

성숙한 쥐의 대퇴골과 요추의 조성과 골격관련 인자에 대한 난소절제와 칼슘섭취 효과*

이 연 숙[§] · 김 은 미^{**}

서울대학교 생활과학대학 식품영양학과, 김포대학 호텔조리과^{**}

Effect of Ovariectomy and Calcium Intake on Femur and Lumbar Compositions and Bone Related Factors in Adult Rats*

Lee, Yeon Sook[§] · Kim, Eun Mi^{**}

Department of Food and Nutrition, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea
Department of Hotel Culinary Arts, Kimpo College, Kimpo 415-870, Korea

ABSTRACT

This study explored the effect of calcium levels and/or ovariectomy on bone composition and its related factors using the female Sprague-Dawley rats which achieved peak bone mass in normal(0.5%) calcium intake during growth period. The rats were randomly divided into six groups and fed 0.1%, 0.5% and 1.5% calcium diets for 8 weeks after ovariectomized and sham operation. The results indicated that body weight gain was higher in ovariectomized groups than sham groups, regardless of dietary calcium levels and food intakes. Serum Ca and P concentrations were normal level regardless of dietary calcium levels and operation. Estrogen concentration was decreased in ovariectomized rat groups. Serum alkaline phosphatase activity and urinary hydroxyproline were increased in ovariectomized groups. When rats were fed normal Ca diet during growing period, weight, length and breaking force of femur were not significantly different in all groups but increased the same level. Generally, lipid contents in lumbar and femur were lower in low calcium groups and this effect was more pronounced in femur. In case of femur, the significant decrease in Ca contents of bone was observed in a relatively short period of feeding low Ca diet, even though it appeared the desirable peak bone mass had achieved through the growing period by supplementing the adequate amount of calcium. The marked decrease of estrogen levels after ovariectomy did not seem to influence greatly bone parameters measured except bone wet weight. Therefore, this study indicated that lower intake of Ca might be more important determining factor against osteoporosis than postmenopausal state stimulated by ovariectomy in female rats. With normal or high intake of Ca it appears possible to prevent bone loss in postmenopausal period, and this might apply only in case of achieving peak bone mass in the growing with the adequate intake of calcium. (*Korean J Nutrition* 34(5) : 532~540, 2001)

KEY WORDS: calcium, ovariectomy, femur, lumbar, peak bone mass.

서 론

최근 경제성장과 식생활의 변화로 한국 여성의 평균 수명이 75세 이상으로 연장되어 폐경후 여성의 비율이 전체 여성의 20%나 차지하게 되었으며, 폐경후 여성에서 골다공증의 유병율은 약 30%나 된다. 이는 노령화에 따라 골격형성

에 비해 골격흡수가 급속히 증가되어 골격손실이 가속화되기 때문이다. 즉 폐경 이후 여성호르몬의 분비 감소가 주요인으로 작용하기 때문인 것으로 보고되고 있다.¹⁾ 특히 폐경 후 골다공증은 주로 골격의 20%를 차지하는 해면골(trabecular bone)의 골밀도 손실이 나타나는데, 해면골 조직이 피질골(cortical bone) 조직보다 estrogen 부족이나 estrogen 반응에 더 민감하기 때문이다.¹⁻⁴⁾

이전의 많은 연구⁵⁻⁷⁾에서 폐경되기 전 10~15년 이상을 폐경 후 골격손실을 예방하는데 중요하다고 인식하였고, 골다공증과 관련지어 노화에 따른 골격 손실량에 영향을 미치는 칼슘 섭취량, 노칼슘 배설량, 내분비호르몬 및 관련인자들을 중심으로 보고되어 왔다. 즉 골격형성에 있어서 칼슘

접수일 : 2001년 2월 15일

채택일 : 2001년 7월 5일

*This research was supported in part by 2001 publication grant of Research Institute of Human Ecology, Seoul National University.

[§]To whom correspondence should be addressed.

섭취에 의한 골격대사 조절은 생후 10년 동안 아주 효율적이지만 노화가 되면 점차 약화된다. 그리고 폐경 후 몇 년 내에 노칼슘 배설량은 증가하지만 소장의 칼슘 흡수는 배설된 양만큼 효율적으로 증가되지 않는다. 칼슘 섭취가 감소되면 파골세포의 골격흡수는 조골세포에 의한 골격형성보다 더 크게 일어난다. 한편 이는 혈액 내 부갑상선 호르몬의 농도 증가 때문이다. 즉, 이 호르몬은 interleukin-6와 여러 가지 cytokines을 형성하여 파골세포의 골격흡수를 촉진시킨다.³⁾ 그러나 최근 들어 골다공증의 예방차원에서 노년기의 보유골질량에 관심을 갖게되었으며, 이는 성장기로부터 형성되는 최대골질량과 상관관계가 크며, 최대골질량의 형성에 가장 중요한 영향 인자로 충분한 칼슘 섭취를 들고 있다.^{8,9)}

본인들의 선행연구¹⁰⁾에서 성장기 동안 0.1%의 저칼슘 섭취로 인하여 최대골질량이 낮은 경우 난소절제 이후의 칼슘 보충이 뼈의 성장이나 무기질 함량을 증가시켰지만 칼슘 섭취량에 따른 뚜렷한 영향은 볼 수 없었으며, 난소절제로 인한 estrogen부족은 대퇴골 보다 요추에 더 영향을 미침을 알 수 있었다. 또한 성장기 동안 부적당한 칼슘의 섭취는 유전적으로 프로그래밍된 골질량에 도달하지 못하게 되고, 섭취한 칼슘이 신체에서 손실되는 양을 보충하지 못할 때 성숙 후 골격손실을 일으킨다.²⁾

따라서 본 연구에서는 성장기 동안 충분한 칼슘 섭취를 통해 최대골질량을 확보한 경우, 그 이후 폐경에 의한 에스트로겐 부족과 칼슘 섭취 수준(0.1%, 0.5%, 1.5%)에 따라 골격 조성과 골격대사 관련인자들이 어떻게 영향을 받는지를 보다 체계적으로 검토하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물 및 식이

