

Effect of Nanocalcium Supplemented Milk on Bone Calcium Metabolism in Ovariectomized Rats

H.S. Park, B.J. Jeon, J. Ahn and H.s. Kwak

Department of Food Science and Technology,
Sejong University, 98 Kunja-dong,
Kwangjin-ku, Seoul 143-747, Korea

난소절제수술한 쥐에 Nanocalcium 보충된 우유가 뼈의 칼슘대사에 미치는 영향

박흥식, 전병주, 안정좌, 곽해수

대한민국 서울특별시 광진구
군자동 98번지 (우)143-747
세종대학교 식품 공학과

Abstract:

This study examined effects of calcium supplemented milk on bone loss in ovariectomized rats. Twenty four Sprague-Dawley females rats, 7 weeks-old, were divided into 4 groups, ovariectomized and fed diets containing: 1) control, no Ca supplemented milk, 2) ovx 1, Ca carbonate supplemented milk, 3) ovx 2, ionized Ca supplemented milk, 4) ovx 3, nano Ca supplemented milk. All rats were fed 1 ml of milk containing 20 mg supplemented Ca. After 18 wk feeding, body weight gain and food efficiency ratio were significantly different between ovx 1 and ovx 3. **Serum concentration of calcium and phosphorus were not different among groups.**

However, there was a significant difference in calcium content of dry femoral weight in ovx 3 compared with the control and ovx 2. In addition, femoral bone mineral density (g/cm²) was significantly greater in vox 3 than in other groups (p<0.05). The ovx 3 group showed the highest stiffness (N/mm), mzximum energy (N) in femur and trabecular bone area (%).

The present study indicated that nano Ca supplementation in milk may be an effective way to enhance bone calcium metabolism for ovariectomized rats.

(Key Words: Nanocalcium, Bone Ca Metabolism, Milk, Ovariectomized Rat)

요약:

본 연구는 칼슘보충된 우유의 섭취가 난소 절제수술한 쥐의 골조 손실에 미치는 영향을 시험한 것임. 7주령의 SD종 암컷 흰쥐 24마리를 4그룹으로 구분하여, 난소절제수술을 하고 다음과 같이 식이 조절을 하였음: 1) 관리 그룹, 탄산칼슘 보충된 우유를 먹임, 2) ovx 1 그룹, 이온화 칼슘 보충된 우유를 먹임, 3) ovx 2 그룹, 나노 칼슘 보충된 우유를 먹임, 4) ovx 3 그룹, 나노 칼슘 보충된 1 ml의 우유를 먹임. 18주 동안 식생 후에 체중증가와 음식의 효율성이 ovx 1과 ovx 3 그룹 간에 현저한 차이가 나타났음. 각 그룹 간에 칼슘과 인의 혈청농도는 차이를 보이지 않았음.

그러나 ovx 3 그룹의 건조된 대퇴부의 칼슘 함유량은 ovx 2그룹과 비교하여 현저한 차이를 보임. 이에 더하여, vox 3 그룹의 대퇴부의 골밀도 (g/cm²)는 타 그룹에 비하여 현저히 많은 것으로 나타남(p<0.05). ovx 3 그룹의 대퇴부와 trabecular 골 강도(N/mm)와 골 하중(N)이 최대치(%)를 나타냄.

본 연구결과는 우유에 나노칼슘을 보충하는 것이 난소절제수술한 쥐의 골조 칼슘대사를 증진하는 효과적인 방법일 수 있을 것임

(키워드: 나노칼슘, 골 칼슘대사, 우유, 난소 절제수술된 쥐).

Introduction:

Postmenopausal osteoporosis is a serious problem in elderly women and is characterized by a decrease in bone mass, leading to fracture and imbalanced turnover of the bone. Ovariectomized rats exhibits a decrease in mineral density, volume and strength of bone, and an **increase of bone turnover that was seen in women suffering from osteoporosis** (Tamaki et al., 1998).

It is well known that dietary calcium intake, moderate physical exercise and estrogen replacement are necessary for the prevention of osteoporosis. Whereas the beneficial effects of estrogen replacement have been clearly established in the treatment of estrogen-deficiency-induced bone loss, the beneficial effects of calcium supplementation as a method of preventing bone loss are less obvious. Thus it is important to understand the effects on bone health of dietary calcium deficiency as well as calcium supplementation (Shen et al., 1995).

