

난소를 절제한 흰쥐에서 식이 단백질 수준이 체내 Ca 및 골격 대사에 미치는 영향

조성연 · 장영애 · 이현숙 · 김화영
이화여자대학교 가정과학대학 식품영양학과

The Effect of Dietary Protein Level on the Ca and Bone Metabolism in Ovariectomized Rat

Cho, Seong-Yeon · Jang, Young-Ai
Lee, Hyun-Sook · Kim, Wha-Young

Department of Foods & Nutrition, College of Home Science, Ewha Womans University, Seoul, Korea

ABSTRACT

To study the effect of menopause and dietary protein level on Ca metabolism, ovariectomy (OVAX) and sham operations were performed in 16-week old female rats. Each treatment group was fed for 16 weeks either 5% (L) or 50% (H) casein diets, forming SH, SL, OH, OL groups. High protein groups (SH, OH) showed higher Ca and hydroxyproline excretion in urine. Urinary hydroxyproline was also higher in OVAX, which tells the possibility of increased bone resorption by OVAX and by high dietary protein. At 16th week, however, urinary Ca and hydroxyproline of SH caught up with OH group, whereas those of OL remained higher than SL. Therefore it seems that high dietary protein overrides the effect of OVAX with time. Urinary protein measured at 8th week was higher in high protein groups, especially in OH. GFR was not differ significantly among groups at 8th week. At 16th week, however, high protein groups showed twice the GFR value of low protein groups. Therefore the increase of urinary Ca and hydroxyproline in SH and OH groups can be explained partly by the increased GFR. The tendency of increased GFR and urinary excretion of protein, Ca, and hydroxyproline was most obvious in OH group. It seems that the effect of high protein diet is likely to be accelerated by ovariectomy.

The effect of Ovax and dietary protein on the composition of femur, scapular, and lumbar bones, was not pronounced. However, when only the high protein groups were compared, OVAX resulted in the reduction of bone weight, ash and Ca contents, especially in femur. The reason that was no significant effect on bone might be due to the short experimental period to induce the changes on bone composition and dietary Ca content used in this experiment may have been high enough to prevent bone loss.

KEY WORDS : ovariectomy · protein level · GFR · urinary Ca · urinary hydroxyproline · bone mineral.

서 론

노화 과정에서 나타나는 Ca 대사 변화에 따른 (-)Ca balance는 뼈의 밀도를 감소시키고, 골격 손실(bone loss)을 초래하여 골다공증을 일으키게 된다¹⁾²⁾. 이에 따라 노년에는 골절 사고가 많이 발생하고 이러한 골절 사고는 일단 발생하면 회복이 어려우므로 노화에 따른 영양 문제중 Ca 대사의 변화는 중요한 건강 문제로 대두되어 왔다³⁾. 골다공증의 원인으로는 여러가지가 논의되고 있는데 그중 식이가 중요한 인자로 꼽히고 있다. 골격유지와 관련이 있는 여러 식이 인자들 중에서 식이 단백질은 신장 기능의 변화를 통해 체내 Ca 대사에 영향을 미쳐 성장기의 골격 성장과 유지뿐 아니라 노화 과정에 나타나는 골격의 변화에도 관련된다고 보고되고 있다. 즉, 고단백 식이는 노 Ca 배설을 증가시키며 이에 따라 혈액내 Ca 수준을 일정하게 유지하기 위해 골격으로부터의 Ca 용출(resorption)을 유도하여 결국 골격 약화를 초래한다. 이러한 고단백 식이에 의한 hypercalciuria 현상은 동물⁴⁾⁵⁾ 및 사람⁶⁾⁷⁾ 대상으로한 여러 연구들에서 보고되어 왔다.

골절 사고는 특히 폐경 이후의 여성에게서 더욱 심각한 문제로 대두되고 있어 estrogen 부족이 골격 손실에 미치는 영향에 관심이 모아지고 있다. 많은 중년 여성들은 폐경을 거치면서 estrogen 상태와 Ca 대사에 변화가 생긴다⁸⁾⁹⁾. 즉 estrogen 부족은 Ca 이용율을 저하시키고 PTH에 의한 골격 Ca 용출을 증가시켜 골다공증을 유발하게 된다고 본다¹⁰⁾. 이것은 젊어서 난소를 절제한 여성에서도 나이와 상관없이 빠른 골격 손실이 일어나는 것이나¹¹⁾, 혹은 폐경 이후의 여성에게 estrogen을 투여하면 골격 손실을 어느정도 막을 수 있다는⁹⁾¹²⁾ 보고들로 미루어 보아서도 증명되고 있다.

그러므로 폐경기 이후의 여성에서 골다공증의 예방 혹은 치료에 관한 여러가지 방안이 연구되고 있다. 그러나 그동안의 많은 연구에도 불구하고 식이 내용이 폐경 이후의 여성에게서 나타나는 골다공증 유발에 미치는 영향에 대한 연구는 극히

제한되어 있다. Ca 보충이 폐경 이후의 골다공증 진행 과정에 미치는 영향에 대한 연구는 조금씩 시도되고 있으나¹³⁾ 단백질 섭취의 영향에 대한 연구는 찾아보기 힘들다.

1970년대까지는 우리나라에서 단백질 섭취 부족이 문제가 되었으나 최근에는 경제 발전과 생활의 변화로 단백질 섭취량이 증가하여 권장량을 상회하고 있으며 또한 계속 증가할 전망이다. 그러므로 본 연구에서는 과도한 단백질 섭취가 폐경기 중년 여성의 Ca 대사에 미치는 영향을 조사하고자 한다.

