

# Mælk eller yoghurt - er der forskel på, hvor godt de styrker dine knogler?

Et forskningsstudie har undersøgt, hvordan henholdsvis calciumberiget mælk og yoghurt påvirker mineralisering og struktur af knogler i en rottemodel.

Af Hanne Christine Bertram<sup>1</sup>,  
Weiwei He<sup>1</sup>, Axel K. Hansen<sup>2</sup>,  
Dennis Sandris Nielsen<sup>3</sup>, Henrik  
Jørgen Andersen<sup>4</sup>, Nina Kølln  
Wittig<sup>5</sup> og Henrik Birkedal<sup>5</sup>

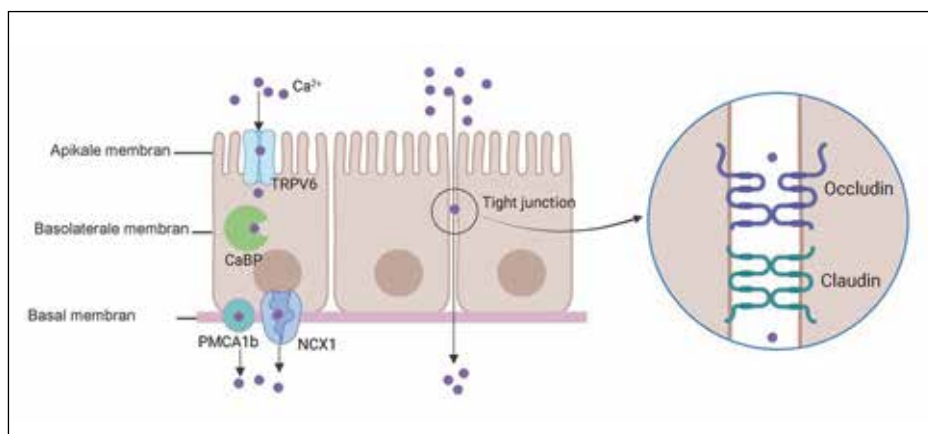
- <sup>1</sup> Institut for Fødevarer, Aarhus Universitet  
<sup>2</sup> Institut for Veterinær og Husdyrvidenskab,  
Københavns Universitet  
<sup>3</sup> Institut for Fødevarevidenskab,  
Københavns Universitet  
<sup>4</sup> Arla Foods a.m.b.a.  
<sup>5</sup> Institut for Kemi, iMAT og iNANO,  
Aarhus Universitet

Calcium er det mineral, der findes allermest af i vores krop. Kroppen skal bruge calcium som byggesten til opbygning af især knogler og tænder, hvor calcium giver styrke og rigiditet. Derudover indgår calcium også i en lang række vigtige fysiologiske processer. Derfor er calcium et vigtigt mineral, som vi ikke kan undvære. I en typisk vestlig kost er mejeriprodukter den langt væsentligste kilde til calcium. En dansk kostundersøgelse har vist, at mælk og mælkeprodukter bidrager med omtrent 60 procent af danskernes calciumindtag [1], mens dette tal på globalt plan er 49 procent [2]. Dermed kommer mejeriprodukter ind på en suveræn førsteplads som vigtigste kilde til calcium. Men betyder det noget, om man spiser yoghurt eller drikker mælk i forhold til at styrke opbygningen af sine knogler? Det satte vi os for at undersøge.

## Calcium-absorption

Calcium-absorptionen i tarmen sker ved to processer; en aktiv og en passiv proces, der også betegnes henholdsvis transcetellær og paracellær transport.

Den transcetellære transport er en



Figur 1. Illustration af de molekylære mekanismer involveret i optagelse af calcium.

aktiv transportvej, der afhænger af calciumkanaler og kræver energi. Calcitriol (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>), den aktive form af D-vitamin, kan regulere calcium transcetellær transport ved at aktivere calciumkanaler. Aktiv transport af calcium sker via tre transportører, herunder vanilloid type 6 (Trpv6), calcium-binding protein (CaBP) og Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> protein exchanger 1 protein (NCX1)/ Ca<sup>2+</sup>-ATPase 1b (PMCA1b) (figur 1). Trpv6 er den vigtigste calciumkanal, der fører calcium gennem cellemembranen. Efterfølgende kan CaBP transportere cytoplasmatiske Ca<sup>2+</sup> til den basolaterale membran gennem binding af frie Ca<sup>2+</sup> ioner. CaBP er vital calciumbærer, der sørger for at opretholde den cytoplasmatiske Ca<sup>2+</sup>-koncentration på et lavt niveau (< 10<sup>-7</sup> mol/L), hvilket faciliterer Ca<sup>2+</sup> ionernes adgang til cellen. I den basolaterale membran kan calciumkanalerne, NCX1 eller PMCA1b, udveksle eller pumpe Ca<sup>2+</sup> ioner ud af enterocytterne [3-4].

