

난소 절제술을 시행한 쥐와 정상 쥐에서 합성 골 재료의 이식 후 신생 골 생성 비교

이종원 · 안진수 · 안재석 · 류재준

고려대학교 임상치의학 연구소

연구목적: 난소 절제술을 시행하여 골다공증을 재연한 쥐의 두개 결합부에 골 이식시 정상 쥐와 어떠한 골 재생 능력 차이를 보이는지 비교하고자 한다.

연구재료 및 방법: 20마리의 쥐를 2 그룹으로 각 10마리씩 나눈다. 그 중 10마리만 난소 절제술을 시행하고 7주 후 20마리 모두 두개골에 8 mm 직경의 임계 크기의 결합을 형성한 후 OSTEON™을 이식한다. 그 후 4주 후 모두 희생하여 조직학적 조각을 형성하여 방사선학적 및 조직형태학적 분석을 시행한다.

결과: Ovariectomy & OSTEON™군과 Non-Ovariectomy & OSTEON™군의 신생골 형성 넓이의 효과 검증 결과, Ovariectomy & OSTEON™군은 평균 넓이는 $19660.93 \pm 17207.68 \mu\text{m}$ 으로 Non-Ovariectomy & OSTEON™군의 $69793.57 \pm 33227.17 \mu\text{m}$ 에 비해 적어진 것으로 나타났으며, 이러한 차이는 통계적으로도 유의한 것으로 나타났다 ($t = -4.237, P < .01$). 따라서 Ovariectomy & OSTEON™군의 new bone formation 넓이가 Non-Ovariectomy & OSTEON™군에 비해 작아진 것을 알 수 있다.

Ovariectomy & OSTEON™군과 Non-Ovariectomy & OSTEON™군의 알칼리 포스파타아제의 효과 검증 결과, Ovariectomy & OSTEON™군은 ALP는 평균 $163.90 \pm 61.44 \text{ IU/L}$ 으로 Non-Ovariectomy & OSTEON™군의 $58.40 \pm 18.30 \text{ IU/L}$ 에 비해 크게 높아진 것으로 나타났으며, 이러한 차이는 통계적으로도 유의한 것으로 나타났다 ($t = 5.204, P < .001$). 따라서 Ovariectomy & OSTEON™군의 ALP 수치가 Non-Ovariectomy & OSTEON™군 ALP 수치보다 높아진 것을 알 수 있다.

결론: 본 실험을 통해 골다공증이 유발되면 골 재생능력이 감소한다는 것을 결론지을 수 있다. (대한치과보철학회지 2008;46:335-342)

주요단어: 난소 절제술, 신생골 형성, 임계 크기의 결합

서론

골다공증 (Osteoporosis)은 골의 구조 변화와 양의 감소로 인해 골이 약해져서 부서지기 쉽고, 골이 소실되는 질환이다.¹ 골다공증은 폐경기 이후의 여성, 특히 50~65세 여성의 경우 약 25%에서 나타나는데, 난소의 기능 정지로 인해 에스트로겐 분비가 감소 혹은 정지하여 골 조직이 미세 구조적으로 성질이 저하되고 골질이 감소되는 특징을 보이는 골격의 기능 이상이다.² 에스트로겐이 폐경기 이후 골 소실을 방지하고 골의 항상성을 조절하는 역할을 한다고 알려져 왔다.^{3,4} 따라서 골다공증을 예방하고 폐경기 증상을 치료하기 위한 방법으로 에스트로겐 호르몬을 사용하기도 한다.^{5,6}

이러한 골다공증 환경이 구강 내 골 소실을 유발하는지에 대한 의견은 아직도 불분명하다.⁷ 그러나 몇몇 실험과 임상적 연구에서 골다공증인 환자가 구강 내 골 조직에서도 그 증상이 나타났다는 것을 발표한 바 있다.⁸ 또한 그들의 연구에 의하면 폐경기 여성에서 치아 상실 유발이 전신적 골질의 감소와 연관성이 있다고 보고하였다.^{9,10} Kribbs는 골다공증인 환자들이 같은 나이의 정상인 사람들보다 초기 치아 상실 위험이 높았다고 보고하였다.¹¹ 또한 von Wewern 등은 에스트로겐 분비 감소가 치주 질환을 촉진하는 요소로 작용하여 치조골 소실을 유발한다고 보고하였다.¹²

골다공증 환자들의 구강 내 골 소실 및 치아 상실 등으로 인한 기능적, 심미적 불편함을 해결하기 위해서는 임

교신저자: 이종원

152-773 서울시 구로구 신도림동 641 현대아파트 102동 1607호 031-412-5370: e-mail, guy-jw@hanmail.net