이러한 문제를 연구하기 위한 실험 동물 model을 적절히 선택하는 것은 중요한데, 난소를 절제한 흰쥐에서도 Ca 이용율이 감소하고 골격 손실이 일어나는 것을 볼 수 있었다. 따라서 난소를 절제한 흰쥐는 estrogen과 Ca 대사와의 관계를 연구하는데 있어 좋은 연구 model이 될 수 있다고 사료된다¹⁴⁾. 본 연구에서는 난소를 절제한 쥐를 이용하여 식이 단백질 수준이 골격 및 Ca 대사에 미치는 영향과 이것이 신장 기능과 관계가 있는가를 알아보고자 한다.

한편 선행 연구 결과를 보면 단백질 수준을 36%와 40%로 하였을때 고단백식이 골격 대사에 미치는 영향이 뚜렷하지 않았다¹⁵⁾. 또한 식이 단백질 수준을 5%, 15%, 50%로 하여 실험한 연구에서 50% 단백질의 식이 섭취량, 체중 증가량, 혈액 성분등이 15% 표준군과 차이를 보이지 않았으므로¹⁶⁾ 본 연구에서는 고·저 단백질 수준에 의한 영향을 조사하기 위하여 5%와 50% casein 식이를 사용하였다.

실험재료 및 방법

1. 실험동물 및 식이

본 연구에서는 실험 동물로 4개월된 Sprague-Dawley 종 암컷 흰쥐를 구입하여 난소 절제 수술(Ovax군)과 sham 수술(Sham 군)을 행하였다. 수술 후 1주일간 적응시킨후 각 수술 처리군 안에서 다시 식이 단백질 수준을 달리한 2가지 실험식이군으로 나누어 16주간 사육하였다.

Table 1. Composition of experimental diets

	(g/kg diet)	
	5% casein diet	50% casein diet
Corn starch	798.44	351.06
Cascin	50.00	500.00
Corn oil	100.00	100.00
Salt mixture ¹⁾	14.72	14.72
Vitamin mixture ²⁾	10.00	10.00
CaCO ₃	8.48	9.83
Ca(H ₂ PO ₄) ₂ ·H ₂ O	16.36	12.39
Choline chloride	2.00	2.00

1) Salt mixture(mg/kg diet) : MgCO₃ 6900, ZnCO₃ 96, FeSO₄·7H₂O 124, MnSO₄·H₂O 150, CuSO₄·5H₂O 20, KI 1.3, NaCl 2300, Na₂CO₃ 1600, K₂CO₃ 3530, Na₂SeO₃ 0.22

2) Vitamin mixture(mg/kg mixture) : Thiamin-HCl 600, Riboflavin 600, Pyridoxine-HCl 700, Nicotinic acid 3000, D-calcium pantothenate 1600, Folic acid 200, Vitamin B₁₂ 1, Retinyl palmitate(vit. A) 120, DL- α -tocopherol acetate(vit. E) 5000, Cholecalciferol (vit. D₃) 2.5, Menadione(vit. K) 5.0, D-Biotin 20, Sucrose finely powdered to make 1,000g

Table 1과 같이 실험식은 5% casein을 함유한 저단백 식이와 50%의 casein을 포함한 고단백 식이로 나누었다. 각 식이의 Ca과 P의 함량이 각각 0.6%와 0.4%가 되도록 하기 위해 미리 casein의 Ca과 P함량을 분석한 후 무기질 mixture의 Ca과 P의 양을 조절하였다.

실험 동물은 한 마리씩 분리하여 사육했고 물과 식이는 제한없이 공급했다. 실험식으로 사육하면서 2주, 4주, 8주, 16주후에 대사장에서 24시간 동안의 뇨를 채취했고 8주에는 변도 수집했다. 뇨와 변을 채취할때 식이에 의하여 시료의 성분이 오염되는 것을 막기위해 식이 그릇을 대사장에 넣어두지 않고 이미 보고된 것과 같은 방법으로¹⁶⁾ 소변과 변을 채취하였다.

흰쥐는 실험 시작후 8주와 16주 두 번에 나누어 희생시켰는데 12시간 동안 굶긴후 ethyl ether로 마취시켜 단두에 의해 희생시키고 혈액과 골격을 채취하였다. 골격은 체중의 영향을 받는 뼈로써 대퇴골과 3번째 척추뼈, 체중의 영향을 받지 않는 뼈로써는 견갑골을 선택하여 사용하였다. 골격은

젖은 무게를 잰 후 일정한 무게가 될 때까지 105±5 °C의 drying oven에서 건조시켜 마른 무게를 재고, 800°C의 전기 회화로에서 24~48시간 동안 회화시켜 회분 함량을 측정하였다.

2. 생화학적 분석

뇨의 creatinine 함량은 Folin의 방법¹⁷⁾에 의해, 혈중의 creatinine 함량은 Folin and Wu의 방법¹⁷⁾을 이용하여 분석하였다. 이것으로부터 creatinine clearance를 계산하여 사구체 여과율(GFR)을 구하였다. 노중 단백질 배설량은 Lowry 방법¹⁸⁾을 이용하여 변의 질소함량은 micro-kjeldal법에 의해서 정량하였다. 노중 hydroxyproline은 Blumenkrantz와 Asboe-hansen방법¹⁹⁾에 의해 측정하였다.

혈청, 변, 뇨, 골격의 Ca 함량은 이미 보고된 방법¹⁶⁾에 의하여 0.5%의 La₂O₃ 용액으로 희석하여 Atomic Absorption Spectrophotometer로 422.7nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다.

