

연령이 다른 흰쥐에 있어 칼슘의 섭취수준이 체내 지질함량과 효소활성에 미치는 영향*

최 미 경

충남산업대학교 식품영양학과

Effects of Calcium Intake on Lipid Contents and Enzyme Activity in Rats of Different Ages

Mi-Kyeong Choi

Department of Human Nutrition and Food Science, Chungnam Sanup University

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the effect of calcium intake on lipid contents and enzyme activities in rats of different ages. Lipid levels in serum and liver and GOT, CPK and LDH activities in serum were compared in rats of different ages(4 weeks and 10 months) that were fed various levels of calcium(50, 100, 200% of requirement) for 3 weeks. Body weight gain and feed efficiency ratio were significantly higher in young rats than in adults. Serum calcium level was increased by elevation of calcium intake levels in young rats. With increasing dietary calcium levels, serum cholesterol and triglyceride levels were decreased. Liver phospholipid and triglyceride levels in the high-calcium group were significantly lower than those in other groups. Serum GOT and LDH activities of adults were significantly higher in low-calcium group than those in adequate /high-calcium groups. However, serum CPK activity of adults was significantly higher in high-calcium group than that in low/adequate-calcium groups. The results of this study suggest that adequate calcium intake may have protective effects on the alteration of lipid and enzyme activity in rats.

Key words: calcium, lipids, enzyme, age.

I. 서 론

현대사회는 의학기술의 발달로 인간의 평균수명

이 증가하였으며, 이에 따라 주요 사망원인이 되는 질병양상도 변화되고 있다. 우리나라에서도 지난 수십년간 산업화에 따른 경제성장으로 식생활이 개선되고 생활양식이 편리해짐에 따라 감염성 질환은

* 본 연구는 1997년도 충남산업대학교 학술연구조성비로 수행되었음.

줄어들고 각종 만성 퇴행성 질환이 증가하는 추세이다. 그중 심장순환계 질환의 증가는 미국에서 주요 사망원인이 된지 오래고, 우리나라의 경우에도 1995년 고혈압, 뇌혈관 질환 등 순환기계 질환이 사망원인의 수위를 차지하고 있는 것으로 나타났다¹⁾.

관상동맥성 심장질환의 발병에 관여하는 위험인자로서 흡연, 고혈압, 비만, 당뇨와 함께 고지혈증이 중요한 인자가 된다는 많은 보고가 있다^{2,3)}. 혈중 지질의 상승이 순환기계 질환의 주요 위험인자라는 것이 밝혀지면서 혈중 지질에 영향을 미치는 식이인자에 대한 연구가 다각도로 이루어져, 이와 같은 인자로서 식이 탄수화물, 지방의 종류와 양, 총열량 섭취량 등이 주로 논의되어 왔으며^{4,5)}, 최근에는 다양한 무기질이 혈중 지질에 직접 또는 간접적인 영향을 미친다는 연구결과들이 발표되면서 새로운 관심이 모아지고 있다^{6,7)}.

다양한 무기질 중에서도 혈압의 항상성 유지와 함께 혈중 지질 저하효과(hypocholesterolemic effect)에 대한 칼슘 섭취의 중요성이 여러 연구들에 의해 뒷받침되어 보고되고 있는데^{8,9)}, 이에 대한 연구는 칼슘과 마그네슘을 많이 함유하고 있는 경수(hard water)를 섭취하는 지역의 주민들이 연수(soft water)를 마시는 지역의 주민들보다 고혈압과 순환계 질환으로 인한 사망률이 낮았다는 역학적인 보고에서 시작되었다^{10,11)}. 고칼슘식이는 유아, 어린이, 성인, 고지혈증 환자의 지방흡수를 감소시킨다고 보고되고 있는데¹²⁾, 이러한 현상은 colipase와 담즙염의 존재하에 유화된 지방이 가수분해될 때 칼슘비누(soap)가 형성됨으로써 췌장 지방분해효소(pancreatic lipase)가 저하되고 그에 따라 지방흡수가 감소된다고 한다¹³⁾. 1971년 Carlson 등¹³⁾은 고지혈증환자에게 매일 2g의 칼슘을 경구투여한 경우 혈청 콜레스테롤이 감소되었으나, 이온 칼슘을 정맥주사했을 때는 거의 변화되지 않은 것으로 보아 경구투여한 칼슘염이 소장내에서 불용성인 칼슘비누를 형성하여 콜레스테롤의 흡수를 억제하거나 콜레스테롤의 장간순환(enterohepatic circulation)에 의한 재흡수를 방해하여 혈청 콜레스테롤을 저하효과가 나타난다고 하였다.

1995년 우리나라 국민영양조사 보고서¹⁴⁾에 의하

면 성인 평균 칼슘 섭취량은 권장량의 84% 수준이며, 전체 대상자 중에는 권장량의 75% 이하밖에 섭취하지 못하는 인구비율이 전국적으로 51%에 달해 칼슘섭취 부족이 아직도 심각한 것으로 나타나고 있다. 그러므로 순환기계 질환의 발생비율이 높은 현 시점에서 이러한 질환의 예방인자로서 칼슘 섭취수준을 증가시킬 수 있는 방안으로 칼슘섭취수준에 따른 체내 지질함량 변화를 살펴볼 수 있는 과학적인 연구가 필요하다고 생각한다.