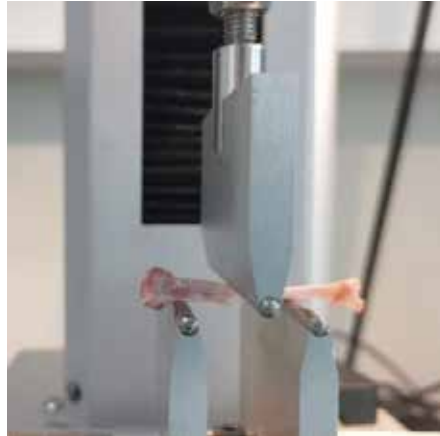
Den paracellære transport er en passiv diffusionsvej, der styres af den elektrokemiske gradient af Ca<sup>2+</sup> mellem intestinal lumen og plasma. Derudover er nogle intercellulære tight junction-proteiner, især medlemmer af claudin-familien (figur 1) [5-6] også involveret. D-vitamin er ydermere også involveret i reguleringen af den paracellære vej ved at stimulere ekspressionen af tight junction gener (for eksempel occludin og claudin) [7-8].

## Det biokemiske miljø i tarmen og absorption

Med henblik på at kunne optimere optagelsen af calcium fra kosten, er der interesse for at forstå, hvordan man eventuelt aktivt kan modulere på parametre, der har betydning for calciumoptagelsen. En mulig strategi beror på at øge ioniseringen af calcium i tarmen. Som regel ligger pH-niveaueet i den nederste del af tarmen på omkring 6,7

[9], og hvis pH sænkes, vil ioniseringen af calcium øges. Hvordan kan man så ændre pH i tarmen? Bakterierne i tarmen spiller en afgørende rolle for det biokemiske miljø i tarmen, da de ved fermenteringsprocesser vil danne organiske syrer, der sænker pH. Så mens man tidligere havde en formodning om, at kostfibre generelt udelukkende havde en negativ effekt på optagelsen af mineraler, har man nu fundet ud af, at visse kostfibre faktisk kan øge optagelsen af mineraler i tarmen, fordi bakteriernes fermentering af kostfibre er med til at sænke tarmens pH.

Udover pH i tarmen vil også andre faktorer spille en rolle i calciumoptagelsen. For eksempel vil transittiden, altså hvor længe den indtagne kost opholder sig i tarmen, forventeligt også kunne spille en rolle. Endelig formodes andre mere komplicerede mekanismer også at spille ind, dels på selve optagelsen af calcium, og dels på om det optagne calcium også ender med at indgå i knoglemineralisering. Således er der noget, der peger på, at de organiske syrer, som bakterierne danner under fermenteringsprocesser, ud over at sænke pH, også har en række andre vigtige funktioner. Særligt de kortkædede fedtsyrer, herunder smørsyre (butansyre), sættes i forbindelse med andre effekter, der kan fremme calciumoptagelse og knoglemineralisering. Studier indikerer således, at de kortkædede fedtsyrer kan fremme ekspressionen af calciumtransportørerne CaBP og Trpv6 [10-12] og af tight-junction proteiner, herunder claudin [13]. Derudover er der indikationer af, at de kortkædede fedtsyrer også er direkte involveret i regulering af knoglemetabolismen via effekter på celler i knoglerne (osteoclasts), der står for omsætning af knoglevæv [14]. Endelig er der også fremlagt evidens for, at de kortkædede fedtsyrer påvirker immunsystemet via stimulering af T-celler [15-16].



Figur 3. Mekanisk brudstyrke af knoglerne bestemmes med en instrumentel metode, hvor kraften, der skal til for at knække knoglen, registreres.

### Rottestudie

For at vende tilbage til vores udgangspunkt, nemlig spørgsmålet om hvorvidt der er forskel på, om man spiser yoghurt eller drikker mælk i forhold til at styrke knoglemineraliseringen, så gennemførte vi et rottestudie for at undersøge dette [17]. I forsøget indgik i alt 44 rotter, der alle var ovariektomiserede. Det vil sige, at man har fjernet deres æggestokke, så de ikke længere producerer østrogen, og formålet er at opnå en model for kvinder i overgangsalderen, der også mangler østrogen. Kvinder i overgangsalderen er nemlig særligt udsatte for at miste knoglemasse, da østrogen har en fremmende effekt på knoglemineraliseringen.