3. 자료의 처리

본 연구의 실험분석 결과는 각 실험군간의 평균치와 표준 오차를 계산하였고, 각 실험군 평균치간의 유의성을 $\alpha=0.05$ 수준에서 Scheffé test에 의해 검정하였다. 각 변수에 따라 난소절제수술처리(A), 식이단백질 수준(B) 및 8주와 16주의 사육기간(C)에 의한 차이는 three-way ANOVA로 분석하였다.

결 과

1. 식이 섭취량 및 체중 증가량

Fig. 1에서 보는 바와 같이 식이 섭취량은 실험 초기에는 저단백군이 고단백군보다 유의적으로 높았으나 실험기간이 연장됨에 따라 이러한 차이가 없어졌고 난소절제에 따른 차이는 볼 수 없었다. 단백질 섭취량은 고단백군에서 유의적으로 높았고 수술에 의한 차이는 없었다. 체중증가량은 Sham 군에 비해 Ovar군에 유의적으로 높았고 고단백군이 저단백군에 비해 높아 OH군의 체중이 다른 군에 비해 유의적으로 높았다.

난소를 절제한 쥐에서 단백질 수준과 Ca 대사

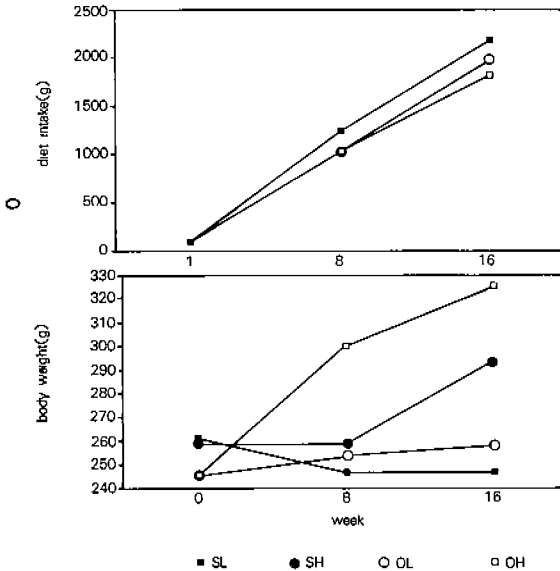


Fig. 1. Diet intake and body weight during the experiment.

2. Ca 대사

Ca 대사의 결과는 Table 2에 수록하였다. Ca

섭취량은 8주까지는 저단백군에서 높았으나 16주에는 각 군간에 차이가 없었고 난소절제 수술에 의한 영향은 없었다. 변으로 배설된 Ca량은 8주후에만 측정하였는데, 변 Ca 배설량은 난소절제 수술에 의한 효과를 나타내 Ovax군이 Sham군보다 높았으며 Ovax군에서는 고단백군의 값이 유의적으로 높았다. 이로부터 계산한 apparent Ca 흡수율은 Ovax군이 Sham군에 비해 낮게 나타났고, 특히 OH군에서 낮은 값을 보였다.

혈청 Ca는 실험 8주에는 난소 절제 수술 처리와 식이 단백질 수준에 따른 유의적 차이는 없었으나 Sham군에서는 SH군이 SL군보다 높은 경향을 보였다. 실험 기간이 경과함에 따라 Ovax군의 혈청 Ca 함량이 증가하여 16주에는 Ovax 군이 Sham군보다 유의적으로 높았다. 식이 단백질 수준에 의한 차이는 없었으나 수술과 실험 기간에 따른 상호작용의 영향은 있는 것으로 나타났다.

노 Ca 배설량은 실험 기간이 지남에 따라 계속 증가하였는데 8주까지는 Ovax군이 Sham군보다 높은 경향을 보였으나 16주에는 이러한 수술의

Table 2. Ca intake, absorption, and serum Ca concentration

		Ca intake (mg/day)	Fecal Ca (mg/day)	Aapprent Ca Abs. (%)	Serum Ca (mg/100ml)
SH	8	105.6 ± 5.1 ^{1)NS2)}	65.3 ± 3.8 ^{NS}	38.2 ± 3.8 ³⁾	9.8 ± 0.9 ^{abc}
SL	8	126.8 ± 14.0	67.0 ± 3.7	44.2 ± 4.9 ^a	8.3 ± 0.1 ^a
OH	8	109.3 ± 3.7	99.8 ± 4.6	9.1 ± 3.9 ^b	8.5 ± 0.1 ^b
OL	8	129.7 ± 6.8	79.9 ± 6.7	37.0 ± 6.2 ^{ab}	8.8 ± 0.2 ^{ac}
SH	16	102.4 ± 4.9	NM ⁴⁾	NM	8.9 ± 0.2 ^{bc}
SL	16	101.1 ± 3.6	NM	NM	9.3 ± 0.3 ^{bc}
OH	16	100.5 ± 4.8	NM	NM	11.0 ± 0.2 ^{bc}
OL	16	100.9 ± 4.6	NM	NM	12.0 ± 0.5 ^c
SF ⁵⁾		B, C, BC	A	A, AB	A, C, AB, BC, AC

1) Mean ± S.E.

2) NS : Not significant at α=0.05 by Scheffé test.

3) Means with different superscripts within the column are significantly different at α=0.05 by Scheffé test.

4) NM : Not measured

5) Significant Factor

A : Effect of ovariectomy was significant at α=0.05 level by F-test.

B : Effect of dietary protein level was significant at α=0.05 level by F-test.

C : Effect of experimental period was at α=0.05 level by F-test.

AB : Interaction between A & B factor was significant at α=0.05 level by F-test.