따라서 본 연구에서는 연령이 다른 흰쥐를 대상으로 요구량의 50, 100, 200% 수준의 식이 칼슘을 3주간 공급한 후 체내 칼슘대사와 혈액과 조직 중의 지질함량 및 효소활성을 측정하여 심장 순환기계 질환의 예방적인 차원에서 식이칼슘의 중요성을 제시해 보고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 실험동물의 사육

실험동물은 Sprague-Dawley계 암쥐로, 생후 4주 된 어린쥐 30마리와 10개월 된 성숙쥐 30마리를 고형사료로 1주일간 적응시킨 후 연령과 칼슘 섭취수준에 따라 임의 배치법으로 각각 10마리씩 6군으로 나누어 3주간 사육하였다. 사육실의 조건은 온도 $24 \pm 2^\circ\text{C}$, 습도 55~60%를 항상 유지시켜 주었으며, 모든 사료와 물(2차 증류수)은 매일 같은 시각에 자유급식시켰다. 사육 및 실험에 사용할 모든 기구들은 무기질의 오염을 방지하기 위하여 깨끗이 씻은 후 플라스틱 제품인 경우에는 0.4% EDTA용액에, 유리제품인 경우에는 질산원액에 24시간 이상 담갔다가 2차 증류수로 3번 이상 세척하고 건조기에서 습기를 제거한 다음에 사용하였다.

2. 실험동물의 식이

실험식이의 배합은 NRC¹⁵⁾와 AIN-76¹⁶⁾을 참고로 하였으며, 배합구성비율은 Table 1과 같다. 칼슘은 NRC 사양표준¹⁵⁾에서 무기질 요구량의 50%를 차지하므로 칼슘을 제외한 mineral mixture를 배합한 후 calcium phosphate(CaHPO_4)의 형태로 3수준(요구량의 50, 100, 200%)으로 배합하여 공급하였

Table 1. Formulation of experimental diet

Ingredient	Low-Ca diet (50% of requirement)	Normal-Ca diet (100% of requirement)	High-Ca diet (200% of requirement)
Casein	20.0	20.0	20.0
DL-Methionine	0.3	0.3	0.3
Corn starch	15.0	15.0	15.0
Sucrose	50.0	50.0	50.0
Cellulose	5.0	5.0	5.0
Corn oil ¹⁾	5.0	5.0	5.0
Ca free mineral mixture ²⁾	1.75	1.75	1.75
CaHPO ₄	0.875	1.75	3.5
Vitamin mixture ³⁾	1.0	1.0	1.0
Choline bitartrate	0.2	0.2	0.2

¹⁾ Butylated hydroxytoluene as antioxidant was added 0.0125% /kg oil

²⁾ Calcium free mineral mixture:

Sodium chloride 74g, potassium citrate · monohydrate 220g, potassium sulfate 52g, magnesium oxide 24g, manganese carbonate 3.5g, ferric citrate 6g, zinc carbonate 1.6g, cupric carbonate 0.3g, potassium iodate 0.01g, sodium selenite 0.01g, chromium potassium sulfate 0.55g:
sucrose finely powdered to make 500g

³⁾ Vitamin mixture:

Thiamin · HCl 600mg, riboflavin 600mg, pyridoxine · HCl 700mg, nicotinic acid 3g, D-calcium pantothenate 1.6g, folic acid 200mg, D-biotin 20mg, cyanocobalamin 1mg, vitamin A 400,000IU, dl- α -tocopherol acetate 5,000IU, cholecalciferol 2.5mg, menaquinone 5mg; sucrose finely powdered to make 1,000g

다.

3. 시료의 채취 및 분석

3주간의 사육이 끝난 후 15시간 정도 절식시키고 개체별로 체중을 측정하여 ketamine으로 마취시켜 해부를 실시하였다. 혈액은 복부 대동맥에서 채취하여 1시간 정도 방치한 후 3,000rpm에서 20분간 원심분리시켜 혈청을 얻어 분석시까지 냉동보관하였으며, 혈액을 채취한 후 간장과 경골(tibia)을 떼어내어 생리식염수로 표면에 묻은 혈액을 씻어내고 지방을 깨끗이 제거한 다음 무게를 측정하고 냉동보관하였다.

1) 칼슘함량 분석

간장은 잘 분쇄하여 50ml 분해용 플라스크에 1g 취하고 nitric acid 15ml를 넣어 250℃의 hot plate에서 갈색연기가 없어지면 perchloric acid 5ml를 첨가한 후 분해액이 약 1ml 정도 남을 때까지 분해하였다. 분해가 완료되면 냉각시키고 50ml mass

flask에 여과지(No. 6)를 놓고 뜨거운 증류수를 가해 분해용기 내부를 깨끗이 씻어 내리면서 표면을 채우고, 채취한 경골은 70℃ 건조기에서 2일간 건조하여 Soxhlet 장치에서 탈지한 후 60℃ 건조기에서 2시간 이상 건조하고 칭량하여 fat free dry weight를 측정하였다. 그후 600℃ 회화로에서 5시간 동안 회화시키고 2배로 희석한 hydrochloric acid-nitric acid 혼합용액(1:1)을 3ml 가하여 200℃의 hot plate에서 10분간 가열한 후 50ml mass flask에 여과지를 놓고 뜨거운 증류수를 가해 분해용기 내부를 깨끗이 씻어 내리면서 표면을 채우고, 혈청 및 전처리하여 준비한 간장과 경골 분해액의 칼슘함량을 원자흡광광도계(Atomic absorption spectrophotometer, Hitachi Z6000, Japan)로 측정하였다.

