

# 营养素合剂对模拟失重大鼠股骨的影响

黄纪明 朱德兵 李志霞 李培荣 洪建武 白树民

**摘要:** **目的** 观察营养素合剂对抗模拟失重条件下大鼠骨丢失的效果,并初步探讨其机理。**方法** SPF 级 SD 大鼠 30 只,随机平均分为 3 组:A 组为自由活动对照组,大鼠自由活动;B 组和 C 组为尾吊模拟失重组;A 组和 B 组大鼠饲喂基础饲料;C 组大鼠饲喂基础饲料添加 2% (w/w) 的营养素合剂,喂养 21 d。**结果** A 组大鼠股骨的最大载荷、弹性载荷、最大应力、股骨密度、血清中骨钙素浓度、股骨钙量以及饲料钙的表观吸收率显著高于 B 组大鼠相应的指标;C 组大鼠股骨的最大载荷、弹性载荷、最大应力、血清中骨钙素的浓度、左侧股骨钙量、对饲料钙的表观吸收率均显著性高于 B 组大鼠。**结论** 营养素合剂能明显提高模拟失重大鼠股骨质量。

**关键词:** 模拟失重; 营养素合剂; 大鼠; 骨生物力学; 骨密度; 骨钙

**Effect of multiple micronutrients on femur of rats during simulated weightlessness.** HUANG Jiming, ZHU Debing, LI Zhixia, et al. Institute of Space Medico-Engineering, Beijing 100094, China

**Abstract:** **Objective** To study the effect of multiple micronutrients on femur of rats during simulated weightlessness. **Methods** Thirty male SD rats were randomly divided into three groups: one free control group (group A) and two simulated weightlessness groups (group B and C). Group A and C were fed with normal forages, and group C fed with normal forages supplemented with 2% (w/w) multiple micronutrients, and drank pure water ad libitum. **Results** The maximum load, elastic load, maximum stress, and calcium content of femur, serum BGP concentration, and apparent absorption of dietary calcium in group C were significantly higher than those in group B. **Conclusions** Multiple micronutrients stimulate the activity and production of osteocytes, and have a definite effect on reducing bone loss, as well as improve the physiological biomechanics in rats during simulated weightlessness.

**Key words:** Simulated weightlessness; Multiple micronutrients; Biomechanics; Bone mineral density; Rat; Femur

国内外大量的研究已经证实,在模拟失重和航天微重力条件下均会发生骨钙大量丢失,导致骨生物力学性能降低,引起骨质疏松等一系列与骨代谢紊乱有关的疾病<sup>[1]</sup>,对航天员的健康构成威胁,因此预防失重钙丢失一直是航天医学领域研究的重点和热点。本试验研究的主要目的是通过在基础饲料中添加营养素合剂(维生素 K、硫酸锰、乳酸锌、硫酸铜按一定比例配制),观察营养素合剂对模拟失重大鼠骨骼的影响以及可能的作用机理,为营养素合剂在航天食品中的应用提供实验依据。

## 1 材料和方法

**1.1 尾吊模型的建立以及动物分组:**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:A 组为自由活动对照组,大鼠自由活动;B 组和 C 组为尾吊模拟失重组,其中 B 组为模拟失重对照组;A 组和 B 组大鼠饲喂基础饲料;C 组大鼠饲喂基础饲料添加 2% (w/w) 的营养素合剂。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 组大鼠均单笼喂养,自由进食和饮用纯净水,实验期为 21 d。

**1.2 血样采集:**于实验的第 20 天晚开始禁食 12 h,次日用 2% 浓度的戊巴比妥钠盐溶液麻醉后腹主动脉取抗凝血。室温下放置 1 h 后,离心分离血清。

**1.3 骨生物力学测定:**大鼠处死,将大鼠后腿左侧股骨取出并剔净附着软组织,用质构仪(QTS-25 型,英国)作 3 点弯曲试验,分别测定最大载荷(maximum load, ML)、最大挠度(maximum deformation, MD)、弹性载荷(elastic load, EL)和弹性挠度(elastic deformation,

ED)。

1.4 骨钙测定:将做过 3 点弯曲实验的大鼠股骨置烤箱中烘烤至恒重,称量后置于马弗炉中灰化,灰化后称重,将骨灰置于 50 ml 容量瓶中用 2% 盐酸溶解后静置 4 h,过滤并定容至刻度备检。利用钙检测试剂盒(北京朗道医疗用品有限公司),721 型分光光度计比色检测,试验步骤按试剂盒的要求。