Dietary calcium and estrogen deficiencies both can lead to osteoporosis in humans and animals (Dawson-Hughes, 1991; Thomas et al., 1991; Christiansen, 1992; Gallagher 1993).

Variable results from different dietary calcium supplementation studies may be due to different dietary calcium intake of the patients and lack of investigative control over intake among different studies (Arnaud and Sanchesz, 1990; Nordin et al., 1991). Thus, it is important to understand the effects on bone health of dietary calcium deficiency as well as calcium supplementation.

Milk is an excellent source for calcium, considering the absorption of calcium and its bioavailability (Wong and Lacroix, 1990; Kansal and Chaudhary, 1982; Ponerros-Schneider and Erdman, 1982). Calcium from calcium carbonate has also been reported as a good calcium source compared with calcium from milk (Mortenson and Charles, 1996), but other studies have reported that calcium from milk and whey is better than calcium from calcium carbonate (Wong and Lacroix, 1990; Tsuchiya et al., 1993).

In order to increase daily calcium intake, increased consumption of milk is recommended. Recently, there are commercially available calcium-fortified milk products. As mentioned above, it is considered that calcium bioavailability in various types of calcium is equal if not less than that in milk. However, the calcium bioavailability of those is not well understood when those are added into milk.

서언:

갱년기 골다공증은 노령 여성에게 심각한 문제이며 골절과 골치환의 불균형을 초래하는 골밀도 감소의 특성을 지닌다. 난소절제수술된 쥐는 골격에서의 무기물 밀도와 골강도를 감소시킴으로써, 골다공증 여성들에게 나타나는 골절을 증가시키는 것으로 나타났다 (Tamaki et al., 1998).

골다공증을 예방하기 위하여 칼슘섭취 식이요법, 육체운동의 완화 및 에스트로겐의 대체가 필요함을 잘 알려진 사실이다. 에스트로겐 결핍으로 유발된 골 손실의 치료에 있어서 에스트로겐 유익한 효과의 대체는 명백히 수립되었으나, 골 손실을 예방하는 칼슘 보충의 유익한 효과적인 방법에 대하여는 명백하지 못하다. 따라서 골 건강을 위한 칼슘 식이요법과 칼슘영양제 보충의 효과를 아는 것이 중요하다(Shen et al., 1995).

일상의 칼슘섭취와 에스트로겐 결핍은 인간이나 동물 모두에게 골다공증을 유발시킨다 (Dawson-Hughes, 1991; Thomas et al., 1991; Christiansen, 1992; Gallagher 1993).

상이한 식생활을 통한 칼슘섭취에 대한 여러 연구결과와 상이점은 환자들 사이 서로 다른 식단에 의한 칼슘섭취와 여러 연구에서 칼슘섭취에 대한 조사 통계력 결핍이 원인일 수 있다. (Arnaud and Sanchesz, 1990; Nordin et al., 1991). 따라서 일상의 칼슘섭취와 칼슘영양제가 뼈의 건강에 미치는 영향을 이해하는 것이 중요하다.

홍수와 생체이용률을 감안하면 우유는 우수한 칼슘 공급원이다. (Wong and Lacroix, 1990; Kansal and Chaudhary, 1982; Ponerros-Schneider and Erdman, 1982). 우유에서 섭취하는 칼슘과 비교할 때 탄산칼슘 또한 좋은 칼슘공급원으로 알려져 왔다(Mortenson and Charles, 1996), 그러나 여러 연구결과에 우유나 유장으로부터의 칼슘섭취가 탄산칼슘에서 섭취하는 것보다 우수한 것으로 알려져 있다(Wong and Lacroix, 1990; Tsuchiya et al., 1993).

일일 칼슘섭취량을 증가시키기 위하여 우유섭취량을 증가시키는 것이 권장된다. 근래에는 칼슘강화 우유제품 상용화되어 있다. 상기한 바와 같이, 다양한 종류의 칼슘제품의 생체이용률이 우유보다 떨어지지 않는 한 동일한 것으로 간주되고 있다. 그러나 그 같은 여러 제품이 우유에 첨가된 경우의 생체이용률은 잘 알려져 있지 않다.