BC : Interaction between B & C factor was significant at α=0.05 level by F-test.

AC : Interaction between A & C factor was significant at α=0.05 level by F-test.

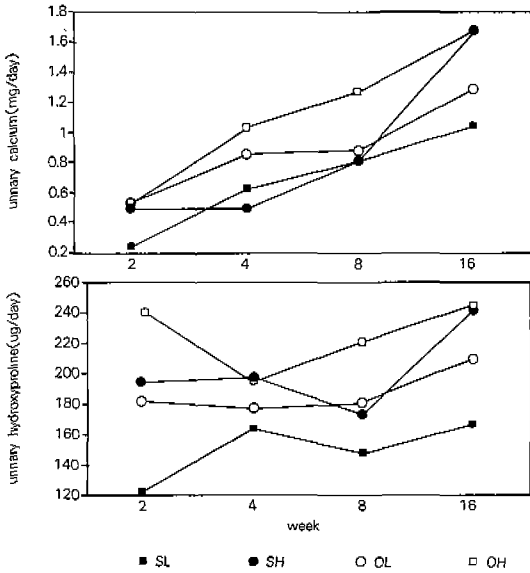


Fig. 2. Changes of urinary calcium and urinary hydroxyproline during the experiment.

효과는 없어지고 단백질 수준의 효과만 현저하여 고단백군이 저단백군에 비하여 유의적으로 높아 OH와 SH군의 값이 같아졌다. 그러나 저단백군에서는 Ovax군이 Sham군에 비하여 높았다(Fig. 2).

Collagen의 분해를 측정하는 지표인 뇨중 hydroxyproline 배설량은 실험 기간에 따라 증가하였고 8 주까지는 Ovax군이 Sham군보다 높아 난소 절제 수술에 의한 차이가 있었으며 고단백군이 저단백군에 비해 높게 나타났다(Fig. 2). 이러한 난소 절제에 의한 영향은 실험 16주에는 차차 적어지는 경향을 보이고, 반면 식이 단백질의 영향은 더욱 커서 고단백군이 저단백군보다 유의적으로 높았으며 OH군과 SH군의 값이 거의 비슷하였다. 그러나 저단백군에서는 난소절제 수술의 영향을 보여 OL군의 배설량이 SL군보다 높았다.

3. 뼈의 무게 및 무기질 함량

Table 3에 제시한 바와 같이 대퇴골의 젖은 무게는 8주에 비해 16주에는 감소하는 경향을 보인 반면 다른 무게는 증가하는 경향을 보였다. 견갑골은 젖은 무게와 마른 무게가 모두 증가하였고 척추뼈는 다른 무게의 증가만을 보였다.

난소 절제 수술과 식이 단백질 수준은 골격의 무게에 영향을 미치지 않았다. 그러나 대퇴골의 젖은 무게는 저단백군이 고단백군에 비해 낮은 경향을 보였고 견갑골에서는 수술과 실험기간의 상호 작용을 나타내어 Ovax군에서 실험 기간 경

Table 3. Wet and dry weight of bones

(mg)

	Week	Wet weight			Dried weight		
		Femur	Scapular	Vertebra	Femur	Scapular	Vertebra
SH	8	813.0±22.6 ^{1)NS2)}	178.5±10.7 ^{NS}	214.5±22.6 ^{NS}	520.1±21.2 ^{NS}	125.5±2.8 ^{b3)}	138.7±0.2 ^{NS}
SL	8	747.0±27.2	164.4±7.9	189.5±21.2	507.3±23.5	121.0±5.2	136.8±8.5
OH	8	773.0±14.9	194.6±9.2	241.4±28.8	491.9±18.0	132.4±6.2 ^b	141.3±13.5
OL	8	735.7±32.0	174.8±7.7	202.9±10.7	486.1±29.7	122.5±9.6 ^b	134.4±8.1
SH	16	720.0±14.9	197.2±7.7	233.4±11.0	558.3±14.1	153.9±3.8 ^{ab}	166.4±7.4
SL	16	678.7±22.6	220.0±15.6	201.2±18.4	533.2±10.5	171.0±8.5 ^a	144.1±8.2
OH	16	697.9±52.9	198.4±12.5	216.3±17.0	561.4±36.8	151.0±7.1 ^{ab}	155.0±9.2
OL	16	714.2±33.9	181.6±6.4	227.2±17.0	542.9±26.3	142.3±6.6 ^{ab}	160.7±9.0
SF ⁴⁾		C	C, AC	-	C	C, AC	C

1) Mean±SE

2) NS : Not significant at α=0.05 by Scheffé test.

3) Means with different superscripts within the column are significantly different at α=0.05 by Scheffé test.

4) Significant Factor

A : Effect of ovariectomy was significant at α=0.05 level by F-test.

C : Effect of experimental period was at α=0.05 level by F-test.

AC : Interaction between A & C factor was significant at α=0.05 level by F-test.

