

성장기 저칼슘 섭취가 척추 골다공증 발생과 척추사이원반 변성에 미치는 영향 평가: 생체역학적 및 조직형태학적 연구

박지형, 우대곤, 김치훈, 이범이¹, 김지현, 김한성
연세대학교 의공학과, ¹건국대학교 의과대학 해부학교실

간추림 : 본 연구는 성장기 때 저칼슘 섭취가 최대뼈질량을 감소시키고 뼈형성증의 요인이 된다고 가정하고 칼슘 제거사료를 공급하여 실험을 구성하였다. 변성된 척추사이원반은 해면뼈에 압력분포를 줄여주고 걸질뼈와 척추뒤 돌기(가시돌기)의 압력분포를 증가시키며 해면뼈 면적을 줄여주어 골다공증을 유발할 수 있다는 다수의 연구가 발표되었지만, 골다공증이 유발된 척추가 척추사이원반 변성에 영향을 준다는 연구는 적고 골다공증이 유발된 척추에 인접한 정상 척추사이원반은 변성될 가능성이 있다는 가정을 확인하고자 하였다.

골다공증이 유발된 척추를 확인하기 위하여 살아있는 암컷 흰쥐의 허리뼈 전체(L1~L6)를 생체 내 미세단층촬영 시스템으로 촬영하고 유한요소 모델생성 및 가상 압축실험을 통하여 허리뼈의 형태학적 및 기계학적인 특성을 평가하였다. 골다공증으로 인한 척추의 골량감소와 미세구조의 변형이 척추사이원반에 어떤 영향을 미치는지를 확인하기 위해 조직학적 방법으로 관찰하였다. 통계처리는 일변량 ANOVA검정, Tukey'B검정, 대응표본 T검정을 수행하였다($p < 0.05$).

정상군의 해면뼈는 전체적으로 골량이 증가하였으나 칼슘제거군의 해면뼈는 골량이 감소하였다. 0주, 4주, 8주의 칼슘제거군에서 L3, L4, L5의 구조적 요소가 L1, L2, L6보다 모두 낮게 평가되었고, L3, L4, L5에서 해면뼈의 강도가 다른 부분에 비해 상대적으로 약한 구조임을 관찰할 수 있었다. 0주에서는 건강한 척추사이원반이 관찰되었다. 4주와 8주에서는 높이가 상대적으로 줄어들고 형태가 변하여 함몰된 모습을 관찰할 수 있다.

본 연구에서는 성장기에 칼슘을 섭취하지 못하면 뼈손실이 크게 발생됨을 확인할 수 있었다. 기존연구에서 더 나아가 첫째 허리뼈에서 여섯째 허리뼈까지(L1~L6) 골다공화에 따른 해면뼈의 구조적 및 기계적 특성 변화와 집중 하중을 받는 척추사이원반을 관찰하여 상호 연관성을 검토하였다. 골다공증은 뼈대계통 전체적으로 발생하나 허리뼈의 중심 부위인 L3, L4, L5가 외곽 부위인 L1, L2, L6에 비해서 약 1.8배 정도(중심부위: 122 ± 101 , 외곽 부위: 224 ± 118) 기계적 강도가 더 약하므로 L3, L4, L5의 해면뼈에서 골다공증이 가장 먼저 유발됨을 관찰하였고, 해면뼈의 뼈손실과 미세구조 변화에 따른 척추사이원반의 변성이 발생됨을 확인하였다.

(2009년 6월 19일 접수, 2009년 7월 21일 수정접수, 2009년 8월 26일 게재승인)

찾아보기 낱말 : 칼슘제거 식이요법, 척추사이원반 변성, 골다공증, 생체 내 미세단층촬영, 유한요소해석, 조직학

서론

골다공증(Osteoporosis)은 걸질뼈와 해면뼈의 뼈

잔기둥의 변화와 뼈부피의 감소로 쉽게 골절이 일어나는 뼈질환이다(Lorrain 등 2003). 골다공증에 의한 골절로 인한 사회적, 경제적인 손실이 상당히 크게 작용하는 실정이며 조기치료 및 골절예방이 골절 후 치료보다 효과적이라고 보고 있다(Kang 등 2002). 골다공증 발병과 관련되는 영양성분 중 하나인 칼슘은 성인체중의 약 1.5~2%로 인체 내 무기

*이 논문은 2008학년도 연세대학교 학술연구비의 지원에 의하여 이루어진 것임.

