0254-6124/2020/40(4)-540–07 *Chin. J. Space Sci.* 空间科学学报

YANG Chao, XU Zihan, LI Kai, ZHANG Hongyu, WANG Hailong, WU Feng, CAO Hongqing, KAN Guanghan, LI Yinghui, DAI Zhongquan. Inhibitory effects of head-down bed rest on bone, glycolipid metabolism of rhesus and their correlation analysis (in Chinese). *Chin. J. Space Sci.*, 2020, **40**(4): 540-546. DOI:10.11728/cjss2020.04.540

头低位卧床对恒河猴骨代谢、糖脂代谢的抑制效应及其相关性分析*

杨 超[1] 徐子涵[1,2] 李 铠[1] 张洪玉[1] 王海龙[1]
吴 峰[1] 曹宏卿[1] 阚广捍[1] 李莹辉[1,2] 戴钟铨[1]

1(中国航天员科研训练中心 航天医学基础与应用国家重点实验室 北京 100094)

2(哈尔滨工业大学生命科学与技术学院 哈尔滨 150001)

摘 要 空间失重引起的骨代谢调节失衡是航天员遭受的最严重的危害之一. 骨代谢失衡还有可能影响机体的糖脂代谢平衡. 本研究利用恒河猴头低位卧床模拟失重效应实验方法, 分析头低位卧床过程中恒河猴血清中骨代谢、糖脂代谢指标变化情况及其相关性. 卧床组恒河猴血清中 BAP 在头低位卧床实验开始 7 天便出现了显著下降 ($P < 0.05$), 血清胰岛素、高密度脂肪酸含量在 7 天显著下降并一直维持在较低水平, 血糖含量在 7 天时显著下降, 但在 21 天时明显回升. 分析发现, 骨钙素与血糖、皮质醇、高密度脂肪酸含量间均存在相关性, 这表明头低位卧床模拟失重效应实验中骨与糖脂代谢之间存在相互调控.

关键词 恒河猴, 卧床实验, 骨钙素, 糖脂代谢

中图分类号 R 85

Inhibitory Effects of Head-down Bed Rest on Bone, Glycolipid Metabolism of Rhesus and Their Correlation Analysis

YANG Chao[1] XU Zihan[1,2] LI Kai[1] ZHANG Hongyu[1] WANG Hailong[1]
WU Feng[1] CAO Hongqing[1] KAN Guanghan[1] LI Yinghui[1,2] DAI Zhongquan[1]

1(*State Key Laboratory of Space Medicine Fundamentals and Application, Astronaut Center of China, Beijing* 100094)

2(*School of Life Science and Technology, Harbin Institute of Technology, Harbin* 150001)

Abstract Bone loss and subclinical diabetes-like are developed during long-term spaceflight. Recently, it was demonstrated that bone was able to regulate energy metabolism and testosterone

* 青年人才托举工程项目 (2015-2017-2015QNRC001), 国家自然科学基金项目 (81801872, 31470832, 31570858), 国家重大科学仪器设备开发专项 (2013YQ190467) 和中国航天员科研训练中心航天医学基础与应用国家重点实验室自主科研项目 (SYFD1500604) 共同资助

2018-03-14 收到原稿, 2019-08-22 收到修定稿

E-mail: daizhq77@163.com. 通信作者 李莹辉, E-mail: yinghuidd@vip.sina.com

synthesis *via* osteocalcin. In this study, we analyzed the changes of bone metabolism and glycolipid metabolism of rhesus and their association ($P < 0.05$). Serum insulin and LDL content significantly decreased at 7 days and remained at a low level, and the blood glucose level showed a significant decline at 7 days, but recovery at 21 days. The correlation analysis showed that there was a correlation between osteocalcin and blood glucose, cortisol and HDL. The experimental results show that there is mutual regulation between bone and glycolipid metabolism in the bedrest experiment of rhesus.

Key words Rhesus, Bedrest, Osteocalcin, Glycolipid metabolism

0 引言

在空间失重引起的人体生理变化中, 骨代谢调节失衡是航天员遭受的最严重的危害之一. 骨骼是人体重要的力承受器官, 具有支持身体、造成运动、储存矿物质的作用. 失重状态下, 航天员每月会丧失 1%~2% 的骨质 [1] 并且失重导致的骨丢失不随着任务时间的延长而到达平台期 [2]. 航天员在 4~6 个月飞行任务期间骨量下降了 11%, 且恢复一年后骨量仍没有复原 [3−6]. 最近研究表明, 骨骼还具有类似内分泌器官的功能. 雄性性腺分泌的雄激素和胰岛分泌的胰岛素对骨代谢具有重要的调节作用, 骨骼中成骨细胞分泌的骨钙素不仅在骨骼形成中起到重要作用, 也能对机体能量代谢、性腺功能等进行反馈调节 [7−9]. 因此, 空间失重导致的骨代谢失衡可能影响机体的糖脂代谢平衡.