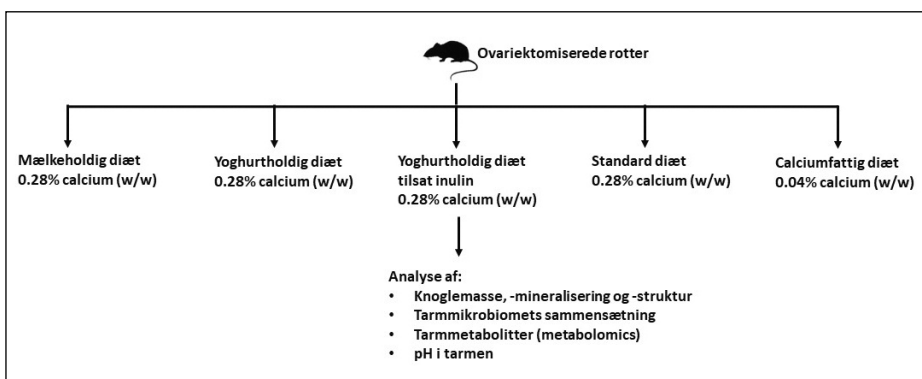
Disse 44 rotter blev allokateret til en af følgende behandlinger: en gruppe af rotter fik en diæt indeholdende calciumberiget mælk, en gruppe af rotter fik en diæt indeholdende calciumberiget yoghurt, en gruppe af rotter fik en diæt indeholdende calciumberiget yoghurt og inulin (der stimulerer fermentering i tarmen), og en gruppe af rotter fik en diæt beriget med calcium

karbonat som calciumkilde fremfor mælkecalcium. Alle disse fire grupper fik samme mængde af calcium, der resulterede i et dagligt indtag på 125 mg calcium, svarende til hvad anbefalingerne lyder for rotter. Endelig fik en femte gruppe af rotter en diæt med et meget lavt indhold af calcium svarende til et dagligt indtag på blot 18 mg (figur 2). Rotterne fik diæterne i seks uger, hvorefter forsøget blev stoppet, og rotterne blev aflivet, og der blev taget prøver ud til analyser.

### Detaljerede undersøgelser af knoglerne

Massen, strukturen og styrken af rotternes knogler blev detaljeret undersøgt ved hjælp af en række analyser. Først blev rotterne DXA-scannet, som er en røntgenundersøgelse, hvor calciumindholdet i knoglerne kan måles. Derudover blev styrken af venstre lårbensknogle bestemt ved en mekanisk test af brudstyrke (figur 3), mens den højre lårbensknogle blev brugt til at undersøge mikrostrukturen ved avancerede røntgenundersøgelser (X-ray micro-computed tomography (μCT)).

Overordnet viste resultaterne, at knoglemineraliseringen og knoglestyrken var dramatisk reduceret hos rotter, der havde fået den calciumfattige diæt. Dette er måske ikke så overraskende, men resultatet bekræfter vigtigheden af calcium for vores knoglers styrke. Hvad der var mere bemærkelsesværdigt, var, at det i resultaterne viste sig, at rotter, der havde fået yoghurt, havde en højere knoglemineralisering i rygsøjlen samt en tendens til en større volumen af den trabekulære knoglemasse (figur 4, side 26).



Figur 2. Illustration af det eksperimentelle forsøgsdesign, hvor interventionen med forskellige diæter havde en varighed på seks uger.



