydroxyproline excretion in postmenopausal women. *Arch Intern Med* 151 : 757-759(Abstract), 1991
 - 42) Chan AY, Poon P, Chan EL, Fung SL, Swaminathan R. The effect of high sodium intake on bone mineral content in rats fed a normal calcium or a low calcium diet. *Osteoporos Int* 3(6) : 341-344(Abstract), 1993