

不同钙补充剂 对缺铁性贫血大鼠钙、铁吸收的影响

吴美音¹, 陈少洁², 严 骁³

(1. 广州蓝韵医药研究有限公司, 广东广州 510663;

2. 千林女性营养与健康研究中心, 广东广州 510000;

3. 暨南大学, 广东广州 510632)

摘要:探讨柠檬酸苹果酸钙(Calcium citrate malate, CCM)、碳酸钙(Calcium carbonate, CaCO₃)、骨钙(Bone calcium, BC)三种常用钙剂与富马酸亚铁(Ferrous fumarate, FF)合用对钙、铁吸收的影响,以及三种钙剂的生物利用度,为消费者选择合适的钙剂提供实验依据。建立大鼠缺铁性贫血模型,通过检测大鼠血红蛋白(Hemoglobin, Hb)和血清铁(Serum iron concentration, SFe)含量,观察三种钙源与铁制剂合用对钙、铁吸收的影响;通过药代动力学考察血清降钙素(Calcitonin, CT)含量,评估三种钙剂的生物利用度。实验结果表明 CCM/FF 组与 CaCO₃/FF 组和 BC/FF 组相比, CCM/FF 组合给药 3 d 后即能显著升高缺铁性贫血大鼠血红蛋白含量,其血红蛋白含量给药 14 d 极显著高于 CaCO₃/FF 组($p < 0.01$); CCM/FF 组的血清铁含量在给药 1 d 后即显著高于 CaCO₃/FF 组($p < 0.01$),说明 CCM 对铁吸收的抑制作用较小。此外, CCM 的降钙素曲线下面积(Area under the curve, AUC)高于 CaCO₃ 及 BC,间接反映了 CCM 吸收率较其它钙剂多。

关键词:柠檬酸苹果酸钙, 碳酸钙, 骨钙, 吸收

Effect of different calcium supplements on the absorption of calcium and ferrum in the iron deficiency anemia rats

WU Mei-yin¹, CHEN Shao-jie², YAN Xiao³

(1. Guangzhou Lanyun Medicine Research Co. Ltd., Guangzhou 510663, China;

2. Treerly Women's Nutrition and Health Institute, Guangzhou 510000, China;

3. Ji'nan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: The effect of calcium citrate malate (CCM), calcium carbonate (CaCO₃), and bone calcium (BC) added ferrous fumarate (FF) on the absorption of ferrum, calcium were investigated, respectively. By iron deficiency animal model, the concentrations of serum ferrum (SFe) and hemoglobin (Hb) were determined as well as the pharmacokinetic curve of calcitonin (CT) for the three groups in rats. The results showed that the concentrations of Hb were increased significantly by CCM/FF treatments only after 3 days. Furthermore, the concentrations of Hb and SFe by CCM/FF treatments were significantly higher than those by CaCO₃/FF treatments after 14 days and 1 day, respectively ($p < 0.01$). These results indicated that CCM had less inhibition on Fe absorption compared with CaCO₃. In addition, compared with CaCO₃ and BC treatments, the CCM treatment had the highest AUC of the calcitonin, which implied that CCM was better in bioavailability than CaCO₃ and BC.

Key words: calcium citrate malate; calcium carbonate; bone calcium; absorption

中图分类号: TS201.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)17-0371-04

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.17.068

钙是人体中不可或缺的微量元素,它既是身体的构造者,又是身体的调节者,在机体各种生理学和生物化学过程中起着重要作用。由于钙的生理作用,决定了它对人类生命活动的重要性^[1]。缺钙,是世界卫生组织目前确认的四大营养缺乏症之一。缺钙,容易导致儿童盗汗、头发稀少、不长牙、不长高及佝偻病,导致妇女抽筋、腰酸背痛、骨关节痛、牙齿松

动。绝经后的妇女及中老年人容易缺钙发生骨质疏松症以及产生腿抽筋、肌肉痉挛等症状,需要特别注意补钙。而由于人体本身不能合成钙元素,同时我国膳食结构不尽合理,单从食物中摄取钙达不到人体所需要的钙量,而通过食用钙营养强化剂则是一种较理想的补钙途径^[2-4]。