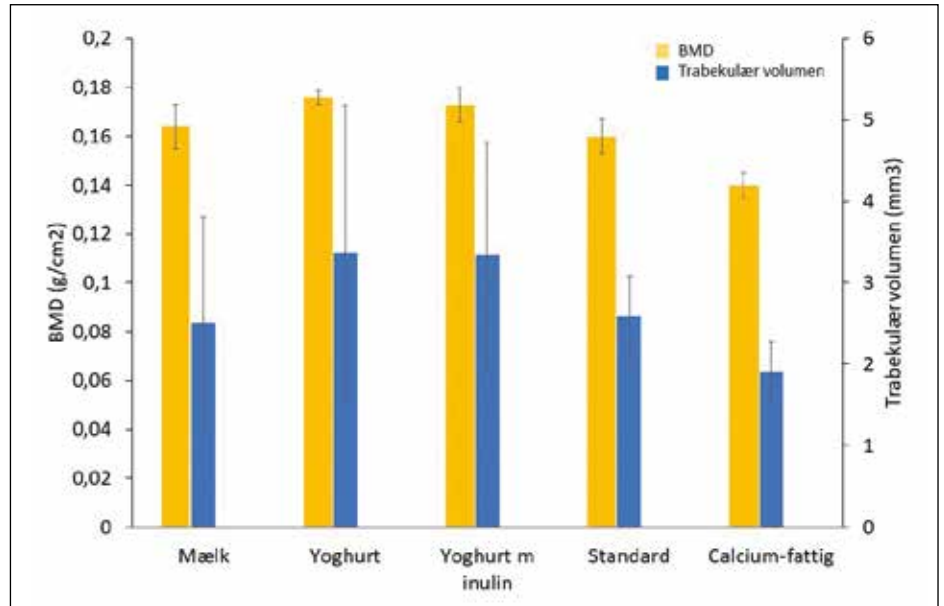
## De bagvedliggende mekanismer

Hvordan kan det så være, at vi kunne observere, at yoghurt havde en gavnlig effekt på rotternes knogler - kan det forklares med en effekt på pH-niveauet i tarmen? Formentlig er sådan en pH-effekt ikke hele forklaringen. Vores data indikerer nemlig, at dette ikke er tilfældet, da vi i studiet havde en gruppe af rotter, der fik en kombination af yoghurt og inulin, hvor tilstedeværelsen af inulin effektivt reducerede pH i tarmen (figur 5). Og det reducerede pH-niveau i tarmen resulterede ikke i en øget knoglemineralisering for rotter, der fik yoghurt tilsat inulin. Dette resultat viser, at andre bagvedliggende mekanismer er forbundet med yoghurtens evne til at øge knoglemineraliseringen. Disse mekanismer involverer højst sandsynligt tarmens mikrobiota. Vi fandt nemlig, at rotter, der havde fået yoghurt, havde en markant anderledes sammensætning af tarmmikrobiotaen (tarmmikrobiel sammensætning) end de rotter, der havde fået mælk. Yoghurtindtag var forbundet med flere laktobaciller og færre clostridier. Hvordan en øget laktobacil-flora præcist øver indflydelse på knoglemineraliseringen, har vi endnu ikke kortlagt. Forhåbentlig vil fremtidige studier, hvor man mere specifikt undersøger bakteriernes metaboliske kapacitet, kunne spore os ind på et svar, ligesom vi håber at få en langt bedre forståelse for de molekylære mekanismer, der ligger bag denne sammenhæng, vi ser mellem tarmen og knoglerne.

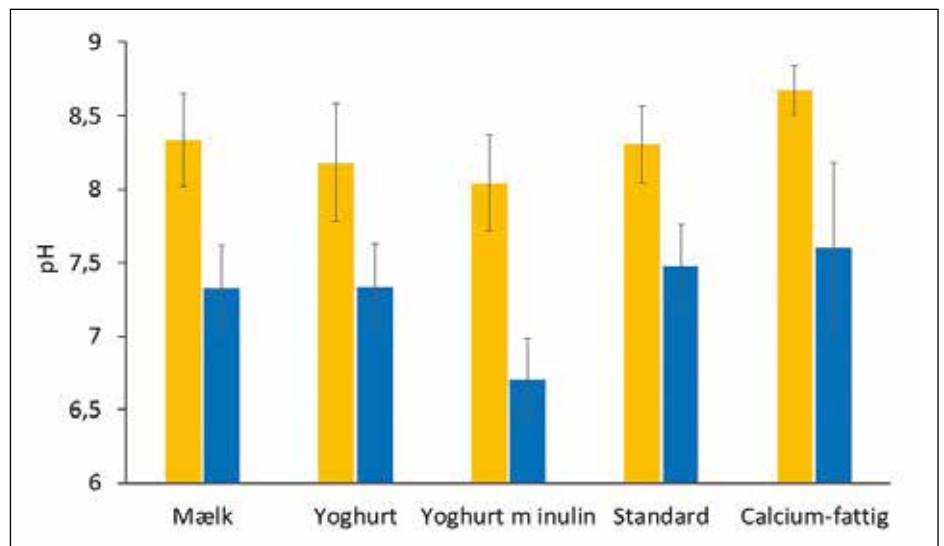
E-mail:  
Hanne Christine Bertram:  
hannec.bertram@food.au.dk