갓이유한 3주령의 암컷 흰쥐 60마리에게 성장기 8주 동안 정상칼슘(0.5%)식이를 급여한 후 2군으로 나누어 sodium pentobarbital(30~50mg/kg BW)로 마취한 후 한 군은 양쪽 난소를 절제하는 수술(ovariectomized group; OVX군)을 받았고, 나머지 한 군은 동일한 수술 절차를 받았으나 난소를 절제하지 않았다(sham-operated group; SHAM군). 이들을 각각 다시 3군으로 나누어 10마리로 임의배치 한 다음 각각 칼슘함량을 달리한 저(0.1%), 정상(0.5%), 고(1.5%)칼슘 식이를 8주간 더 급여하였다(Table 1). 즉 실험군은 ① OVX-High Ca(OH) ② OVX-Normal Ca(ON) ③ OVX-Low Ca(OL) ④ SHAM-High Ca(SH) ⑤ SHAM-Normal Ca(SN) ⑥ SHAM-Low Ca(SL)으

Table 1. Composition of experimental diet

Ingredient	Low	Normal	High
Casein	200	200	200
Methionine	3	3	3
Corn starch	581.06	574.9	541.94
Cellulose	50	50	50
Corn oil	100	100	100
Min. premix. ¹⁾	35	35	35
Vit.mix. ²⁾	10	10	10
Choline chloride	2	2	2
CaHPO ₄ ·2H ₂ O	1.72	12.02	37.74
CaCO ₃	1	5	15
KH ₂ PO ₄	16.22	8.08	5.32

1) AIN-76(Ca & P free), 2) AIN-76

로 나누었다.

실험동물들은 Shoe-Box cage에서 분리 사육하였으며 사육실의 환경은 일정하게 유지하였다(온도 : 22±2℃, 상대습도 : 65±5%, 조명 : AM 6 : 00~PM 6 : 00). 실험식이와 탈이온수는 완전 자유급식(ad libitum)형태로 공급하였으며, 대사 cage와 사육에 필요한 모든 기구는 무기질의 오염을 방지하기 위해 0.4% EDTA로 씻은 후 증류수로 헹구어 사용하였다. 실험기간 동안의 식이 섭취량과 체중은 1주일에 2번 일정시간에 측정하였다.

실험에 사용된 식이조성은 흰쥐성장에 필요한 영양소를 모두 포함한 정제식이(semi-purified diet)로 AIN-76 pattern에 준하였으며, Ca : P의 비율은 1.25 : 1로 조정하였다.

2. 시료수집 및 분석방법

1) 시료수집

정상칼슘 식이를 8주간 섭취한 후 난소절제 또는 sham 수술과 함께 실험식이를 8주간 공급함으로써 총 실험기간 16주에 쥐를 희생하여 시료를 수집하였다. 실험동물은 식이 섭취 조건을 일정하게 하기 위하여 희생시키기 전 하룻밤 절식시킨 후, ethyl ether로 마취한 후 경동맥혈을 채취하였다. 채취한 혈액은 냉장고(4℃)에서 하룻밤 동안 방치한 후 3000rpm에서 20분간 원심분리(Sorvall, GLC-2B)하여 혈청을 얻었으며 분석 전까지 냉동보관 하였다.

혈액 채취 후 즉시 대퇴골 및 요추(L1-L4)를 각각 적출하였다. 대퇴골과 요추는 뼈조직에 부착되어 있던 근육, 지방, 인대 등을 전부 제거하였고, 요추의 경우는 척수도 제거하였다. 습중량을 측정하고, 길이는 vernier caliper에 의해 대전자(greater trochanter)와 내측과(medial condyle)사이를 측정하였으며, 뼈의 파단력(breaking force)을 측정 한 후 냉동건조(Freeze-Dryer 18, Labconco)하

여 건중량을 측정 한 다음 모든 시료는 분석 전 까지 냉동 보관하였다. 칼슘, 인, 마그네슘, 총지질과 총단백질의 함량은 양쪽 뼈의 평균값으로 계산하였다.

2) 시료분석

혈액의 칼슘은 혈청에 TCA(trichloroacetic acid)의 최종 농도가 5%가 되도록 용액을 넣어 단백질을 제거한 후 LaCl₂의 최종 농도가 1%가 되도록 희석하여 원자흡광광도계(Atomic absorption spectrometer: Hitachi Z-6000, 422.7nm)로 측정하였다. 인의 함량은 1% LaCl₂ 대신 이온제거수로 희석하여 Fisk-Subbarow Method¹¹⁾(Spectrophotometer: Shimadzu UV-200s)로 정량하였다.

혈액중의 estrogen 함량은 RSL total estrogen kit(ICN Biomedicals, Inc.)에 의해 unconjugated 17β- estradiol과 estrone의 농도를 측정하였다. 뼈형성(bone formation)과 관련이 깊은 것으로 알려져 있는 alkaline phosphatase (Alpase)활성은 Kind King의 비색법을 이용한 Kit(영동 제약주식회사)를 사용하여 측정하였다.

노의 hydroxyproline함량은 Bergman과 Loxley의 방법¹²⁾(spectrophotometer: 559nm)으로 비색정량 하였다.

대퇴골과 요추는 550~600℃회화로에서 6~8시간 회화하여 얻은 회분을 HCl(1N)용액으로 용해한 후 LaCl₂의 최종 농도가 1%가 되도록 희석하여 원자흡광광도계로 칼슘 함량을 측정하였다. 총단백질의 함량은 Micro-kjeldahl 방법으로 자동질소분석기(Nitrogen Autoanalyzer, Bchi,

Swiss)를 이용하여 측정하였으며, 총지질 함량은 Folch¹³⁾의 방법으로 측정하였다.

대퇴골의 파단력(breaking force)은 Instron(Tensilon/UTM-4-100, TOYO BALDWIN Co.LTD: Crosshead speed 10mm/min, Loadcell 100Kg)에 의해 길이의 중심 부위에서 일정하게 측정하였다.