Ingredient	grams/kg
Casein	200
Corn Starch	150
Sucrose	502.996
Corn Oil	50
Cellulose	50
Mineral 1	35
Mineral 2	10
Biotin	0.004
Choline Bitartrate	2

Table 1. Composition of AIN-76A purified diet

성분	grams/kg
카세인	200
옥수수전분	150
자당	502.996
옥수수 유	50
섬유소	50
미네랄 1	35
미네랄 2	10
비오틴	0.004
콜린 산성주석산염	2

Table 1. 정제식품 AIN-76A 의 성분

Since the intake of calcium has never been sufficient, many studies have been taken to determine as excellent calcium source for bone metabolism (Hirasawa et al., 2001). Milk is an excellent source for calcium, considering the absorption of calcium and its bioavailability (Toba et al., 1999). Among various sources of dietary calcium, little information is available about nano-sized calcium in present. Therefore, for the purpose of finding another type of calcium supplements, we have compared nanocalcium with other kinds on bone metabolism when supplemented to milk in ovariectomized rats.

MATERIALS AND METHODS

Animals and diet

Twenty four 7-week-old female sprague-Dawley rats were purchased from Jung-Ang Lab. Animal, Inc. (Seoul, Korea). They were allowed to adapt to our environs and were provided with a chow diet and distilled water *ad libitum*. A week later, the animals were ovariectomized and divided into 4 groups as follows; 1) control, no Ca supplemented milk fed, 2) ovx 1, Ca carbonate supplemented milk fed, 3) ovx 2, ionized Ca supplemented milk fed, 4) ovx 3, nano Ca supplemented milk fed. Diet was formulated by the recommendations of the American Institutes of Nutrition (Table 1). In the main diet, 0.35g Ca was contained in 20g diet, which is about daily consumption of rats. In addition rats fed Ca supplementation consumed 20 mg of Ca from other sources in 1 ml milk daily by gastric intubation and allowed access to diets and distilled water *ad libitum*. Rats were housed in individual cages at 22.2±2°C, 50±5% humidity

칼슘섭취는 결코 충분하지 못함으로, 골 대사를 위한 우수한 칼슘 원을 결정하기 위한 많은 연구가 진행되어 왔다 (Hirasawa et al., 2001). 우유와 생체이용률을 감안하면 우유는 우수한 칼슘공급원이다. (Toba et al, 1999). 식생활을 통하여 섭취하는 여러 가지 칼슘원 중에 현재 나노규격에 관한 정보는 없다. 따라서 칼슘영양체의 다른 유형을 발굴하기 위한 목적으로, 우리 연구진은 나노칼슘과 타 칼슘을 난소절제수술한 쥐에 보충하여 먹인 경우 골 대사에 미치는 나노칼슘의 영향을 타 칼슘에 비교하였다.

지제와 방법

실험동물과 음식

7 주령의 SD 종 암컷 흰쥐 24 마리를 중앙동물시험소 (대한민국 서울)에서 구매하였다. 쥐들은 연구소 환경에 적응하는 시간을 갖도록 했으며, 매 끼니 음식과 증유수 'ad libitum'을 제공했다. 1 주일 후에 난소절제수술을 하고, 다음과 같이 4 그룹으로 분류하였다.

1) 관리 그룹, 칼슘 보충된 우유를 먹이지 않음, 2) ovx 1 그룹, 탄산칼슘 보충된 우유를 먹임, 3) ovx 2 그룹, 이온화칼슘 보충 우유를 먹임, 4) ovx 3 그룹, 나노칼슘 보충된 우유를 먹임.

식단은 미국영양학회의 권고에 따라서 계획되었다 (표 1). 주식 20g 에 0.35 그램의 칼슘을 포함시켰으며, 이는 쥐들의 일일 음식량에 가해지는 량이었다. 이에 추가하여 20mg 의 별도로 칼슘 보충된 1 ml 의 우유를 위 삽관방법으로 먹였으며, 음식과 증유수 'ad libitum'을 먹을 수 있게 허용했다. 쥐는 독실에 수용했으며, 온도는 22.2±2°C, 습도는

and lightened from 19:00 to 07:00 h. All Ca supplements were obtained from NanoTech World (Pohang, Korea). **Calcium carbonate and ionized Ca were commercial products, and nano Ca was produced by Nanoech World and sized was in the range of 30~900nm.**

Sampling

At the end of the experimental period, all rats were fasted for 24 h and blood was collected EDTA-coated tubes from tail and then immediately centrifuged at 3,000rpm for 15 min at 4°C for collecting serum for further chemical analysis (Li et al., 2007). The excised tibias were fixed in 10% buffered formalin for 24 h and processed for bone histomorphometry (Shen et al., 1993). Femurs were preserved in 70% ethanol for subsequent bone mineral density. The liver and kidneys were removed after exsanguination, blotted with absorbent paper and weighed.

