

螺旋藻对模拟失重大鼠钙代谢和骨矿盐密度影响的初步研究

黄纪明 白树民 胡志祥 杨春雷 朱德兵 李志霞 洪建武

【摘要】 目的 研究螺旋藻对模拟失重大鼠钙代谢和骨矿盐密度的影响。方法 30只雄性SD大鼠随机分为3组(每组10只):A组:地面自由活动组(饲喂普通饲料);B组:模拟失重普通饲料组;C组:模拟失重螺旋藻组,实验期21d。结果 B组大鼠饲料钙的表观吸收率、后肢骨密度(BMD)、骨钙含量以及骨钙素(BGP)的水平显著性低于A组,血钙水平明显高于A组;C组饲料钙的表观吸收率、骨密度、骨钙含量以及骨钙素水平较B组高,血钙水平显著性低于B组。结论 螺旋藻可以减少模拟失重大鼠后肢骨质的丢失,提高骨骼BMD,增加骨形成,对骨代谢产生一定的有益影响。

【关键词】 螺旋藻; 模拟失重; 骨矿盐密度; 血钙; 骨钙素; 骨钙; 表观吸收率; 大鼠

Effects of spirulina on changes of femur BMD and calcium metabolism in rats simulated weightlessness
HUANG Jiming, BAI Shumin, HU Zhixiang*, et al. Institute of Space Medico-Engineering, Beijing 100094, China; * Yunnan Spirin Co, Kunming 650106, China

【Abstract】 Objective To study the effects of spirulina on changes in femur BMD and calcium metabolism in rats simulated weightlessness. **Methods** 30 male SD rats were divided into three groups: one free control group (group A) and two groups with simulated weightlessness (group B and C). Group A and B were fed normal diet, group C fed with normal diet supplemented with 5% (w/w) spirulina, all rat's drank pure water ad libitum. **Results** (1) In group B, the apparent absorption rate of the dietary calcium, the calcium content of femur, the serum BGP and the femur BMD were significantly lower than those in group A, whereas the concentration of serum calcium was markedly higher than that in group A. (2) In group C, the apparent absorption rate of the dietary calcium, the calcium content of femur, the femur BMD, and the serum BGP were significantly higher than those in group B, but the concentration of serum calcium was remarkably lower than that in group B. **Conclusion** Spirulina can stimulate the activity and formation of osteocytes, definitely decrease bone loss, and enhance BMD in rats simulated weightlessness.

【Key words】 Simulated weightlessness; Spirulina; Bone mineral density; Bone gla protein; Serum calcium; Rat; Apparent absorption rate

国内外大量研究已经证实不仅在航天微重力条件下而且在模拟失重条件下,都会发生机体骨钙的大量丢失,导致骨质疏松、肾结石等一系列与钙代谢紊乱有关的疾病^[1],对航天员的健康构成威胁。因此对于如何预防失重钙丢失一直是航天医学研究的重点和热点,人们从多种途径包括膳食营养途径探讨预防和缓解这种现象的可能性。研究发现,非消化性寡聚糖能增加一些矿物质在体内的吸收和促进骨骼的矿化,非消化性寡聚糖的这种作用可能主要

是由于它们所具有的益生元的特性所引起的^[2]。膳食纤维(包括非消化性寡聚糖)经肠道益生菌酵解后,生成乙酸、丙酸和丁酸等短链脂肪酸,使肠道的pH降低,可以促进钙的溶解和吸收。文献报道螺旋藻中含有5%~10%的植物纤维,并含有丰富的碳水化合物(包括多糖和寡聚糖),推测其可能具有促进益生菌增殖、改善肠道微生态,从而促进肠道钙吸收的作用^[3]。业已发现,在航天飞行期间,航天员肠道益生菌数量减少,出现肠道微生态失调的现象。本试验研究的主要目的是观察螺旋藻对模拟失重大鼠的钙代谢和骨骼是否具有有益的影响,并探讨可能的作用机理,为螺旋藻在航天食品中的应用提供