원고접수일: 2008년 4월 8일 / 원고최종수정일: 2008년 5월 30일 / 원고채택일: 2008년 8월 18일

플랜트 식립 및 골 이식 등의 치료가 필요한 실정이다. 골 이식에서 먼저 선택될 수 있는 골 재료는 자가 골일 것이다. 자가 골은 구강 내, 외에서 모두 채취가 가능하다. 자가 골의 장점은 혈관 재생이 빠르고, 감염의 위험이 적고, 자가 면역 작용이 가능하고, 추가적인 비용이 적게 든다는 것이다. 하지만 이러한 장점에도 불구하고 골 채취량의 한계와 공여부의 불편함, 긴 수술시간, 추가적인 수술에 대한 환자들의 공포 등의 이유로 자가 골 이식술은 제한적으로 시행되고 있다. 따라서 자가 골 대신 사용하기 간편하고 양에 제한을 받지 않는 다양한 인조 골 (동종 골, 이종 골, 합성 골)이 사용되고 있는 실정이다. 이 중 임상적으로 합성 골이 골 결손 부를 재건하거나 흡수된 치조제를 증강시키고자 할 때 골 재생을 위한 비계로 자주 사용한다.

하지만 앞서 언급한 바와 같이 정상인들과 달리 골다공증인 사람들은 골 조직의 반응 정도가 낮다고 보고되고 있으며 그 효과도 떨어질 수 있다는 평가를 받고 있다. 이러한 이유 때문에 임상적으로 적용하기 위해서는 이를 실험을 통해 확인할 필요가 있으리라 사료된다.

따라서 본 연구의 목적은 난소 절제술을 시행한 쥐에서 7주가 지나서 어느 정도 골다공증이 이루어진 후 쥐 두개골에 한 개의 임계 크기의 결함을 형성하여 합성 골을 이식해서 정상적인 쥐와 골 재생 능력 차이를 검증하고자 한다. 이 실험의 결과를 토대로 골다공증인 환자에게 골 이식할 때의 한계점 및 추가적인 고려사항을 제시하고자 함이다.

연구재료 및 방법

연구 동물

본 연구는 고대 안산 병원 동물 실험실에서 실험한 것이다. 7~8주된 암컷 쥐 (SD rat, 230~270 g)를 선택하였다. 본 실험에 들어가기 전에 우리에서 약 2주 동안 순응 기간을 거쳐서 급격한 환경 변화에 대한 스트레스와 수술 후 받을 수 있는 스트레스를 최대한 분산하여서 실험에 대한 변수를 최소화 시켰다. 총 20마리의 쥐 중 10마리는 실험 군으로 난소 절제술을 시행하였고 나머지 10마리는 대조군으로 난소 절제술을 시행하지 않았다.

실험쥐의 두개골에 8 mm 직경의 임계 크기의 결함을 한 개씩 중앙부에 형성한다.¹³ 임계 크기의 결함이란 각 동물의 종에 따라 일정기간 후에도 치유되지 않는 골 결함의 최소 크기를 의미한다.¹⁴

두개골에 형성된 결함 부에는 합성골인 OSTEON™을

이식하였다. 따라서 그룹 1은 난소 절제술을 시행하고 OSTEON™을 이식하였고, 그룹 2는 난소 절제술을 시행하지 않고 OSTEON™을 이식하였다.

연구 재료

OSTEON™ (Genoss Co, Seoul, Korea)은 인체의 뼈와 유사한 구조를 가지며 골 전도성을 지닌 합성 골로 하이드록시아파타이트 (HA)와 베타 트리칼슘 포스페이트 (β -TCP)가 각각 70%와 30%비율로 이루어져 있다. 본 실험에서는 입자크기가 0.5-1.0 mm인 것을 사용하였다.

난소 절제술

9~10주 된 암컷 쥐 (350 g)를 전신마취를 하기 위해 케타민 (0.4 ml/kg; Yu-han Co, Seoul, Korea)과 럼폰 (0.2 ml/kg; Bayer Co, Seoul, Korea)을 혼합하여 근육 주사로 주입하였다. 마취된 쥐의 복 측을 상부로 가게 눕힌 후 양측에 있는 난소를 제거하기 위해 각각 약 2 cm 정도의 절개선을 그어 난소를 노출시켰다 (Fig. 3). 난소를 절개할 때 연결된 혈관이 터지지 않도록 조심스럽게 절찰 하여 난소를 제거한다. 그 후 복강 내로 혈관을 재 위치시킨 후 절개선을 봉합해서 난소 절제술을 완료한다. 수술 후 감염 방지를 위해서 젠타마이신 (0.05 mL/mg; Daesung Labs Co, Korea)을 근육 주사로 주입하였다.