3) 통계분석

모든 자료의 통계처리는 SPSS 7.5에 의하여 분석하였으며, 실험결과는 평균과 표준오차로 나타내었다. 각 군들간의 유의적 차이(α = 0.05)에 대한 검증, 수술 후 칼슘섭취에 따른 효과의 검증과 수술전 섭취한 식이에 의한 효과는 Turkey's multiple comparison test를 실시하였다.

난소절제 유무와 칼슘섭취 수준에 따른 영향을 보기위해 ANOVA(analysis of variance)를 사용하여 유의성 여부를 검증하였다.

칼슘 섭취량, estrogen농도, 골격대사와 대퇴골과 요추의 뼈조직 형태, 뼈의 성장, 무기질 및 유기질 함량과의 상관관계는 Pearson correlation coefficient를 이용하여 분석하였다.

결과 및 고찰

1. 체중증가량과 식이섭취량

성장기 8주 동안 정상수준의 칼슘을 함유한 실험식을

Table 2. Body weight gain, food intake and food efficiency ratio

Group ¹⁾	Final weight(g)	Weight gain(g/d)	Food intake(g/d)	FER
Sham				
High	283.6 ± 6.9 ^{2)NS3)}	0.93 ± 0.11 ^{NS}	15.75 ± 0.59 ^{NS}	0.06 ± 0.01 ^{NS}
Normal	270.7 ± 6.0	0.70 ± 0.07	15.82 ± 0.49	0.05 ± 0.01
Low	278.0 ± 11.0	0.74 ± 0.19	16.74 ± 1.04	0.06 ± 0.02
OVX				
High	308.0 ± 12.4	1.42 ± 0.19	16.46 ± 0.52	0.09 ± 0.01
Normal	301.3 ± 14.9	1.34 ± 0.24	16.07 ± 0.45	0.08 ± 0.01
Low	312.4 ± 12.9	1.48 ± 0.16	17.60 ± 0.41	0.06 ± 0.01
Op ⁴⁾	**	**	NS	NS
Ca	NS	NS	*	**
Op * Ca	NS	NS	NS	NS

1) Sham: Sham operation , OVX: ovariectomy
 High: 1.5% Ca diet for 8weeks after ovariectomy or sham operation
 Normal: 0.5% Ca diet for 8weeks after ovariectomy or sham operation
 Low: 0.1% Ca diet for 8weeks after ovariectomy or sham operation

2) Mean ± SEM

3) NS: not significant

4) Statistical significance was evaluated at the α = 0.05 level by 2-way analysis of variance

*: p < 0.05, **: p < 0.01, NS: not significant)

Op: Main effect of after ovariectomy

Ca: Main effect of dietary Ca level after ovariectomy

Op*Ca: Interaction between ovariectomy and Ca level

섭취한 후 난소절제를 하지 않은 군(Sham)과 난소 절제를 한 군(OVX)에게 칼슘 섭취 수준이 다른 3종의 실험식이를 8주간 섭취한 흰쥐의 체중 변화는 Table 2와 같다. 난소절제를 실시한 8주 후 난소절제군이 sham군보다 최종체중 및 체중증가량이 유의적으로 증가하였다. 이는 많은 연구에서 보고한 대로¹⁴⁻¹⁶⁾ 난소절제로 인한 체중증가 현상이라고 본다.

식이섭취량 및 식이효율(Table 2)은 난소절제 유무와 관계 없었으며, 식이섭취량의 경우는 저칼슘을 섭취한 군이 다른 군보다 다소 증가의 경향을 보였다.

따라서 체중의 증가는 식이의 요인 보다 난소절제에 따른 estrogen농도의 감소에 더 민감한 것을 볼 수 있다.

2. 골격대사와 관련인자

1) 혈중 칼슘, 인, Estrogen농도 및 alkaline phosphatase 활성

혈청의 칼슘, 인, estrogen농도 및 alkaline phosphatase함량은 Table 3과 같다.

혈청 칼슘농도는 난소절제의 유무보다 저칼슘 섭취군이 정상이나 고칼슘 섭취군보다 감소하였으나, 모두 정상수준을 나타내어 혈액의 칼슘농도는 칼슘수준이나 난소절제와 관계없이 항상성을 유지하고 있음을 볼 수 있었다.

인의 농도는 모두 정상범위를 나타내었고 난소절제를 하지 않고, 고칼슘을 섭취하는 경우 유의적인 최대값을 보였다. 또한 칼슘 섭취에 따른 변화에서 저칼슘을 섭취하였을 때 칼슘의 농도는 감소하였으나 인의 농도는 차이가 없었다.

이런 결과는 Hämmäläinen¹⁷⁾이 혈청 인의 농도는 칼슘 섭취 수준에 별로 영향을 받지 않았다는 보고와 비슷하였다.

Estrogen의 농도는 난소절제한 군이 sham군보다 1/2정도 낮았고, 칼슘 섭취 수준과 무관하였다. 난소절제를 하지 않은 군(Sham)에서 표준오차가 큰 이유는 본 실험에서 사용한 흰쥐의 발정주기(estrous cycle)가 다르기 때문¹⁸⁾으로 생각된다.

Alkaline phosphatase활성은 난소절제한 군에서 sham군보다 2배이상 유의적으로 높게 나타났으며, sham군에서도 저칼슘 섭취군에서 높게 나타났다. 이것은 Morris등¹⁹⁾이 6개월된 쥐에게 0.7%의 칼슘을 공급하고 수술 후 3, 6, 9주 동안의 변화를 본 결과 난소절제시 Albase활성이 증가하였으며, 이러한 Albase활성 증가는 estrogen결핍으로 인하여 bone turnover가 증가했기 때문이라고 하였다.²⁰⁾

2) 뇨중 Hydroxyproline함량

Table 3에서 보는 바와 같이 골격분해지표로 사용되는 hydroxyproline(OHPr) 함량은 난소절제군이 저칼슘 섭취군을 제외한 sham군 보다 높은 경향을 보였다. 이것은 혈중 Albase활성 변화와 거의 같은 경향을 보인 것으로 Morris등¹⁹⁾의 실험결과와 같은 결과를 보였다. OHPr이 증가된 것은 estrogen결핍으로 인해 bone turnover가 증가되었기 때문으로 생각된다. 또 sham군이라 할지라도 칼슘 섭취 수준이 낮을 경우 난소절제시와 거의 비슷한 값을 보였다.