교신저자: 김한성(연세대 의공학과)

전자우편: hanskim@yonsei.ac.kr

질 중 가장 많이 존재한다. 이중 약 99%는 골격과 치아를 형성하고 1%는 혈액순환, 신경전달, 심장박동, 근육의 수축 및 이완, 혈액응고에 쓰인다(Einhorn 등 1990). 사춘기 전과 초기의 경우, 칼슘은 골격을 형성하고 무기질화에 미치는 영향이 증가하므로, 이 시기의 칼슘 섭취량이 골격형성에 중요 요인이 된다(Abrams와 Stuff 1994). 또한 어린이와 사춘기 때 우유의 많은 섭취는 성장과 발달에 필요하며 뼈질량 형성을 도와주고, 골격손실이 덜 일어나 폐경 후 상대적으로 높은 골밀도 유지에 도움을 준다(Sandler 등 1985). 사춘기 소녀를 대상으로 한 연구에서 고칼슘 섭취는 유전적인 범위 내에서 최대뼈질량을 형성하는 반면, 저칼슘 섭취는 청년기의 골절에는 크게 영향을 미치지 않았지만 골격이 형성되는 동안의 칼슘결핍이 최대뼈질량 도달과 형성에 주요 제한요소가 되고 노년기의 골절요인을 증가시킨다고 하였다(Markovic 등 1977, Sentipal 등 1991, Heaney 1993). 이러한 사실을 기반으로 본 연구에서는 사춘기와 성장기 때 저칼슘 섭취가 최대뼈질량을 감소시키고 골다공증의 요인이 된다고 가정하고 칼슘제거사료를 공급하여 실험을 구성하였다. 기존 연구(Polikeit 등 2004)에서 일반적인 쥐 해면뼈의 변형분포는 고르게 분포되어 있는 반면 골다공증이 유발된 쥐 해면뼈에서 변형분포는 해면뼈 중심부분에 집중되어 있다. 이는 골다공증이 유발되어 해면뼈의 미세구조가 변화하고 골량이 감소하여 해면뼈가 쉽게 변화되는 결과로 볼 수 있다. 그러나 이 결과는 유한요소 모델을 이용한 모의실험이므로 실제 임상적 시험을 통한 검증이 필요하다는 제한점을 갖고 있다. 또한 변성된 척추사이원반은 해면뼈에 압력분포를 감소시키고 걸질뼈와 척추뒤돌기의 압력분포를 증가시키며(Dai 1998) 건강한 척추의 해면뼈 면적을 감소시켜 골다공증을 유발할 수 있다는 다수의 연구가 발표되었다(Harada 등 1998, Homminga 등 2001). 그러나 골다공증이 유발된 척추가 척추사이원반 변성에 영향을 준다는 연구는 많지 않은 실정이고 현재 발표된 결과와 문헌들에 기초하여 골다공증이 유발된 척추에 인접한 정상 척추사이원반은 변성될 가능성이 있다고 가정하고 있다

(Polikeit 등 2004).

본 연구에서는 골다공증 유발 동물 모델 구성을 위해 칼슘제거 식이요법을 시행하였고, 골다공증이 유발된 척추를 확인하기 위하여 살아있는 암컷 흰쥐의 허리뼈 전체(L1~L6)를 생체 내 미세단층촬영 시스템으로 촬영하고 유한요소 모델생성 및 가상 압축실험을 통하여 허리뼈의 특성을 평가하였다. 골다공증으로 인한 척추의 골량감소와 미세구조의 변형이 척추사이원반에 어떤 영향을 미치는지를 확인하기 위해 조직학적 방법으로 실험 및 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

본 연구에는 성장기에 해당하는 6주령 암컷 흰쥐(Sprague-Dawley rat, 무게 약 170 g) 20마리를 사용하였다. 실험동물은 연세대학교 동물 보호 및 사용에 관한 지침과 법규에 따라 개별적으로 환기가 잘 되고 청결한 우리에서 사육되었고, 온도와 습도는 일정하게 유지되었으며(온도: $23 \pm 3^{\circ}\text{C}$, 습도: $50 \pm 10\%$), 12시간 주기로 낮과 밤이 바뀌도록 설정하였다. 모든 쥐는 임의적으로 칼슘제거 식이요법을 시행한 군 10마리(칼슘제거군)와, 대조군으로 정상적인 식이요법을 시행한 군 10마리(정상군)의 2개 군으로 나누었다. 칼슘제거 사료(AIN-76A Pellet Diet,

Table 1. Ingredient of AIN-76A Pellet Diet

Ingredient	Calcium free diet (Grams/kg)
Casein	200
Corn Starch	150
Sucrose	500
Cellulose	50
Corn Oil	50
Ca free Mineral Mix	35
Vitamin Mix	10
DL-Methionine	3
Choline Bitartrate	2
Total	1,000

Feedlab, Korea)는 일반사료 (Rod food, Daehan bio-link Co., Korea)에서 칼슘을 완전히 제거하여 제조되었다 (Table 1). 모든 과정은 미국 국민보건원 (National Institute of Health: NIH) 지침 기준에 의해 수행하였다.