골 이식

난소 절제술을 시행한 후 7주가 경과한 시기에 총 20마리의 쥐에 골 이식수술을 시행하였다. 먼저 난소 절제술 시와 같은 방법으로 전신마취 시킨 후 머리부위를 제모하고 지혈을 목적으로 2%리도카인 (1:10만 에피네프린 함유)을 주입하고 베타딘으로 소독 처리하였다. 절개선은 두개골을 노출시키기 위해 머리 중앙부에 길게 형성하였다. 피부와 골막을 조심스럽게 찢어지지 않도록 거상하여 양측으로 견인하였다. 노출된 두개골 중앙부에 직경 8 mm의 트레파인 드릴을 이용하여 주수 하에 원형의 임계 크기의 결함을 형성하였다 (Fig. 4). 그 후 약 1.25 g의 OSTEON™을 이식하였다 (Fig. 5). 이식이 완료된 후 이식된 골편이 이탈하지 않도록 주의하여 골막과 피부를 각각 층별로 봉합을 하여 수술을 마무리 하였다. 또한 수술 후 감염예방을 위해 젠타마이신을 근육 주사로 주입하였다. 골 이식 수술을 한 20마리의 쥐는 4주 후 희생하였다. 김등¹⁵의 기존 쥐 실험에서 골 이식 후 4주째에 난소

절제술 시행한 쥐와 정상 쥐 간에 신생 골 차이가 비교적 크게 나타난다는 결론을 바탕으로 희생 시기를 결정하였다.

조직형태학적 분석

쥐를 희생시켜서 골 이식한 결합 부위를 깨지지 않도록 주의해서 주위 자가 골 일부를 넓게 포함시켜서 골 샘플을 채취하였다 (Fig. 6). 이 골 샘플은 72시간동안 10% 포르말린에 고정시키고 4시간 동안 질산으로 탈회 처리를 시행하였다. 그 후 각 골 조직들은 파라핀에 묻어서 약 4 μm 두께로 시상 축으로 절단하였다. 이 슬라이스는 HE로 염색하고 광학 현미경으로 관찰하였다.

컴퓨터 프로그램을 이용한 조직 구조적 분석을 시행하여 결합 부위에 생성된 골 양을 측정하였다. 각 조직 시편의 이미지를 분석하였다. 이미지 촬영은 올림푸스 디지털 현미경 카메라 (OLYMPUS, BX51)를 이용하였고 Image Pro Plus 5.1 (Media Cybernetics, LP, Silver Spring, MD)을 이용해서 분석했다.

알칼리 포스파타아제 분석

쥐를 희생하는 날 혈액 샘플 (약 2 ml)을 채취하여 원심 분리 (PLACON™, Oscotec; Korea)를 시행하여 혈장 성분만을 추출하여 알칼리 포스파타아제 (ALP)의 혈장 농도를 측정하였다.

통계 분석

통계처리는 SPSS 12.0 (SPSS for Windows version, Seoul, Korea)을 사용하였고, 분석방법은 난소 절제술을 시행한 후 OSTEON™을 이식한 군 (OVX & OSTEON™)과 난소 절제술을 시행하지 않고 OSTEON™을 이식한 군 (NOVX & OSTEON™)의 신생 골 넓이 비교, 알칼리 포스파타아제의 수치 비교는 t-test를 실시하였으며, 신생 골 넓이와 알칼리 포스파타아제의 관련성을 살펴보기 위해 상관분석 (Correlation Analysis)을 실시하였다.

통계분석의 유의성 검증은 P < .05 수준에서 실시하였다.

결과

광학 현미경으로 확인한 조직사진에서 난소 절제술을 시행한 후 OSTEON™을 이식한 군은 자가골 주위와 이식된 골 주변에도 약간의 골이 생성되었음을 알 수 있다. (Fig. 7, 8) 하지만 난소 절제술을 시행하지 않고 OSTEON™을 이식한 군에서 관찰되는 골의 양 (Fig. 9, 10)과 비교하면 적다는 것을 확인 할 수 있다.

Table I에서 보는 바와 같이 난소 절제술을 시행한 후 OSTEON™을 이식한 군과 난소 절제술을 시행하지 않고 OSTEON™을 이식한 군과의 신생 골 넓이의 효과 검증 결과, 난소 절제술을 시행한 군은 평균 넓이는 19660.93 ± 17207.68 μm으로 난소 절제술을 시행하지 않은군의

Table I. Results for New Bone Formation

Group	N	Average	SD	t	P
OVX & OSTEON™	10	19660.93	17207.68	-4.237	.001
NOVX & OSTEON™	10	69793.57	33227.17		

(Unit: μm)

Table II. Results for Alkaline Phosphatase level

Group	N	Average	SD	t	P
OVX & OSTEON™	10	163.90	61.44	5.204	.000
NOVX & OSTEON™	10	58.40	18.30		

(Unit: IU/L)

Table III. Correlation Analysis between New Bone Formation and Alkaline Phosphatase level

	Alkaline Phosphatase level
New Bone Formation area	-0.633 (P = .003)

69793.57 ± 33227.17 μm에 비해 적어진 것으로 나타났으며, 이러한 차이는 통계적으로도 유의한 것으로 나타났다 ($t = -4.237, P < .01$). 따라서 난소 절제술을 시행한 후 OSTEON™을 이식한 군의 신생 골 넓이가 난소 절제술을 시행하지 않고 OSTEON™을 이식한 군에 비해 작아진 것을 알 수 있다.