Biochemical assays

Serum and tissue Ca and P were measured by atomic blood chemical analyzer with Roche testing kits (Roche COBAS MORA PLUS, Switzerland) (Chen et al., 2006).

Bone Measurement

Bone Ca and P in dry left femur were determined by Inductively Coupled Plasma (IP, Shimadzu, Japan). BMD of the right femur was measured by X-ray bone densitometer (Lunar Co., USA), and stiffness and mximum energy of the right femur were measured by Bone strength meter (Iwoo, Korea). Trabecular bone area was determined manually using a grid-point counting technique, and was expressed as a percentage (points on bone/points on tissue inside the measurement area). The micrographs used for the measurement of trabecular bone area were taken at a magnification of x400.

Trabecular bone measurements were performed at a 6-mm² area. The femora were subsequently removed and immersed in the same fixative for approximately 12 h at 4°C. The femoral specimens were then demineralized with 10% EDTA solution and dehydrated with increasing concentrations of ethanol before being embedded in paraffin. The specimens for transmission electron microscope (TEM) were post-fixative with 1% OsO₄ in 0.1 M cacodylate buffer (pH 7.4) for 4 h at 4°C. They were then dehydrated with ascending concentrations of acetone and embedded in epoxy

50± 5%였으며 저녁 7 시에서 아침 7 시까지 전등을 밝혔다. 모든 칼슘영양보충제는 나노테크월드 (대한민국, 포항시)에서 제공하였다. 탄산칼슘과 이온화 칼슘은 시중상품이었고, 나노칼슘은 나노테크월드가 생산하였으며 규격은 30~900nm 범주였다.

시료 채취

실험기간 말기에, 모든 쥐를 24 시간 금식시키고, 꼬리에서 피를 채취하여 EDTA (에틸렌디아민테트라아세트산) 코팅된 튜브에 넣고, 화학적 분석(Li et al., 2007)을 위한 혈청 채취를 위하여 4°C에서 15 분간 3,000rpm 으로 원심분리기에서 15 초씩 작동시켰다. 절제된 경골은 모두 포르말린 농도 10% 용액에 24 시간 담갔다. 골조직형태측 정차에 착수하였다 (Shen et al., 1993). 대퇴골은 모두 차후의 골밀도 조사를 위하여 에탄올 70%에 보존하였다. 간장과 신장은 모두 전체혈 후에 흡수지로 피를 닦은 후에 중량을 달았다.

생화학적 분석

혈청과 세포조직 그리고 칼슘과 인을 로체 실험기구인 원자 혈청 화학 분석기로 측정했다.(Roche COBAS MORA PLUS, Switzerland) (Chen et al., 2006).

골 측정

건조된 좌측 대퇴골에서 골 칼슘과 인을 Inductively Coupled Plasma (IP, Shimadzu, Japan) 을 측정하여 결정하였다. 우측 대퇴골은 X-선 골밀도조사기(Lunar Co., USA)를 이용하여 골 밀도를 측정 하였고, 우측 대퇴부의 경도와 최대 에너지는 골강도 측정기로(Iwoo, Korea) 측정하였다. 골소주 부위는 격자를 이용하여 인위적으로 산출하는 기법으로 결정하였으며, 비율로 표시하였다 (측정부위 이내 뼈에 담긴 점의 수/세포조직에 담기는 점의 수). 골소주 측정에 사용된 현미경은 400배수의 확대비율을 이용하였다.

골소주 측정은 6-mm² 면적에서 수행되었다. 뒤이여 대퇴부를 절개하여 4°C의 정착액에 약 12시간 정착시켰다. 이후 대퇴부 시료는 EDTA 10% 용액에서 미네랄을 제거하고 파라핀에 보관하기 전에 에탄올 농도를 증가시켜 탈수시킨다. TEM (전자현미경 검사법) 주사를 위한 시료는 4°C의 카코딜 염산 완충제 (pH 7.4) 0.1M에서 4시간 동안 1%의 OsO₄ 에 미리 정착시켜놓았었다. 이들을 아세톤 농도를 상승시켜서 탈수시킨 후에 에폭시 레진에 박아 놓았다. (Epk, Polysciences, Inc., Warrington, PA, USA).

resin (Epok, Polysciences, Inc., Warrington, PA, USA).