이상의 혈중 측정치에서는 대체로 난소절제에 따른 에스

Table 3. Serum calcium, phosphate, estrogen concentration, alkaline phosphatase activity and urinary hydroxyproline excretion

Group	Serum				Urine
	Ca(mg/dl)	P(mg/dl)	Estrogen(pg/ml)	Albase(KA unit)	OHPr(µg/d)
Sham					
High	8.53 ± 0.20 ^{1c2)}	5.38 ± 0.28 ^b	150.14 ± 41.24 ^{NS}	1.98 ± 0.20 ^a	64.74 ± 5.69 ^a
Normal	8.02 ± 0.18 ^{bc}	4.34 ± 0.22 ^a	139.40 ± 22.29	2.68 ± 0.17 ^a	65.57 ± 4.19 ^{ab}
Low	7.28 ± 0.08 ^a	4.81 ± 0.11 ^{ab}	119.95 ± 11.86	3.83 ± 0.69 ^{ab}	105.78 ± 9.19 ^b
OVX					
High	8.16 ± 0.15b ^c	4.32 ± 0.10 ^a	78.10 ± 1.66	5.17 ± 0.53 ^{bc}	90.96 ± 9.55 ^{ab}
Normal	8.01 ± 0.16 ^{bc}	4.40 ± 0.12 ^a	71.69 ± 4.34	6.17 ± 0.56 ^c	94.46 ± 5.23 ^{ab}
Low	7.56 ± 0.18 ^{ab}	4.09 ± 0.24 ^a	75.50 ± 10.95	5.17 ± 0.46 ^{bc}	94.11 ± 9.43 ^{ab}
Op ³⁾	NS	**	*	*	*
Ca	*	NS	NS	NS	NS
Op * Ca	NS	NS	NS	NS	NS

1) Mean ± SEM

2) Values within the column with different alphabets are significantly different at p < 0.05 by Turkey's multiple range test(NS: not significant)

3): Statistical significance was evaluated at the α = 0.05 level by 2-way analysis of variance

*: p < 0.05, **: p < 0.01, NS: not significant

Op: Main effect of ovariectomy

Ca: Main effect of dietary Ca level after ovariectomy

Op*Ca: Interaction between ovariectomy and Ca level

트로젠 부족에 의한 유의적인 변화를 나타냈으나 칼슘 섭취 수준에 따라서는 혈청 칼슘 농도를 제외하고는 유의적인 차이를 보이지 않았다.

3. 골격성장과 조성

1) 대퇴골의 중량, 길이 및 파단력

대퇴골의 중량, 길이 및 파단력은 Fig. 1과 같다. 대퇴골의 습중량은 난소절제 유무나 칼슘 섭취 수준에 따라 유의적인 변화가 없었으나, 체중 100g당 습중량은 난소절제시 다소 감소하였고 칼슘 섭취 수준에 따른 영향이 없었다. 이는 난소절제 수술을 받기 전 8주 동안 0.5%의 정상칼슘 식이를 섭취하여 성장기 동안 충분한 골질량이 이루어졌기 때문으로 생각된다.^{21,22)}

길이와 파단력은 난소절제 유무나 칼슘 섭취 수준에 의해

유의적인 차이가 없었으나 성장기와 그 이후에 계속 정상 수준의 칼슘을 섭취한 경우 길이나 파단력이 다른 군보다 다소 증가한 것을 볼 수 있다. 파단력의 경우 이전의 결과^{10,23)}와 달리 저 칼슘 식이에 따라 차이가 없었던 것은 성장기 동안 정상수준의 칼슘을 섭취하여 최대골질량을 확보하였기 때문으로 생각된다.

2) 대퇴골의 회분, 칼슘, 총단백질 및 총지질 함량

대퇴골의 회분, 칼슘, 총단백질 및 총지질 함량은 Fig. 2와 같다. 대퇴골의 회분함량은 난소절제와 관계없이 저칼슘 식이를 섭취한 군이 정상이나 고칼슘을 섭취한 군보다 약간 감소함을 보였다.