난소 절제술을 시행한 후 OSTEON™을 이식한 군과 난소 절제술을 시행하지 않고 OSTEON™을 이식한 군과의 알칼리 포스파타아제의 효과 검증 결과, Table II에서 보는 바와 같이 난소 절제술을 시행한 후 OSTEON™을 이식한 군은 알칼리 포스파타아제는 평균 163.90 ± 61.44IU/L으로 난소 절제술을 시행하지 않고 OSTEON™을 이식한 군의 58.40 ± 18.30IU/L에 비해 크게 높아진 것으로 나타났으며, 이러한 차이는 통계적으로도 유의한 것으로 나타났다 ($t = 5.204, P < .001$). 따라서 난소 절제술을 시행한 후 OSTEON™을 이식한 군의 알칼리 포스파타아제 수치가 난소 절제술을 시행하지 않고 OSTEON™을 이식한 군 알칼리 포스파타아제 수치보다 높아진 것을 알 수 있다.

신생 골 넓이와 알칼리 포스파타아제과의 관련성을 살펴보기 위해 상관분석을 실시한 결과, Table III과 같이 신생 골 넓이와 알칼리 포스파타아제 간에는 부(-)의 유의한 상관관계($r = -.633, P < .01$)를 보이는 것으로 나타났다.

고찰

최근 임플란트 식립 시에는 현재 환자 상태에 따른 골에 타협하여 식립 하고 비정상적인 상 하악 관계를 초래하는 것을 방지하기 위하여 이상적인 보철물 제작과 정

상적인 상 하악 관계를 얻을 수 있도록 임플란트 식립 시 골이 부족하다면 추가적으로 골을 이식하는 술식이 많이 사용되고 있다. 그에 따라 골의 종류, 사용법, 골 이식 시 적응증, 금기증, 고려사항등 골 이식에 대한 관심이 높아지고 있는 것이 사실이다. 서론에서 언급한 바와 같이 자가골, 동종골, 이종골, 합성 골등이 사용되는데 본 실험에서는 감염 위험도 적고 비교적 가격도 저렴한 이유로 보편적으로 사용되고 있는 합성 골을 선택하여 실험하게 되었다.

본 연구는 약 8주된 20마리의 쥐 중 10마리를 선택하여 인위적으로 골다공증을 유발하기 위해 난소 절제술을 시행하였고 두개골 중앙부에 한 개의 8 mm 직경의 임계 크기의 결함을 형성하고 합성 골을 이식하여서 난소 절제술을 시행하지 않은 정상 쥐와 골 재생 반응을 관찰하여 비교하는 실험이다. 본 연구의 의미는 쥐를 대상으로 한 실험을 통해 임상적으로 골다공증이 있는 환자와 정상인간에 어떠한 골 반응 차이를 보일 것이며, 이에 따라 우리는 어떻게 대처하고 무엇을 고려해야 할 것인가에 대한 답을 얻고자 하는 것이다.

골다공증은 뼈의 크기나 용적은 같아도 뼈의 질량 자체가 매우 적어진 상태다. 이런 상태는 호르몬 질환 등 여러 질환의 증세로도 생기지만 보통은 뼈의 노화현상으로 생긴 것이다. 골질의 감소는 당류부신피질호르몬의 과용, 만성 간질환, 알코올 중독, 해파린 투여 후에 나타난다. 가장 많이 발생하는 연령층은 폐경 후 여성들이고 그 다음은 남녀 모두 노인으로 노인성골다공증이다. 폐경기 이후에 찾아오는 골다공증은 생리가 멎고 여성호르몬인 에스트로겐 분비가 줄어들면서 바로 진행된다. 에스트로겐 분비 감소는 골 대사의 에스트로겐 조절 인자들의 메커니즘과 관련이 있다. 에스트로겐 결핍 시에

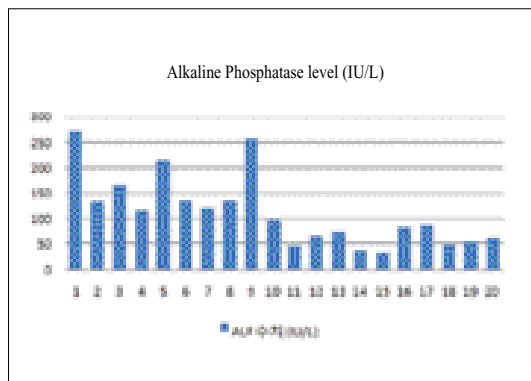


Fig. 1. Alkaline Phosphatase level (Number 1~10 rat was ovariectomized).