缺铁是目前世界上最普遍的营养不足^[5-6]。一

收稿日期: 2014-12-30

作者简介: 吴美音(1988-),女,硕士研究生,研究方向:保健食品、食品、化妆品和药品研发, E-mail: 442716381@qq.com。

般成年人体内的铁以络合离子的形式存在于血液中,可与血红素、蛋白质等形成血红蛋白和肌红蛋白,起到运输和贮存氧的作用。当人体缺铁时会影响血红蛋白和肌红蛋白的形成,从而使血液中的红细胞数量或血红蛋白含量降低,引起机体的生理紊乱。目前研究显示抑制铁生物利用的因子一般有:纤维^[7],钙^[8],磷酸盐^[9],EDTA^[10-11]等。

由于女性一生要经历月经期、妊娠期、哺乳期、更年期等特殊生理时期,最容易造成钙、铁等微量元素的缺乏。因此,补铁和补钙是所有女性,不管在哪个年龄段都会面临的普遍问题。但在临床中,人们多侧重补充钙、铁单一剂量,并同时服用,忽略了其相互作用。Hallerg等^[12]研究认为口服补钙对铁的吸收有明显抑制作用,且存在剂量-反应关系。另有研究表明^[13-14],钙对铁吸收的影响与二者摄入间隔的时间有关,同时摄入时抑制作用最强;口服补钙可能影响饮食铁的吸收,致循环铁减少,并影响红细胞生成缺铁。因此,为了探讨不同钙补充剂对铁吸收的影响,本文以柠檬酸苹果酸钙、碳酸钙、骨钙三种常用的钙剂为研究对象,通过建立缺铁性贫血模型,随后同时补充钙和铁元素来研究不同钙剂对铁吸收的影响;通过比较柠檬酸苹果酸钙及其他钙源的药代动力学变化来探讨不同钙剂的生物利用度。为各种钙源补充剂的研究提供理论以及实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物与饲料 SPF级SD大鼠,雌性,体重180~220 g,由广东省医学实验动物中心提供,实验动物生产许可证号:SCXK(粤)2008-0002,实验动物质量合格证号No.4400720001749。

低铁饲料、低钙低铁饲料、低钙饲料,由广州市赛博诺生物有限公司提供,各饲料配方如下,低铁钙饲料:酪蛋白200 g、胱氨酸3 g、淀粉397 g、麦芽糊精132 g、蔗糖100 g、纤维素50 g、豆油70 g、TBHQ 0.014 g、S10022G 缺铁钙35 g、HV01 10 g、酒石酸氢胆碱2.5 g;低铁饲料:酪蛋白200 g、胱氨酸3 g、淀粉397 g、麦芽糊精132 g、蔗糖100 g、纤维素50 g、豆油70 g、TBHQ 0.014 g、S10022G 缺铁35 g、HV01 10 g、酒石酸氢胆碱2.5 g;低钙饲料:酪蛋白200 g、胱氨酸3 g、淀粉397 g、麦芽糊精132 g、蔗糖100 g、纤维素50 g、豆油70 g、TBHQ 0.014 g、S10022G 缺钙35 g、HV01 10 g、酒石酸氢胆碱2.5 g。普通饲料,由广东省医学实验动物中心提供。动物房室温20~25℃,湿度50%~70%,实验环境设施许可证号:SYXK(粤)2010-0059。

1.1.2 材料与仪器 大鼠血红蛋白含量测定ELISA试剂盒、大鼠降钙素试剂盒ELISA试剂盒(上海西塘生物科技有限公司);血清钙测定试剂盒、血清铁测定盒(南京建成生物工程研究所提供)。

JJ3000 动物电子秤 G&G公司;BS224S 电子天平 德国SARTORIUS产品;HH-6 数显恒温水浴锅 金坛市富华仪器有限公司;3K30 离心机 SIGMA公司;UV-2501PC 型紫外分光光度计 日本

SHIMADZU公司;5424 型小型高速离心机 德国Eppendorf公司;-80℃超低温冰箱 美国Thermo公司;Milli Q Plus 超级纯水仪 美国Millipore公司。

