

高浓度酒精摄入对大鼠股骨骨质成分的影响

阮彩莲 阮红斌 艾宁 李小记

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2009)04-0250-05

摘要:目的 观察长期摄入高浓度酒精对大鼠股骨代谢的影响。方法 清洁级 SD 雄性大鼠 30 只, 随机分成 3 组: 基础对照组、正常对照组(蒸馏水灌胃)、酒精给予组。酒精给予组给予 50%(体积分数)乙醇, 按 $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 剂量灌胃, 共 60 天。然后处死全部大鼠。股骨进行羟脯氨酸和骨钙、磷、铁、镁、锌元素的测定和比较。结果 与基础对照组和正常组相比, 酒精组的各参数值都明显降低 ($P < 0.05$)。结论 长期摄入酒精抑制骨矿化, 并抑制骨基质形成, 最终造成股骨骨量的丢失, 诱发骨质疏松。

关键词: 酒精; 股骨; 骨量; 骨矿物质; 骨微量元素

The highly concentrated ethyl alcohol takes to the big mouse thighbone ossein ingredient influence RUAN

Cailian, RUAN Hongbin, AI Ning, et al. College of Medicine, Yan'an University, Yan'an 716000, China

Abstract: **Objective** The observation takes in the highly concentrated ethyl alcohol for a long time to the big mouse thighbone metabolism influence. **Methods** 30 clean level SD male gender big mouse were divided into 3 groups stochastically, the foundation control group, the normal control group (distilled water fills stomach), the ethyl alcohol gives the group, gives 50% (volume fraction) the ethyl alcohol, according to $4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ the dosage fills the stomach, altogether 60 days. Then executes completely the big mouse. The thighbone carries on the backbone to be heavy, hydroxyproline and bone calcium, phosphorus, hard, magnesium, zinc element determination and comparison. **Results** Compared with the foundation control group and the normal group, ethyl alcohol group's various parameter values reduce ($P < 0.05$) obviously. **Conclusion** Intake of the ethyl alcohol to suppress the bone and prohibit the bone mineralization, and suppress the bone matrix formation will lead to the loss of thighbone quantity and incur osteoporosis.

Key words: Alcohol; Thighbone; Bone quantity; Bone mineral content; Bone microelement

骨质疏松由 Pommerehne^[1]在 1885 年提出,但人们对骨质疏松的认识是随着历史发展和技术进步逐渐深化的。早年,一般认为全身骨质减少即为骨质疏松,美国则认为老年骨折为骨质疏松^[2]。直到 1990 年,在丹麦举行的第三届国际骨质疏松研讨会,以及 1993 年在香港举行的第四届国际骨质疏松研讨会上,骨质疏松才有一个明确的定义,并得到世界的公认。原发性骨质疏松是以骨量减少、骨的微观结构退化为特征的,致使骨的脆性增加以及易于发生骨折的一种全身性骨骼疾病^[3]。而且世界卫生组织把每年的 10 月 20 日为“国际骨质疏松日^[4]”。

引起骨质疏松的原因很多,饮酒就是其中之

一^[5]。由酒精引起的骨质疏松称为酒精性骨质疏松症(AOP),是临床常见的酒精性骨病之一,且一直未得到人们的足够重视^[6]。

本实验的目的正是为了研究生物体经过长期饮酒后,骨质发生什么样的变化,以期寻求科学的解释,为广大中老年骨质疏松患者提供科学的方法,延缓和预防骨质疏松,从而为大众保健、健身提供科学的理论依据。并指出该病研究现状和存在问题,提示 AOP 需要进一步深入研究,而从有氧运动的角度研究将是一个新的研究方向和发展趋势。

1 材料和方法

1.1 研究对象及实验分组

1.1.1 研究对象: 离乳两月龄 SD 雄性大鼠 30 只,由西安交通大学医学院动物实验中心提供,体重 $(200 \pm 10) \text{ g}$,体长为 $(17.8 \pm 1.5) \text{ cm}$ 。在实验室内

作者单位: 716000 延安,陕西省延安大学医学院(阮彩莲、李
小记),陕西省延安市中医院(阮红斌、艾宁)

通讯作者: 阮彩莲, Email: rcl1157@163.com

适应性喂养 1 周。

1.1.2 实验分组 :将 30 只大鼠随机分为 A 组为基础对照组(FG)($n = 10$);B 组为正常对照组(Normal Control Group)即 NG 组($n = 10$)蒸馏水灌胃 ;C 组为 50% 酒精给予组(The ethyl alcohol gives the group ,EG)($n = 10$)给予 50%(体积分数)乙醇 ,按 $4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 剂量灌胃。