## Om kostens calcium

- Calcium er sammen med vitamin E de to eneste næringsstoffer, der er underforsynet gennem det nuværende globale fødevarer-system, hvilket sandsynligvis vil forblive en udfordring i fremtiden [18].
- Calcium er ofte et begrænsende næringsstof i den menneskelige kost til trods for, at det er et af de mindst spildte i fødevarer-kæden [18-19].
- En diæt med lavt indhold af calcium ligger på 11. pladsen på listen over globale dødsfald, der kan tilskrives diæt, og på 12. plads for handicapjusterede leveår i Global Burden of Disease-undersøgelsen [20].



Figur 4. Knoglemineralisering i rygsøjlen (g/cm<sup>2</sup>) bestemt med DXA-scanning (gule søjler, akse til venstre) og trabekulær knoglemasse i lårbensknoglen (mm<sup>3</sup>) bestemt ved mikro-CT-scanning (blå søjler, akse til højre) for rotter på fem forskellige diæter.



Figur 5. pH målt i tarmindhold fra tyndtarmen og kolon fra rotter på fem forskellige diæter. Gule søjler repræsenterer resultater fra tyndtarm, mens blå søjler repræsenterer resultater fra tyktarm. Der ses, at inulin medfører et signifikant fald i pH i tyndtarmen.

## Referencer

1. Danskernes Kostvaner 2011-2013. Rapport fra DTU Fødevareinstituttet. [www.food.dtu.dk/-/media/Institutter/Foedevareinstituttet/Publikationer/Pub-2015/Rapport\\_Danskernes-Kostvaner-2011-2013.ashx?la=da](http://www.food.dtu.dk/-/media/Institutter/Foedevareinstituttet/Publikationer/Pub-2015/Rapport_Danskernes-Kostvaner-2011-2013.ashx?la=da).
2. Smith, N.W., Fletcher, A.J., Hill, J.P., McNabb, W.C. (2022). Modeling the Contribution of Milk to Global Nutrition. *Front. Nutr. Sec. Nutrition and Metabolism* (2022). <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.716100>.
3. De Barboza, G.D., Guizzard, S., Moine, L., & Tolosa de Talamoni, N. (2017). Oxidative stress, antioxidants and intestinal calcium absorption. *World Journal of Gastroenterology*, 23, 2841-2853.
4. Pu, F., Chen, N., & Xue, S. (2016). Calcium intake, calcium homeostasis and health. *Food Science and Human Wellness*, 5, 8-16. <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2016.01.001>.
5. Ballard, S.T., Hunter, J.H., & Taylor, A.E. (1995). Regulation of tight-junction permeability during nutrient absorption across the intestinal epithelium. *Annual Review of Nutrition*, 15, 35-55. <https://doi.org/10.1146/annurev.nu.15.070195.000343>.
6. Van Itallie, C.M., & Anderson, J.M. (2006). Claudins and epithelial paracellular transport. *Annual Review of Physiology*, 68, 403-429. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.68.040104.131404>.
7. Hiroki, F., Kotaro, S., Shuichiro, I., Toshihiro, M., Makoto, O., Yasushi, U., Yoko, Y., Takuro, W., Takashi, K., Hiroshi, Y., Toshihiko, Y., Shigeaki, K., Norimasa, S., & Hideki, C. (2008). Tight Junction Proteins Claudin-2 and -12 Are Critical for Vitamin D-dependent Ca<sup>2+</sup> Absorption between Enterocytes. *Molecular Biology of the Cell*, 19, 1912-1921.
8. Hwang, I., Yang, H., Kang, H.S., Ahn, C., Hong, E.J., An, B.S., & Jeung, E.B. (2013).