由于头低位卧床可以模拟微重力引起的体液头向分布和运动减少对人体的影响, 卧床引起的心血管功能紊乱、肌肉萎缩、骨质疏松、内分泌失调、水盐代谢改变、免疫功能下降等现象与失重环境对人体的影响具有较高的相似性, 因此头低位卧床实验是地基模拟失重生理效应的重要途径 [10−12]. 模拟失重效应研究主要利用大鼠作为模式动物 [13−15], 但是啮齿类动物与人体还存在一定差异. 恒河猴属于哺乳纲、灵长目、猴科, 在生物进化过程以及组织器官结构、生理习性和代谢机能上与人类相近, 是一种极为珍贵的实验动物, 在生命科学、环境保护、航天飞行、医药保健、计划生育、生态平衡等方面有极其广泛的应用. 灵长类动物用于空间飞行研究已有报道, 例如 Cosmos 1514/Bion 6, Cosmos 1667/Bion 7, Cosmos 1887/Bion 8, Cosmos 2044/Bion 9, Cosmos 2229/Bion 10, Bion11 共 6 次对恒河猴的研究, 其他非类人灵长类的研究包括松鼠猴 (Macaca sciureus) 1 次, 黑猩猩 (Pan troglodytes) 2 次等 [16,17]. 本次恒河猴 42 天头低位卧床模拟失重效应实验旨在模拟中长期航天飞行对机体的影响, 所涉及的血清中糖脂代谢与骨代谢指标分析是恒河猴卧床实验的重要组成部分. 灵长类卧床实验也完善健全了航天医学研究应用体系, 从细胞、模式动物到灵长类形成一条互为支撑、相互验证的研究体系. 关于猕猴头低位模拟微重力实验中实验平台设施的工艺设计以及实验实施细节目前尚无详细报道, 通过本次恒河猴研究, 进一步完善了前期建立的灵长类动物模拟失重效应模型, 为中国空间站任务实施提供支持.

本实验通过分析恒河猴 −10° 头低位卧床过程骨代谢指标及糖脂代谢指标的变化, 揭示长期失重状态下骨骼功能、糖脂代谢变化规律, 阐明模拟失重效应下骨代谢与糖脂代谢的相关性. 研究结果有助于了解环境因素与机体稳态调节等重要科学问题, 为揭示骨丢失等航天医学问题的发生发展提供重要证据.

1 研究方法

1.1 恒河猴头低位模拟失重效应实验

恒河猴模拟失重效应实验在中国航天员科研训练中心实验动物伦理委员会审查批准后实施. 12 只青壮年恒河猴按体重配对, 随机分为 2 组, 实验周期 6 周; 其中对照组 6 只, 实验期间在笼内自由活动; 实验组 6 只, 在特制的头低位模拟失重效应装具上生活 6 周. 实验结束后共 9 只恒河猴采集到有效数据, 其中对照组 4 只, 实验组 5 只.

(1) 动物选拔要求. 基础要求: 年龄 4~8 岁, 体重 7~11 kg, 体长 85~95 cm, 雄性. 医学要求为: 病毒、细菌、寄生虫的控制符合国家普通级灵长类动物的有关要求, 为确保实验安全, 实验用猴需为 B 病毒和结核菌阴性.

(2) 选拔方法及程序. 实验动物在北京协尔鑫生物资源研究所的适用于本实验的近 700 只恒河猴中选拔产生, 选拔在北京协尔鑫生物资源研究所内实施, 研究组在动物出场前对基础状态进行确认; 所用恒河猴不能对 846 合剂、氯胺酮等麻醉药物有耐受性, 课题组在实验前的适应性观察期内进行确认.

(3) 动物实验控制. 实验在标准实验动物中心进行, 单只恒河猴实验周期为 52 天, 包括实验适应期 10 天及头低位 42 天. 其中头低位模拟失重实验前 (-10～$-2d$) 恒河猴置于动物笼中饲养以观察其基本状态, 并收集基础生理数据; 模拟失重效应期间恒河猴头低位 $-10°$ 俯卧于实验装置上, 在测试过程中均取俯卧位姿势 (见图 1).