1.5 粪钙测定:在实验开始后的第 16、17 和第 18 天连续收集 3 d 大鼠粪便,并将粪便放入烤箱中 120℃ 烤至恒重,称量后放入马弗炉中 600℃ 灰化并称重,取灰重 0.05 g 左右加入 5% 盐酸 25 ml 置于摇床中 220r/min 震荡 2 h,过滤到 50 ml 容量瓶中定容备检。钙测定方法同骨钙测定。

1.6 饲料钙测定:将一定量的饲料称重后置于马弗炉中灰化,取 0.1 g 左右的灰于角烧杯中,之后步骤同粪钙检测。测定方法同骨钙测定。

1.7 血清骨钙素的测定:骨钙素试剂盒(北京放射免疫试剂研究所提供),测试骨钙素的含量方法见说明书。

1.8 骨密度的测定:将大鼠后肢右侧股骨取出并剥净附着软组织,用浸透生理盐水的纱布包裹,检测时去掉纱布,将样本置于 DPL+ 型双能 X 射线骨密度检测仪(美国 LUNAR 公司)上测定。

1.9 计算及统计学处理: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( $\bar{x} \pm SD$ )表示结果,用 Excell 统计分析程序对结果进行 t 检验。

2 结果

2.1 大鼠股骨生物力学指标见表 1。

A 组大鼠股骨的最大载荷、弹性载荷、最大应力显著大于 B 组大鼠的相应指标,C 组大鼠股骨的最大载荷、最大挠度、弹性载荷、最大应力和弹性应力数值均显著大于 B 组大鼠。

表 1 大鼠股骨生物力学指标

| 组别 | ML(g)     | MD(mm)      | EL(g)    | ED(mm)    | MS(MP)      | ES(MP)     |
|----|-----------|-------------|----------|-----------|-------------|------------|
| A  | 1003±124* | 0.47±0.01   | 492±741* | 0.23±0.01 | 9195±1160** | 4538±952   |
| B  | 600±826   | 0.54±0.01   | 399±259  | 0.23±0.01 | 7367±1351   | 4846±568   |
| C  | 769±61**  | 0.72±0.15** | 478±137  | 0.26±0.02 | 10579±344*  | 5751±907** |

注:与 B 组比较 \* P<0.01, \*\* P<0.05;各组 n=10

2.2 骨钙和粪钙检测结果

2.2.1 骨钙和灰重含量见表 2。

表 2 骨钙和灰重的含量

| 组别 | 例数(n) | 钙         | 灰重        |
|----|-------|-----------|-----------|
| A  | 10    | 10.7±0.8* | 271±10.2* |
| B  | 9     | 8.5±0.6   | 196±8.7   |
| C  | 9     | 9.6±0.5*  | 223±11.1* |

注:与 B 组比较 \* P<0.01

B 组大鼠股骨钙含量和骨灰重量显著低于 A 组大鼠,而 C 组大鼠股骨中的钙量和骨灰重量明显高于 B 组。

2.2.2 饲料钙表观吸收率见图 1。

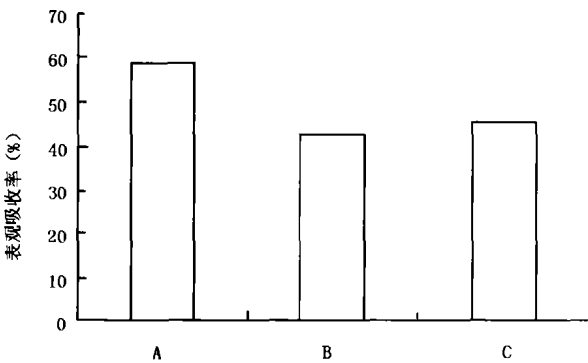


图 1 饲料钙表观吸收率

A 组大鼠饲料钙的表观吸收率为 58.2%,B 组大鼠为 42.6%,C 组大鼠的表观吸收率为 45.2%,A 组大鼠的表观吸收率显著高于 B 组大鼠(P<0.05);而 C 组大鼠对钙的表观吸收率大于 B 组大鼠,但差异无显著性。

2.3 血清骨钙素含量的测定结果见图 2。

由图 2 看出,B 组大鼠血清中骨钙素浓度(25.4 ng/ml)显著低于 A 组大鼠(32.9 ng/ml),C 组大鼠骨钙素水平明显高于 B 组大鼠(31.6 ng/ml)(P<0.05)。