난소를 절제한 쥐에서 단백질 수준과 Ca 대사

Table 4. Ash and Ca contents of 3 bones

		Ash(mg)			Calcium(mg)		
		Femur	Scapular	Vertebra	Femur	Scapular	Vertebra
SH	8	333.20±14.62 ^{1)NS2)}	77.93±2.31 ^{NS}	80.23±4.17 ^{NS}	157.63±7.06 ^{NS}	34.77±2.30 ^{NS}	34.03±3.27 ^{NS}
SL	8	318.15±15.80	77.38±3.36	81.90±4.37	150.30±7.25	33.13±2.81	32.45±2.49
OH	8	315.93±9.35	84.22±3.35	80.18±7.85	146.40±4.67	32.02±3.74	29.48±4.08
OL	8	293.85±15.74	76.45±4.34	82.02±6.24	139.77±6.14	33.88±2.93	29.28±1.70
SH	16	350.55±8.72	89.53±2.41	90.20±4.42	142.87±5.65	31.52±2.33	27.38±3.60
SL	16	319.73±8.09	90.78±2.32	80.23±4.17	126.87±7.30	33.02±3.40	27.28±1.61
OH	16	319.25±21.91	87.13±5.00	79.80±5.60	131.93±9.93	36.22±2.78	26.58±2.09
OL	16	322.42±16.75	84.28±3.92	84.50±5.03	120.00±6.76	30.15±1.53	29.53±2.62
SF		—	C	—	B, C	—	—

1) Mean±S.E.

2) NS : Not significant at $\alpha=0.05$ by Scheffé test.

3) Significant Factor

B : Effect of dietary protein level was significant at $\alpha=0.05$ level by F-test.

C : Effect of experimental period was at $\alpha=0.05$ level by F-test.

Table 5. Ca/Wet weight and Ca/ash of 3 bones

		Ca/wet weight			Ca/ash ratio(%)		
		Femur	Scapular	Vertebra	Femur	Scapular	Vertebra
SH	8	0.19±0.005 ^{1)NS2)}	0.19±0.005 ^{NS}	0.16±0.01 ^{NS}	47.42±1.36 ^{a3)}	44.52±2.28 ^{NS}	41.82±2.17 ^{NS}
SL	8	0.20±0.004	0.20±0.004	0.18±0.01	47.32±0.66 ^a	42.52±2.38	39.45±1.54
OH	8	0.19±0.003	0.19±0.003	0.18±0.01	46.33±0.47 ^{ab}	37.77±3.47	36.73±3.00
OL	8	0.19±0.009	0.19±0.009	0.14±0.02	47.70±0.97 ^a	35.02±2.62	34.38±2.38
SH	16	0.20±0.007	0.20±0.007	0.12±0.02	40.86±0.97 ^{abc}	35.02±1.83	29.49±3.45
SL	16	0.19±0.008	0.19±0.008	0.14±0.02	39.55±1.55 ^{bc}	36.07±2.62	34.38±2.38
OH	16	0.19±0.004	0.19±0.004	0.13±0.01	39.42±2.23 ^{bc}	42.63±4.76	33.62±2.38
OL	16	0.17±0.009	0.17±0.009	0.13±0.01	37.43±2.01 ^c	35.96±1.88	35.39±3.18
SF ⁴⁾		A	A, BC	A, C	C	C, ABC	C

1) Mean±SE

2) NS : Not significant at $\alpha=0.05$ by Scheffé test.

3) Means with different superscripts within the column are significantly different at $\alpha=0.05$ by Scheffé test.

4) Significant Factor

A : Effect of ovariectomy was significant at $\alpha=0.05$ level by F-test.

B : Effect of dietary protein level was significant at $\alpha=0.05$ level by F-test.

C : Effect of experimental period was at $\alpha=0.05$ level by F-test.

BC : Interaction between B & C factor was significant at $\alpha=0.05$ level by F-test.

ABC : Interaction among A, B & C factor was significant at $\alpha=0.05$ level by F-test.

과에 따른 무게 증가가 Sham군에 비하여 낮았다.

Table 4에는 골격의 회분과 Ca 함량을 수록하였다. 회분 함량은 대퇴골과 척추에서는 실험기간 경과에 따른 차이를 볼 수 없었으나 견갑골은 증가하는 경향을 보였다. 반면 Ca 함량은 대퇴골에서만 8주에 비해 16주에 감소하였고 견갑골과 척

추에서는 변화가 없었다. 식이 단백질에 의한 영향은 대퇴골의 Ca 함량에만 영향을 미쳐 16주 후에 저단백군의 Ca 함량이 고단백군에 비하여 낮았다. 그러나 난소 절제 수술은 골격의 회분과 Ca 함량에 영향을 미치지 않았다.

골격의 Ca 함량을 골격 무게와 회분에 대한 비로

Table 6. GFR and urinary protein

		GFR (ml/min)	GFR/100gBW (ml/min/100g)	Urinary protein (mg/day)	Urinary creatinine (mg/day)
SH	8	0.07±0.01 ^{1)NS2)}	0.02±0.00 ^{NS}	28.47±1.14 ^{a3)}	6.83±0.19 ^a
SL	8	0.24±0.11	0.03±0.00	6.14±1.56 ^b	5.18±0.56 ^a
OH	8	0.14±0.06	0.05±0.02	37.97±6.26 ^a	10.01±0.29 ^b
OL	8	0.09±0.02	0.03±0.01	11.59±1.21 ^b	6.67±0.80 ^a
SH	16	0.45±0.08	0.15±0.03	NM ⁴⁾	7.76±0.33 ^a
SL	16	0.21±0.08	0.09±0.03	NM	5.46±0.84 ^{ab}
OH	16	0.29±0.11	0.09±0.04	NM	7.96±0.44 ^{ab}
OL	16	0.15±0.04	0.06±0.02	NM	5.10±0.54 ^a
SF ⁵⁾		C, BC	C	A, B	A, B, AC

1) Mean±S.E.

2) NS : Not significant at $\alpha=0.05$

3) Means with different superscripts within the column are significantly different at $\alpha=0.05$ Scheffé test.

4) NM : Not measured

5) Significant Factor

A : Effect of ovariectomy was significant at $\alpha=0.05$ level by F-test.