(4) 实验过程动物饮食. 实验期间给恒河猴饲喂全价膨化饲料, 按正常生活需求每天 3 次投喂, 由动物自己从饲料盒内采食并每日配给一定量水果等. 如出现排便困难则在满足每日正常能量需求的前提下, 在膨化饲料中增加一定量 (3%～5%) 的粗纤维含量.

(5) 实验过程动物状态监测与护理. 为保证受试动物实验期间处于健康的身体状态, 减少应激反应, 避免出现发热、腹泻、皮肤外伤等疾病的发生, 建立了规范的护理制度对受试恒河猴进行全面的实验护理: 护理工作由专门的兽医师负责实施; 实验期间严格记录动物每日的进食进水及排泄情况; 实验期间每日观察动物受缚处的皮肤是否有损伤发生, 并视具体情况确定更换束缚点, 若受缚处的皮肤有损伤发生应及时清洗治疗并严格记录; 实验期间对受试动物进行卫生清洗工作, 避免因排泄带来有关疾病发生, 避免长期实验带来的褥疮发生, 通常每三天卫生清洗一次; 如实验期间受试动物发生疾病, 应及时治疗并严格记录; 根据恒河猴的喜性, 不时给予玩具供其玩耍.

1.2 血常规及骨代谢指标影响检测方法

检测对象为实验组及对照组恒河猴的血清. 检测指标及时间: 分别于头低位模拟失重实验 -3 d (卧床实验前 3 天), 7 d (卧床实验第 7 天), 21 d (卧床实验第 21 天), 35 d (卧床实验第 35 天) 采集恒河猴静脉血 3 mL (实验组及对照组), 分离血清, 使用日立 7070 全自动生化分析仪对血糖、胰岛素、骨碱性磷酸酶、抗酒石酸酸性磷酸酶、高密度脂肪酸、低密度脂肪酸含量进行检测. 使用 Takara 公司 ELISA 试剂盒检测骨钙素含量. 皮质醇含量测定采用电化学发光法, 在 CobasE601 全自动免疫分析仪上检测.

1.3 数据分析

数据分析情况: 各实验开展前 3 天 (-3 d) 的检测结果为 100%, 后续检测结果数值与 -3 d 比值的百分数表征其变化情况, 用于后续图表制作.

使用 SPSS (22.0 版本) 软件, 通过描述方法分析不同生化指标的分布规律, 并检验数据是否符合正态分布. 检测数据服从正态分布的指标, 采用多因素方差分析的方法, 研究两个实验分组及时间点是否对观测变量产生显著影响, 采取 Duncan 多重比较方法检验各组之间是否存在显著差异, 采用 Pearson 方法分析各组指标间的相关性. 检测数据不符合正态分布的指标, 采用 Sperman 方法分析相关性.

2 研究结果

2.1 头低位卧床对恒河猴骨代谢的影响

长期的头低位卧床会导致骨质快速流失、肌肉萎缩等现象出现. 在恒河猴头低位卧床实验过程中选取 -3 d, 7 d, 21 d, 35 d 四个时间点, 对成骨细胞功能标志因子骨钙素 (Osteocalcin)、骨转换标志因子抗



图 1 恒河猴头低位卧床实验装置

Fig. 1 Bedrest equipment for Rhesus monkey

酒石酸酸性磷酸酶 (TRAP) 以及骨特异性碱性磷酸酶 (BAP) 进行测定 (见图 2), 分析长期头低位卧床对恒河猴骨代谢的影响.

骨碱性磷酸酶 BAP 是成骨细胞的一种细胞外酶, 对机体的生理功用主要是在成骨过程中水解磷酸酯, 为羟磷灰石的沉积提供必需的磷酸; 同时, 水解焦磷酸盐, 解除其对骨盐形成的抑制作用. 因此, 血清骨型碱性磷酸酶活力的定量测定可作为观察骨形成变化率. 与对照组相比, 血清中 BAP 在头低位卧床实验开始一周便出现了显著下降 ($P < 0.05$), 血清中含量仅为对照组的 60%, 并且在卧床实验过程中均维持在较低水平, 这说明骨形成过程在恒河猴头低位卧床过程中受到了明显抑制. 该结果与航天员在空间飞行后血清 BAP 含量下降的实验结果一致.