For immunoelectron microscopy, the demineralized specimens were dehydrated with *N,N*-dimethylformamide before embedding into glycomethacrylate (GMA) as described (Asawa et al., 2004). Ultrathin sections were made by microtome (Leica, Wesin, Austria) and stained with tannic acid, ulanyl acetate, and lead citrate for TEM observation (JEM-100CX II, JEOL Ltd., Tokyo, Japan) at 80kV.

Statistical analysis

The ANOVA and Duncan's multiple tests were used to analyze the difference between groups and all data were presented as mean± SD and the level of significance was determined at $P < 0.05$ (SAS, 1985).

Table 2

Table 3

면역전자현미경법을 적용하기 위하여,

미네랄을 제거한 시료는 문헌에 기술된 대로 (Asawa et al., 2004) glycomethacrylate (GMA)에 담그기 전에 N.N.-디메틸포름아마이드로 건조시켰다. 마이크로톰 (Leica, Wesin, Austria)으로 초박편판을 만들고, 80kV 에서 TEM 조사 (JEM-100CX II, JEOL Ltd., Tokyo, Japan)를 위해 타닌 산, ulanyl 아세테이트, 리드 구연산염으로 착색했다.

통계적 분석

분산분석기법(ANOVA)과 Duncan 의 복수 실험 기법이 그룹 간의 차이를 분석하는데 이용되었다, 모든 데이터는 평균 ± 표준편차로 제시되었으며, 유의수준은 $P < 0.05$ (SAS, 1985)로 결정되었다.

Table 2

생략

Table 3

생략

Result

Body weight and feed intake

After the experimental diets had been administrated for 18 weeks, body weight gain in ovx 3 which was fed the nano Ca supplemented milk, was slightly but not significantly lower than those in control and vox 2 (Table 2). However, a significant difference was found between ovx 1 and ovx 3 groups. Among Ca supplemented groups, ionized Ca supplement inhibited the food intake, but food efficiency (FER) in the nano Ca supplemented gorup was significantly lower than those in control and ovx 1 group, and was slightly but not significantly lower than that in ovx 2 group. It is not certain why FER was lower in nano Ca supplemented group than no Ca and Ca carbonate supplemented groups, however, we may speculate the nano Ca impaired the intestinal food absorption in rats.

Table 4

Table 5

체중과 음식

실험 다이어트 관리기간이 18주간 경과한 이후 나노칼슘을 우유에 보충하여 먹인 ovx 3 은 체중이 약간 증가되었으나, 관리 그룹과 vox 2 그룹에 비하여 현저히 낮지는 않았다 (Table 2). 그러나 ovx 1과 ovx 3 그룹 간에는 현저한 차이가 확인 되었다. 칼슘 보충제가 공급된 그룹 중에, 이온화 칼슘 보충 그룹은 음식섭취가 억제되었으나, 나노칼슘 보충 그룹의 음식효율성비율(FER)은 관리 그룹과 ovx 1 그룹보다 현저히 낮았으며, ovx 2 그룹과는 현저히 낮은 미미한 차이를 보였다. 나노칼슘 보충 그룹에서 탄산칼슘 보충 (FER)이 칼슘 미 보충이나 탄산칼슘 보충 그룹보다 낮은 이유는 확실치 않다, 그러나 쥐 의 경우 나노칼슘이 장내음식의 흡수장애를 일으켰을 수도 있다는 추측도 가능하다.

Table 4

생략

Table 5

생략

Calcium and phosphorus contents

There was not a significant difference among groups with regard to serum Ca, which was a nearly normal level (Table 3). Also Serum P was not affected by Ca supplemented diet. There was no increase in serum Ca and P in the Ca supplemented diet groups.

Calcium and phosphorus contents per g tissue were shown in Table 4. Even though wet weight of liver and kidney were significantly higher in nano Ca supplemented group (ovx 3) among other groups ($P < 0.05$). However, there was no difference in P concentrations per g tissue among treatments.

Femoral length, ash and calcium and phosphorus contents

Calcium carbonate supplemented group (ovx 1) showed the greatest femur length compared with other groups ($P < 0.05$) (Table 5). Also tibia length in ovx 1 was significantly higher. Nano Ca supplemented animals has a significantly higher femur ash weight than the other groups (Table 6). The nano Ca and Ca carbonate supplemented groups also had a significantly greater femur Ca and P content than the no Ca supplemented group.