1.2 动物饲养

动物房维持在温度(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度 40% ~ 60% ,每日按自然昼夜照明 ,自由进食饮水^[7]。动物饲料为实验动物专用饲料 ,购自西安交通大学医学院动物实验中心 ,饮用水为自来水。大鼠购进后均先适应性喂养 1 周 ,自由活动。在接下来 6 周的试验过程中 ,将 3 组大鼠分 3 笼 ,每周换垫料两次 ,每次 1600 g。

1.3 动物模型的建立

大鼠经过适应性喂养 1 周后 ,对正常对照组进行蒸馏水灌胃 ,酒精给予组开始进行酒精灌胃 ,按照 $4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 给予^[3]。共 60 天。在第 60 天结束后 ,全部处死。取大鼠腹主动脉采血 ,血清碱性磷酸酶含量、血清 I 型前胶原羧基端前肽、血清羟脯氨酸和骨钙、磷、铁、镁、锌元素的测定和比较。取大鼠股骨进行骨干重的测定和比较。

1.4 主要实验仪器、试剂及训练设备

1.4.1 主要实验仪器 :动物解剖器械若干 ;氨基酸分析仪(北京温分分析仪器技术开发有限公司 LC98-IAAA 型);光谱仪器可见分光光度计(北京中科慧杰分析科技有限公司 SP-1105 721);超声波(USA);计算机机层(CT)机(中技贸易股份有限公司 CNTICTC-2000127)。

1.4.2 主要试剂 :麻醉剂 :乌拉坦(北京通县育才精细化工厂 ,批号 980922);羟脯氨酸试剂盒(Sigma , USA)(美国 Metra Biosystems 公司);羟赖氨酸糖甙试剂盒(美国 Metra Biosystems 公司);酶标器(Bio Red , USA);甲基百里香酚蓝比色法钙测定试剂盒(南京建成生物技术有限公司 ,中国);Masson 三色试剂盒(福建迈新生物技术开发公司 ,中国)。

1.4.3 试验设备 :采用每日灌注法 ,共持续 60 天。

1.5 实验时间及地点

1.5.1 实验时间 :2007 年 4 月 6 日 ~ 2007 年 6 月 20 日。

1.5.2 实验地点 :西安体育学院动物实验室。

1.6 实验指标测试

1.6.1 生化检查 测定血中的矿物质及某些生化指

标有助于判断骨代谢状态及骨更新率的快慢 ,对骨质疏松症的鉴别诊断有重要意义。

1.6.2 血清指标的取材 :规定实验时间结束后 ,将所有大鼠 ,用 20% 乌拉坦($0.6\text{ ml}/100\text{ mg}$)胸腔内注射麻醉 ,打开胸腔在胸主动脉采血 ,采血量 5 ml/只 ,并立即移入离心管迅速放入全自动高速冷冻离心机里 ,以 3500 r/min 离心 15 min ,取 50 μL 上清液。然后用南京建成出品的测试血清钙、磷、镁的测试盒进行测试。

1.7 统计学处理

各组大鼠所有观察结果均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示 ,两组均数之间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 大鼠血清测试指标

2.1.1 各组 60 天末血清碱性磷酸酶含量 :60 天末各组之间血清碱性磷酸酶含量的比较见表 1。

表 1 各组 60 天末血清碱性磷酸酶含量

组别	60 天末血清血清碱性磷酸酶含量(akp/alp)	变化量 (%)
基础对照组	71.62 $\pm$ 9.17	
正常对照组	70.92 $\pm$ 1.96 [★]	- 0.7
酒精给予组	67.27 $\pm$ 12.36 ^{***★}	- 3.65

注 :酒精给予组与基础对照组比较 ^{**} $P < 0.01$;酒精给予组与正常对照组比较 [★] $P < 0.05$

酒精给予组与基础对照组、正常对照组比较 ,血清碱性磷酸酶含量均降低 ,说明长期高浓度酒精灌胃 ,可以导致大鼠的血清碱性磷酸酶含量降低 ,而且差异有显著性。也就是说 ,长期高浓度饮酒可以导致骨质疏松。

2.1.2 各组 60 天末血清骨钙素含量 :60 天末各组之间血清骨钙素含量的比较见表 2。

表 2 各组 60 天末血清骨钙素含量

组别	60 天末血清 BGP 含量 (U/L)	变化量 (%)
基础对照组	41.76 $\pm$ 2.07	
正常对照组	40.95 $\pm$ 9.17 [★]	- 0.81
酒精给予组	35.25 $\pm$ 9.17 ^{***★}	- 5.7

注 :酒精给予组与基础对照组比较 ^{**} $P < 0.01$;酒精给予组与正常对照组比较 [★] $P < 0.05$

酒精给予组与基础对照组、正常对照组比较 ,血清骨钙素含量均降低 ,说明长期高浓度酒精灌胃 ,可以导致大鼠的血清骨钙素含量(BGP)降低 ,而且差异有显著性。也就是说 ,长期高浓度饮酒可以导致