抗酒石酸酸性磷酸酶 TRAP 主要存在于巨噬细胞、破骨细胞以及单核吞噬细胞等细胞中. 由于其功能特点, 被认为是骨吸收和破骨细胞活性的良好标志

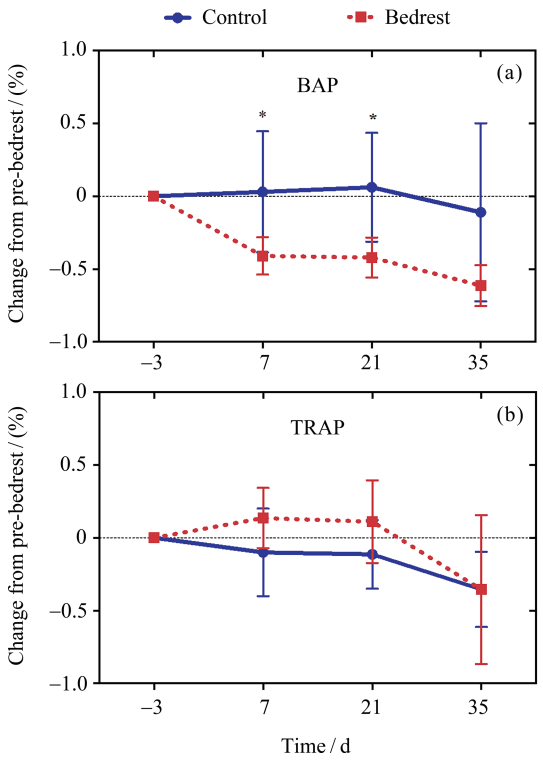


图 2　头低位卧床导致血清骨碱性磷酸酶 (BAP) 与抗酒石酸酸性磷酸酶 (TRAP) 含量变化 ($*P < 0.05$, 在星号所在检测时间点, 对照组与卧床组数据间存在显著差异)

Fig. 2　Changes of serum BAP and TRAP induced by bed rest ($*P < 0.05$, difference existed in control and bedrest group at the time point)

物. 两组血清 TRAP 值在实验开始 7 d, 21 d 有一定的上升, 但是邓肯多重检验结果显示并没有出现显著性变化. 血清 TRAP 值在 35 d 出现了一定下降. 上述实验结果表明, 头低位卧床模拟失重效应对恒河猴骨代谢影响可能主要为降低成骨细胞活性, 破骨细胞活性在头低位卧床过程中有所增加, 但增幅较小.

骨钙素由成骨细胞分泌并释放至骨基质中, 是骨内含量最多的非胶原蛋白. 临床中常作为骨转换的标志因子进行检测. 最新研究发现, 骨钙素可作为骨骼分泌的调节因子, 对机体糖脂代谢进行调节. 与对照组相比, 头低位卧床组血清骨钙素含量在 7 d 时开始出现持续下降直至 35 d. 这说明在头低位卧床过程中骨转换率有一定下降, 如图 3 所示.

2.2　头低位卧床对恒河猴糖脂代谢的影响

血清检测结果表明, 随着卧床实验的进行, 卧床组恒河猴血糖出现一定降低. 在卧床进行至 35 d 时, 两组恒河猴血糖均出现显著上升. 与对照组相比, 卧床组血清胰岛素含量在 7 d 出现显著下降并一直维持在较低水平, 直至卧床 35 d 也没有恢复, 这表明长期头低位卧床对恒河猴糖代谢产生了影响.

Cortisol(皮质醇) 是从肾上腺皮质中分泌的一种可以快速调节血糖的激素. 同时, 皮质醇在调节情绪和健康、免疫细胞和炎症、血管和血压间联系以及维护缔结组织 (例如骨骼、肌肉和皮肤) 等方面有重要的功效. 与血清胰岛素变化类似, 在卧床实验开始 7 d 后, 血清皮质醇含量即发生下降, 在整个卧床周期中均保持在较低水平. 但与对照组相比, 变化并没有达到显著水平 (见图 4).