- Alteration of tight junction gene expression by calcium and vitamin D-deficient diet in the duodenum of Calbindin-null mice. *Int. Journal of Molecular Sciences*, 14, 22997-23010. <https://doi.org/10.3390/ijms141122997>.
9. Rose, C, Parker, A., Jefferson, B. & Cartmell, E. (2015). The Characterization of Feces and Urine: A Review of the Literature to Inform Advanced Treatment Technology. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*. 45:17, 1827-1879.
  10. Fukushima, A., Aizaki, Y., & Sakuma, K. (2009). Short-chain fatty acids induce intestinal transient receptor potential vanilloid type 6 Expression in Rats and Caco-2 Cells-3. *Journal of Nutrition*, 139, 20-25. <https://doi.org/10.3945/jn.108.096230>.
  11. Fukushima, A., Aizaki, Y., & Sakuma, K. (2012). Short-chain fatty acids increase the level of calbindin-D9k messenger RNA in Caco-2 cells. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 58, 287-291. <https://doi.org/10.3177/jnsv.58.287>.
  12. Whisner, C.M., & Castillo, L.F. (2018). Prebiotics, bone and mineral metabolism. *Calcified Tissue International*, 102, 443-479. <https://doi.org/10.1007/s00223-017-0339-3>.
  13. Weaver, C.M. (2015). Diet, gut microbiome, and bone health. *Current Osteoporosis Reports*, 13, 125-130. <https://doi.org/10.1007/s11914-015-0257-0>.
  14. Lucas, S., Omata, Y., Hofmann, J., Böttcher, M., Iljazovic, A., Sarter, K., Albrecht, O., Schulz, O., Krishnacoumar, B., Krönke, G., Herrmann, M., Mougiakakos, D., Strowig, T., Schett, G., & Zaiss, M. M. (2018). Short-chain fatty acids regulate systemic bone mass and protect from pathological bone loss. *Nature Communications*, 9, 55. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-02490-4>.
  15. Francalacci, P., Morelli, L., Angius, A., Berutti, R., Reinier, F., Atzeni, R., Pilu, R., Busonero, F., Maschio, A., Zara, I., Sanna, D., Useli, A., Urru, M.F., Marcelli, M., Cusano, R., Oppo, M., Zoledziewska, M., Pitzalis, M., Deidda, F., ... Cucca, F. (2013). The microbial metabolites, short-chain fatty acids, regulate colonic Treg cell homeostasis. *Science*, 341, 565-569. <https://www.science.org>.
  16. Tyagi, A.M., Yu, M., Darby, T.M., Vaccaro, C., Li, J.Y., Owens, J.A., Hsu, E., Adams, J., Weitzmann, M.N., Jones, R.M., & Pacifici, R. (2018). The microbial metabolite butyrate stimulates bone formation via T regulatory cell-mediated regulation of WNT10B expression. *Immunity*, 49, 1116-1131. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2018.10.013>.
  17. He, W., Xie, Z., Wittig, N.K., Zachariassen, L.F., Andersen, A., Andersen, H.J., Birkedal, H., Nielsen, D.S., Hansen, A.K., Bertram, H.C. 2022. Yogurt Benefits Bone Mineralization in Ovariectomized Rats with Concomitant Modulation of the Gut Microbiome. *Molecular Nutrition & Food Research*. [doi.org/10.1002/mnfr.202200174](https://doi.org/10.1002/mnfr.202200174).
  18. Smith, N.W., Fletcher, A.J., Dave, L.A., Hill, J.P., & McNabb, W.C. (2001) Use of the DELTA model to understand the food system and global nutrition. *J. Nutr.* 151, 3253-61. [doi: 10.1093/jn/nxab199](https://doi.org/10.1093/jn/nxab199).
  19. Chen, C., Chaudhary, A., & Mathys, A. (2020). Nutritional and environmental losses embedded in global food waste. *Resour. Conserv. Recy.* 160, 104912. [doi: 10.1016/j.resconrec.2020.104912](https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2020.104912).
  20. Afshin, A., Sur, P.J., Fay, K.A., Cornaby, L., Ferrara, G., & Salama JS, et al. (2019). Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990-2017: a systematic analysis for the Global burden of disease study 2017. *Lancet*. 393, 1958-72. [doi: 10.1016/S0140-6736\(19\)30041-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)30041-8).

Det omtalte rottestudie var en del af projektet ”Øget optag af mælkecalcium ved strategisk fødevareredesign (MÆSTRA)”, der har modtaget økonomisk støtte fra Mejeribrugets ForskningsFond. µCT-undersøgelserne blev muliggjort gennem AXIA infrastrukturen, der er bevilliget af Novo Nordisk Fonden (NNF19OC0055801).



**Gram BioLine** er en af verdens førende producenter af højtydende køle- og fryseudstyr til temperaturkritisk opbevaring indenfor områder såsom laboratorier, hospitaler, farmaceutiske og industrielle applikationer.

**bioline**   Udviklet og produceret i Danmark siden 1901

Gram Scientific ApS | Aage Grams Vej 1 | DK-6500 Vojens | Tlf. 7320 1300  
info@gram-bioline.com | www.gram-bioline.com

**GRAM**  
Biostorage you can depend on