1.1.3 实验样品 柠檬酸苹果酸钙片,批号20111205,广东千林健康产业有限公司;碳酸钙片,批号20140215,上海盖欣食品有限公司;骨钙粉,批号KD007,广东康富来药业有限公司;富马酸亚铁,批号20140217080,慈溪市迈康生物科技有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 不同钙源对铁吸收的影响

1.2.1.1 大鼠缺铁性贫血模型的建立 实验大鼠50只,分笼饲养,每笼5只,低铁饲料喂养,自由进食,饮用去离子水。喂养过程采取各种保护措施,严格防止铁污染。同时,采用眼底静脉丛取血法进行放血,每周3次,每次1.0~1.5 mL。经5周放血后,检测实验大鼠的血红蛋白,选取Hb低于100 g/L的大鼠进行后续实验。

1.2.1.2 分组及给药 于造模前按体重随机分出SPF级SD大鼠10只,作为空白对照组,在实验过程中给予正常饲料,不进行处理。取造模成功大鼠40只,按体重和Hb水平随机分为模型对照组、柠檬酸苹果酸钙+富马酸亚铁组、碳酸钙+富马酸亚铁组、骨钙+富马酸亚铁组,每组10只,在实验过程中给予低钙低铁饲料。各实验组大鼠按10 mL/kg灌胃等钙铁量的相应钙铁化合物混悬液,空白对照组和模型对照组灌胃等体积生理盐水,每天1次,连续30 d。

1.2.1.3 剂量设置 以人体使用钙量840 mg/d,铁量10 mg/d为参考,大鼠灌胃钙量70 mg/kg·d,铁量0.83 mg/kg·d。实验时用去离子水将样品配制成所需浓度,4℃冰箱保存。

1.2.1.4 样品的采集及血红蛋白、血清铁含量的测定 各组于给药后第1、3、7、14、21、30 d眼眶采血,采血前一天各组大鼠禁食不禁水,次日9时眼眶静脉丛采血1 mL,离心分离血清,按照试剂盒说明书要求检测血红蛋白和血清铁含量。

1.2.2 不同钙源补充的吸收考察

1.2.2.1 分组及给药 雌性SPF级SD大鼠40只,按体重随机分为空白对照组、柠檬酸苹果酸钙组、碳酸钙组、骨钙组,每组10只。以人体使用钙量840 mg/d为参考,大鼠灌胃钙量为70 mg/kg·d。实验时用去离子水将样品配制成所需浓度,4℃冰箱保存。

1.2.2.2 药代动力学检测 大鼠低钙饲料喂养3 d后,于第4 d早上开始禁食不禁水,24 h后分别灌胃给予生理盐水、等钙量的柠檬酸苹果酸钙、碳酸钙、骨钙混悬液,分别在第0 min(灌胃前),灌胃后第5、10、20、40、60、120、180、240、360 min眼眶取血,按照试剂盒说明书要求检测血清中降钙素(CT)浓度,并计算CT浓度曲线下面积(AUC)、CT浓度的最大增量值(ΔC_{max}),以及达到最大增量时所用的时间(T_{max})。

1.2.3 统计方法 使用SPSS15.0软件进行统计分析,多组间均数的比较采用单因素方差分析(One-

表1 大鼠血红蛋白含量($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 1 Hb concentrations on rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	血红蛋白含量(g/L)						
	0 d	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d	30 d
空白组	81.188 ± 6.051	80.894 ± 7.321	80.820 ± 10.102	82.733 ± 6.077	81.924 ± 7.844	80.894 ± 4.909	80.342 ± 8.281
模型组	60.634 ± 4.100 ^{###}	59.862 ± 3.041 ^{###}	58.648 ± 3.068 ^{###}	51.993 ± 5.917 ^{###}	53.905 ± 9.306 ^{###}	51.515 ± 10.573 ^{###}	34.123 ± 13.454 ^{###}
CCM/FF	60.597 ± 8.225 ^{###}	60.965 ± 7.519 ^{###}	64.936 ± 5.247 ^{###}	66.076 ± 4.436 ^{###}	69.311 ± 3.896 ^{###}	67.951 ± 9.990 ^{###}	71.444 ± 4.274 ^{###}
CaCO ₃ /FF	59.972 ± 2.585 ^{###}	60.156 ± 7.191 ^{###}	61.516 ± 7.101 ^{###}	61.406 ± 6.189 ^{###}	62.215 ± 6.288 ^{###}	64.531 ± 2.902 ^{###}	64.826 ± 3.945 ^{###}
BC/FF	59.236 ± 8.393 ^{###}	61.553 ± 7.868 ^{###}	62.583 ± 7.705 ^{###}	63.906 ± 5.308 ^{###}	65.120 ± 5.905 ^{###}	64.752 ± 3.683 ^{###}	67.399 ± 3.987 ^{###}