高密度脂蛋白 (HDL) 主要是由肝脏合成. HDL 在生理上起着将肝外组织的胆固醇运送到肝脏的运

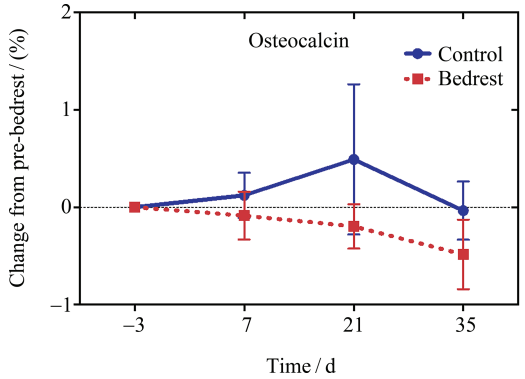


图 3　头低位卧床导致血清骨钙素 (Osteocalcin) 含量变化

Fig. 3　Serum Osteocalcin changes induced by bedrest

载工具的作用. 低密度脂蛋白 (LDL) 是一种运载胆固醇进入外周组织细胞的脂蛋白颗粒, 通常认为 LDL 把胆固醇从肝脏运送到全身组织, 而 HDL 将各组织的胆固醇送回肝脏代谢. 在头低位卧床过程中, 恒河猴血清 LDL 有所上升, 但变化并不显著. 在卧床实验进行至 35 d 时, 实验组恒河猴 LDL 含量与对照组基本一致. 长期头低位卧床导致卧床组恒河猴 HDL 在 7 d 时出现显著下降, 并在 21 d 和 35 d 时均保持在较低水平. 实验结果表明, 长期头低位卧床可能对恒河猴胆固醇代谢造成了一定影响 (见图 5).

2.3 恒河猴头低位卧床中血清骨钙素与糖脂代谢指标相关分析

骨代谢指标之间的相关性: 骨钙素与 BAP 呈极显著正相关 ($r = 0.536$, $P = 0.001$); 骨钙素与 TRAP 呈极显著正相关 ($r = 0.460$, $P = 0.003$). 骨钙素与 BAP 均为成骨细胞功能的重要指标, 二者呈正相关表明骨代谢指标在恒河猴卧床过程中变化趋势一致.

骨代谢指标与糖脂代谢指标之间存在相关性, 即骨质疏松或骨量减少与脂质代谢紊乱通常并存. 骨钙素与血糖 (Glucose) 呈极显著负相关 ($r = -0.543$, $P = 0.001$), 与皮质醇 (Cortisol) 呈极显著正相关 ($r = 0.430$, $P = 0.006$), 如表 1 所示. 研究表明, 骨钙素可以调节糖代谢能力. 本研究中骨钙素与血糖之间的显著负相关性以及骨钙素与皮质醇之间极显著的正相关性进一步说明骨代谢与血糖调控密切相关. 骨钙素与高密度脂蛋白胆固醇 HDL 也呈显著

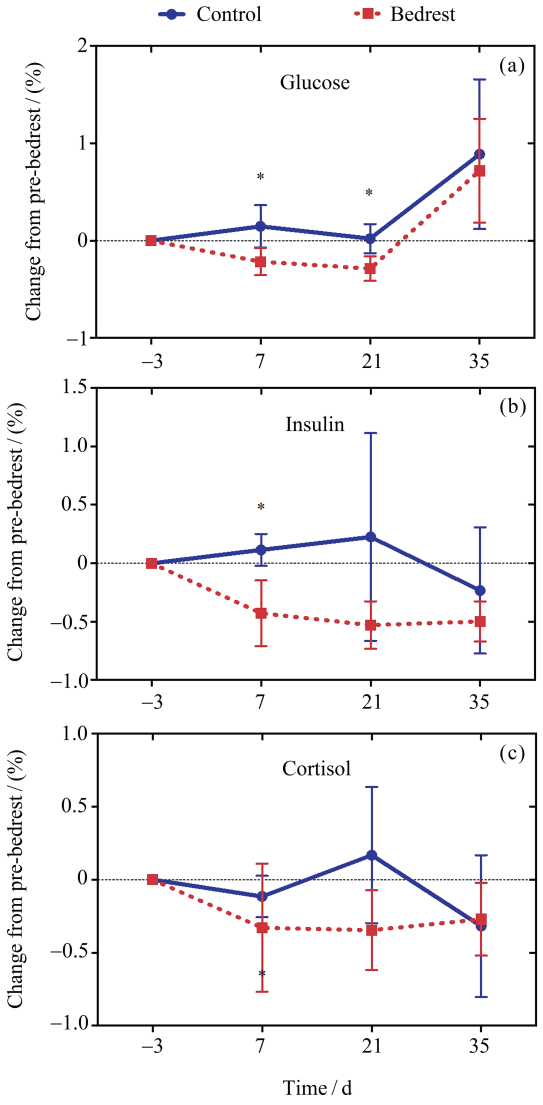


图 4 头低位卧床导致血糖 (Glucose)、血清胰岛素 (Insulin)、血清皮质醇 (Cortisol) 含量变化 ($*P < 0.05$, 在星号所在检测时间点, 对照与卧床组数据间存在显著差异)