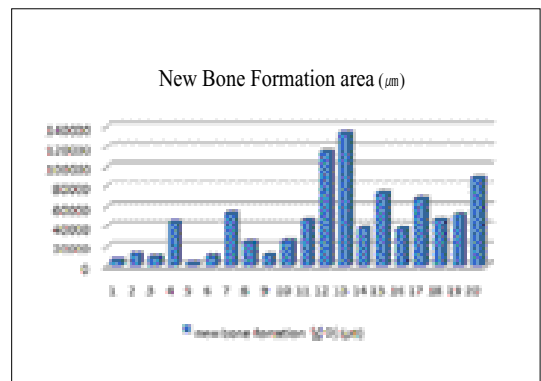


Fig. 2. New Bone Formation area (Number 1~10 rat was ovariectomized).

는 2개의 주요 골 분자인 Receptor Activator of Nuclear factor Kappa β Ligand (RANKL)와 Osteoprotegerin (OPG)이 감소하여 골 흡수 인자인 인터루킨-6, 인터루킨-1의 작용으로 파골세포적 골 흡수를 야기한다. 최근 RANKL-OPG의 연결 axis가 골 재형성에서 중요한 역할을 하고 있다는 것이 밝혀졌다.¹⁶ Bell 등에 의하면 조골세포에서 생성되는 RANKL가 파골 세포의 수용체인 RANK와 결합하여 파골세포가 분화되는데, 조골세포에서 생성되는 OPG가 RANKL와 결합하여 RANKL-RANK 결합을 차단하게 되어 파골세포 형성과 골 흡수 작용을 억제한다고 보고하였다. OPG는 에스트로겐, 골 형태 단백질, T-GFb 등에 반응하여 조골세포에서 형성된다.¹⁷

여러 연구에서 골다공증과 구강 내 골 흡수의 관계에 대해서 조사하여 치주골 흡수가 건강한 사람보다 골다공증 환자에서 더 많이 나타난다는 결과를 보고하였다.^{18,20} Cao 등²²은 난소 절제술을 시행한 후 피질 골과 골 기둥의 양이 감소한다고 보고하였으며, 난소 절제술의 영향으로 하악골과 경구개로 칼슘이 침착되는 양이 감소한다고 발표하였다. Tanaka 등²³은 난소 절제술을 시행한 쥐에서 상악 구치부를 발치한 후 치유 과정에서 골 흡수양이 골 생성양보다 많기 때문에 새로운 골 생성 양이 현저히 줄어들었다고 보고한 바 있다. Bae 등²⁴의 발표에 의하면 30세의 골다공증 여성과 50세의 정상적인 여성의 골 흡수양이 거의 같고, 50세의 폐경 여성과 70세 여성이 거의 같다는 조사를 발표하였으며 이를 바탕으로 골 흡수양은 연령보다도 난소의 기능 소실 여부가 더 큰 영향을 미친다고 보고하였다. 또한 Wactawski-Wende 등¹³의 보고에 따르면 골다공증과 치주염의 연관성이 분명하게 보고되었으며, Duarte 등²⁵의 실험 데이터로 에스트로겐 결핍 상태에서 치주염의 진행이 빠르다는 것을 알 수 있다.

본 실험에서 난소 절제술을 시행하여 인위적으로 실험 쥐를 골다공증을 유발한다는 것을 전제로 하였다. 이를 증명하는 방법은 여러 가지가 있지만 본 연구에서는 실험 쥐를 희생시킬 때 채취한 혈액 샘플을 통해 혈장 내 알칼리 포스파타아제 수치를 비교하여 증명하고자 하였다. 앞서 제시한 Table II와 Fig. 1에서 난소 절제술을 시행한 쥐에서 알칼리 포스파타아제 수치가 높게 나타나는 것을 통해 골다공증이 유발되었음을 확인하였다. 이는 기존의 몇몇 연구의 결과를 전제로 하였다.^{25,26} 또한 Table III을 통해 알칼리 포스파타아제의 증가와 신생 골간에 반비례적인 상관관계를 확인할 수 있었다.

본 실험의 결과만을 바탕으로 난소 절제술을 시행하여 7주가 지난 후 골다공증이 유발된 쥐에서는 신생 골이 정상 쥐에 비해서 적게 나타난다는 결론을 내릴 수 있다. 이

는 Fig. 2를 통해 그 차이를 확인할 수 있고 앞서 Table I에서 통계분석을 통해 검증한 바 있다.