칼슘 함량은 저칼슘을 섭취 하였을 때 유의적으로 낮았으며, 난소절제 유무와는 관련이 없었다. 즉, 대퇴골의 회분과

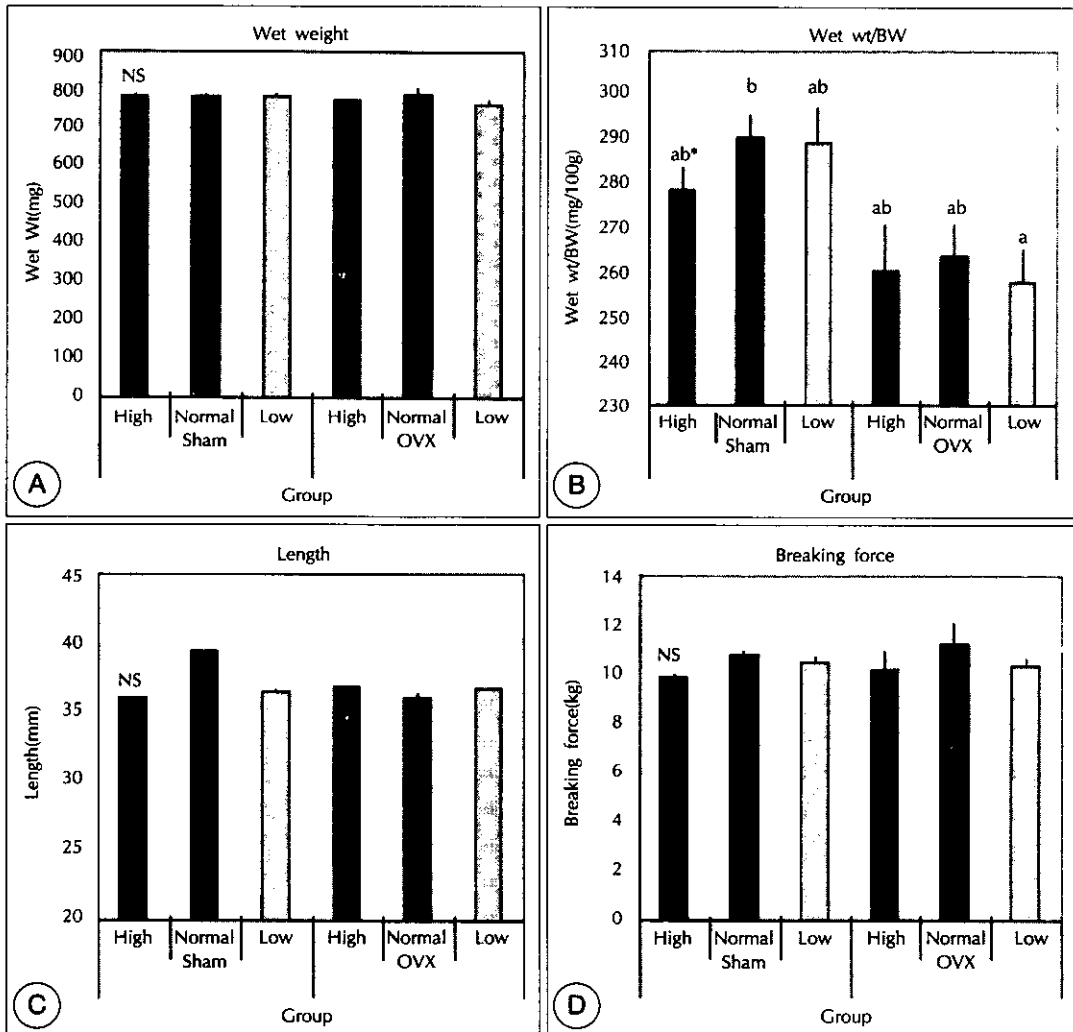


Fig. 1. Wet weight, length and breaking force of femur. *Values with different alphabets are significantly different at $p < 0.05$ by Turkey's multiple range test(NS: not significant). ■ High calcium intake during experimental period, ▨ Normal calcium intake during experimental period □ Low calcium intake during experimental period.

칼슘 함량은 난소절제와 무관하게 칼슘 섭취량에 따라 영향을 받았다. 이는 성장기 동안 최대골질량을 확보하였다 할지라도 폐경후 낮은 칼슘 섭취에 따라 뼈의 무기질 및 칼슘 조성이 낮아짐을 보인 결과이다. 그러나 Arjmandi등²⁴⁾은 표준식으로 적응시킨 후 난소절제 30일 이후에 대퇴골의 칼슘 함량에는 차이가 없었다고 보고 하였으며, Donahue 등²⁵⁾이 10~11개월된 흰쥐에게 0.02%, 1.0%의 칼슘을 주었을 때 1.0%의 칼슘을 준 경우 대퇴골의 칼슘, 회분 함량이 더 증가하였다고 보고하였다. 이와 반대로 Kalu등¹⁵⁾은 7개월된 Wistar rats에게 난소절제 한 후 7개월 동안 정상 식이를 공급하였을 때 난소절제군에서 대퇴골의 칼슘이 감소되어 뼈의 칼슘함량에 칼슘 섭취의 영향보다 난소절제로 인한 estrogen 감소의 영향이 더 크게 작용하였다. Hea-

ney는⁵⁾ estrogen결핍으로 인한 골손실의 증가 기전을 다음과 같이 설명하였다. 여성의 성호르몬은 부갑상선 호르몬에 대한 bone sensitivity의 수준을 조절하여 폐경이 되면 비타민 D대사와 관련된 소장과 신장의 sensitivity에 영향 없이 부갑상선 호르몬에 대한 bone sensitivity를 증가시킨다. 따라서 뼈는 칼슘 항상성에 필요한 칼슘원으로 우선적으로 더 쉽게 이용되지만, 신장과 소장의 칼슘은 덜 이용된다고 하였다. 그러나 Tenathinsp등⁶⁾은 estrogen이 estrogen receptor에 대한 소장의 Ca흡수를 자극한다고 하였다. 또한 Jiang등⁷⁾은 estrogen 대체요법이 난소절제와 저칼슘 섭취로 인한 골격손실을 방지 할 수 있다고 하였다. 이러한 실험 결과를 종합 해 볼 때 난소절제와 칼슘 섭취에 따른 대퇴골의 무기질 함량 차이는 실험기간 또는 실험 동