Fig. 4 Changes of serum Glucose, Insulin and Cortisol induced by bedrest ($*P < 0.05$, difference existed in control and bedrest group at the time point)

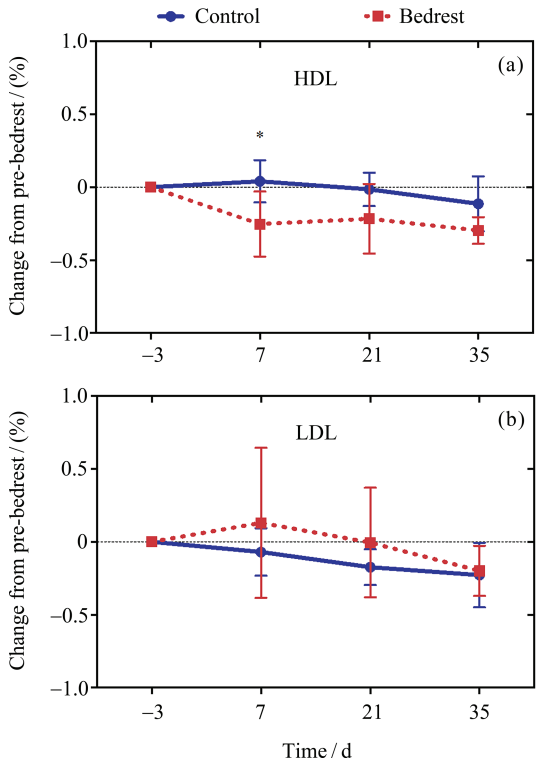


图 5 头低位卧床导致血清高密度脂肪酸 (HDL) 与低密度脂肪酸 (LDL) 含量变化 ($*P < 0.05$, 在星号所在检测时间点, 对照与卧床组数据间存在显著差异)

Fig. 5 Changes of serum HDL and LDL induced by bedrest ($*P < 0.05$, difference existed in control and bedrest group at the time point)

正相关 ($r = 0.334$, $P = 0.035$), 与低密度脂蛋白胆固醇 LDL 无明显相关性. 如前所述, 高密度脂蛋白在恒河猴头低位卧床实验过程中呈明显下降趋势, 而低密度脂蛋白无明显变化趋势. 相关性分析结果表明, 在恒河猴卧床实验中, 高密度脂肪酸与骨代谢之间存在一定相关性.

3 结论与讨论

研究了恒河猴头低位卧床模拟失重效应 42 天对恒河猴骨代谢、糖脂代谢指标的影响. 在卧床前 3 d 及卧床中 7 d, 21 d, 35 d 四个时间点采集恒河猴血清样本进行检测, 通过分析 BAP, TRAP, Osteocalcin 三个指标变化情况, 阐述了头低位卧床对恒河猴骨代谢的影响; 通过检测 Glucose, Cortisol, Insulin, HDL, LDL 血清中的含量变化, 分析了头低位卧床对恒河猴糖脂代谢的影响; 根据文献报道和本课题组前期研究结果, 统计了骨钙素与糖脂代谢指标之间的相关关系, 主要结论如下.

(1) 骨代谢指标测试分析结果表明, 在恒河猴头低位卧床模拟失重效应实验过程中, 血清中 BAP 及 Osteocalcin 含量在卧床实验开始后明显下降, 成骨细胞活性过程受到抑制. 该结果与人体头低位卧床实验结果较为一致. 在 56 d 人体卧床实验中, 血清 BAP 含量在 12 d 出现明显下降, 在结束卧床恢复 28 d 后才与对照组达到同一水平. 与对照组相比, 血清 TRAP 含量在 5 d 出现上升趋势并在 12 d 出现显著上升 [18]. 头低位卧床对血清中骨钙素含量的影响目前还存在争议: 有研究认为, 头低位卧床会导致成骨细胞活性下降, 进而影响成骨细胞分泌骨钙素的含量, 在卧床进行 14 天时, 骨钙素含量出现明显下降 [19]; 但也有研究表明, 模拟失重效应引起的破骨细胞活性上升使得骨基质中存储的骨钙素被释放入血液循环, 导致血清骨钙素含量上升 [20]. 因此头低位卧床对血清中骨钙素含量的影响仍需进一步研究.