2. 생체 내 미세단층촬영 시스템

생체 내 미세단층촬영 시스템 (Skyscan 1076, Skyscan, Belgium)은 비침투적, 비파괴적 방법으로 살아있는 동물에 대한 생체 내 실험이 가능하다는 가장 큰 장점이 있고 9 μm , 18 μm , 35 μm 의 해상도를 가진다. 본 연구에서는 생체 내 미세단층촬영 시스템을 사용하여 살아있는 쥐 L1에서 L6까지 2차원 횡단면 영상을 획득하였다. 흔들리지 않는 영상정보를 획득하기 위해 쥐를 마취시킨 후 촬영하였으며, 마취 약물로는 염산케타민 (Huons, Korea)과 염산자일라진 (Bayer Korea, Korea)을 사용하였다. 칼슘제거식이요법을 시행하기 전 (0주)과 식이요법을 실시한 후 (4주, 8주)에 단층 촬영을 각각 실시하였다. 본

실험의 영상은 35 μm 의 해상도로 촬영하였으며, 이때 생체 내 미세단층촬영을 위한 변수는 관전압 100 kV, 관전류 100 μA , 필터 Al 0.5 mm, 그리고 회전각 0.7°로 설정하였다. Percent bone volume (Bone volume/Tissue volume, BV/TV)은 뼈의 부피와 조직의 부피 비율로서 높은 값은 뼈의 부피가 상대적으로 많음을 나타낸다. Trabecular thickness (Tb.Th)는 뼈간기둥의 두께를 나타내는 지표로 높은 값은 두께가 두꺼운 뼈간기둥을 나타낸다. 또한, Trabecular separation (Tb.Sp)은 뼈간기둥 사이의 간격을 나타내는 지표로 높은 값은 뼈간기둥 사이 간격이 넓음을 나타낸다. Trabecular number (Tb.N)는 뼈간기둥의 개수를 나타내고 Structure model index (SMI)는 뼈간기둥의 형태를 나타내는 요소로서 0일 때 이상적인 판 구조 형태를 나타내고 3일 때 막대 구조 형태를 나타낸다.

3. 유한요소 모델 생성 및 분석

유한요소법은 공학과 수리 물리학의 문제를 풀기

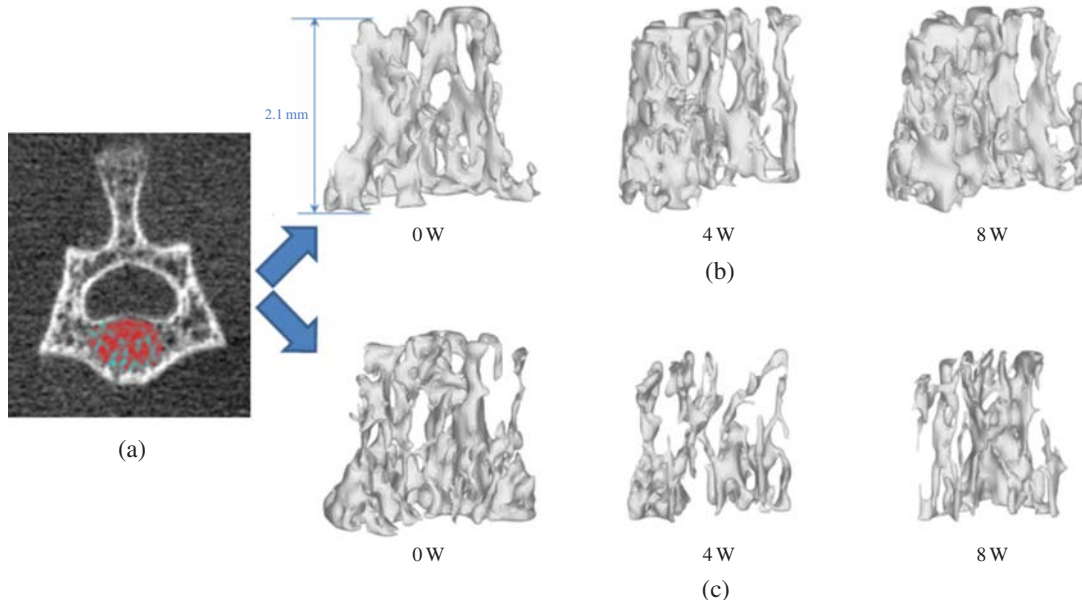


Fig. 1. Identification of osteoporosis occurrence via 3D reconstructed models. (a) Region of interest in 2D micro-CT image, (b) NOR (Control) models, (c) CFD models. There are considerable trabecular bone losses in CFD models.

위한 하나의 수치 기법으로 초기에는 복잡한 구조물의 응력해석을 위해 개발되었고 발전을 거듭하여 생체역학 및 재활공학 분야 등 광범위한 분야에서 사용되고 있다. 구조물에 대해 요소(element)라 불리는 작은 요소들로 분할하여 공통되는 점, 선 및 면 등에서 여러 가지 경계조건을 사용하여 수식을 만들고, 이를 이용해 구조물 전체에 대한 연립 대수 방정식을 만들어 해를 구하는 방법이다(Suk 2004).