注:与空白组比较, [#] $p < 0.05$; ^{###} $p < 0.01$;与模型组比较, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$;与 CCM + FF 比较, ^Δ $p < 0.05$; ^{ΔΔ} $p < 0.01$ 。

表2 大鼠血清铁含量($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 2 Serum iron concentrations on rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	血清中铁含量(mg/L)					
	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d	30 d
空白组	2.956 ± 0.505	3.059 ± 0.456	3.275 ± 0.647	3.177 ± 0.447	3.247 ± 0.593	3.268 ± 0.568
模型组	2.160 ± 0.457 ^{###}	2.312 ± 0.682 ^{###}	1.843 ± 0.543 ^{###}	1.847 ± 0.912 ^{###}	1.906 ± 0.471 ^{###}	1.848 ± 0.566 ^{###}
CCM/FF	2.746 ± 0.677 [*]	2.726 ± 0.426	3.000 ± 0.312 ^{**}	3.214 ± 1.082 ^{**}	3.562 ± 0.699 ^{**}	3.784 ± 1.278 ^{**}
CaCO ₃ /FF	2.132 ± 0.612 ^{###Δ}	2.274 ± 0.575 ^{###}	2.543 ± 0.547 ^{###}	2.907 ± 0.873 ^{**}	3.115 ± 1.104 ^{**}	3.164 ± 0.978 ^{**}
BC/FF	2.753 ± 0.771	2.926 ± 0.764	3.096 ± 0.602 ^{**}	3.191 ± 0.501 ^{**}	3.281 ± 0.397 ^{**}	3.496 ± 0.496 ^{**}

注:与空白组比较, [#] $p < 0.05$, ^{###} $p < 0.01$;与模型组比较, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$;与 CCM/FF 比较, ^Δ $p < 0.05$ 。

Way ANOVA), 组间均数两两比较, 方差齐时采用 SNK 法; 方差不齐时采用 Dunnett's T3 法。药代动力学数据使用 DAS2.0 软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同钙剂对大鼠血红蛋白含量的影响

如表 1 所示, 在给样前, 各模型组大鼠的 Hb 含量均显著低于空白对照组 ($p < 0.01$), 表明大鼠缺铁性贫血模型建立成功。给样 1 d 时, 各样品组大鼠血红蛋白含量与模型对照组相比均没有显著性差异; 给样 3 d 后, CCM/FF (柠檬酸苹果酸钙 + 富马酸亚铁) 组大鼠的血红蛋白含量即显著高于模型对照组 ($p < 0.01$), 而 CaCO₃/FF (碳酸钙 + 富马酸亚铁) 组和 BC/FF (骨钙 + 富马酸亚铁) 组大鼠在给药 7 d 后血红蛋白含量才显著高于模型对照组 ($p < 0.01$)。给样 14 d 和给样 30 d 时 CCM + FF 血红蛋白含量极显著高于 CaCO₃ + FF ($p < 0.01$)。

2.2 不同钙剂对大鼠血清铁含量的影响

如表 2 所示, 模型对照组大鼠血清铁含量显著低于空白对照组 ($p < 0.01$), 证实大鼠缺铁性贫血模型建立。在给样 1 d 时, CCM/FF 组大鼠的血清铁含量即显著高于模型对照组和 CaCO₃/FF 组。CCM/FF 组和 BC/FF 组从给样 1 d 起血清铁含量即与正常对照组数值相近, 而 CaCO₃/FF 组在给药 14 d 后血清铁含量才与正常对照组数值相近。