2) 지질함량 분석

혈청중 총콜레스테롤 함량은 효소법에 의한 총콜레스테롤 측정용 kit(cholesterol-V '榮研', 榮研化學, Japan)를 사용하였으며, 중성지질 함량은 gly-

cerol-3-phosphate oxidase-p-chlorophenol coloring method에 의한 중성지질 측정용 kit(triglycerol-V'榮研, 榮研化學, Japan)를 사용하여 분석하였다. 혈청중 HDL-콜레스테롤 함량은 HDL-콜레스테롤 측정용 kit(Yatro Lipohigh cholesterol, Yatron, Japan)를 사용하여 dextran sulfate-Mg²⁺ 침전법으로 LDL과 VLDL을 침전시킨 후 효소법에 의거하여 분석하였다. 간장의 총콜레스테롤, 인지질, 중성지질, 총지질 함량을 측정하기 위하여 Folch 방법으로 간장의 지질을 추출한 후 총콜레스테롤, 인지질, 중성지질 함량은 효소법에 의거한 측정용 kit를 사용하였고, 총지질 함량은 Sulfo-phosphovinillin법을 이용한 측정용 kit(國際試藥, Japan)를 사용하여 분석하였다.

3) 혈청 효소활성 분석

혈청 creatine phosphokinase(CPK) 활성은 UV-rate법에 의한 CPK 측정용 kit(Iatron Lab., Tokyo, Japan)를 사용하여 다음과 같이 측정하였다. 혈청 10 μ l에 CPK 300 μ l를 가하여 37 $^{\circ}$ C에서 3분간 방치한 다음 CPK 기질액 150 μ l를 첨가하여 340nm에서 automatic analyzer(701-011, Hitachi Co., Tokyo, Japan)로 측정하였다. 혈청 lactate dehydrogenase(LDH) 활성은 LDH 측정용 kit(Iatron Lab., Tokyo, Japan)를 사용하여 UV-rate법에 의해 다음과 같이 측정하였다. 혈청 8 μ l에 NADH 용해액 280 μ l를 넣은 다음 pyruvate 60 μ l를 넣어 반응시킨 후 340nm에서 automatic analyzer(701-011, Hitachi Co., Tokyo, Japan)로 측정하였다.

4. 자료의 통계처리

본 실험에서 얻어진 모든 결과는 연령과 칼슘 섭취수준에 따른 각 군별 평균치와 표준편차를 계산하였다. 연령과 칼슘 섭취수준의 영향을 알아보기 위하여 SAS program을 사용하여 2 \times 3 분산분석을 하였고, 유의적인 영향이 나타났을 때 각 군별 차이를 관찰하기 위하여 Duncan's multiple range test로 $\alpha=0.05$ 수준에서 유의성을 검정하였다¹⁷⁾.

III. 결과 및 고찰

1. 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율

어린쥐와 성숙쥐를 대상으로 식이 칼슘을 요구량의 50, 100, 200% 수준으로 3주간 공급한 후 식이섭취량, 체중증가량, 식이효율을 살펴본 결과는 Table 2와 같다. 체중증가량과 식이효율은 연령에 따른 유의적인 차이가 있어($p<0.001$, $p<0.001$) 어린쥐가 성숙쥐보다 체중증가량이 높았고 식이효율도 좋은 것으로 나타났으나 칼슘 섭취수준에 의한 유의적인 차이는 없었다.

칼슘의 섭취상태가 식이섭취량, 체중증가량 및 식이효율에 미치는 영향에 대한 연구를 살펴볼 때 장기간의 저칼슘 섭취는 식이섭취량이나 체중증가의 감소를 초래하며¹⁸⁾, 고칼슘¹⁹⁾과 단기간의 저칼슘 섭취²⁰⁾는 적정칼슘군과 유의적인 차이가 없는 것으로 나타나고 있다. 본 연구에서는 어린쥐와 성숙쥐 모두 칼슘의 섭취수준에 따라 식이섭취량이나 체중증가량에 유의적인 차이가 나타나지 않았는데, 이는 3주간의 비교적 짧은 기간의 사육에 따른 결과인 것으로 사료된다.

2. 혈청, 간장, 경골의 칼슘함량

연령이 다른 흰쥐를 대상으로 식이 칼슘을 요구량의 50, 100, 200% 수준으로 3주간 공급한 후 혈청, 간장, 경골의 칼슘함량을 살펴본 결과는 Table 3과 같다. 혈청 칼슘농도는 연령 및 연령과 칼슘 상호작용에 따른 유의한 차이가 있어($p<0.001$, $p<0.01$) 어린쥐가 성숙쥐보다 높았으며, 어린쥐에 있어서는 칼슘섭취수준이 증가할수록 혈청칼슘농도가 높은 것으로 나타났다. 간장의 칼슘함량은 연령에 따른 유의적인 차이가 있어($p<0.05$) 어린쥐가 성숙쥐보다 낮은 것으로 나타났으며, 경골의 칼슘함량은 연령과 칼슘의 섭취수준에 따른 유의적인 차이가 없었다.

다양한 내·외적 요인에 따른 혈중 칼슘농도의 변화를 관찰한 연구결과 대조군과 유의한 차이가 없었다는 것²¹⁾, ²²⁾과 있었다는 것²³⁾, ²⁴⁾으로 양분되고 있지만, 이들 대부분이 정상범위에서 크게 벗어나지는

Table 2. Feed intake, body weight gain and feed efficiency ratio

Group ¹⁾	Feed intake	Body weight gain	FER
	g /day	g /day	
YLCa	29.31±6.11 ²⁾	3.81±0.60 ⁴⁾³⁾	0.14±0.04 ^a
YNCa	32.42±5.05	4.03±0.63 ^a	0.13±0.03 ^a
YHCa	29.55±6.82	4.17±0.41 ^a	0.15±0.03 ^a
ALCa	27.39±1.48	1.19±1.19 ^b	0.04±0.04 ^b
ANCa	29.14±7.82	1.03±0.56 ^b	0.04±0.02 ^b
AHCa	27.51±3.46	1.29±0.80 ^b	0.05±0.03 ^b
Age	N.S.	p<0.001	p<0.001
Anova Ca	N.S.	N.S.	N.S.
Age×Ca	N.S.	N.S.	N.S.