본 연구에서의 유한요소 모델 생성은 생체 내 미세단층촬영 시스템으로 얻은 2차원 영상을 BIONIX 3.3 (CANTiBio Co., Korea) 소프트웨어를 통해 3차원 4절점-사면체 구조로 재건하였다(Fig. 1). 본 유한요소모델의 물성치로 12.5 GPa(E)과 0.3(ν)을 적용하였고(Kinney 등 2000), 등방성 구조를 갖는다고 가정하였다. Hypermesh 7.0 (Altair Co., USA) 소프트웨어를 사용하여 3차원 모델구조에서 가상적인 압축실험을 위한 모델로 재건하였다. 골다공증으로 인한 척추의 구조적 특성 변화에 따른 골강도의 변화를 정량적으로 측정 및 분석하기 위하여 ABQUS 6.5 (HKS Inc., USA)를 이용하여 전산 모의 압축실험을 수행하였다. 유한요소 모델 하단부 전체를 구속하고 상단부 전체에 0.5%의 변위를 주도록 하중 조건을 부가하여 뼈의 기계적 강도를 의미하는 구조적 반력(reaction force)을 획득 및 구조적 탄성계수(structure elastic modulus)를 계산하였다.

4. 조직학적 분석

흰쥐 척추사이원반의 구조적 변화를 분석하기 위해 염산케타민과 염산자일리진으로 마취하여 포르말린 고정을 수행한 후 에틸렌디아민사아세트산 용액을 사용하여 탈회하였다. 그 다음 파라핀에 포매하는 통상적인 방법을 거쳐, 조직학적 방법을 사용하여 L1부터 L6까지 시편을 광학현미경으로 관찰하였다. L4/L5, L5/L6의 각 운동분절에 응력이 집중되어 생체역학적 변화를 관찰한 이전 연구(Bresnahan 등 2008)를 토대로 본 연구에서는 L4/L5, L5/L6의 각 운동분절을 포르말린으로 고정한 후 H & E 염색을 하였다.

5. 통계적 분석

정상군과 칼슘제거군 각각의 시간경과에 따른 L1부터 L6까지 구조적 요소들의 의미있는 증가 또는 감소를 보이는지 확인하기 위하여 일변량 ANOVA 검정과 Tukey'B검정을 수행하였다. 이때 모든 통계 분석에 사용된 유의 수준은 0.05로 설정하였다($p < 0.05$). 0, 4, 8주에서 정상군과 칼슘제거군 간 모든 척추의 형태학적 특성이 유의한 차이를 보이는지 확인하기 위하여 각 주마다 대응표본 T검정을 수행하였다.

결 과

1. 형태학적 요소

본 연구에서는 생체 내 미세단층촬영 시스템으로 촬영된 2차원 영상을 이용하여 해면뼈의 구조적 요소(BV/TV, Tb.Th, Tb.Sp, Tb.N, SMI)를 획득하였다. BV/TV, Tb.N은 시간이 경과함에 따라 정상군의 모든 허리뼈에서 순차적으로 유의하게 증가하는 경향을 나타낸 반면 칼슘제거군의 모든 허리뼈에서는 유의하게 감소하는 경향을 확인할 수 있다. Tb.Th도 정상군에서는 증가하고 칼슘제거군에서는 유의하게 감소하여 해면뼈 뼈잔기둥의 두께가 감소함을 나타내었다. Tb.Sp는 정상군에서는 감소하고 칼슘제거군에서는 유의하게 높은 수치로 증가하여 해면뼈 사이의 간격이 매우 멀어졌음을 나타내었다. SMI에서 정상군은 시간이 지날수록 1에 가까워져 판 형태로 변하고 칼슘제거군은 3에 근접하여 막대형태로 변함을 볼 수 있다(Fig. 2). 정상군의 해면뼈는 전체적으로 골량이 증가하였으나 칼슘제거군의 해면뼈는 골량이 감소하였다.

2. 구조적 강도

유한요소해석방법을 이용한 허리뼈의 가상 압축 실험 결과로 얻은 구조적 탄성계수(E)를 획득하였다.