作者单位:100094 北京,航天医学工程研究所(黄纪明、白树民、朱德兵、李志霞、洪建武);云南施普瑞有限责任公司(胡志祥、杨春雷)

进一步的实验依据。

材料和方法

1. 动物分组及喂养:SPF级SD雄性大鼠(由北京动物实验中心提供)30只,体重(120±10)g,随机平均分为3组:①A组:正常对照组,自由活动;②B组:模拟失重对照组。A、B两组大鼠进食SPF级普通饲料。③C组:模拟失重螺旋藻组:进食在普通饲料基础上添加5%(W/W)螺旋藻(由云南施普瑞有限责任公司提供)。3组大鼠均单笼喂养,自由进食和饮用纯净水,实验期为21d。

2. 模拟失重模型的建立:大鼠尾部悬吊,后肢离地,使躯干与地面成25°~30°角,大鼠前肢着地,可以自由活动。

3. 血样采集:于实验的第20日晚开始禁食12h,次日用2%浓度的戊巴比妥钠盐溶液麻醉大鼠后腹主动脉取血。室温下放置1h后,离心(3000×g,45min)分离血清。

4. 血清钙的测定:采用血清钙检测试剂盒(北京朗道医疗用品有限公司),721分光光度计比色测定。

5. 血清骨钙素的测定:用放射免疫法测定血清骨钙素的含量,骨钙素试剂盒由北方放射免疫试剂研究所提供。

6. 骨密度测定:大鼠处死,将大鼠右侧股骨取出并剔净附着软组织,用浸透生理盐水的纱布包裹,置于双能X射线骨密度检测仪上测定(Lunar DPLt)。

7. 粪钙和骨钙的测定:股骨标本的处理:将骨密度测定后的股骨置于马弗炉中灰化,灰化后称重。置于50ml容量瓶中用2%盐酸溶解后定容至刻度备检;在实验开始后的第16,17和第18天连续收集3d大鼠粪便,然后将粪便放入烤箱中120℃烤至恒重,取0.1g左右的干粪便置于50ml容量瓶中加40ml左右的2%盐酸,置于摇床中220转/分震荡2h,定容后静置过夜备检。钙用EDTA滴定法检测,钙红做指示剂。

8. 计算及统计分析:饲料钙表观吸收率(%)=(平均每日钙摄入量-每日粪钙排出量)/平均每日钙摄入量×100%。用均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示结果,用Excell统计分析程序对结果进行t检验。

结果

1. 大鼠骨密度测定结果:见图1。

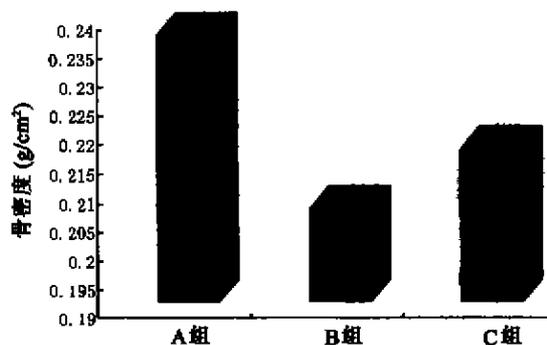


图1 各组大鼠股骨骨密度

由图可知,悬吊3周后,B组大鼠股骨密度显著低于A组($P < 0.001$),而C组大鼠股骨密度显著高于B组($P < 0.01$)。

2. 血钙、骨钙和粪钙检测结果

(1)血钙检测结果:见图2。悬吊21d后大鼠血清钙浓度显著性高于A组($P < 0.05$)。C组大鼠血清钙浓度显著性低于B组($P < 0.05$)。

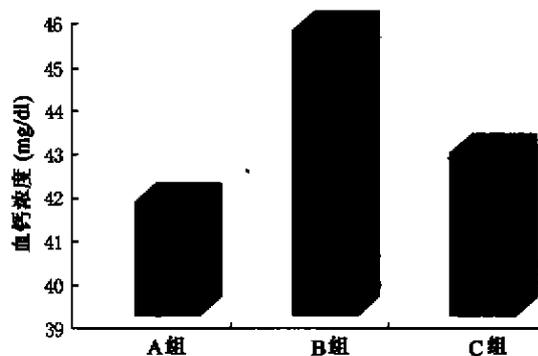


图2 各组大鼠血清钙浓度(mg/dl)