The present study was designed to examine the effects of 3 different types of Ca supplementation in preventing bone loss due to ovariectomy. Our data on bone density and bone Ca confirm the observations of other investigators that bone loss due to ovarian hormone deficiency is prevented by effective nano Ca supplementation. In accordance with other findings (Ishida et al, 1999), the femurs of rats in the ovx group, fed the ca-deficient diet, had lower calcium and phosphorus content.

Bone mineral density, stiffness and maximum energy

The influence of the difference sources of Ca on BMD in the right femur are shown in Figure 1. The nano Ca intake in vox 3 significantly enhanced the BMD in femur ($P < 0.05$), whereas no difference was found among other 3 groups. The femur showed a significant loss of bone mineral density in the ovx group when compared with the Ca supplemented groups. In addition, animals in the nano Ca supplemented group had significantly higher stiffness and maximum energy of the femur compared with other groups ($P < 0.05$) (Table 7).

The present study indicated that nano Ca may have a preventive effect on ovariectomized

칼슘과 인의 함유량

혈청의 칼슘량에 관하여는 그룹 간에 큰 차이가 없으며, 거의 일장 수준이었다 (Table 3). 또한 혈청의 인성분은 칼슘 보충 음식으로 영향을 받지 않았다. 칼슘 보충음식을 한 그룹에서 혈청의 칼슘과 인 성분의 증가가 없었다.

세포조직 그룹당 칼슘과 인의 함량은 Table 4와 같다. 그러나 젖은 상태의 간장과 신장 무게는 나노칼슘 보충제를 먹은 쥐(ovx 3) 그룹이 타 그룹보다 ($P < 0.05$) 높았다. 그러나 치료중인 혈청의 그룹 당 조직에서 인 성분의 농도는 차이가 없었다.

대퇴부의 길이, 회분과 칼슘 및 인 성분 함량

탄산칼슘을 보충한 그룹 (ovx 1)의 대퇴부 길이가 다른 그룹($P < 0.05$) (Table 5)과 비교하여 가장 큰 대퇴골 길이인 것으로 나타났다. 또한 ovx 1 그룹 쥐의 경골 길이가 현저히 길었다. 나노칼슘을 보충시킨 쥐는 다른 그룹 쥐에 비하여 대퇴골의 회분 중량이 현저히 높았다 (Table 6). 나노칼슘과 탄산칼슘보충 그룹들은 칼슘을 보충하지 않은 그룹 쥐보다 대퇴부의 칼슘 및 인 함유량이 현저히 높았다.

이번 연구는 난소절제 수술에 기인하는 골 손실을 3 가지의 서로 다른 형태의 칼슘의 예방효과를 조사함에 목적을 두었다. 우리는 얻은 골밀도와 골 칼슘 데이터는 난소호르몬 결핍에 따른 골 손실에 나노칼슘이 효과적인 보충제로 예방된다는 다른 연구진의 조사내용을 확인한다. 타 연구진의 연구결과 (Ishida et al, 1999)에 따라서, 칼슘이 불충분한 음식을 섭취한 ovx 그룹 쥐들의 대퇴골은 칼슘과 인의 함량이 떨어졌다.

골밀도, 경도 그리고 최대 에너지

Figure 1 은 서로 다른 칼슘형태가 우측 대퇴골의 골밀도에 미치는 영향을 보여준다. vox 3 의 나노칼슘 섭취가 골밀도($P < 0.05$)를 현저히 향상시켜주었음에 반하여, 기타 3 그룹 간에는 별다른 차이가 확인되지 못했다. OvX 그룹의 대퇴부는 칼슘 보충된 타 그룹과 비교할 때 골밀도의 현저한 손상을 보인다. 이에 부가하여, 나노칼슘을 보충 받은 그룹의 쥐는 타 그룹의 쥐 ($P < 0.05$) (Table 7)와 비교할 때 대퇴부의 골 경도와 최대 에너지가 치가 현저히 높았다.

이번 연구결과로 난소절제수술로 대퇴부의 골손실을 유발시킨 쥐에게 있어서,

-induced bone loss in femur.