— 칼슘섭취수준이 척추에 미치는 물리적 특성 평가 —

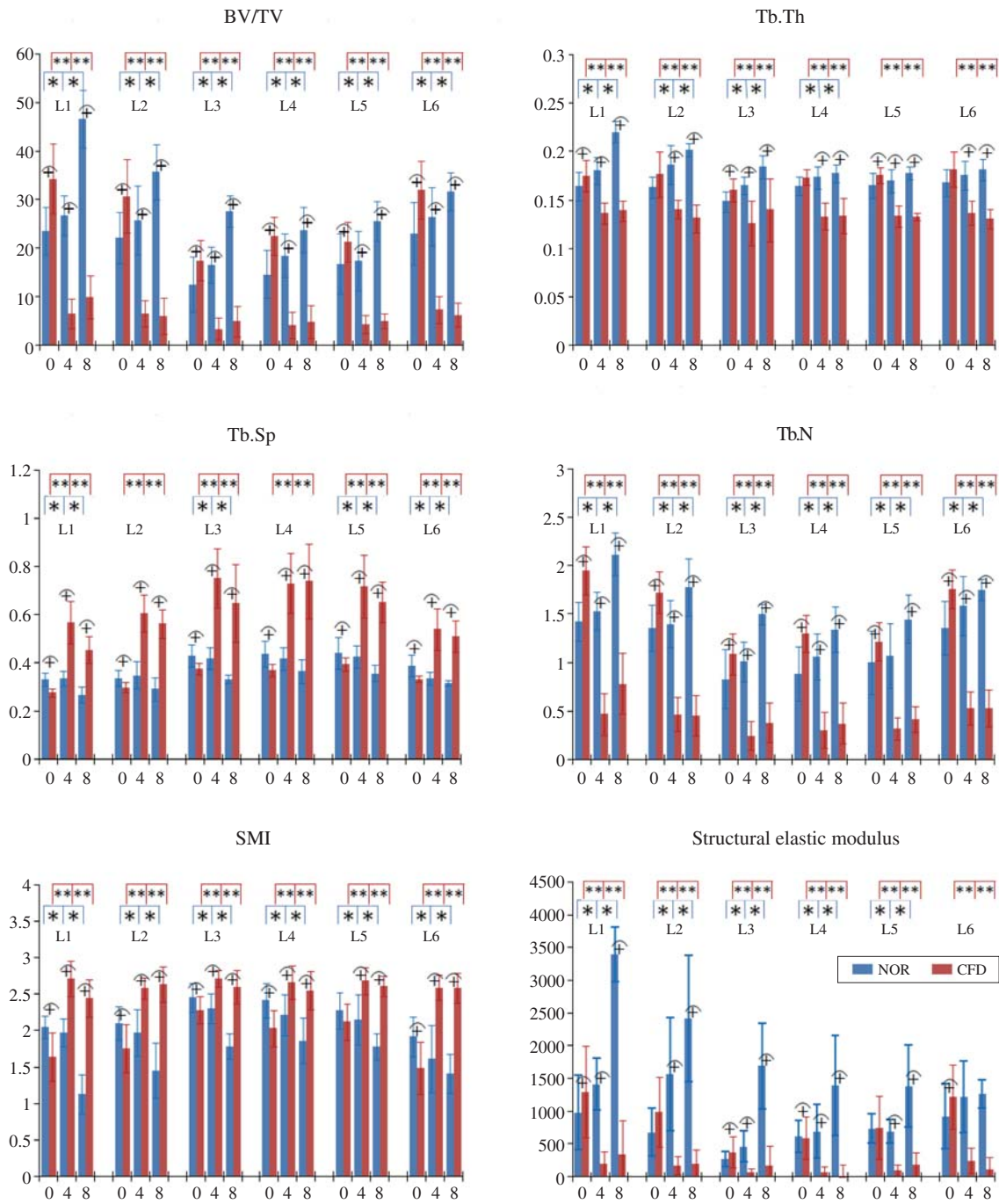


Fig. 2. Changes of morphological and mechanical characteristics in NOR (Control) and CFD groups over time (*: significant changes in NOR groups, **: significant changes in CFD groups, +: significant changes between NOR and CFD on each time (*, **, +: $p < 0.05$)).