¹⁾ In the abbreviated names, Y, A, L, N and H, indicate young, adult, low, normal and high calcium level, respectively

²⁾ Mean±standard deviation

³⁾ Means with different letters(a, b) within a column are significantly different from each other at $\alpha=0.05$ as determined by Duncan's multiple range test($a>b$)

⁴⁾ No significance

Table 3. Calcium levels in serum, liver, and tibia in young and adult rats fed different calcium levels

Group ¹⁾	Serum	Liver	Tibia
	mg /dl	μ g /g	mg /g
YLCa	9.88±1.18 ^{2)bc3)}	51.82± 6.05 ^b	150.03±25.06
YNCa	10.55±1.13 ^b	49.44± 3.75 ^b	145.14± 7.79
YHCa	11.75±0.36 ^a	54.32±12.25 ^b	159.49± 3.00
ALCa	8.54±0.58 ^d	68.74±26.61 ^a	154.52± 8.72
ANCa	9.09±0.83 ^{cd}	55.20± 7.23 ^b	164.44±11.19
AHCa	8.69±0.84 ^d	56.94± 8.10 ^{ab}	162.52±12.82
Age	p<0.001	p<0.05	N.S.
Anova Ca	N.S.	N.S.	N.S.
Age×Ca	p<0.01	N.S.	N.S.

¹⁾ In the abbreviated names, Y, A, L, N and H, indicate young, adult, low, normal and high calcium level, respectively

²⁾ Mean±standard deviation

³⁾ Means with different letters(a, b, c, d) within a column are significantly different from each other at $\alpha=0.05$ as determined by Duncan's multiple range test($a>b>c>d$)

⁴⁾ No significance

않고 있다. 이는 혈중 칼슘농도는 끊임없는 내·외적 변화에 대응하는 동적상태에서 항상성을 유지하고 있기 때문이다²⁵⁾. 연령이 증가하면서 체내 칼슘대사는 많은 변화를 초래하게 되는데, 특히 여성에 있어 '폐경'이라는 생리적인 변화는 연령 증가에 따른 칼슘대사의 변화를 더욱 가중시키게 된다. 폐경 후에는 에스트로겐 분비가 감소하고 부갑상선 호르

몬에 대한 골격의 반응도가 증가하여 골의 재흡수가 일어나며 칼시토닌의 분비는 증가되어 1,25(OH)₂D₃의 생산량이 감소하여, 그 결과 칼슘의 흡수율은 감소하고 배설량은 증가하게 된다²⁵⁾. 따라서 가령에 의해 혈중 칼슘농도는 감소하는 것으로 보여지며, 본 연구에서도 성숙쥐의 혈청 칼슘농도가 어린쥐보다 유의하게 낮아 가령에 의해 칼슘대사에 변화를

보인 것으로 사료된다.

칼슘 섭취수준이 간장 칼슘농도에 미치는 영향에 대한 기존의 연구를 살펴보았을 때 유의한 영향이 나타나지 않은 것으로 보고되고 있다. 식이에 1.3%, 0.52%(적정 칼슘), 0.1%의 칼슘을 공급했을 때 간장 칼슘농도는 각 군간에 차이가 없었으며¹⁹⁾, 0.6%와 0.1%의 칼슘을 공급했을 때도 저칼슘군이 낮았지만 유의적인 차이는 없었다고 한다. 본 연구에서도 칼슘 섭취수준에 따라 간장의 칼슘농도가 유의적인 차이가 없어 위의 연구결과들과 일치하였다.

칼슘이 경골의 칼슘상태에 미치는 영향에서 Six와 Goyer²⁷⁾는 성장기 숫쥐에게 식이의 0.7%와 0.1%의 칼슘을 10주간 공급했을 때 저칼슘군의 대퇴골 무게가 유의하게 감소하였다고 하며, Washko와 Cousins²⁸⁾는 성장기 숫쥐에게 식이의 0.6%와 0.1%의 칼슘을 8주간 공급했을 때 저칼슘군의 골회분량이 유의하게 낮았다고 하였다. 그러나 고칼슘 섭취나 칼슘보충이 골대사에 미치는 영향에 대해서는 동물실험 연구가 부족하고 인체실험에서는 아직까지 의견일치를 보지 못해 칼슘보충이 골다공증의 예방 효과가 있다는 연구와 그렇지 못하다는 연구가 서로 상반되고 있다. 본 연구에서는 칼슘섭취수준에 따라 경골의 칼슘함량에 유의한 차이가 나타나지 않았는데 이는 3주간의 비교적 짧은 기간 때문에 나타난

결과로 사료되며 앞으로 보다 정확한 결과를 얻기 위해서는 장기간의 칼슘섭취수준에 따른 연구가 이루어져야 할 것이다.

3. 혈청의 지질함량

연령이 다른 흰쥐를 대상으로 식이 칼슘을 요구량의 50, 100, 200% 수준으로 3주간 공급한 후 혈청의 지질함량을 살펴본 결과는 Table 4와 같다. 혈청 콜레스테롤과 중성지질 함량은 연령과 칼슘섭취수준에 따른 유의한 차이가 있어($p < 0.001$, $p < 0.001$) 어린쥐가 성숙쥐보다 높았으며 칼슘섭취수준이 증가할수록 낮은 것으로 나타났다. 혈청 HDL-콜레스테롤 함량은 연령, 칼슘 섭취수준, 연령과 칼슘 상호작용에 따른 유의적인 차이가 있어($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$) 성숙쥐가 어린쥐보다 높았으며, 어린쥐는 저칼슘군이 적정 및 고칼슘군보다 낮았으나 성숙쥐는 고칼슘군이 적정 및 저칼슘군보다 낮아 연령에 따라 칼슘섭취수준의 영향이 서로 다른 것으로 나타났다.