이와 같은 결론을 토대로 임상에 적용한다면 정상인에 비하여 노화로 인한 노인성 골다공증이나 폐경기 이후 찾아오는 여성 골다공증을 앓는 환자의 골 평가 및 골 이식시 신생골 재생능력이 저하 될 것을 예상해야 한다. 따라서 임상 가들은 정확한 문진이나 진단을 통해 환자의 전신 상태를 정확히 파악해야 할 것이다. 또한 임플란트 식립이나 골 재생 유도등의 골 재생 술식 시에 정상인에 비해 한계가 있다는 것을 직시하고 그 밖에 다른 부가적인 접근등이 필요할 것이라 사료된다. 그 중에서도 골 재생을 촉진 할 수 있는 고 혈소판함유 혈장 (PRP)이나 골 형태재생 단백질 (BMP) 등을 적용한다면 더 좋은 결과를 보일 것이다. 다양한 실험에서 고 혈소판함유 혈장은 많은 양의 성장 인자를 함유하고 있기 때문에 여러 종류의 골 이식시 함께 적용하여 이식된 골질을 향상시키고 빠른 골 재생을 유발했다고 보고하였다.^{27,28} 또한 골 형태재생 단백질 적용으로 골질 향상과 높은 골 재생력이 입증된 바 있다.²⁹⁻³²

결론

본 실험에서, 총 20마리의 10주된 쥐 중 10마리에 난소 절제술을 시행하여 7주 후 골다공증을 유발한 상태에서 두개골에 8 mm 직경의 임계 크기의 결합을 형성하여 OSTEON™를 이식한 후 4주 후에 희생하여 신생 골을 확인한 결과 정상 쥐에 비해 유의한 차이를 보일 정도로 적게 관찰되었다. 따라서, 본 실험을 통해 골다공증이 유발되면 골 재생능력이 감소한다고 볼 수 있다.

참고문헌

1. Kruger GO. Textbook of Oral and Maxillofacial Surgery. St Louis, MO, Mosby, 1984.
2. Kanis JA, Melton LJ 3rd, Christiansen C, Johnston CC, Khaltaev N. The diagnosis of osteoporosis. J Bone Miner Res 1994;9:1137-41.
3. Eriksen EF, Colvard DS, Berg NJ. Evidence of estrogen receptors in normal human osteoblast-like cells. Science 1988;241:84-6.
4. Lindberg MK, Erlandsson M, Alatalo SL, Windahl S, Andersson G, Halleen JM, Carlsten H, Gustafsson JA, Ohlsson C. Estrogen receptor alpha, but not estrogen receptor beta, is involved in the regulation of the OPG/RANKL (osteoprotegerin / receptor activator of NF-kappa B ligand) ratio and serum interleukin-6 in male mice. J Endocrinol