(2)骨钙检测结果:见图3。A组和C组大鼠股骨钙的含量均显著高于B组($P < 0.05$)。结果表明尾吊大鼠股骨骨钙出现大量丢失,螺旋藻具有减轻骨钙丢失的作用。

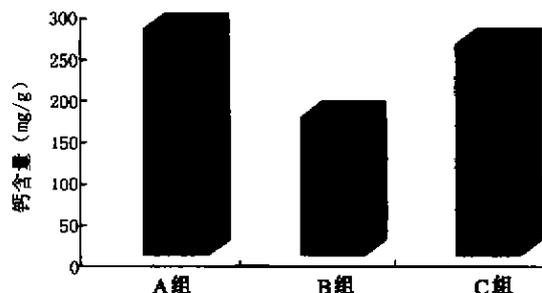


图3 各组大鼠右侧股骨骨钙含量(mg/g)

注:与悬吊组相比较 $P < 0.05$

(3)大鼠饲料钙的表现吸收率检测结果:见图4。C组大鼠饲料钙的表现吸收率为48.2%,B组为41.6%,二者相比差异具有显著性($P < 0.01$)。

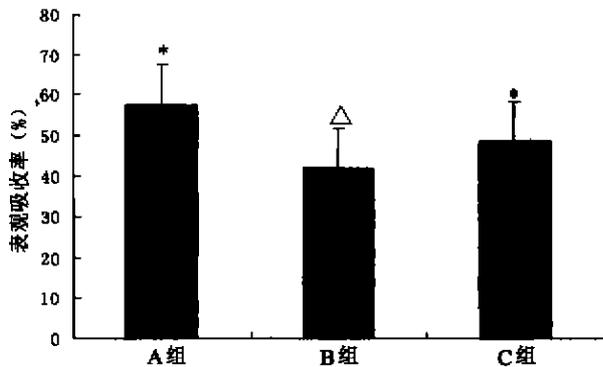


图4 各组大鼠对饲料钙的表现吸收率(%)

注: * vs ^Δ $P < 0.05$

3. 血清骨钙素含量的测量结果:见图5。

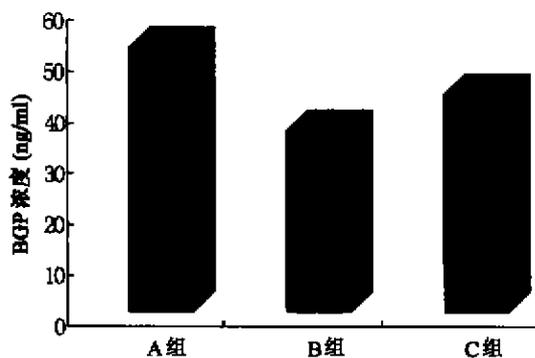


图5 各组大鼠血清BGP浓度(ng/ml)

注:A, C vs B: $P < 0.05$

由图可见,B组骨钙素浓度显著低于A组($P < 0.05$)说明悬吊使大鼠的骨转换率降低,骨丢失为低转换型;C组骨钙素水平明显高于B组($P < 0.05$)。

讨论

重力在人体骨骼系统的正常生长和功能维持方面起着重要作用。当航天员处于微重力环境时,骨骼所承受的重力负荷显著性下降,导致承重骨发生矿盐丢失以及骨密度降低等病理改变^[4]。大鼠尾吊后肢去负荷是目前常用的研究微重力条件下骨质丢失的动物模型。从本研究的结果看,螺旋藻能够有效的减轻模拟失重大鼠股骨骨质丢失,表现在以下几方面。