2.3 不同钙剂对血清降钙素浓度、AUC、 ΔC_{max} 、 T_{max} 的影响

如图 1 和表 3 所示, 灌胃三种钙剂后, 大鼠的血清降钙素含量均明显升高, 其中碳酸钙组和骨钙组在灌胃后短时间内 (约 1h 内) CT 含量明显升高, 达到峰值后快速降低, 其 ΔC_{max} 分别为 (624.195 ± 386.868) ng/L 和 (708.734 ± 210.040) ng/L, 达峰时间 (T_{max}) 分别为 (14.000 ± 17.288) min 和 ($41.500 \pm$

50.445) min。而柠檬酸苹果酸钙组大鼠灌胃后血清中 CT 水平较稳定, 持续保持在较高水平, 其 ΔC_{max} 为 (787.466 ± 276.448) ng/L, 达峰时间为 (133.000 ± 102.854) min。并且, 与空白对照组相比, 柠檬酸苹果酸钙组和骨钙组 CT 含量的曲线下面积显著增大 ($p < 0.01$), 其平均值分别为空白对照组的 2.14 倍和 1.78 倍。碳酸钙组 CT 含量的曲线下面积与空白对照组相比没有显著性差异。

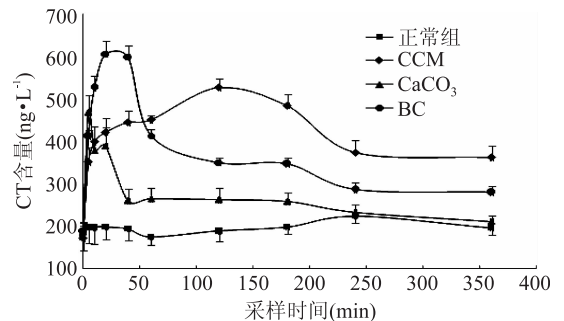


图1 三种钙剂灌胃后不同时间点血清降钙素浓度
Fig.1 Calcitonin concentrations on different time points

3 结论与讨论

本文通过比较 CCM、碳酸钙、骨钙这三种常用钙剂与铁剂合并使用对富马酸亚铁的吸收以及生物利用度的研究表明, 柠檬酸苹果酸钙组对铁吸收的抑制显著低于碳酸钙组说明了柠檬酸苹果酸钙对铁吸收的抑制作用小, 对缺铁性贫血大鼠具有更好的补铁效果, 其效果尤其优于碳酸钙。药代动力学结果显示, CCM 的降钙素曲线下面积比碳酸钙及骨钙高, 达峰时间虽较长, 但吸收充分且消除缓慢, 峰浓度维持时间延长, 间接反映其血钙升高量较其它钙剂多, 由于降钙素可以减少骨骼中的钙离子流失到血液中以及促进钙沉积到骨骼上, 间接反映了柠檬酸苹果酸钙具有较高的生物利用度。CCM 相比其他 Ca 源有

表3 对降钙素曲线下面积 AUC(0-t)、C_{max}、t_{max}影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)Table 3 The effect on AUC(0-t), C_{max} and t_{max} of CT($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	AUC(0-t) (ng/L·min)	C _{max} (ng/L)	T _{max} (min)
空白组	72098.449 ± 26093.098	-	-
CCM	154501.742 ± 58549.577 **	787.466 ± 276.448	133.000 ± 102.854
CaCO ₃	92345.645 ± 34399.376	624.195 ± 386.868	14.000 ± 17.288
BC	128569.573 ± 28614.903 **	708.734 ± 210.040	41.500 ± 50.445

注:与空白对照组比较* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ 。

一个重要的显著的优点:溶解性高。之前有研究发现 CCM 的吸收以及生物利用度明显高于其他的钙源^[4,15-16]。

碳酸钙作为最常使用的钙源,具有价格低廉,取料方便,含钙量高等优势,但同时吸收利用率相对较低。实验检测也发现碳酸钙会发生相互作用阻碍矿物质的生物吸收,尤其是铁和锌^[17-19]。研究表明,CCM 中的 Ca 在阴离子的作用下^[20-21],能够确保 Ca 和 Fe 的高生物利用度,与本研究结果一致。很多现代女性由于节食减肥瘦身等导致缺铁性贫血,尤其是现代中青年妇女,由于月经失血,若长期所食食物含铁不足,也可发生缺铁,对身体的危害很大。此外孕妇,妊娠和哺乳期中需铁量增加,加之妊娠期胃肠功能紊乱,胃酸缺乏,影响铁吸收,尤其是在多次妊娠后,很容易引起缺铁性贫血,因此与 CaCO₃ 等钙源相比,CCM 更适合中青年女性补钙。