Since it is well known that a highly absorptive Ca source in the intestine will be an effective Ca supplement for bone metabolism (Hirasawa et al., 2001), **nano Ca could be considered as an effectively absorptive source for dietary Ca.**

Trabecular bone area

The trabecular bone area (%) was measured and compared among the four experimental groups (Figure 2). As expected, the trabecular bone area was significantly lower in control, which was ovariectomized and fed the no Ca supplemented commercial milk, than in other groups ($P < 0.05$).

The nano Ca supplementation (ovx 3) resulted in the greatest level of trabecular bone area of all the groups. The different histological areas of the proximal tibia sections from all group rats are depicted in Figure 3. **The nano Ca supplemented group (ovx 3) displayed markedly elongated trabeculae** while the trabeculae of no Ca supplemented group (control) has fragmented metaphyseal trabeculae. Control rats showed extremely resorbed metaphyseal bone but few trabeculae when compared with other group which were supplemented Ca. The ovx1 and ovx 2 displayed relatively shortened trabeculae compared with that in ovx 3.

DISCUSSION

Dietary calcium requirements for mature rats to achieve normal skeletal status have been estimated at approximately 0.3% to 0.4% (Bell et al., 1941). However, the exact calcium requirement for maintenance of skeletal health in mature animals is not well known. **Using 0.01 to 0.1% of calcium in the diet, previous studies have shown decrease in bone calcium content (Wong et al., 1990) and bone mineral density (Sissons et al., 1984), circulating parathyroid hormone (Rader et al., 1979), and 1,25-(OH)2D3 levels (Thomas et al., 1991).**

Although it is difficult in practice to obtain accurate dietary calcium intake information in humans, a very controlled dietary regimen can be planned and maintained easily in rats. Such a rat model of dietary calcium deficiency could offer useful information regarding the effect of dietary calcium deficiencies on calcium homeostasis and skeletal health.

나노칼슘은 골손실의 예방적 효과를 갖는다는 것을 보여준다.

강에서 흡수력이 강한 칼슘원이 골대사를 위하여 효과적인 칼슘 보충제로 잘 알려져 있으나(Hirasawa et al., 2001), 나노칼슘은 일상의 칼슘섭취에서 효과적인 흡수성을 지닌 칼슘원으로 간주된다.

골소주 부위

골소주 부위(%)를 측정하여 4 개의 실험 그룹 간에 비교했다(Figure 2). 예상한 바와 같이 나소절제 수술을 하였으나 시중 판매 우유에 칼슘 보충을 보충하지 않은 관리그룹 다른 그룹 ($P < 0.05$)에 비교하여 골소주 부위가 현저히 적었다.

나노칼슘을 보충한 그룹(ovx 3)은 모든 그룹 가운데 골소주 부위가 가장 우수한 결과로 나타났다. 모든 그룹 쥐의 경골단면 인접부분의 조직학적 차이점이 Figure 3 의 그림에서 잘 설명되고 있다. 나노칼슘을 보충받은 그룹(ovx 3)은 확대된 골소주를 명료하게 보이는 반면, 칼슘보충제를 주지 않은 그룹은 (관리) 뼈가 부서진 골간단(骨幹端) 골소주를 보였다. 관리 그룹 쥐는 골간 골간단의 구단적인 재흡수를 보였으며, 칼슘 보충한 그룹과 비교하면 골소주량이 적다. ovx 1 과 ovx 2 그룹은 ovx 3 그룹과 비교하는 경우 상대적으로 짧은 골소주를 나타낸다.

논제

성숙된 쥐가 정상적인 골격을 유지하기 위하여 음식을 통하여 흡수할 칼슘 필요량은 약 0.3% ~ 0.4% (Bell et al., 1941) 로 추정되었다. 그러나 성장한 동물이 건강한 골격을 유지하기 위하여 필요한 정확한 칼슘량은 아직 알려져 있지 않다. 일상 칼슘 0.01%~0.1% 섭취를 이용한 이전의 연구들은 골 칼슘의 함량 감소 (Wong et al., 1990), 골밀도 감소 (Sissons et al., 1984), 갑상선호르몬의 순환감소를 나타냈으며 (Rader et al., 1979), 수준은 1,25-(OH)2D3 이다 (Thomas et al., 1991).