1. 螺旋藻可提高模拟失重大鼠股骨骨密度和骨钙含量;骨密度是评价骨强度的一个重要指标,也是间接反映骨丢失程度的指标之一。双能X线骨

密度(DEXA)测定因其扫描时间短、精确度和准确度高,可测量任意骨的骨矿物质密度(BMD),是目前测量人体及实验动物BMD的最好方法^[5]。本研究结果发现,B组大鼠股骨BMD以及骨钙含量均显著性低于A组;而饲料中添加了5%螺旋藻的C组其BMD值和骨钙含量都明显高于B组。提示模拟失重大鼠存在明显的骨质丢失,螺旋藻具有减轻骨钙丢失的作用。

2. 可使成骨细胞的活性增加:成骨细胞是骨代谢的主要功能细胞。骨钙素(bone gla protein, BGP)是由非增殖期成骨细胞合成和分泌的非胶原蛋白,其含量仅次于骨胶原蛋白,占骨有机质的20%。BGP是一种钙结合蛋白,由成骨细胞合成后,大部分沉积于骨基质中,少量直接分泌入血液循环^[6]。研究表明血清骨钙素的含量与骨形成的组织计量学参数呈显著正相关,是成骨细胞活性灵敏和特异性指标,已被广泛应用于骨代谢疾病的基础与临床研究。目前认为BGP是骨有机质矿化的必要物质,由成骨细胞粗面内质网合成的BGP前体中的谷氨酸残基,必须经羧化生成 γ -羧基谷氨酸残基后才具有正常的生理功能,维生素K是这一羧化过程的重要辅酶^[7]。本研究观测到螺旋藻可以提高模拟失重大鼠的血清BGP水平,表明螺旋藻可以促进骨质钙化,这与维生素K防治骨质疏松的结果相一致,其作用机制可能是通过维生素K的作用途径实现的。因为机体内的维生素K主要靠肠道中的益生菌合成,已有研究表明,模拟失重条件下,大鼠肠道微生态失调,表现为肠道益生菌数量减少,过路菌增多,可能造成维生素K合成量减少,这或许是模拟失重组大鼠血清BGP含量低的原因之一。我们先期实验发现螺旋藻能促进肠道益生菌的增殖,所以推测螺旋藻提高模拟失重大鼠血清BGP水平的机理,可能是通过促进肠道中益生菌的增殖进而增加维生素K合成而起作用的。

3. 可促进膳食钙的吸收和利用:膳食钙的表现吸收率是评价机体钙吸收水平的常用指标。研究发现非消化性寡聚糖(NDOs)能增加实验动物钙、镁、锌和铁等矿物质的吸收利用率,NDOs的这些作用可能主要是由于其所具有的益生元特性导致的。NDOs刺激矿物质吸收的可能机制主要有:(1)胃肠道水平:NDOs通过小肠进入盲肠和结肠,被存在于结肠的特异性微生物选择性发酵。一些益生菌主要是双歧杆菌选择性发酵生成短链脂肪酸(SCFAs),

使 pH 降低,这有利于肠钙的溶解和吸收。(2)绒毛水平:绒毛隐窝高度、每个隐窝上皮细胞数量和盲肠静脉流量以及黏膜-浆膜钙的流出(钙被动转运途径)等都因 NDOs 的作用而增加。(3)细胞水平:刺激钙结合素(calbindin)-D9K 的表达以及增强钙转运途径的活性^[3]。本实验结果表明:螺旋藻能提高模拟失重状态下大鼠饲料钙的表观吸收率,该结果与 NDOs 的结果相一致。螺旋藻具有益生元样作用,而目前公认的益生元主要是 NDOs 类物质,推测螺旋藻促进食物中钙的吸收可能与其含有的 NDOs 的作用有关。