칼슘이 체내 지질대사에 미치는 영향에 대한 연구에서 Yacowitz 등²⁹⁾은 성숙한 숫쥐에게 식이에 0.08%, 0.2%, 1.2%의 칼슘을 첨가해 3주간 공급했을 때 칼슘 섭취증가에 따라 혈청 콜레스테롤과 중성지질 함량이 유의하게 감소하였으며, 대변 중의

Table 4. Lipid levels in serum in young and adult rats fed different calcium levels (mg/dl)

Group ¹⁾	Cholesterol	HDL-cholesterol	Triglyceride
YLCa	69.67 ± 2.08 ^{2)a3)}	22.53 ± 0.44 ^d	152.75 ± 2.35 ^a
YNCa	71.00 ± 1.73 ^a	25.56 ± 0.62 ^c	141.35 ± 3.20 ^b
YHCa	65.00 ± 1.00 ^b	24.50 ± 0.30 ^c	142.93 ± 4.89 ^b
ALCa	63.33 ± 3.21 ^b	31.67 ± 1.61 ^a	79.17 ± 4.02 ^c
ANCa	58.67 ± 1.53 ^c	31.96 ± 0.96 ^a	70.20 ± 2.21 ^d
AHCa	53.67 ± 2.52 ^d	27.17 ± 0.81 ^b	72.60 ± 1.87 ^d
Age	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$
Anova Ca	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.001$
Age × Ca	N.S.	$p < 0.001$	N.S.

¹⁾ In the abbreviated names, Y, A, L, N and H, indicate young, adult, low, normal and high calcium level, respectively

²⁾ Mean ± standard deviation

³⁾ Means with different letters(a, b, c, d) within a column are significantly different from each other at $\alpha = 0.05$ as determined by Duncan's multiple range test ($a > b > c > d$)

⁴⁾ No significance

총지질, 담즙산, 칼슘 함량도 유의하게 증가한 것으로 보아 식이 칼슘이 지질의 흡수를 감소시킨 결과라고 하였다. 권과 김¹⁹⁾의 연구에서도 100g된 숫쥐에게 식이에 0.1%, 0.53%, 1.3%의 칼슘을 첨가해 5주간 사육했을 때 칼슘증가에 따라 혈청 총지질과 콜레스테롤 함량이 감소하는 경향을 보여 본 연구와 일치하였지만, 이상의 결과가 칼슘의 지질흡착 작용에 의한 것인지는 대변중 지질함량을 측정하여 비교분석하는 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

4. 간장의 지질함량

어린쥐와 성숙쥐를 대상으로 식이 칼슘을 요구량의 50, 100, 200% 수준으로 3주간 공급한 후 간장의 지질함량을 살펴본 결과는 Table 5와 같다. 인지질 함량은 연령, 칼슘 섭취수준, 연령과 칼슘 상호작용에 따라 유의적인 차이가 있어($p < 0.05$, $p < 0.001$, $p < 0.001$) 고칼슘을 섭취한 성숙쥐가 다른 군보다 낮은 값을 보였다. 중성지질도 인지질과 비슷한 결과를 보였으며, 총지질함량은 연령 및 연령과 칼슘 상호작용에 따른 유의한 차이가 있어($p < 0.05$, $p < 0.05$) 어린쥐가 성숙쥐보다 높았다.

칼슘섭취의 증가는 지질의 흡수를 저하시켜 혈중 지질을 포함한 체내 지질함량을 낮춘다는 여러 연구^{19,28)}를 살펴볼 때 조직의 지질함량도 저하될 것

로 추측되지만, 간장은 지질의 합성과 분해를 포함한 지질대사에 중요한 기관인 점을 고려할 때 본 연구에서는 설명할 수 없는 대사적인 변화로 지질의 종류에 따라 서로 다른 결과를 보인 것으로 사료된다. 쥐에 있어 칼슘섭취 증가가 혈중 지질을 감소시킨다고 보고했던 Yacowitz 등²⁸⁾은 칼슘 섭취량 증가는 간장의 중성지질은 감소시키지만 총지질과 콜레스테롤 함량에는 유의한 영향을 주지 않았다고 하며, 권과 김¹⁹⁾은 칼슘섭취 증가에 따라 간장의 콜레스테롤과 총지질 함량은 유의한 차이가 없다고 하였다. Dougherty와 Iacono²⁹⁾는 토끼에게 요구량의 2배의 칼슘을 140일 동안 공급했을 때 간장의 콜레스테롤과 중성지질 함량이 대조군보다 유의하게 감소하였다고 하며, 실험설계가 같은 Iacono³⁰⁾의 연구에서는 간장의 중성지질은 유의한 차이가 없었으나 인지질 함량이 고칼슘군에서 유의하게 감소하였다고 하여 칼슘에 의한 간장의 지질함량 변화는 지질의 종류에 따라 다르게 나타남을 보여주었다.