骨质疏松。

2.1.3 各组 60 天末血清 I 型前胶后羧基端前肽 (PICP 含量) 60 天末各组之间血清 I 型前胶后羧基端前肽 (PICP) 含量的比较见表 3。

表 3 各组 60 天末血清 PICP 含量

组别	60 天末血清 PICP 含量 (mg/L)	变化量 (%)
基础对照组	177.95 ± 13.36	
正常对照组	174.76 ± 21.07★	- 3.19
酒精给予组	35.15 ± 9.17***★	- 139.61

注 酒精给予组与基础对照组比较 ** P < 0.01 酒精给予组与正常对照组比较★ P < 0.05

酒精给予组与基础对照组、正常对照组比较 ,血清 I 型前胶后羧基端前肽含量均降低 ,说明长期高浓度酒精灌胃 ,可以导致大鼠的血清 I 型前胶后羧基端前肽含量降低 ,而且差异有显著性。也就是说 ,长期高浓度饮酒可以导致骨质疏松。

2.1.4 各组 60 天末血清总钙含量 60 天末各组之间血清 (Ca) 含量的比较见表 4。

表 4 各组 60 天末血清总钙含量

组别	60 天末血清总 Ca (mmol/L)	变化量 (%)
基础对照组	2.15 ± 0.36	
正常对照组	2.06 ± 0.47★	- 0.09
酒精给予组	1.24 ± 1.57***★	- 0.82

注 酒精给予组与基础对照组比较 ** P < 0.01 酒精给予组与正常对照组比较★ P < 0.05

酒精给予组与基础对照组、正常对照组比较 ,血清总钙含量均降低 ,说明长期高浓度酒精灌胃 ,可以导致大鼠的血清总钙含量降低 ,而且差异有显著性。也就是说 ,长期高浓度饮酒可以导致骨质疏松。

2.1.5 各组 60 天末血清无机磷 (P) 含量 60 天末各组之间血清无机磷 (P) 含量的比较见表 5。

表 5 各组 60 天末血清无机磷含量

组别	60 天末血清 P (mmol/L)	变化量 (%)
基础对照组	43.85 ± 0.36	
正常对照组	41.76 ± 2.07★	- 2.09
酒精给予组	37.06 ± 0.47* **★	- 4.70

注 酒精给予组与基础对照组比较 ** P < 0.01 酒精给予组与正常对照组比较★ P < 0.05

酒精给予组与基础对照组、正常对照组比较 ,血清磷含量均降低 ,说明长期高浓度酒精灌胃 ,可以导致大鼠的血清磷含量降低 ,而且差异有显著性。也

就是说 ,长期高浓度饮酒可以导致骨质疏松。

2.1.6 各组 60 天末血清镁含量 60 天末各组之间血清镁 (Mg) 含量的比较见表 6。

表 6 各组 60 天末血清镁含量

组别	60 天末血清 Mg (mmol/L)	变化量 (%)
基础对照组	45.95 ± 9.17	
正常对照组	43.76 ± 2.07★	- 2.19
酒精给予组	34.24 ± 2.11***★	- 9.50

注 酒精给予组与基础对照组比较** P < 0.01 酒精给予组与正常对照组比较★ P < 0.05

酒精给予组与基础对照组、正常对照组比较 ,血清镁含量均降低 ,说明长期高浓度酒精灌胃 ,可以导致大鼠的血清镁含量降低 ,而且差异有显著性。也就是说 ,长期高浓度饮酒可以导致骨质疏松。

2.2 辅助检查 X 线检查 (见图 1 图 2 图 3)