- 2001;171:425-33.
5. Pacifici R. Is there a causal role for IL-1 in postmenopausal bone loss? *Calcif Tissue Int* 1992;50:295-9.
 6. Rodan GA, Martin TJ. Therapeutic approaches to bone diseases. *Science* 2000;289:1508-14.
 7. Burg MA, Fraser K, Gui S, Grant K, Kosch SG, Nierenberg B, Oyama O, Pomm H, Sibille K, Spruill T, Swartz V. Florida Behavioral Health Research Consortium. Treatment of menopausal symptoms in family medicine settings following the Women's Health Initiative findings. *J Am Board Fam Med* 2006;19:122-31.
 8. Miller SC, Hunziker J, Mechman M, Wronsky TJ. Intermittent parathyroid hormone administration stimulus bone formation in the mandibles of aged ovariectomized rats. *J Dent Res* 1997;76:1471-6.
 9. Von Wöern N, Klausen B, Kollerup G. Osteoporosis: a risk factor in periodontal disease. *J Periodontol* 1994;65:1134-8.
 10. Kribbs PJ, Chesnut CH 3rd, Ott SM, Kilcoyne RF. Relationships between mandibular and skeletal bone in an osteoporotic population. *J Prosthet Dent* 1989;62:703-7.
 11. Kribbs PJ. Comparison of mandibular bone in normal and osteoporotic women. *J Prosthet Dent* 1990;63:218-22.
 12. von Wöern N, Klausen B, Kollerup G. Osteoporosis: a risk factor in periodontal disease. *J Periodontol* 1994;65:1134-8.
 13. Wactawski-Wende J, Grossi SG, Trevisan M, Genco RJ, Tezal M, Dunford RG, Ho AW, Hausmann E, Hreshchyshyn MM. The role of osteopenia in oral bone loss and periodontal disease. *J Periodontol* 1996;67:1076-84.
 14. Takagi K, Urist MR. The reaction of the dura to bone morphogenetic protein (BMP) in repair of skull defects. *Ann Surg* 1982;196:100-9.
 15. Schmitz JP, Hollinger JO. The critical size defect as an experimental model for craniomandibulofacial nonunions. *Clin Orthop Relat Res* 1986;205:299-308.
 16. Kim SY, Kim SG, Lim SC, Bae CS. Effects on Bone Formation in Ovariectomized Rats After Implantation of Tooth Ash and Plaster of Paris Mixture. *J Oral Maxillofac Surg* 2004;62:852-7.
 17. Eghbali-Fatourehchi G, Khosla S, Sanyal A, Boyle WJ, Lacey DL, Riggs BL. Role of RANK ligand in mediating increased bone resorption in early postmenopausal women. *J Clin Invest* 2003;111:1221-30.
 18. Gustafsson BI, Thommesen L, Stunes AK, Tommeras K, Westbroek I, Waldum HL, Slørdahl K, Tamburstuen MV, Reseland JE, Syversen U. Serotonin and fluoxetine modulate bone cell function in vitro. *J Cell Biochem* 2006;98:139-51.
 19. Gilles JA, Cames DL, Dallas MR, Holt SC, Bonewald LF. Oral bone loss is increased in ovariectomized rats. *J Endod* 1997;23:419-25.
 20. Loza JC, Carpio LC, Dziak R. Osteoporosis and its relationship to oral bone loss. *Curr Opin Periodontol* 1996;3:27-33.
 21. Hara T, Sato T, Oka M, Mori S, Shirai H. Effects of ovariectomy and/or dietary calcium deficiency on bone dynamics in the rat hard palate, mandible and proximal tibia. *Arch Oral Biol* 2001;46:443-51.
 22. Cao T, Shirota T, Yamazaki M, Ohno K, Michi KI. Bone mineral density in mandibles of ovariectomized rabbits. *Clin Oral Implants Res* 2001;12:604-8.
 23. Tanaka S, Shimizu M, Debari K, Furuya R, Kawawa T, Sasaki T. Acute effects of ovariectomy on wound healing of alveolar bone after maxillary molar extraction in aged rats. *Anat Rec* 2001;262:203-12.
 24. Bae CS. Osteoporotic changes after ovariectomy in rats. *Kor J Vent Ciln Med* 2000;17:212-7.
 25. Duarte PM, de Assis DR, Casati MZ, Sallum AW, Sallum EA, Nociti FH Jr. Alendronate may protect against increased periodontitis-related bone loss in estrogen-deficient rats. *J Periodontol* 2004;75:1196-202.
 26. Nagareddy PR, Lakshmana M. Withania somnifera improves bone calcification in calcium-deficient ovariectomized rats. *J Pharm Pharmacol* 2006;58:513-9.
 27. Marx RE, Carlson ER. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Pathol Oral Radiol Endod* 1998;85:638-46.
 28. Kim SG, Kim WK, Park JC, Kim HJ. A comparative study of osseointegration of Avana Implants in a demineralized freeze-dried bone alone or with platelet-rich plasma. *J Oral Maxillofac Surg* 2002;60:1018-25.
 29. Camargo PM, Lekovic V, Weinlaender M, Vasilic N, Madzarevic M, Kenney EB. Platelet-rich plasma and bovine porous bone mineral combined with guided tissue regeneration in the treatment of intrabony defects in humans. *J Periodontol* 2002;37:300-6.
 30. J. Lan, Z.F. Wang, B. Shi, H.B. Xia and X.R. Cheng. The influence of recombinant human BMP-2 on bone implant osseointegration: biomechanical testing and histomorphometric analysis. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2007;36:345-9.
 31. Inoda H, Yamamoto G, Hattori T. rh-BMP2-induced ectopic bone for grafting critical size defects: a preliminary histological evaluation in rat calvariae. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2007;36:39-44.
 32. Matsumoto A, Yamaji K, Kawanami M, Kato H. Effect of aging on bone formation induced by recombinant human bone morphogenetic protein-2 combined with fibrous collagen membranes at subperiosteal sites. *J Periodontol* 2001;36:175-82.

FIGURES

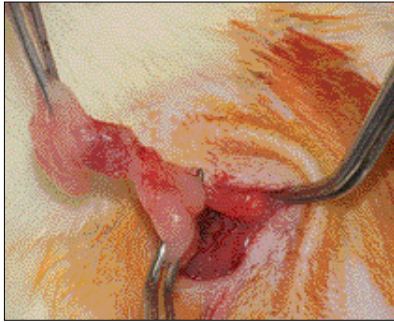


Fig. 3. Rats were Ovariectomized.

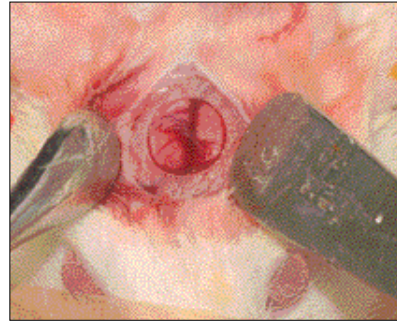


Fig. 4. Defect is critical size.