5. 혈청의 효소활성

연령이 다른 흰쥐를 대상으로 식이 칼슘을 요구량의 50, 100, 200% 수준으로 3주간 공급한 후 혈청의 효소활성을 살펴본 결과는 Table 6과 같다. GOT 활성은 연령과 칼슘 섭취수준에 따른 유의적인 차이

Table 5. Lipid levels in liver in young and adult rats fed different calcium levels

(mg / g)

Group ¹⁾	Cholesterol	Phospholipid	Triglyceride	Total lipid
YLCa	4.02 ± 0.11 ^{2)bc3)}	9.12 ± 0.23 ^{ab}	12.38 ± 0.42 ^{cd}	50.66 ± 1.30 ^{ab}
YNCa	3.94 ± 0.14 ^b	8.75 ± 0.40 ^b	12.93 ± 0.40 ^{dc}	53.53 ± 2.26 ^a
YHCa	4.13 ± 0.38 ^{ab}	9.35 ± 0.57 ^{ab}	13.58 ± 0.61 ^b	52.02 ± 2.83 ^{ab}
ALCa	3.94 ± 0.08 ^b	9.60 ± 0.39 ^a	15.10 ± 0.19 ^a	52.10 ± 1.74 ^{ab}
ANCa	4.46 ± 0.32 ^a	9.65 ± 0.38 ^a	13.41 ± 0.62 ^b	48.87 ± 1.55 ^b
AHCa	3.91 ± 0.14 ^b	6.76 ± 0.21 ^c	11.85 ± 0.29 ^d	48.45 ± 1.27 ^b
Age	N.S.	$p < 0.05$	$p < 0.05$	$p < 0.05$
Anova Ca	N.S.	$p < 0.001$	$p < 0.01$	N.S.
Age × Ca	$p < 0.05$	$p < 0.001$	$p < 0.001$	$p < 0.05$

¹⁾ In the abbreviated names, Y, A, L, N and H, indicate young, adult, low, normal and high calcium level, respectively

²⁾ Mean ± standard deviation

³⁾ Means with different letters(a, b, c, d) within a column are significantly different from each other at $\alpha = 0.05$ as determined by Duncan's multiple range test ($a > b > c > d$)

⁴⁾ No significance

Table 6. Enzyme activity in serum in young and adult rats fed different calcium levels (IU /l)

Group ¹⁾	GOT	CPK	LDH
YLCa	13.18±2.00 ^{2)c3)}	62.70± 9.53 ^c	166.45± 40.41 ^c
YNCa	10.55±1.16 ^c	38.88± 9.91 ^c	150.33± 36.62 ^c
YHCa	13.95±0.90 ^c	46.40± 6.44 ^c	212.63± 39.25 ^c
ALCa	29.83±9.27 ^a	88.25±15.38 ^b	609.75± 23.20 ^a
ANCa	21.18±1.74 ^b	94.68±17.44 ^b	435.88±103.70 ^b
AHCa	20.68±3.57 ^b	124.85±29.18 ^a	401.98±131.14 ^b
Age	p<0.001	p<0.001	p<0.001
Anova Ca	p<0.05	N.S.	p<0.05
Age×Ca	N.S.	p<0.05	p<0.05

¹⁾ In the abbreviated names, Y, A, L, N and H, indicate young, adult, low, normal and high calcium level, respectively

²⁾ Mean±standard deviation

³⁾ Means with different letters(a, b, c) within a column are significantly different from each other at $\alpha=0.05$ as determined by Duncan's multiple range test ($a>b>c$)

⁴⁾ No significance

가 있어($p<0.001$, $p<0.05$) 성숙쥐가 어린쥐보다 높았으며, 성숙쥐의 경우 저칼슘군이 적정 및 고칼슘군보다 높게 나타났다. CPK 활성은 연령 및 연령과 칼슘 상호작용에 따른 유의적인 차이가 있어($p<0.001$, $p<0.05$) 성숙쥐가 어린쥐보다 높았으며, 성숙쥐의 경우 고칼슘군이 적정 및 저칼슘군보다 높게 나타났다. LDH활성은 연령, 칼슘 섭취수준 및 연령과 칼슘 상호작용별 유의한 차이가 있어($p<0.001$, $p<0.05$, $p<0.05$) 성숙쥐가 어린쥐보다 높았으며, 성숙쥐의 경우 저칼슘군이 적정 및 고칼슘군보다 높은 것으로 나타났다.

GOT, CPK 및 LDH는 급성 조직손상시 혈액내에서 변화하는 혈청 효소중 조직계의 손상을 진단하는데 의의있는 지표로 이용되고 있다³¹⁾. 특히 CPK는 creatine에서 creatine phosphate의 합성을 가역적으로 촉매하는 효소로 임상학에서 진행성 근위축증과 급성 심근경색증환자의 경우 이 효소 활성이 현저히 증가하는 것으로 알려져 있다³²⁾. 식이 칼슘이 혈압, 혈청 지질수준과 관련이 있기 때문에 순환기계 질환과의 예방효과에 대한 연구가 일부 이루어지고 있지만 정확한 결론을 얻을 수 없는 실정이다. 이에 대한 연구로 Koide 등³³⁾은 14일 동안 칼슘수준을 달리하여 병아리를 사육했을 때 칼슘부족군이 정상군에 비해 혈압과 심장무게가 유의하게 높았고 심

근과 혈관세포의 LDH 수준은 높고 CPK 농도는 낮아, 칼슘부족에 노출되었을 때 혈관질환이 초래될 수 있다고 보고하였다. 본 연구에서 혈청 효소활성에 미치는 칼슘섭취수준의 영향은 성인쥐에서 나타났다. 저칼슘군의 GOT와 LDH 활성은 적정칼슘군보다 높아 Koide 등³³⁾의 연구와 일치하였다. 그러나 저칼슘군의 혈청 CPK 활성은 적정군과 유의적인 차이가 없고 오히려 고칼슘군이 적정칼슘군보다 유의하게 높아 바람직하지 않은 것으로 나타났다. Antonius 등³⁴⁾은 철분이 과잉 축적된 쥐의 심장에서 LDH, CPK 활성이 유의하게 증가하여 심장 순환기계 질환을 초래할 수 있다고 하였으나 칼슘에 대한 보고는 없어 앞으로 이에 대한 연구가 요구된다.