B : Effect of dietary protein level was significant at $\alpha=0.05$ level by F-test.

C : Effect of experimental period was at $\alpha=0.05$ level by F-test.

AC : Interaction between A & C factor was significant at $\alpha=0.05$ level by F-test.

BC : Interaction between B & C factor was significant at $\alpha=0.05$ level by F-test.

환산하여 Table 5에 수록하였다. 무게에 대한 비 (Ca/weight)는 3가지 뼈에서 모두 난소 절제군의 값이 낮은 경향을 보였고 척추는 8주에 비해 16주에 감소하였다. Ca/ash ratio는 3가지 뼈에서 모두 수술이나 식이에 의한 영향은 없었으나 실험 기간이 경과함에 따라 감소하였다.

4. 신장의 사구체 여과율(GFR) 및 뇨 질소성분 배설량

Creatinine clearance로 측정된 GFR은 실험 기간이 경과함에 따라 증가하였고 8주후에는 난소 절제 수술과 식이에 의한 유의적 차이가 없었다(Table 6). 그러나 16주에는 Ovax군의 GFR이 Sham군에 비해 낮은 경향을 보였고 또한 고단백군의 GFR은 저단백군의 2배를 상회하고 있어 실험 기간과 식이 단백질 수준 사이에 상호 작용의 영향이 있었다. 이것을 체중 100g에 대한 비로 환산하여도 비슷한 결과를 보이고 있다.

뇨단백질 배설량은 실험 8주에만 측정되었는데 난소 절제 수술 처리와 식이 단백질의 영향을 받아 Ovax군이 Sham군에 비해 높았으며 고단백군이

저단백군에 비해 높았다.

뇨로 배설되는 creatinine 양도 수술과 식이 단백질의 영향을 받아 8주에는 Ovax군이 Sham군에 비해 높았으며 고단백군이 저단백군에 비해 높은 경향을 보였다. 그러나 16주에는 이러한 수술에 의한 차이는 없어졌으나 고단백군의 뇨 creatinine량은 저단백군보다 높았다.

고 찰

본 연구에서는 폐경후 여성에게서 단백질 영양이 골격에 미치는 영향을 규명하기 위해 난소를 절제한 흰 쥐를 이용하여 식이단백질 수준이 Ca 및 골격 대사에 미치는 영향을 살펴보았다. 본 연구 결과 난소 절제군에서 체중 증가가 높음은 다른 보고들과²⁰⁾²¹⁾ 일치하는 현상이다. 뇨 creatinine 배설량으로 추정해 볼 수 있는 단백질 영양 상태는 고단백군이 저단백군에 비하여 양호하였는데 고단백군에서는 난소 절제 수술에 의하여 근육량의 증가가 일어났음을 보여준다고 하겠다. 이상선과 윤정환²²⁾의

연구에서도 난소를 절제한 경우 체중의 증가와 함께 근육양이 증가하였다고 보고되고 있다.

폐경후의 여성에게서 나타나는 Ca 대사와 관련된 변화로는 Ca 흡수율의 감소, 뇨 Ca 배설량의 증가와 골격 용출(bone resorption)의 증가등이 보고되고 있다. Ca 흡수율의 감소는 중년 여성을 17년간 관찰한 Recker²³⁾의 연구등과 동물 실험에서도 보고되고 있다²⁴⁾. Gallagher⁹⁾의 폐경후 여성에서 Ca 흡수율이 감소하는데 이때 estrogen을 주입하면 fractional Ca absorption이 증가하였다고 보고하여 이러한 Ca 흡수율의 감소는 estrogen 부족에 기인함을 알 수 있었다. 본 실험에서도 Ca 흡수율은 난소 절제에 의한 영향이 있어 Ovax군이 Sham군에 비하여 낮아 기존의 보고들과 일치하는 경향을 보였다.

뇨 Ca 배설량은 16주간의 실험 기간 동안 계속하여 증가하고 있는데 8주까지는 난소절제 수술의 영향이 컸으나 16주에는 난소절제보다는 식이 단백질에 의한 영향이 더욱 컸다. 고단백군의 뇨 Ca 배설량은 계속 증가하여 저단백군에 비하여 높았으나 16주에는 난소 절제 수술에 의한 영향이 없어서 OH군과 SH군의 값이 같아졌다. 그러나 저단백 식이를 섭취한 경우에는 난소 절제 수술의 영향을 계속 받아 Ovax군이 Sham군에 비하여 높았다.

Hydroxyproline은 대부분 Collagen에 존재하며 Collagen이 특히 골격에 많이 함유되어 있으므로 뇨 Hydroxyproline 배설량은 bone resorption의 index로 쓰인다²⁵⁾. 본 실험에서 뇨 hydroxyproline 배설량도 뇨 Ca 배설량과 같은 경향을 보여 8주까지는 Ovax군이 Sham군에 비해 유의적으로 높았고 고단백군이 저단백군에 비해 높게 나타나 난소 절제 수술과 고단백 식이가 bone resorption을 촉진시킬 수 있는 가능성을 나타냈다. 그러나 16주에서는 난소 절제보다는 고단백 식이의 영향이 커서 OH와 SH군 사이에 차이가 없어졌다. 그러나 저단백군에서는 난소절제군의 뇨 hydroxyproline 배설량이 더 높았다.