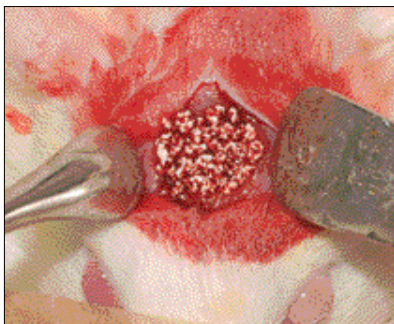


Fig. 5. Alloplastic Bone Material (OSTEON™) is grafted.

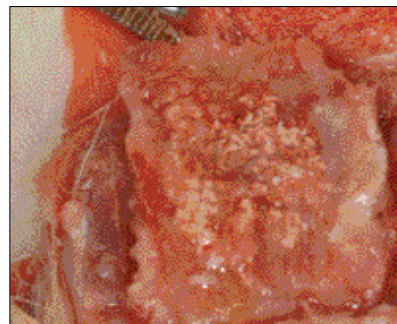


Fig. 6. Rats were Sacrificed and Bone is grafted. Sample was taken.

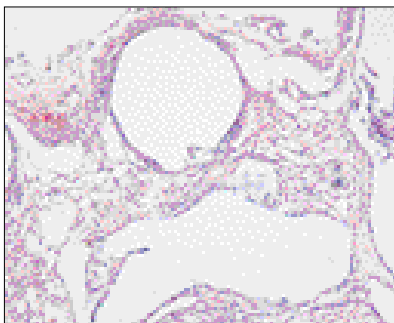


Fig. 7. OVX & OSTEON™group (×200) (This is OSTEON™ bone particle area.)

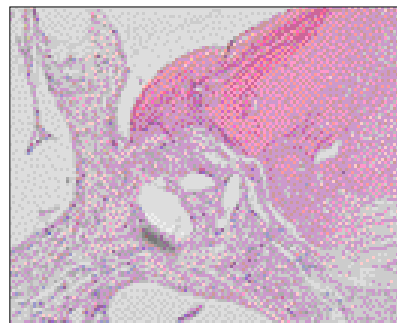


Fig. 8. OVX & OSTEON™group (×200) (This is host bone area.)

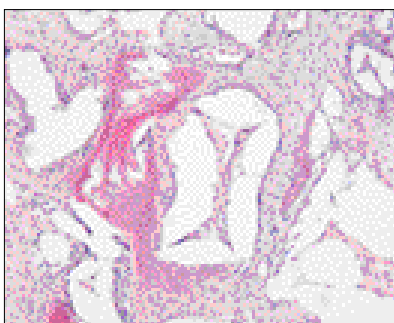


Fig. 9. NOVX & OSTEON™group (×200) (This is OSTEON™ bone particle area.)

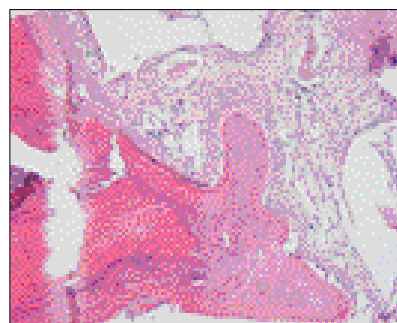


Fig. 10. NOVX & OSTEON™group (×200) (This is host bone area.)

Comparison on New Bone Formation Between Ovariectomized Rats and Normal Rats After Graft of Alloplastic bone material

Jong-Won Lee, DDS, Jin-Su Ahn, DDS, MSD, PhD, Jae-Seok Ahn, MPH, Jae-Jun Ryu, DDS, MSD, PhD
Korea University Institute for Clinical Dental Research

Purpose of study: To compare on bone formation between ovariectomized rats and normal rats after graft of alloplastic bone material.

Material and methods: Twenty female rats were used in this study. They were divided into two groups by each ten rats. One group was ovariectomized and grafted alloplastic bone material. Other group was non-ovariectomized and grafted alloplastic bone material. After a healing time of 4 weeks, the animals were sacrificed and decalcified preparations were routinely processed for histologic evaluations.

Results: Ovariectomy group was significantly lesser bone formation compared with non-ovariectomy group. **Conclusions:** Ovariectomy acts as a negative factor in new bone formation.

Key words: Ovariectomy, New bone formation, Critical sized defect

Corresponding Author: Jong-Won Lee

102-1607, Hyundai APT, 641 Shindorim-dong, Guro-gu, Seoul, 152-773, Korea

+82 31 412 5370: e-mail, guy-jw@hanmail.net

Received April 8, 2008: Last Revision May 30, 2008: Accepted August 18, 2008.