인간의 일상 섭취할 칼슘량에 대한 정확한 정보를 얻기는 현실적으로 어렵지만, 쥐의 경우는 매우 통제된 식이요법을 계획하여 쉽게 지속할 수 있다. 그와 같은 칼슘결핍성 쥐 식단을 모델로, 칼슘 항상성(恒常性) 및 골격건강에 칼슘결핍 식단의 영향에 관하여 유용한 정보를 제안할 수 있을 것이다.

It is well known that the development of a highly absorptive Ca source in the intestine will be an effective Ca supplement for bone metabolism. In the present study, we compared various kinds of Ca supplements on bone metabolism in ovariectomized rats.

The results showed that nano Ca supplementation increased significantly BMD and bone strength more effective than other Ca supplements, which may suggest the high intestinal absorption of nano Ca in ovariectomized rats. Taking a nutrient substance suitable to one's age, life, lifestyle and dietary habit is important.

Therefore, it is important for aged people, who tend to have decreased intestinal Ca absorption, to take Ca supplements.

Our results suggest that nano-sized Ca would be one effective supplements for bone and calcium metabolism in older people.

In the bone observation, this study allowed us to define the effects of nano Ca in lessening the decrease in bone mineral density and increase in bone resorption induced by ovariectomy.

The difference in metaphyseal trabeculae was clearly found between nano Ca supplemented and ovariectomized rats. The nano Ca supplemented femur has elongated trabeculae whereas no Ca-supplemented group displayed fragmented metaphyseal trabecule. Thus, our observation on the effects of nano Ca supplementation indicated that nano Ca may induce in high intestinal absorption and inhibit bone loss by ovariectomy.

The present study may suggest that the effect of nano Ca supplementation was significant on preventing bone loss. This is the first evidence, in our knowledge, that nano Ca supplementation provides a partial explanation for the beneficial effect on bone health in ovariectomized rats. Further studies are needed to clarify the mechanism of action of dietary nano Ca in preventing bone loss after ovariectomy.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was supported by NanoTech World (Pohang, Korea).

REFERENCES

체내에서 흡수력이 우수한 칼슘원을 개발하는 것이 골대사를 위하여 효과적일 것임을 잘 알려진 바이다. 본 연구를 통하여, 우리는 다양한 종류의 칼슘이 난소절제수술한 쥐의 골대사에 미치는 영향을 비교하였다.

결과를 비교하여 영양보충이 다른 칼슘보충과 비교하여 골밀도가 현저히 증가하였고 뼈 강도가 보다 효과적인 것으로 나타났다. 나노칼슘은 난소절제수술한 쥐에게 높은 체내흡수율을 시사할 수 있다. 연령, 생활, 생활양식 그리고 식습관에 알맞은 영양제를 먹는 것이 중요하다.

따라서 칼슘의 체내 흡수력이 감소된 경향을 보이는 노년층에게 칼슘영양보충제의 복용은 중요하다.

우리의 연구시험결과는 나노규격화된 칼슘이 노년층에게 있어서 뼈와 칼슘대사를 위한 보다 효과적인 영양보충제가 될 수 있다는 것을 시사한다.

뼈를 조사함에 있어서, 본 연구는 난소절제로 유발된 쥐의 뼈에서 무기질 밀도와 뼈의 파괴 증가를 감소시켜주는 효과를 나노칼슘의 정의로 규정할 수 있게 하였다.

나노칼슘보충된 쥐와 난소절제 수술한 쥐의 골간단(骨幹端) 골소주 치이가 명확히 나타났다. 나노칼슘 보충된 쥐의 대퇴골은 골소주가 신장되었고 칼슘이 보충되지 않은 쥐는 뼈가 부서진 골간단(骨幹端) 골소주를 보였다. 따라서 나노칼슘 보충 효력에 대한 우리들의 조사결과가 시사하는 바는, 나노칼슘은 체내에서 높은 흡수율 유발하고, 난소절제로 유발되는 골손실 방지를 유발하는 것이다.

본 연구결과는 나노칼슘의 보충효과가 골 손실을 예방하는데 현저하다는 것을 시사한다. 우리가 아는 바로는, 본 연구가 최초의 실험임증으로서, 나노칼슘 보충이 난소 절제한 쥐의 골건강에 유의한 효과를 제공한다는데 대한 일부의 해석이다. 나노칼슘이 난소절제 이후에 골손실을 방지하는데 대한 메커니즘의 작용을 규명하는 지속적인 연구가 필요하다.

알림

본 연구는 나노테크월드 (대한민국 포항시)가 지원하였음.

참고문헌 (생략)