이와 같은 뇨 Ca과 hydroxyproline 배설량은 고단백 식이를 섭취한 수컷 흰쥐에서도 증가하고¹⁶⁾

²⁶⁾, 또한 난소를 절제한 동물에서도 높은 것으로²¹⁾ 보고되고 있다. 본 연구 결과 뇨 Ca 배설량과 뇨 hydroxyproline 배설량은 저단백질 식이를 섭취하는 경우에는 전 실험 기간을 통하여 난소 절제를 한 쥐에서 높았으나, 본 실험에서와 같이 높은 식이 단백질을 섭취하는 경우에는 난소 절제 수술의 영향은 시간이 경과함에 따라 없어지고 단백질의 영향만이 지속됨을 볼 수 있어, 과다한 식이 단백질의 영향이 난소 절제보다 장기적으로는 더 큰 영향을 미침을 알 수 있었다.

그러나 이러한 뇨 Ca과 hydroxyproline 배설량의 증가가 골격 구성 성분에는 비교적 영향을 미치지 않고 있었다. 본 연구에서 식이나 수술에 의한 영향은 3가지 골격에서 비슷한 반응을 보이고 있는데 전체적으로 식이와 수술이 골격의 무게나 구성에 영향을 미치지 않고 있었다. 그러나 고단백군만을 비교해 보면(OH vs SH) 난소절제 수술에 의해 무게, 회분과 Ca 함량등이 감소하는 경향을 보이는데 특히 대퇴골에서 그 영향이 컸다.

식이나 난소절제를 시도한 다른 연구에서도 골격 구성 성분의 변화를 관찰하지 못한 경우가 많이 보고되고 있다. 성장기의 흰쥐에서 난소 절제후 4주간 사육한 후에 조사한 결과 골격 무게나 구성에 차이가 없었고²⁰⁾, 6개월된 흰쥐를 난소 절제한 후 6개월간에 관찰한 연구에서도²²⁾ 난소 절제에 의하여 골격 무게 변화가 없음이 보고되었다.

Whiting의 실험²⁷⁾에서 성숙한 수컷 흰쥐를 10달 동안 정상 식이와 고단백 식이를 먹인후 femur, tibia등을 측정한 결과 무게, 회분, Ca 함량, 밀도가 고단백 식이 섭취에 의해 영향을 받지 않았고, Calvo²⁸⁾도 7달된 수컷 쥐를 6%와 24%의 단백질식을 20주동안 먹었을때 femur, mandible의 뼈의 구성에서 차이를 나타내지 않았다고 보고하였다. 이는 아마도 골격 대사는 비교적 원만히 이루어지므로 고단백 식이에 의한 골격 구성의 변화를 보기 위해서는 장기간의 실험 기간이 필요하리라고 생각되며, 성장기의 동물에서는 골격의 손실을 쉽게 측정할 수 없다고 본다. 또한 골격 구성 성분 변화는 골격 손실을 측정하는 예민한 지표가 되지 못한다고 사료된다. 그러므로 본 연구에서 16주의 뼈의 구

성이 8주에 비해 손실이 없었던 것은 실험 동물이 아직 성숙 단계에 있는 쥐였고 정상 Ca를 포함한 식이로 사육되어 충분한 Ca를 섭취하고 있었으므로 노 Ca 증가가 반드시 골격 Ca 용출을 필요로 하지 않았기 때문으로 풀이되고, 동시에 16주간의 실험 기간은 골격 구성의 변화를 관찰하기에는 충분한 기간이 아니었다고 사료된다.

이러한 노 Ca과 노 hydroxyproline의 증가된 배설이 신장 기능의 퇴화에 기인한다고 보는 견해가 많다. 그러므로 본 실험에서는 신장 기능을 설명하기 위하여 GFR을 측정하였고 신장기능의 퇴화를 알아보기 위하여 노 단백질 배설량을 재었다. GFR은 16주에는 난소 절제에 의하여 감소하였으며 고단백군에서 높았다. 그러므로 본 실험의 OH군과 SH군에서 노 Ca과 hydroxyproline 배설량이 높은 것은 부분적으로 증가된 GFR로 설명될 수 있다고 보겠다. 이러한 결과는 사람²⁹⁾과 수컷 흰쥐²⁷⁾를 대상으로 한 실험에서 보고된 것과 같이 고단백 식이가 GFR의 증가와 신세뇨관 재흡수의 감소를 초래하고 이에 따라 노 Ca 배설량의 증가로 Ca balance를 감소시킨다는 결과와 같은 경향이다.

노단백질 배설량은 난소 절제 수술에 의해 확실히 영향받는 것으로 나타났다. 즉 Ovax군이 Sham군에 비해 노단백질 배설량이 현저하게 높았고 50% 단백질식이 5% 단백질식에 비해 높게 나타났다. 그러므로 난소절제는 노단백의 증가를 초래하므로 신장기능 퇴화를 촉진하였고 또한 고단백은 이러한 변화를 가속화시켰다고 볼 수 있겠다.

결론적으로 신장 기능과 골격 및 Ca 대사를 연관시켜 볼 때, 난소 절제로 인하여 노단백 현상등 신장 기능에 손상을 일으켰으며 고단백 식이는 이를 더욱 악화시켰다고 보겠다. 이것으로 인하여 노 Ca 배설량의 증가, Ca 흡수율의 감소등 Ca balance의 저조와 노 Hydroxyproline 배설량 즉 bone resorption의 증가가 일어나 골격에서의 차이를 나타낼 수 있으리라고 결론을 지을 수 있겠다.

그러나 이러한 난소 절제의 효과는 식이 단백질 수준의 영향을 받아 저단백군에서는 난소 절제의 영향이 있었으나 본 실험에서와 같이 과다한 단백질을 공급한 경우에는 시간이 경과함에 따라 식이

단백질 수준의 영향이 커져서 난소절제의 효과를 없애준다고 보겠다.