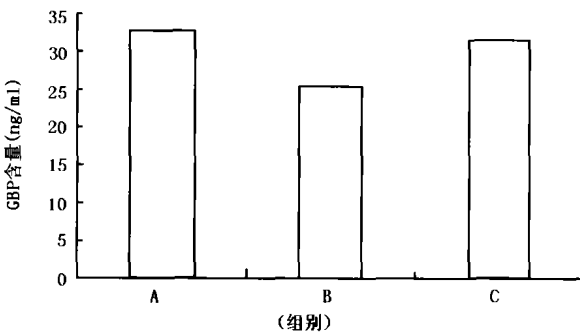


图 2 血清 BGP 含量测定结果

2.4 大鼠股骨骨密度测定结果见图 3。

由图 3 看出,A 组大鼠股骨密度(0.25 g/cm<sup>2</sup>)明

显高于 B 组大鼠( $0.21 \text{ g/cm}^2$ ), C 组大鼠股骨密度( $0.224 \text{ g/cm}^2$ )在数值上高于 B 组大鼠,但是无统计学差异( $P > 0.05$ )。

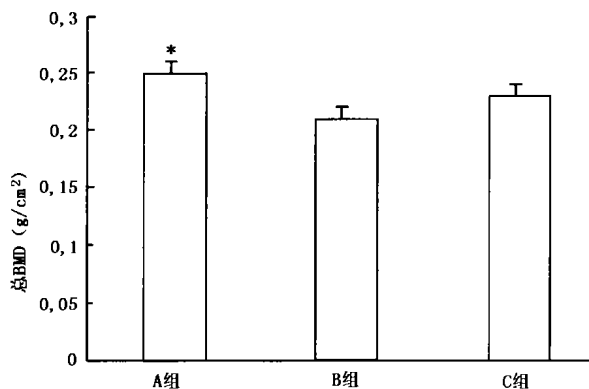


图3 大鼠股骨 BMD 测定结果

注:与 B 组比较 \*  $P < 0.05$

### 3 讨论

骨是由羟基磷灰石和胶原纤维组成的复合体,骨骼的质量主要由骨矿盐与骨基质之间的比例所决定<sup>[2,3]</sup>。许多研究表明有些营养素,如维生素 K、锰、锌、铜等对骨的塑建具有重要的影响。本研究分别以 A 组和 B 组大鼠为对照组,饲喂基础饲料;C 组饲喂基础饲料添加维生素 K、钙、锌和铜按一定的比例配制的营养素合剂饲料。试验结果显示,B 组大鼠后肢骨的骨密度、骨钙含量、骨灰重、部分骨生物力学指标明显低于 A 组大鼠,说明模拟失重大鼠股骨的骨吸收大于骨形成,股骨质量显著降低;与 B 组大鼠比较 C 组大鼠骨密度差异虽无显著性,但有增高趋势;而骨钙含量、骨灰重均明显增加,骨生物力学指标有明显改善。试验结果提示,我们所配制的营养素合剂在抑制模拟失重状态下大鼠的骨丢失,改善股骨质量等方面有一定效果,因为骨密度和骨生

物力学是评价骨骼质量的比较可靠和准确的指标<sup>[4,5]</sup>。

在本试验中,B 组大鼠对饲料钙的表观吸收率显著低于 A 组大鼠,但是 C 组大鼠对饲料钙的表观吸收率虽高于 B 组大鼠,但是没有统计学的意义;从血清中 BGP 的含量方面看,营养素合剂能提高模拟失重大鼠合成 BGP 的作用。业已证明,维生素 K 既可以通过增加 BGP 的合成与分泌促进骨形成和骨矿化,又可以抑制骨吸收,从而提高骨质量。本试验结果进一步验证了维生素 K 在防治骨质疏松方面的作用<sup>[6,7]</sup>。总之,营养素合剂可以增加模拟失重大鼠股骨钙和骨钙素含量、提高骨密度,改善骨质生物力学性状从而提高骨质量。营养素合剂的这些作用有助于减轻航天失重条件下的骨丢失,但其具体作用环节以及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[J]. Acta Astronautica, 1991, 23:129-133.
- [2] Roer RD, Dillaman RM. Bone growth and calcium balance during simulated weightlessness in the rats. J Appl Physiol, 1990, 68:13-20.
- [3] 刘忠厚,主编.骨质疏松症.北京:化学工业出版社,1992.4:169-171.
- [4] 崔伟,刘成林.基础骨生物力学(二).中国骨质疏松杂志,1998,4:90-92.
- [5] 杨定焯,程静,安珍.建立原发性骨质疏松诊断标准的原则和方法.中国骨质疏松杂志,1999,5(2):36-40.
- [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, 69:990-995.

(收稿日期:2004-11-09)