(2) 对糖脂代谢指标测试分析结果表明, 实验过程中恒河猴血糖、血清胰岛素、血清高密度脂肪酸含量均出现下降, 这说明 42 天头低位卧床对恒河猴的糖脂代谢造成了干扰. 课题组前期进行的人体 60 天头低位卧床实验结果显示, 血清中胰岛素含量出现下降, 血糖含量在卧床实验早期出现一定下降然后逐步升高, 机体表现出类糖尿病的现象 [21]. 本次实验过程中, 血清中胰岛素含量有一定下降, 与人体卧床实验结果类似. 血糖变化在卧床实验开展的 21 d 中并不明显, 35 d 后才出现明显上升, 这可能与饮食条件控制有关. 本次实验中还观察到, 与对照组相比, HDL 含量在卧床实验开展 7 d 时显著下降, 且一直维持在较低水平. 该结果与课题组前期组织的人体 60 天卧床结果高度一致 [20]. Naomi 等的研究结果显示, 在 28 天卧床实验中, HDL 出现了显著下降 (对照组: 39±1. 卧床组: 32±1 mg·dL^{-1}; $P < 0.001$)[22]. Leach 等收集了 24 次航天飞行任务中 125 份血清样品进行分析, 发现与飞行前相比, 航天员返回地球后血清中 HDL 含量下降了 12.8%. 这些结果表明, 失重或模拟失重效应对 HDL 的含量具有一定影响, 进而影响到人体正常的脂肪和胆固醇代谢 [23−25].

(3) 相关分析结果显示, 骨钙素与血糖、皮质醇、高密度脂肪酸均存在相关性, 说明头低位卧床模拟失重效应实验中骨与糖脂代谢存在相互调控. 骨钙素作为骨内含量最多的非胶原蛋白, 被认为是骨内的一种结构分子. 随着对骨钙素研究的深入, 发现非羧化骨钙素可以作为一种骨骼分泌的激素调控能量代谢、雄性性腺功能、脑功能等 [7−9]. 本研究通过相关性统计分析, 发现骨钙素与血糖、皮质醇、高密度脂肪酸均存在相关性, 说明恒河猴头低位卧床过程中骨代谢与糖脂代谢之间存在相互调控.

致谢 本实验得到 306 医院骨科的支持.

表 1 血清骨钙素与糖脂代谢等指标间的相关性分析结果

Table 1 Results of correlation analysis between serum osteocalcin and glucose and lipid metabolism indexes

	BAP	TRAP	Glucose	Cortisol	Insulin	HDL	LDL
Osteocalcin	0.536	0.460	−0.543	0.430	0.054	0.334	0.051
P value	0.001	0.003	0.001	0.006	0.743	0.035	0.754

参考文献

[1] TILTON F E. Long-term Follow-up of Skylab Bone Demineralization [R]. Alabama: Air Force Inst of Tech Wright-Patterson Afb Oh, 1979

[2] VICO L, COLLET P, GUIGNANDON A, *et al.* Effects of long-term microgravity exposure on cancellous and cortical weight-bearing bones of cosmonauts [J]. *Lancet*, 2000, **355**(9215): 1607-1611

[3] LANG T F, LEBLANC A D, EVANS H J, *et al.* Adaptation of the proximal femur to skeletal reloading after long-duration spaceflight [J]. *J. Bone Mineral Res.*, 2006, **21**(8): 1224-1230

[4] CAILLOT-AUGUSSEAU A, LAFAGE-PROUST M H, SOLER C, *et al.* Bone formation and resorption biological markers in cosmonauts during and after a 180-day space flight (Euromir 95) [J]. *Clin. Chem.*, 1998, **44**(3): 578-585

[5] CAILLOT-AUGUSSEAU A, VICO L, HEER M, *et al.* Space flight is associated with rapid decreases of undercarboxylated osteocalcin and increases of markers of bone resorption without changes in their circadian variation: observations in two cosmonauts [J]. *Clin. Chem.*, 2000, **46**(8): 1136-1143

[6] ZERWEKH J E, RUML L A, GOTTSCHALK F, *et al.* The effects of twelve weeks of bed rest on bone histology, biochemical markers of bone turnover, and calcium homeostasis in eleven normal subjects [J]. *J. Bone Mineral Res.*, 1998, **13**(10): 1594-1601

[7] LEE N K, SOWA H, HINOI E, *et al.* Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton [J]. *Cell*, 2007, **130**(3): 456-469

[8] OURY F, SUMARA G, SUMARA O, *et al.* Endocrine regulation of male fertility by the skeleton [J]. *Cell*, 2011, **144**(5): 796-809