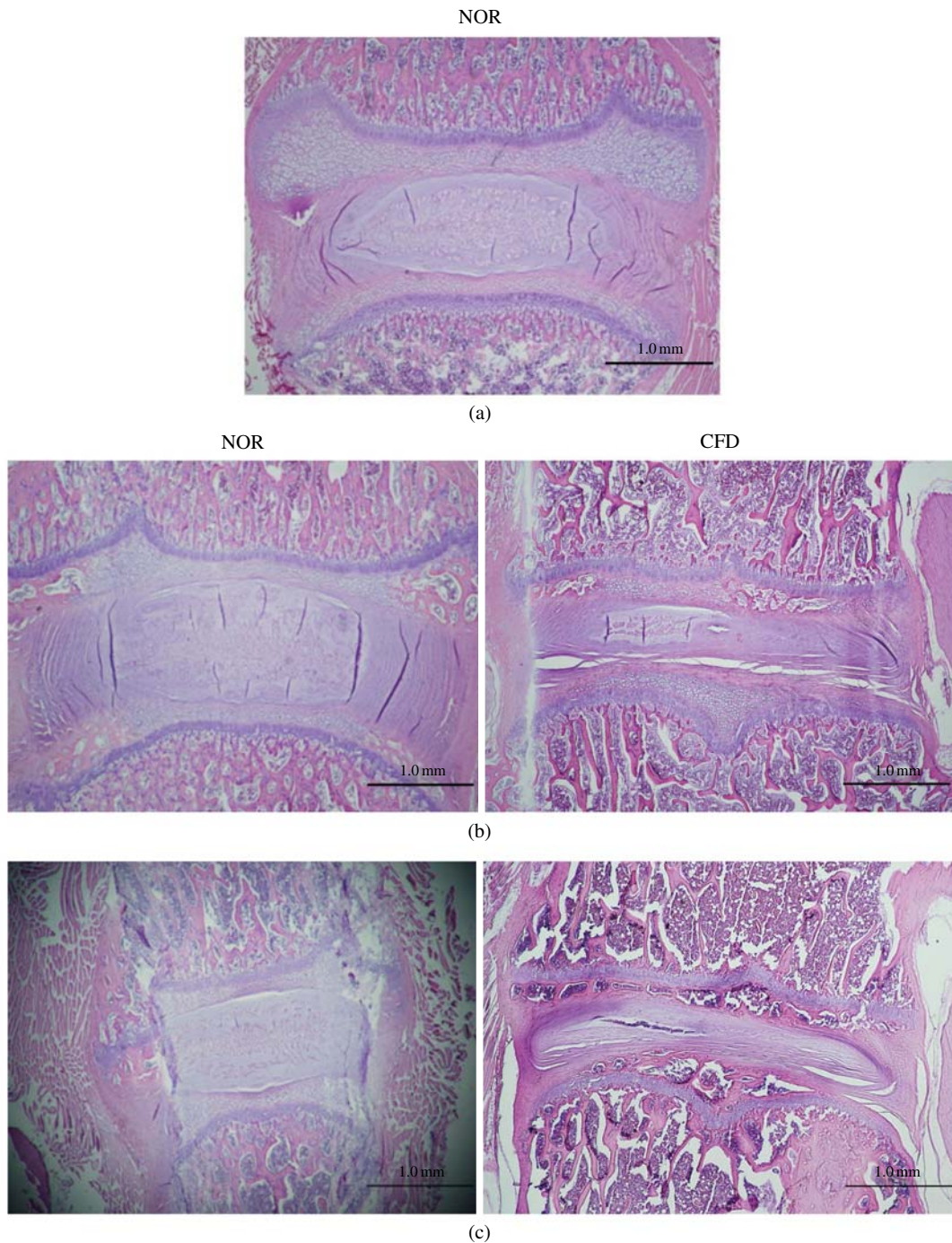


Fig. 3. Verification of typical disc degeneration in histological analysis. (a) health disc of NOR (Control) group on 0 week, (b) health disc of NOR group (left) and degenerated disc of CFD group (right) on 4 week, (c) health disc of NOR group (left) and degenerated disc of CFD group (right) on 8 week.

$$E = \frac{\sigma}{\epsilon} = \frac{F/A_0}{\Delta l/l_0} = \frac{Fl_0}{A_0 \Delta l}$$

여기서 σ 는 인장 응력, ϵ 는 인장 변형도, F 는 반력 (Reaction force), A_0 는 압축을 가한 넓이, l_0 는 모델의 높이, Δl 은 압축을 가한 모델의 변화한 높이로 정의된다.

정상군에서 구조적 탄성계수는 L6을 제외하고 유의하게 증가됨을 확인하였고 ($p < 0.05$) 칼슘제거군에서는 기계적 강도인 구조적 탄성계수의 수치가 유의하게 감소하는 것을 확인할 수 있다 ($p < 0.05$). 특히 정상군과 칼슘제거군 모두에서 L3, L4, L5의 수치가 L1, L2, L6의 수치보다 상대적으로 낮게 나타남을 확인할 수 있었다 (Fig. 2).

3. 조직학적 형태

척추사이원반의 섬유테와 수핵의 척색세포와 수분함량의 형태를 확인하기 위해 H & E 염색을 시행하였다. 0주에서는 성장기에 있는 흰쥐의 건강한 허리뼈와 척추사이원반이 관찰되었다. 4주와 8주에서는 수핵에 수분함량이 많이 사라져 형태가 변하여 함몰된 모습을 관찰할 수 있었다. 또한 섬유테에서도 수분손실이 발생하여 단단한 형태를 보이고 수핵과 섬유테의 높이가 상대적으로 줄어든 것을 확인할 수 있었다 (Fig. 3).

고 찰

본 연구에서는 사람의 성장기에 해당되는 나이인 6주령 쥐를 실험동물로 선택하여 성장기의 칼슘섭취량과 골다공증의 관계를 확인하였다 (Quinn 2005). 척추와 척추사이원반에서의 생체역학적 및 조직형태학적 상관관계 분석을 위해서 쥐를 이용한 동물 실험을 수행한 이유는 Alini 등 (2008)의 연구 결과에 의해 쥐와 사람 간의 척추하중의 직접적인 비교 분석이 가능하기 때문이다. 본 실험에서 골다공증이 일어날 것이라고 가정된 칼슘제거군은 4주차에서 뼈의 양을 나타내는 수치들인 BV/TV, Tb.Th, Tb.N

이 유의한 감소를 보였고 8주차에서는 큰 변화가 없어 4주차에 골다공증이 유발되고 8주차에는 유지하는 정도를 보였다. 따라서 성장기에 칼슘을 섭취하지 못하면 뼈손실이 크게 발생됨을 확인할 수 있었다. 정상군 0주차의 형태학적 수치에 비해 4주차의 형태학적 수치가 소폭 증가하고 8주차에서 상대적으로 많이 증가하는 모습을 보이는데 이는 4주차 실험과정이 성장기에 있어서 뼈의 흡수와 생성을 반복하는 시기에 해당되기 때문이라 생각된다 (Stephen 2001).