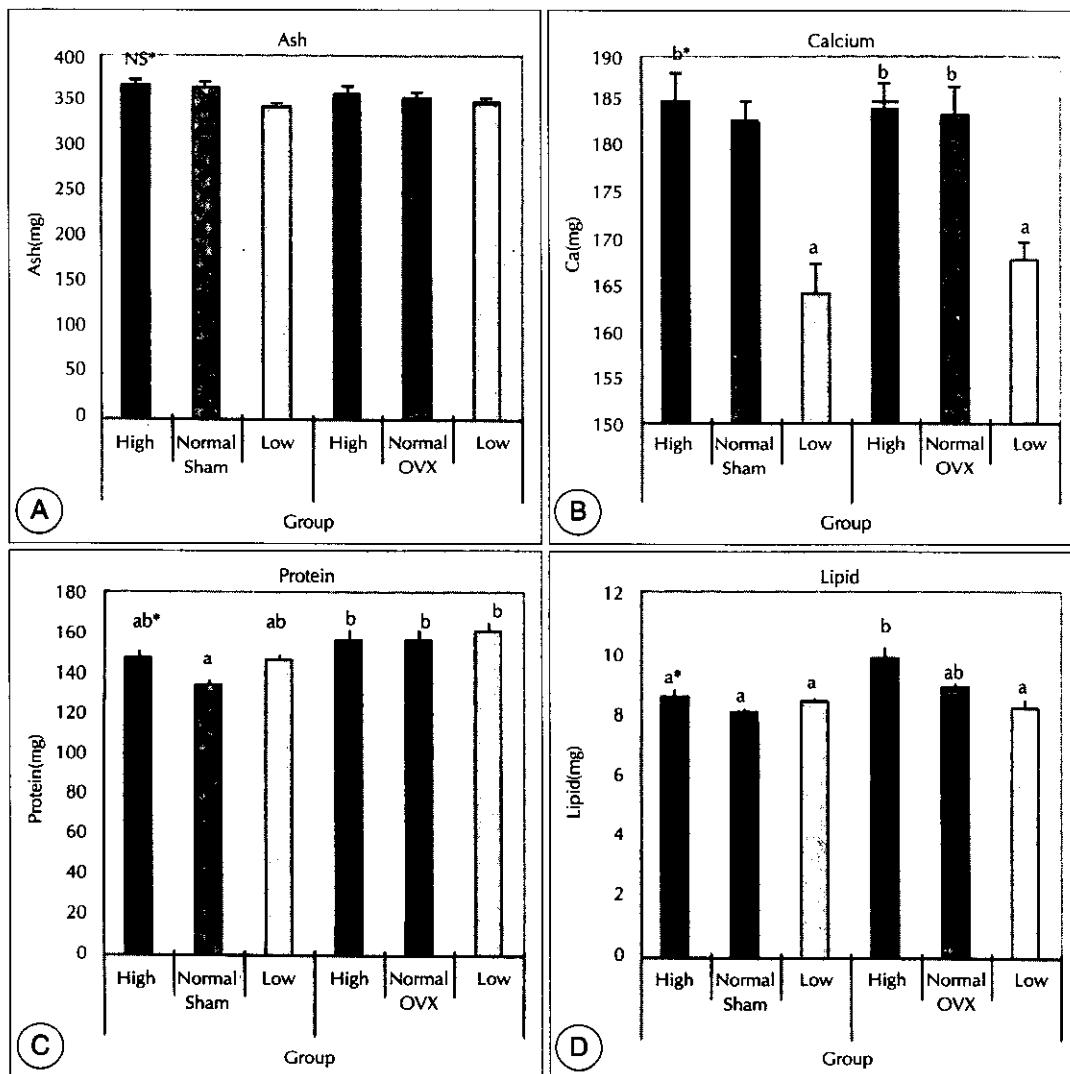


Fig. 2. Ash, calcium, protein and lipid contents of femur. *Values with different alphabets are significantly different at $p < 0.05$ by Turkey's multiple range test (NS: not significant). ■ High calcium intake during experimental period, ▨ Normal calcium intake during experimental period, □ Low calcium intake during experimental period.

물의 종류와 연령의 차이에 기인하는 것으로 생각된다.

총단백질의 함량은 난소절제에 따라 유의적으로 증가함을 보였으며, 칼슘 섭취 수준에는 영향을 받지 않았으나, 총지질의 함량은 난소절제 보다는 칼슘 섭취 수준의 영향을 받는 것으로 나타났다.

이로 보아 estrogen 부족시 골격 단백질 증가현상은 체중 증가와의 관련성을 시사하였으며, 난소절제 및 칼슘 결핍 동물(폐경성 골다공증 모델)에서 뼈 지방함량의 감소현상은 상당히 유의할 만 한 것으로 생각된다.

4) 요추(Lumbar1-4)의 회분, 칼슘, 총단백질 및 총지질 함량

요추의 회분, 칼슘, 총단백질 및 총지질 함량은 Fig. 3과 같다. 요추의 중량은 1158.6mg~1230.7mg으로 난소절제

나 칼슘 섭취 수준에 따른 유의적인 차이를 보이지 않았다.

회분의 함량은 난소절제 군에서 칼슘 섭취 수준에 따른 차이는 보이지 않았으나 sham군에서는 정상수준 이상의 칼슘 섭취가 저칼슘 섭취를 했을 때 보다 유의적으로 회분의 함량이 높았다.

칼슘 함량은 난소절제 유무나 칼슘 섭취 수준에 따라 차이가 없었다. 이것은 Arjmandi등²⁰의 95일 된 쥐에게 난소절제 한 30일 후에 요추의 칼슘 함량에는 변화가 없었다는 결과와 비슷하였다. 난소절제를 하지 않은 경우 저칼슘 섭취시 요추의 칼슘 함량이 다른 군에 비해 다소 감소한 것을 볼 수 있었다. 이로 보아 정상 수준 이상의 칼슘 섭취가 전생애를 통해 중요함을 다시 확인 할 수 있었다.