IV. 요약 및 결론

본 연구에서는 심장 순환기계 질환의 예방적인 차원에서 식이칼슘의 중요성을 제시해보고자 연령이 다른 흰쥐를 대상으로 요구량의 50, 100, 200% 수준의 식이 칼슘을 3주간 공급한 후 혈액과 조직 중의 칼슘과 지질함량 및 효소활성을 측정하여 비교분석하였으며 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 체중증가량과 식이효율은 연령에 따른 유의적인 차이가 있어($p<0.001$, $p<0.001$) 어린쥐가

성숙쥐보다 체중증가량이 높았고 식이효율도 좋은 것으로 나타났다.

2. 혈청 칼슘농도는 칼슘 섭취수준 및 연령과 칼슘 상호작용에 따른 유의한 차이가 있어($p < 0.001$, $p < 0.01$) 어린쥐가 성숙쥐보다 높았으며, 어린쥐에 있어서는 칼슘섭취수준이 증가할수록 혈청칼슘농도가 높았다. 간장의 칼슘함량은 연령에 따른 유의적인 차이가 있어($p < 0.05$) 성숙쥐가 어린쥐보다 높았으며, 경골의 칼슘함량은 연령과 칼슘의 섭취수준에 따른 유의적인 차이가 없었다.
3. 혈청 콜레스테롤과 중성지질 함량은 연령과 칼슘섭취수준에 따른 유의한 차이가 있어($p < 0.001$, $p < 0.001$) 어린쥐가 성숙쥐보다 높았으며 칼슘섭취수준이 증가할수록 낮았다. 혈청 HDL-콜레스테롤 함량은 연령, 칼슘 섭취수준, 연령과 칼슘 상호작용에 따른 유의적인 차이가 있어($p < 0.001$, $p < 0.001$, $p < 0.001$) 성숙쥐가 어린쥐보다 높았으며, 어린쥐는 저칼슘군이 적정 및 고칼슘군보다 낮았으나 성숙쥐는 고칼슘군이 적정 및 저칼슘군보다 낮아 연령에 따라 칼슘섭취수준의 영향이 서로 다른 것으로 나타났다.
4. 간장 지질함량의 경우 인지질은 연령, 칼슘 섭취수준, 연령과 칼슘 상호작용에 따라 유의적인 차이가 있어($p < 0.05$, $p < 0.001$, $p < 0.001$) 고칼슘을 섭취한 성숙쥐가 다른 군보다 낮았다. 중성지질도 인지질과 비슷한 결과를 보였으며, 총지질 함량은 연령 및 연령과 칼슘 상호작용에 따른 유의한 차이가 있어($p < 0.05$, $p < 0.05$) 어린쥐가 성숙쥐보다 높았다.
5. 혈청 GOT 활성은 연령과 칼슘 섭취수준에 따른 유의적인 차이가 있어($p < 0.001$, $p < 0.05$) 성숙쥐가 어린쥐보다 높았으며, 성숙쥐의 경우 저칼슘군이 적정 및 고칼슘군보다 높았다. CPK 활성은 연령 및 연령과 칼슘 상호작용에 따른 유의적인 차이가 있어($p < 0.001$, $p < 0.05$) 성숙쥐가 어린쥐보다 높았고, 성숙쥐의 경우 고칼슘군이 적정 및 저칼슘군보다 높게 나타났다. LDH 활성은 연령, 칼슘 섭취수준 및

연령과 칼슘 상호작용별 유의한 차이가 있어($p < 0.001$, $p < 0.05$, $p < 0.05$) 성숙쥐가 어린쥐보다 높았으며, 성숙쥐의 경우 저칼슘군이 적정 및 고칼슘군보다 높은 것으로 나타났다.

이상의 결과를 종합할 때 식이칼슘이 증가할수록 체내 지질수준은 감소하는 경향을 보였고 효소활성은 저칼슘군과 고칼슘군이 적정칼슘군보다 높게 나타남으로써 적정칼슘의 섭취가 체내 지질이나 효소활성면에서 바람직한 것으로 보이며, 앞으로 보다 다양한 심장순환기계질환 지표를 관찰하는 연구가 이루어져야 할 것이다.

V. 참고문헌

1. 경제기획원 조사통계국: 1995년 사망원인 통계연보, 1995.
2. Keys, A.: Coronary heart disease in seven countries, *Circulation*, 41: 1-211, 1970.
3. Hopkins, P. N. and Williams, R. R.: A survey of 246 suggested coronary risk factors, *Atherosclerosis*, 40: 1-52, 1981.
4. Böttiger, L. E. and Carlson, L. A.: Risk factors for ischaemic vascular death for men in the Stockholm prospective study, *Atherosclerosis*, 36: 389-408, 1980.
5. Tunstall-Pedoe, H. and Smith, W. C. S.: Cholesterol as a risk factor for coronary heart disease, *Brit. Med. Bulletin*, 46: 1075-1087, 1990.
6. Perry, H. M.: Minerals in cardiovascular disease, *Am. J. Dietet. Assoc.*, 62: 631-637, 1973.
7. Day, G. M., Chance, G. W., Radde, I. C., Reilly, B. J., Park, E. and Sheepes, J.: Growth and mineral metabolism in very low birth weight infants. II. Effects of calcium supplementation on growth and divalent cations, *Pediatr. Res.*, 9: 568-575, 1975.
8. Ackley, S., Barrett-Conner, E. and Saurez, L.: Dairy product's calcium and blood press-