선행 연구 (Dai 1998a, Harada 등 1998b, Homminga 등 2001, Polikeit 등 2004, Masuoka 등 2007)에서는 하나의 운동분절에서 건강한 해면뼈와 척추사이원반을 구성하여 척추사이원반 중심의 조직학적 및 기계적 특성 변화만을 관찰하였다. 그러나, 본 연구에서는 기존 연구에서 더 나아가 L1부터 L6까지 골다공화에 따른 해면뼈의 구조적 및 기계적 특성 변화와 집중 하중을 받는 척추사이원반을 관찰하여 상호 연관성을 검토하였다. 그 결과, 허리뼈의 몇 번에서 골다공증이 발생되고 어느 방향으로 전이되는지도 분석하였다. 본 실험 결과에서는 0주, 4주, 8주의 칼슘제거군에서 L3, L4, L5의 구조적 요소가 L1, L2, L6보다 모두 낮게 평가되었고, L3, L4, L5에서 해면뼈의 강도가 다른 부분에 비해 상대적으로 약한 구조임을 관찰할 수 있었다. 이는 칼슘제거군에서 골다공화가 발생하여 허리뼈 굽이 (전만)에 의한 생체역학적 영향을 받는 중심부위인 L3, L4, L5가 L1, L2, L6보다 더 크기 때문에 사료된다. 본 연구의 결과는 기존 연구 (Sun과 Liebschner 2004)에서 70세 이상 여성의 L1, L3보다 L4의 뼈의 단단함을 나타내는 강성과 뼈가 파괴되는 힘을 나타내는 파단강도 (breaking strength)가 약하게 나타난다는 결과와 일치한다. 유한요소모델 해석을 이용하여 구조적 탄성계수는 뼈의 부피와 비슷한 형태의 그래프 곡선을 나타내어 뼈를 구성하고 있는 해면뼈의 양에 따라 값이 변하였다. 조직학적으로 관찰한 척추사이원반은 건강한 섬유테와 수핵이 관찰된 0주에서와는 달리 4주와 8주에서는 수핵의 수분손실로 인하여 다른 조직이 수핵을 침투하여 형상이 변한

모습을 관찰할 수 있다. 변성된 척추사이원반은 섬유테에서 압력의 증가와 수핵에서 압력의 감소 현상이 나타나고(Adams 등 1996) 해면뼈에 압력분포를 줄여주고 걸질뼈와 척추뒤돌기의 압력분포를 증가시킨다(Dai 1998). 이러한 결과로부터 본 연구의 가정(골다공증이 유발된 척추에서 해면뼈의 감소는 압력분포를 걸질뼈에 집중시키고 척추사이원반 섬유테에 전달되는 힘이 증가됨에 따라 척추사이원반 변성이 일어날 것이다)의 타당성을 확인하였다. 그리고 결과에서 섬유테와 수핵이 힘을 받아 전체적인 높이가 줄어든 모습을 관찰할 수 있는데 위에서 가정한 것처럼 척추에서 전달되는 힘이 섬유테에 전달되어 척추사이원반의 변성을 야기한 것으로 사료된다. 본 연구에서는 허리뼈의 모든 척추의 생체역학적 관찰과 집중하중을 받는 L4/L5, L5/L6 척추사이원반의 상호관계를 관찰하였다. 향후 허리통증에 영향을 주는 척추사이원반 변성의 명확한 실험을 위해 본 연구의 분석 결과(모든 허리뼈와 L4/L5, L5/L6의 척추사이원반)에 추가로 허리뼈의 나머지 척추사이원반을 조직학적 방법으로 관찰하여 허리통증기전과 전이에 대해 연구할 계획이다.