正常生理状态下,体内骨吸收和骨形成处于动态平衡,血钙水平保持在一定的范围内。如果骨吸收大于骨形成,大量的钙进入血液,使血钙的浓度增高。所以一定条件下,血钙水平反映骨代谢的状况。本研究结果表明,长期处于模拟失重状态下的大鼠血清钙水平极显著的高于 A 组,说明模拟失重导致骨钙大量丢失,骨吸收率大于骨形成率。螺旋藻能促进饲料钙的吸收,表面上看 C 组大鼠血钙水平应当较 B 组大鼠的高,而实际上其血钙水平却比 B 组低,这种现象估计可能是螺旋藻具有促进骨形成的作用导致的。前已述及,螺旋藻通过促进益生菌的增殖,借助于细菌合成的维生素 K 可提高 BGP 的生成量。BGP 必然利用 Ca^{++} ,因而造成血钙水平降低。

总之,螺旋藻可以增加模拟失重大鼠股骨钙和骨钙素含量、提高骨密度,并能够提高饲料钙的表观吸收率。螺旋藻的这些作用有助于减轻航天失重条件下的骨丢失,推测其机理与益生元样作用有关,但其具体作用环节以及作用机理尚有待于进一步的研究。

参 考 文 献

- 1 Oganov VS, Rakhmanov AS, Novikov VE, *et al*. The state of human bone tissue during space flight. *Acta Astronautica*, 1991, 23: 129-133.
- 2 Ohta A, Ohtsuki M, Baba S, *et al*. Calcium and magnesium absorption from the colon and rectum are increased in rats fed fructooligosaccharides. *J Nutr*, 1995, 125: 217-24.
- 3 森下敏一,著,刘雪卿译.螺旋藻的惊人疗效.台北:正义出版社,1993.154.
- 4 Roer RD, Dillaman RM. Bone growth and calcium balance during simulated weightlessness in the rats. *J Appl Physiol*, 1990, 68: 13-20.
- 5 刘忠厚,主编.骨质疏松症.北京:化学工业出版社,1992.4: 169.
- 6 Delmas PD, Charles P, Melsen F, *et al*. Serum bone gla protein compared to bone histomorphometry in endocrine disease. *Bone*, 1985, 6: 329.
- 7 Hauschka PV, Lian JB, Cole DE, *et al*. Osteocalcin and matrix gla protein; vitamin K dependent protein in bone. *Physiol Rev*, 1989, 69: 990.
- 8 Scholz-Ahrens KE, Schaafama G, van Hessel E GHM, *et al*. Effects of prebiotics on mineral metabolism. *Am J Clin Nutr*, 2001, 73(Suppl): 459a-464a.

·消息·

开封市首届骨质疏松学术讲座暨学术交流会召开

开封市首届骨质疏松学术讲座暨学术交流会于 2001 年 11 月 15 日在解放军第一五五医院召开,大会由开封市骨质疏松专业委员会宋冠军主任委员主持。开封市政协张秀珍主席代表领导致词讲话。她热情赞扬开封市骨质疏松专业委员会成立两年多来取得的突出成绩和科研成果,鼓励广大骨质疏松医务工作者再接再厉,开拓创新,争取更大的成绩,为开封市骨质疏松医学事业做出更大的贡献,为广大老年人服务,为广大骨质疏松症患者造福。原河南省老年学会领导李本立副会长和张德健副会长兼秘书长出席会议并讲话。河南省老年学会骨质疏松专业委员会李荫太主任委员也到会祝贺并讲话。中华医学会开封分会领导穆成宗会长,开封市卫生局闫宏书记,刘荣福秘书长和杨新玲副秘书长也出席了会议。

接着宋冠军主任委员总结了学会成立两年多来开展工作情况 and 取得的巨大成绩,并且明确指出今后的努力方向。会议全天进行了学术讲座和学术交流。北京医科大学王云钊教授,济南军区总医院沈志鹏教授和中国老年学会骨质疏松常务副主任马述仕教授分别做了精采的学术报告。中国老年骨质疏松研究部王心武主任介绍了珍牡钙肾骨胶囊的研制生产情况,该产品获得国家免检合格证书,经多家医院临床应用补钙效果很好。来自河南省各地市和开封市五县一郊的 200 多名代表参加了会议。会议始终体现了良好的学术气氛,到会代表一致感到收益非浅,会议取得了圆满成功。

(高启忠 宋冠军)