총단백질 함량은 칼슘 섭취 수준에 따라 유의적인 변화가

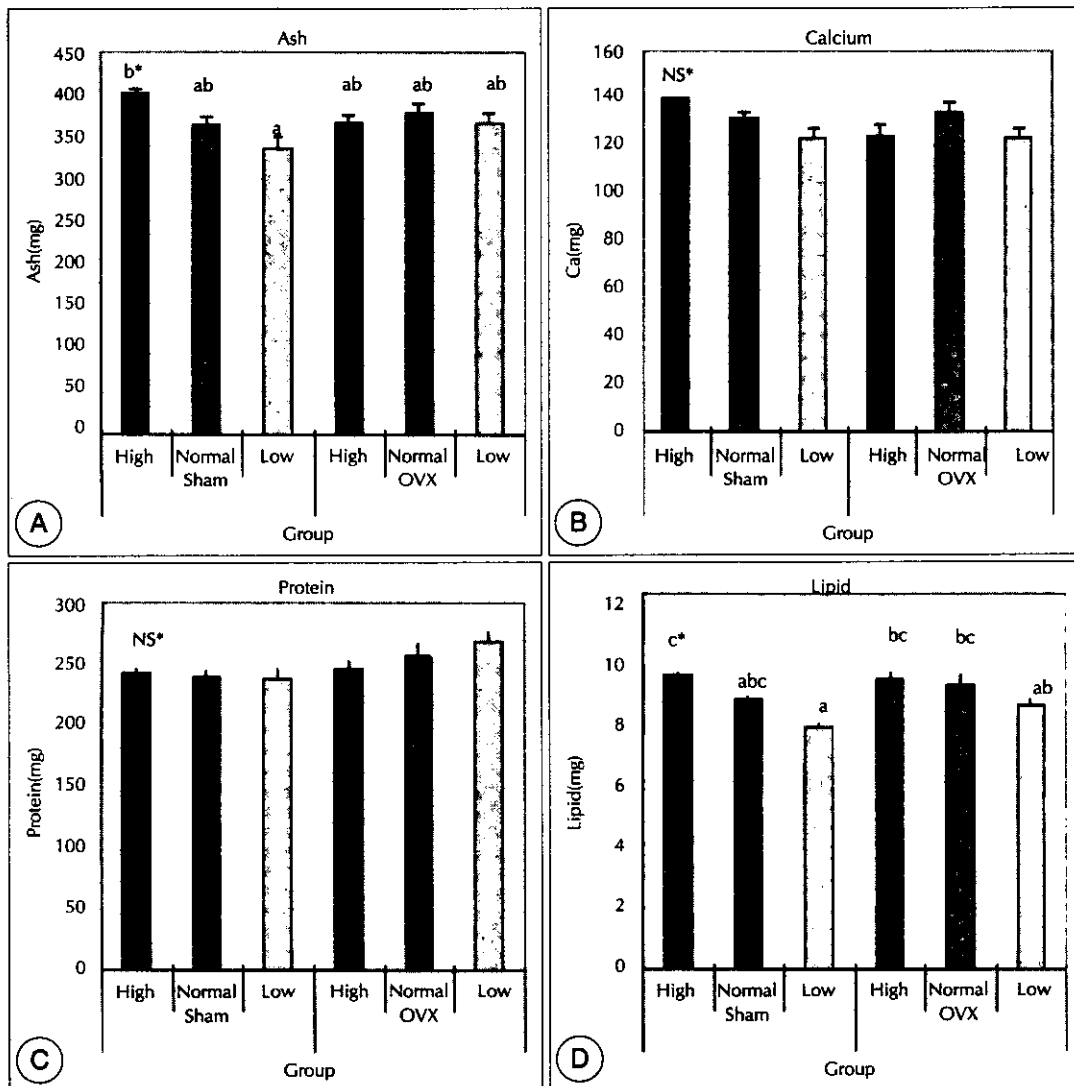


Fig. 3. Ash, calcium, protein and lipid contents of lumbar. *Values with different alphabets are significantly different at $p < 0.05$ by Turkey's multiple range test(NS: not significant). ■ High calcium intake during experimental period, ▨ Normal calcium intake during experimental period, □ Low calcium intake during experimental period.

Table 4. Correlation coefficients between Ca intake, estrogen, alkaline phosphatase, hydroxyproline and weight and bone weight and bone compositions

	Ca intake	Estrogen	Alpase	OHPr	Wet weight
Femur					
Wet weight	0.1801	0.0968	-0.0281	-0.1736	
Ash	0.5045*** ¹⁾	0.1154	-0.1081	-0.0636	0.4882**
Calcium	0.5429***	0.2774	-0.1224	-0.1521	0.3824**
Protein	0.0927	-0.3135	0.2845*	0.1603	0.2180
Lipid	0.3836*	-0.2696	0.1509	0.1617	0.3262*
Length	0.1719	-0.2451	0.0780	0.1572	0.4357**
Breaking force	-0.1246	0.1060	0.1646	-0.0586	0.4611**
Lumbar					
Wet weight	0.0709	-0.0769	0.1961	-0.0567	
Ash	0.3551*	-0.0422	-0.1901	0.0150	0.6255***
Calcium	0.3249*	0.1565	-0.1819	0.0600	0.5352***
Protein	-0.1745	-0.1235	0.2767*	0.0454	0.6941***
Lipid	0.4896**	-0.1967	-0.0527	0.0337	0.5252***

1) *: p < 0.05, **: p < 0.01, ***: p < 0.001

없었으나 난소절제시 증가경향을 보였고, 총지질의 함량은 난소절제 유무와 관련이 없고 저칼슘 섭취군이 유의적으로 감소하였고 고칼슘 섭취에 따라 증가하였다.

4. 골격 대사 관련 인자와 대퇴골, 요주의 조성 및 형태학의 상관관계

칼슘섭취량, estrogen농도, alkaline phosphatase활성, 뇨의 hydroxyproline 함량 및 증량이 대퇴골과 요추의 성분 및 형태적 변화와의 상관관계를 보면 Table 4와 같다.

칼슘 섭취 수준은 대퇴골 및 요추의 회분, 칼슘 및 총지질 성분과 양의 상관관계를 보였으나, 난소절제에 따른 estrogen농도 저하는 뼈의 성분 및 형태적 변화와 유의적인 상관관계가 없었다.

Alpase활성은 총단백질 함량과 양의 상관관계를 보였으나, OHPr 농도는 유의적인 상관관계를 보이지 않았다.

뼈증량은 측정된 대부분의 뼈조성, 길이 및 파단력과 양의 상관관계를 보이므로 골격대사 지표로서 가장 좋은 지표가 됨을 시사하였다. 이와 같이 성장기 동안 정상 수준의 칼슘 섭취로 충분한 골질량이 형성 되었을 경우 대퇴골과 요추에서 난소절제에 따른 estrogen농도저하는 골격량과 조성에 유의적인 영향을 미치지 않았으나, 칼슘 섭취량에 따라서는 골격조성에 유의적인 영향을 미치는 것으로 나타났다.

이런 결과는 성장기 중 최대골질량을 확보한 경우라 할지라도 폐경 후 골다공증 유발 또는 진행에 있어서 칼슘 섭취의 중요성을 시사하는 것으로 일생동안 칼슘 섭취의 중요성을 강조한다.

요약 및 결론

본 연구는 성장기 8주 동안 정상칼슘(0.5%) 섭취로 정상적인 최대골질량을 확보한 암컷 흰쥐에게 난소절제(OVX)과 위장수술(SHAM)을 한 후 각각 고(1.5%), 중(0.5%), 저(0.1%) 3수준의 칼슘을 8주 동안 섭취시켜 대퇴골과 요추의 조성 및 골격 관련인자에 미치는 영향을 조사하였다.