본 연구는 성장기 영양결핍으로 인한 척추 골다공증 발생과 척추사이원반 변성에 미치는 영향 평가를 생체역학적 및 조직형태학적 연구방법으로 정량적 및 정성적 검증을 수행한 최초의 연구라는 점에 그 의의가 있을 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Abrams SA, Stuff JE : Calcium metabolism in girls: current dietary intakes lead to low rates of calcium absorption and retention during puberty. *Am J Clin Nutr* 60: 739-743, 1994.
- Adams MA, McNally DS, Dolan P : 'Stress' distributions inside intervertebral discs. *J Bone Joint Surg* 78-B: 965-972, 1996.
- Alini M, Eisenstein SM, Ito K, Little C, Kettler AA, Masuda K, Melrose J, Ralphs J, Stokes I, Wilke HJ : Are animal models useful for studying human disc disorders/degeneration? *Eur Spine J* 17: 2-19, 2008.
- Bresnahan L, Ogden AT, Natarajan RN, Fessler RG : A biomechanical evaluation of graded posterior element removal for treatment of lumbar stenosis. *Spine* 34: 17-23, 2008.
- Dai L : The relationship between vertebral body deformity and disc degeneration in lumbar spine of the senile. *Eur Spine* 7: 40-44, 1988.
- Einhorn TA, Levine B, Michel P : Nutrition and bone. *Ortho Clin Nor Am* 21: 43-50, 1990.
- Harada A, Okuizumi H, Miyagi N, Genda E : Correlation between bone mineral density and intervertebral disc degeneration. *Spine* 23: 857-862, 1998.
- Heaney RP : Nutritional factors in osteoporosis. *Ann Rev Nutr* 13: 287-316, 1993.
- Homminga J, Weinans H, Gowin W, Felsenberg D, Huisken R : Osteoporosis changes the amount of vertebral trabecular bone at risk of fracture but not the vertebral load distribution. *Spine* 26: 1555-1561, 2001.
- Kang JD, Kim HC, Kyoung CW, Seo HC : Case-control study of risk factors of fracture due to osteoporosis. *J Korean Fracture Soc* 15 : 7-14, 2002. (in Korean)
- Kinney JH, Haupt DL, Balooch M, Ladd AJC, Ryaby JT, Lane NE : Three-dimensional morphometry of the L6 vertebra in the ovariectomized rat model of osteoporosis, biomechanical implications. *J Bone Miner Res* 15: 1981-1991, 2000.
- Lorrain J, Paiement G, Chevrier N, Lalumiere G, Laflamme GH, Caron P, Fillion A : Population demographics and socioeconomic impact of osteoporotic fractures in Canada. *Menopause* 10: 228-234, 2003.
- Markovic V, Kostial K, Sinonovic I, Brodarec A, Buzina R : Influence of calcium intake, age and sex on bone. *Calif tissue Res* 22 suppl: 293-396, 1977.
- Masuoka K, Michalek AJ, MacLean JJ, Stokes LAF, Latridis JC : Different effects of static versus cyclic compressive loading on rat intervertebral disc height and water loss in vitro. *Spine* 32: 1974-1979, 2007.
- Polikeit A, Nolte LP, Ferguson SJ : Simulated influence of osteoporosis and disc degeneration on the load transfer in a lumbar functional spinal unit. *J Biomech* 37: 1061-1069, 2004.
- Quinn R : Comparing rat's to human's age: How old is my rat in people years? *Nutrition* 21: 775-777, 2005.
- Sandler RB, Slemenda C, Laporte RE : Postmenopausal bone density and milk consumption in children and adolescence. *Am J Clin Nutr* 42: 270-274, 1985.

Sentipal JM, Wardlaw GM, Mahan J, Matkovic V : Influence of calcium intake and growth indexes on vertebral bone mineral density young females. Am J Clin Nutr 54: 425-428, 1991.

Stephen CC : Bone mechanics handbook, 2nd edi., CRC Press, Vol. 1, pp 27-33, 2001.

Suk SI : Spinal surgery, Analysis with finite element method, 2nd edi., Seoul. Newest Medical Publishing Company, pp 52-54, 2004.

Sun K, Liebschner MA : Bionmechanics of prophylactic vertebral reinforcement. Spine 29: 1428-1435, 2004.

Abstract

Evaluation of Osteoporotic Vertebral Bone and Disc Degeneration Induced by Malnutrition during Growth Period: Biomechanical and Histomorphometrical Study

Ji-Hyung Park, Dae-Gon Woo, Chi-Hoon Kim, Beob-Yi Lee¹,
Chi-Hyun Kim, Han-Sung Kim

*Department of Biomedical Engineering and Institute of Medical Engineering,
Yonsei University, Wonju, Korea*

¹*Department of Anatomy School of Medicine, Konkuk University, Seoul, Korea*

The aim of the present study is to analyze the generation of osteoporotic vertebral bone induced by malnutrition during growth period and analyze its effects for disc degeneration, based on biomechanical and histomorphometrical study.

Mechanical and histomorphological characteristics of lumbar vertebral bones and discs of rats with calcium free diet (CFD) were detected and tracked by using high resolution in-vivo micro-computed tomography (in-vivo micro-CT), finite element (FE) and histological analysis. Twenty female Sprague-Dawley rats (6 weeks old, approximate weight 170g) were randomly divided into two groups (CFD group: 10, NOR group: 10). The CFD group was maintained on a refined calcium-controlled semisynthetic diet without added calcium, to induce osteoporosis. All lumbar (L1 ~ L6) were scanned by using in vivo micro-CT with 35 μm resolution at 0, 4, 8 weeks to track the effects of CFD on the generation of osteoporosis.

The results of morphological characteristics showed that BV/TV, Tb.Th, Tb.N in CFD group were significantly decreased over time ($p < 0.05$), while those in NOR group were statistically increased over time ($p < 0.05$) in the most lumbar (L1 ~ L6). We also investigated the contrary tendency in Tb.Sp and SMI, compared to the above results in each group. In the simulated compression test using FE models, the structural effective modulus of CFD group significantly decreased ($p < 0.05$), whereas that of NOR group was statistically increased, depending on the measuring time ($p < 0.05$). The present study observed remarkable histological changes of nucleus pulposus and annulus fibrosus by water loss in CFD group, compared with NOR group.

These findings indicated that calcium insufficiency was the main factor in the generation of osteoporosis and it induced lumbar vertebral disc degeneration. This study is a valuable experiment to firstly evaluate osteoporotic vertebral bone and disc degeneration induced by malnutrition during growth period from a biomechanical and histomorphometrical point of view.

Key words : Calcium free diet, Disc degeneration, Osteoporosis, In-vivo micro-CT, Finite element analysis, Histology