Literature cited

- 1) Anderson JJB. Dietary calcium and bone mass through the life cycle. *Nutr Today* 25(2) : 9-14, 1990
- 2) 김숙희. 한국인의 Ca 영양과 골다공증. *한국영양학회지* 26 : 203-212, 1993
- 3) Avioli LV. What to do with "postmenopausal osteoporosis?" *Am J Med* 65 : 881-884, 1978
- 4) Hostetter TH, Olson JL, Rennke HG, Venkachalam MA, Brenner BM. Hyperfiltration in remnant nephrons; a potentially adverse response to renal ablation. *Am J Physiol* 241 : F85-F93, 1981
- 5) 안주원 · 김화영. 나이가 다른 흰쥐에서 식이 단백질 수준이 신장 기능 및 Ca 대사에 미치는 영향. *한국노화학회지* 3 : 39-44, 1993
- 6) Schette SA, Zemel MB, Linkswiler HM. Studies on the mechanism of protein-induced hypercalciuria in older man and women. *J Nutr* 110 : 305-315, 1980
- 7) Allen LH, Bartlett BS, Block GD. Reduction of renal calcium reabsorption in man by consumption of dietary protein. *J Nutr* 109 : 1345-1350, 1979
- 8) Bruce E, Harry KG, Christopher, E.C. Postmenopausal bone loss is prevented by treatment with low-doses estrogen with calcium. *Ann Int Med* 106 : 40-46, 1987
- 9) Gallagher JC, Riggs BL, Dellca HF. Effect of estrogen on calcium absorption and serum vitamin D metabolites in postmenopausal osteoporosis. *J Clin Endo Meta* 51 : 1359-1364, 1980
- 10) Hdrund LR, Gallagher JC. The effect of age and menopause on bone mineral density of the proximal femur. *J Bone Mineral Res* 4 : 639-642, 1989
- 11) Fichelson LS, Wahner HW, Melton LJ, Riggs BL. Relative contributions of aging and estrogen deficiency to postmenopausal bone loss. *N Engl J Med* 311 : 1273-1275, 1984
- 12) Heaney RP, Recker RR, Saville PD. Menopausal changes in calcium balance performance. *J Lab Clin Med* 92 : 953-963, 1978
- 13) Nelson ME, Fisher EC, Dilmanian FA, Dallal GE,

- EVans WJ. A 1-yr walking program and increased dietary calcium in postmenopausal women : effects on bone. *Am J Clin Nutr* 53 : 1304-1311, 1991
- 14) Kalu DN, Liu CC, Hardin RR, Hollis BW. The aged rat model of ovarian hormone deficiency bone loss. *Endocrinol* 124 : 7-16, 1989
- 15) 김혜영 · 조미숙 · 김화영 · 김숙희. 식이단백질의 종류와 수준이 연령이 다른 흰쥐에서 뇨 Ca 배설 및 뼈에 미치는 영향. *한국영양학회지* 19(1) : 66-73, 1986
- 16) 이정아 · 장영애 · 김화영. 나이가 다른 단계에서 식이단백질 수준이 흰쥐의 Ca 대사에 미치는 영향. *한국영양학회지* 25(7) : 569-577, 1992
- 17) Hawk PB, Oser BL, Summerson WH. 『Practical Physiological Chemistry』 New York, MacGraw-Hill Book, 1965
- 18) Lowry OH, Resebrouh NJ, Farr AC, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193 : 265-275, 1951
- 19) Blumenkrantz N, Asboe-Hansen G. A quick and specific assay for hydroxyproline. *Anal Biochem* 55 : 228-291, 1973
- 20) 오주환 · 이연숙. 난소 절제 골다공증 모델 흰쥐의 체내 칼슘 이용성 저하에 대한 칼슘 섭취 수준의 효과. *한국영양학회지* 26 : 277-285, 1993
- 21) Morris HA, Porter SJ, Durbridge TC, Moore RJ, Need AG, Nordin BEC. Effects of ovariectomy on biochemical and bone variables in the rat. *Bone Mineral* 18 : 133-142, 1992
- 22) 윤정한 · 이상선. 난소절제에 의해 유발된 과식현상이 소장적응변화에 미치는 영향. *한국영양학회지* 21(3) : 182-188, 1988
- 23) Recker RR, Stegman MR, Moy AJ. Calcium absorption in women : relationships to calcium intake, estrogen status, and age. *J Bone & Mineral Res* 4 : 469-475, 1989
- 24) Ash SL, Goldin BR. Effects of age and estrogen on renal vitamin D metabolism in the female rat. *Am J Clin Nutr* 47 : 694-699, 1988
- 25) Dull TA, Henneman PH. Urinary hydroxyproline as an index of collagen turnover in bone. *New Engl J Med* 268 : 131-134, 1963
- 26) 조미숙 · 최남순 · 김화영. 식이 단백질 수준이 어린 쥐와 나이가 든 쥐의 골격의 대사에 미치는 영향. *한국영양학회지* 22(6) : 497-506, 1989
- 27) Whiting ST, Drapher HH. Effect of chronic high protein feeding on bone composition in the adult rat. *J Nutr* 111 : 178-183, 1981
- 28) Calvo MS, Bell RR, Forbes RM. Effect of protein-induced calciuria on calcium metabolism and bone status in adult rats. *J Nutr* 112 : 1401-1413, 1982
- 29) Hegsted M, Linkswiler HH. Long-term effects of level of protein intake on calcium metabolism in young adult women. *J Nutr* 111 : 244-251, 1981