- ure, *Am. J. Clin. Nutr.*, 38: 457-461, 1983.
9. Yacowitz, H.: Effects of dietary calcium on lipid metabolism in man, *Fed. Proc.*, 21: 258, 1962.
 10. Schroeder, H. A.: Relation between mortality from cardiovascular disease and treated water supplies, *J. Am. Med. Assoc.*, 172 (17): 1902-1908, 1960.
 11. Knox, E. G.: Ischemic heart disease mortality and dietary intake of calcium, *Lancet*, 30: 1465-1467, 1973.
 12. Carlson, L. A., Olsson, A. G., Or, L. and Rossner, A.: Effect of oral calcium upon serum cholesterol and triglycerides in patients with hyperlipidemia, *Atherosclerosis*, 14: 391-400, 1971.
 13. Drenick, E. J.: The influence of ingestion of calcium and other soap forming substances on fecal fat, *Gastroenterology*, 41: 242-244, 1961.
 14. 보건복지부: '95 국민영양조사 결과보고서, 남형문화사, 서울, 1997.
 15. NRC Food and Nutrition Board: Nutrient requirements of the laboratory rat, pp. 7-27, *Nat. Aca. Sci.*, Washington D. C., 1978.
 16. American Institute of Nutrition: Report of the American institute of nutrition ad hoc committee on standards for nutritional studies, *J. Nutr.*, 107: 1340-1348, 1978.
 17. 김충련: SAS라는 통계상자-통계분석 및 시장조사기법을 중심으로, pp. 247-352, 테이더리서치, 서울, 1993.
 18. Hämmäläinen, M. M.: Bone repair in calcium-deficient rats: comparison of xylitol+calcium carbonate, calcium lactate and calcium citrate on the repletion of calcium, *J. Nutr.*, 124: 874-881, 1994.
 19. 권오란, 김미경: 식이내 Ca 수준과 지방 종류를 달리했을 때 흰쥐의 체내 지방대사에 미치는 영향, *한국영양학회지*, 21(5): 324-332, 1988.
 20. 이종호, 문수재, 허갑범: Phytate와 저 Ca 섭취가 흰쥐의 성장 기간 동안 Ca, P, Zn 대사에 미치는 영향, *한국영양학회지*, 26(2): 145-155, 1993.
 21. Barger-Lux, M. J., Heaney, R. P. and Stegman, M. R.: Effects of moderate caffeine intake on the calcium economy of premenopausal women, *Am. J. Clin. Nutr.*, 52: 722-725, 1990.
 22. 이정아, 장영애, 김화영: 나이가 다른 단계에서 식이단백질 수준이 흰쥐의 Ca 대사에 미치는 영향, *한국영양학회지*, 25(7): 569-577, 1992.
 23. Norris, L. C., Kratzer, F. H., Lin, H. J., Hellewell, A. B. and Beljan, J. R.: Effect of quantity of dietary calcium on maintenance of bone integrity in nature white leghorn male chickens, *J. Nutr.*, 102: 1085-1092, 1972.
 24. Thornton, P. A.: Hypocalcemic development in high and low calcium-adapted chicks during acute calcium deficiency, *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 46: 87-95, 1976.
 25. Nordin, B. E. C.: Calcium and human biology, Springer-Verlag, Heidelberg, 1988.
 26. Washko, P. W. and Cousins, R. J.: Role of dietary calcium and calcium binding protein in cadmium toxicity in rats, *J. Nutr.*, 107: 920-928, 1977.
 27. Six, K. M. and Goyer, R. A.: Experimental enhancement of lead toxicity by low dietary calcium, *J. Lab. Clin. Med.*, 76(6): 933-942, 1970.
 28. Yacowitz, H., Fleischman, A. I., Amsden, R. T. and Bierenbaum, M. L.: Effects of dietary calcium upon lipid metabolism in rats fed saturated or unsaturated fat, *J. Nutr.*, 92: 389-392, 1967.
 29. Dougherty, R. M. and Iacono, J. M.: Effects of dietary calcium on blood and tissue lipids, tissue phospholipids, calcium and magnesium levels in rabbits fed diet containing

- beef tallow, *J. Nutr.*, 109: 1934-1945, 1979.
30. Iacono, J. M.: Effect of varying dietary level of calcium on plasma and tissue lipids of rabbits, *J. Nutr.*, 104: 1165-1171, 1974.
31. Eshchar, J. and Zimmerman, H. J.: Creatine phosphokinase in disease, *Am. J. Med. Sci.*, 272, 1967.
32. Okinaka, S., Kumagai, H., Ebashi, S., Sugita, H., Momoi, H., Toyokura, Y. and Fujie, Y.: Serum creatine phosphokinase: activity in progressive muscular dystrophy and neuromuscular disease, *Arch. Neurol.*, 4: 520, 1961.
33. Koide, M., Harayama, H., Loi, A., Obata, K., Matsuda, N., Ono, T., Yokota, M. and Tuan, R. S.: Major risk factors for atherosclerosis are manifested in experimental Ca-deficient, *Hypertens Res.*, 19(1): S35-S40, 1996.
34. Antonius, M. M., Nostent, K. J., Van Ejik, H. G. and Koster, J. F.: Iron load increases the susceptibility of rat hearts to oxygen reperfusion damage, *Circulation*, 78: 332-449, 1988.