[9] OURY F, KHRIMIAN L, DENNY C A. Maternal and offspring pools of osteocalcin influence brain development and functions [J]. *Cell*, 2013, **155**(1): 228-241

[10] BELAVY D L, HIDES J A, WILSON S J, *et al.* Resistive simulated weightbearing exercise with whole body vibration reduces lumbar spine deconditioning in bed-rest [J]. *Spine*, 2008, **1**(33): 121-131

[11] CAO PH, KIMURA SJ, BRANDON R, *et al.* Exercise within lower body negative pressure partially counteracts lumbar spine deconditioning associated with 28-day bed rest [J]. *J. Appl. Physiol.*, 2005, **99**(1): 39-44

[12] CONVERTINO VA, KOENIG SC, KROTOV VP, *et al.* Effects of 12 days exposure to simulated microgravity on central circulatory hemodynamics in the rhesus monkey [J]. *Acta Astronaut.*, 1998, **42**(1-8): 255-263

[13] FÖLDES I, KERN M, SZILÁGYI T, *et al.* Histology and histochemistry of intervertebral discs of rats participated in spaceflight [J]. *Acta Biol. Hung.*, 1996, **47**(1/2/3/4): 145-156

[14] SINHA R K, SHAH S A, HUME E L, *et al.* The effect of a 5-day space flight on the immature rat spine [J]. *Spine*, 2002, **2**(4): 239-243

[15] YASUOKA H, ASAZUMA T, NAKANISHI K, *et al.* Effects of reloading after simulated microgravity on proteoglycan metabolism in the nucleus pulposus and anulus fibrosus of the lumbar intervertebral disc: an experimental study using a rat tail suspension model [J]. *Spine*, 2007, **32**(25): 734-740

[16] CONVERTINO V A, KOENIG S C, KROTOV V P, *et al.* Effects of 12 days exposure to simulated microgravity on central circulatory hemodynamics in the rhesus monkey [J]. *Acta Astron.*, 1998, **42**(1/2/3/4/5/6/7/8): 255-263

[17] SUN B, ZHANG X Y, LIU L Z, *et al.* Effects of head-down tilt on nerve conduction in rhesus monkeys [J]. *Chin. Med. J.*, 2017, **130**(3): 323

[18] ARMBRECHT G, BELAVY D L, GAST U, *et al.* Resistive vibration exercise attenuates bone and muscle atrophy in 56 days of bed rest: biochemical markers of bone metabolism [J]. *Osteoporos. Int.*, 2010, **21**(4): 597-607

[19] KIM H, IWASAKI K, MIYAKE T, *et al.* Changes in bone turnover markers during 14-day 6 degrees head-down bed rest [J]. *J. Bone. Mineral Res.*, 2003, **21**(5): 331-335

[20] LUEKEN S A, ARNAUD S B, TAYLOR A K, *et al.* Changes in markers of bone formation and resorption in a bed rest model of weightlessness [J]. *J. Bone Mineral Res.*, 1993, **8**(12): 1433-1438

[21] YANG C, CHEN J, WU F, *et al.* Effects of 60-day head-down bed rest on osteocalcin, glycolipid metabolism and their association with or without resistance training [J]. *Clin. Endocrinol.*, 2014, **81**(5): 671-678

[22] BROOKS N E, CADENA S M, CLOUTIER G, *et al.* Influence of exercise on the metabolic profile caused by 28 days of bed rest with energy deficit and amino acid supplementation in healthy men [J]. *Int. J. Med. Sci.*, 2014, **11**(12): 1248-1248

[23] LEACH C S, JOHNSON J P, KRAUHS J M. *et al.* Cholesterol in serum lipoprotein fractions after spaceflight [J]. *Aviat. Space Environ. Med.*, 1988, **59**(11): 1034-1037

[24] SIMPSON E J, DEBEVEC T, EIKEN O, *et al.* Analogs of microgravity: space research without leaving the planet: PlanHab: the combined and separate effects of 16 days of bed rest and normobaric hypoxic confinement on circulating lipids and indices of insulin sensitivity in healthy men [J]. *J. Appl. Physiol.*, 2016, **120**(8): 947

[25] BIOLO G, DI GIROLAMO F G, MCDONNELL A, *et al.* Effect of hypoxia and bed rest on markers of cardiometabolic risk: compensatory changes in circulating trail and gluthione rebox capacity [J]. *Front. Physiol.*, 2018, **9**: 1000