参考文献

- [1] 姜智慧. 钙的生理作用与钙的代谢异常[J]. 中国医药乡村医生杂志, 2005, 12(4): 2-5.
- [2] 毛萌. 人体钙营养[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1997.
- [3] Walder BK, Dennison E. Epidemiology of osteoporosis[J]. Rheum Dis Clin North Am, 2001, 27(1): 145-149.
- [4] Heaney RP, Smith KT, Recker RR, et al. Meal effects on calcium absorption[J]. Am J Clin Nutr, 1989, 49(3): 372-376.
- [5] 段惠敏. 补钙与钙营养强化剂 CCM[J]. 食品科技, 2002(1): 64-65.
- [6] 李淑芳, 段惠敏, 郭光美, 等. 柠檬酸-苹果酸钙的特性及应用[J]. 食品工业, 2003(3): 19-21.
- [7] Ilich - Ernst JZ, McKenna AA, Badenhop NE, et al. Iron status, menarche, and calcium supplementation in adolescent girls[J]. Am J Clin Nutr, 1998, 68(4): 880-887.
- [8] Turnlund JR, Smith RG, Kretsch MJ, et al. Milk's effect on the bioavailability of iron from cereal-based diets in young women by use of *in vitro* and *in vivo* methods[J]. Am J Clin Nutr, 1990, 52(2): 373-378.
- [9] Hallberg L. Wheat fiber, phytates and iron absorption[J]. Scand J Gastroenterol Suppl, 1987, 129(22): 73-79.

[10] Hallberg L. Does calcium interfere with iron absorption? [J]. Am J Clin Nutr, 1998, 68: 3-4.

[11] Monsen ER, Cook JD. Food iron absorption in human subjects. IV. The effects of calcium and phosphate salts on the absorption of nonheme iron[J]. Am J Clin Nutr, 1976, 29(10): 1142-1148.

[12] Hallberg L, Brune M, Erlandsson M, et al. Calcium: effect of different amounts on nonheme and heme iron absorption in humans [J]. Am J Clin Nutr, 1991, 53: 112.

[13] Glerup A, Rossander HL, Gramarkovski E, et al. Iron absorption from the whole diet: comparison of the effect of two different distributions of daily calcium intake[J]. Am J Clin Nutr, 1995, 61: 97.

[14] 姜梅, 郝春艳, 赵亚茹. 口服补钙对铁、锌代谢影响的临床研究[J]. 中华儿童保健杂志, 1997, 5(4): 227-229.

[15] Miller JZ, Smith DL, Flora L, et al. Calcium absorption from calcium carbonate and a new form of calcium (CCM) in healthy male and female adolescents[J]. Am J Clin Nutr, 1988, 48(5): 1291-1294.

[16] Smith KT, Heaney RP, Flora L, et al. Calcium absorption from a new calcium delivery system (CCM) [J]. Calcif Tissue Int, 1987, 41(6): 351-352.

[17] Cook JD, Monsen ER. Food iron absorption in man II. The effect of EDTA on absorption of dietary non-heme iron[J]. Am J Clin Nutr, 1976, 29(6): 614-620.

[18] Cook JD, Dassenko SA, Whittaker P. Calcium supplementation: Effect on iron absorption[J]. Am J Clin Nutr, 1991, 53: 106-111.

[19] Prather TA, Miller DD. Calcium carbonate depresses iron bioavailability in rats more than calcium sulphate or sodium carbonate[J]. J Nutr, 1992, 122: 327-332.

[20] Wood RJ, Zheng JJ. High dietary calcium intakes reduce zinc absorption and balance in humans[J]. Am J Clin Nutr, 1997, 65(6): 1803-1809.

[21] Deehr MS, Dallal GE, Smith KT, et al. Effects of different calcium sources on iron absorption in postmenopausal women[J]. Am J Clin Nutr, 1990, 51(1): 95-99.

欢迎登录我们的网站:

www. spgykj. com