그 결과를 종합해 보면 체중은 난소 절제군에서 증가하였으며, 혈액 중의 칼슘과 인 농도는 난소절제유무나 칼슘 함량의 차이에 관계없이 항상성을 유지하였다. 난소절제시 estrogen농도는 감소하였으며, Alpase활성은 2배이상 유의적으로 높았으나, 뇨 중 OHPr 함량은 높은 경향을 보였다. 성장기 동안 정상적인 칼슘 섭취량으로 최대골질량을 유지할 경우 그 후의 칼슘 섭취 수준에 따라 뼈의 크기나 강도는 거의 영향을 받지 않았다. 그러나 저칼슘 섭취에 따른 골격 조성 및 지질 함량은 유의적으로 저하하였으며, 대퇴골에서 더욱 현저하게 영향을 받았다.

성장기 동안 정상 수준의 칼슘 섭취로 충분한 골질량을 가지고 있어도 난소절제 이후 칼슘 섭취량의 부족은 뼈 무기질 함량을 저하시키며, 난소절제로 인한 estrogen 감소는 골격대사 관련 인자에 유의적인 영향을 미치지만 골격크기나 단백질을 제외한 뼈 조성에는 거의 영향을 미치지 않았다. 이 결과는 정상적인 칼슘 섭취가 성장기의 최대골질량 형성에 중요하게 기여할 뿐 아니라 폐경 이후에도 골질량 유지에 크게 기여함을 보인 것으로 일생동안 충분한 칼슘섭취의 중요성을 시사하였다.

Literature cited

- 1) Yun BG. Menopausal symptom. *J Kor Med Ass* 43(5): 404-411, 2000
- 2) Heaney RP. Calcium, dairy products and osteoporosis. *J Am College Nutr* 19(2): 833-993, 2000
- 3) Mahan LK, Escott-sstamp S. Krause's food nutrition & diet therapy, pp.611-632, WB Sauder Co., 2000
- 4) Heaney RP. The role of nutrition in prevention and management of osteoporosis. *Clin Obste Gynecol* 50: 833-846, 1987
- 5) Heaney RP. A unified concept of osteoporosis. *Am J Med* 39: 877-880, 1965
- 6) Tenathinsp M, Bolscher M, Netelenbos J, Coen R, Barto R, Van Buuren L, Vanathinsp W, Derathinsp W and Vijgh W. Estrogen regulation of intestinal calcium absorption in the intact and ovariectomized adult rat. *J Bone Miner Res* 14(7): 1197-1202, 1999
- 7) Jiang Y, Zhao J, Genant HK, Dequeker J, Geusens P. Long-term changes in bone mineral and biomechanical properties of vertebrae and femur in aging, dietary calcium restricted, and/or estrogen-deprived/-replaced rats. 12(5): 820-831, 1997
- 8) Heaney RP. Nutritional factors in osteoporosis. *Ann Rev Nutr* 13: 287-316, 1993
- 9) Matkovic V and Ilich JZ. Calcium requirements for growth: Are current recommendations adequate?. *Nutr Rev* 51: 171-180, 1993
- 10) Lee YS, Kim EM. Effect of ovariectomy and dietary calcium levels on bone metabolism in rats fed low calcium diet during growing period. *Kor J Nutr* 31(3): 279-288, 1998
- 11) Fisk CH, Y Subbarow. The calorimetric determination of phosphorus. *J Biol Chem* 66: 375, 1925
- 12) Bergman I, Roy Loxley. Two improved and simplified methods for the spectrometric determination of hydroxyproline. *Anal Chem* 35: 1961-1965, 1963
- 13) Folch J, M Lees, GH Sloanestanley. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 220: 497-509, 1957
- 14) Thomas ML, Hope WG, Ibarra J. The relationship between long bone growth rate and duodenal calcium transport in female rats. *J Bone Miner Res* 3: 503-508, 1988
- 15) Kalu DN, Hardin RR, Cockerhan R. Evaluation of the pathogenesis of skeletal changes in ovariectomized rats. *Endocrinology* 115: 507-512, 1984
- 16) OLoughlin P, Morris H. Oophorectomy in young rats impairs calcium balance by increasing intestinal calcium secretion. *J Nutr* 124: 726-731, 1994
- 17) Hämäläinen MM. Bone repair in calcium-deficient rats: Comparison of xyritol + Calcium carbonate with calcium carbonate, calcium lactate and calcium citrate on the replication of calcium. *J Nutr* 124: 874-881, 1994
- 18) Butcher RL, Collins WE, Fugo NW. Plasma concentration of LH, FSH, prolactin, progesterone and estradiol-17 β through out the 4-day estrons cycle of the rat. *Endocrinology* 94: 1704-1708, 1974
- 19) Morris HA, Porter SJ, Durbridge TC, Moore RJ, Need AG, Nordin BEC. Effects of ovariectomy on biochemical and bone variables in the rat. *Bone Miner* 18: 133-142, 1992
- 20) Raisz LG. Local and systemic factors in the pathogenesis of osteoporosis. *N Eng J Med* 318: 818-828, 1988
- 21) Cooper C, Stakkestad JA, Radowicki S, Hardy P, Pilate C, Dain MP, Delmas PD. Matrix delivery transdermal 17beta-estradiol for the prevention of bone loss in postmenopausal women. The International Study Group. *Osteoporos Int* 9: 358-366, 1999
- 22) Kim EM, Lee YS, Chang YK. Effect of ovariectomy and dietary calcium levels on bone metabolism in rats fed high calcium diet during the growth period. *Kor J Nutr* 32(2): 150-157, 1999
- 23) O JH, Lee YS. Effects of dietary calcium levels on the reduction of calcium availability in ovariectomized osteoporosis model rats. *Kor J Nutr* 26: 277-285, 1993
- 24) Arjmandi BH, Alekel L, Hollis BW, Amin D, Sapuntzakis MS, Guo P, Kukreja SC. Dietary soybean protein prevents bone loss in an ovariectomized rat model of osteoporosis. *J Nutr* 126: 161-167, 1996
- 25) Donahue HJ, Mazzeo RS, Horvath SM. Endurance training and bone loss in calcium deficient and ovariectomized rats. *Metabolism* 37: 741-744, 1988