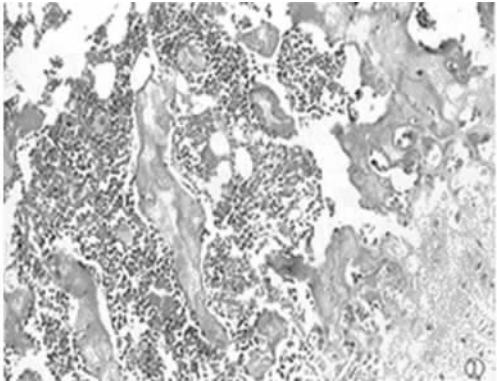


图 1 酒精给予组大鼠股骨 HE × 100
骨小梁稀疏 ,髓腔相对扩大 ,部分区域小梁消失

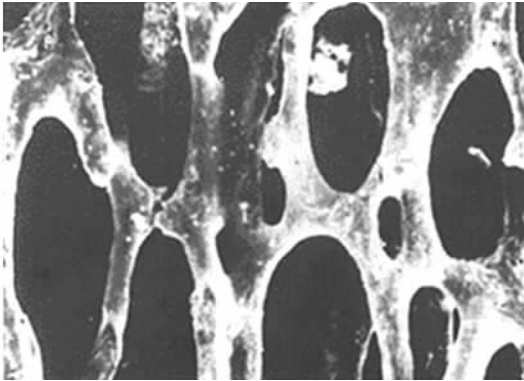


图 2 基础对照组股骨 HE × 100
骨小梁排列整齐 ,以纵向为主 ,表面光滑

光镜观察结果显示 :基础对照组 :骨小梁排列密集 ,之间的连接增加 ,厚度增宽 ,间隙窄 ,三维结构恢复 ;正常对照组 :大鼠骨小梁排列相对密集 ,互相连

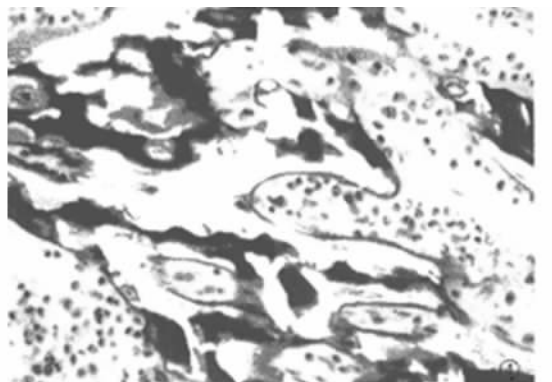


图3 正常对照组甲苯胺蓝染色 $\times 100$
矿物质沉积较多

接成网状结构,骨小梁的厚度大,其间距小;酒精给予组大鼠骨小梁明显稀少,同样倍数下骨小梁的连接中断点多,骨小梁明显变细,间距加宽,甚至在部分区域出现较大的空白区域。

3 讨论

3.1 衰老对人骨质成分的影响

据 WHO 1996 年的报告^[8],全球有 65 岁以上的老年人 3.8 亿,其中骨质疏松症的患者有 65%,1997 年 WHO 将 6 月 24 日定为“世界骨质疏松日”。据报道,我国有 9000 万人患有不同程度的骨质疏松症^[9]。骨质疏松症已经成为中老年人的常见病,测量人体骨骼中矿物质含量的多少,对中老年人来说是非常有必要的,特别是 40 岁以上的城市居民,尤其是中年妇女,缺钙现象比较严重^[10]。骨骼中矿物质含量减少会造成骨质疏松,稍不留神就会引起骨折,造成终身痛苦或残疾。

随着年龄的增长,骨组织显微结构受损,骨矿成分和骨基质等比例不断减少,骨质变薄,骨小梁数量减少,骨脆性增加和骨折危险度升高^[11]。

3.2 高浓度酒精对骨质成分的影响

乙醇对骨骼的直接影响,表现在对成骨细胞的毒性反应上。实验表明,酒精可抑制成骨细胞的活性和增殖,并且引起骨质丢失,饮酒可作为独立危险因素或与其他危险因素共同作用加重骨质丢失^[12]。健康男性每天若饮酒 30 g (指纯酒精量),3 周后便可引起成骨细胞的活性下降。每日饮酒 72 g 持续时间超过 5 年的人与戒酒 2 年的人相比,其骨的形成率减少了 50%。乙醇还可以造成维生素 D 的代谢紊乱,使机体对钙的利用减少^[13]。

3.3 讨论

人过中年,也许您还没有意识到骨质会默默流

失。这使得往昔坚硬的骨骼,像一只丢掉水分的糠萝卜,尽管外形依然殷实,空心却已松软。骨质疏松正使骨骼日益衰颓。

骨质疏松症(osteoporosis)的概念是 1885 年由 Pommer^[14]首先提出,其意为骨质减少的一种疾病。1948 年,Albright^[15]认为这种病是由于雌激素减少、导致骨小梁形成减少、蛋白质代谢异常的一种疾病。早期对骨质疏松的认识仅限于骨量的丢失,在治疗上强调提高骨量。随着检测手段的进步和认识的深入,对骨质疏松症概念的研究开始扩展到骨结构上,强调恢复骨结构的重要性,因此 1994 年 WHO 组织对骨质疏松症的要领进行重新定义,指出“骨质疏松是以骨组织的量减少,骨的显微结构退化,导致骨的脆性增加,易于骨折的一类疾病^[16]”。决定骨折的主要因素为骨骼强度,我们的另一项研究表明^[17],骨量与骨骼强度的改变并不平行,从 20 岁到 80 岁椎体骨密度约减少 50%,而垂直压缩强度却只减少了 20 岁的 25%,水平压缩强度减少只有 5%。现代临床通过对骨量在正常范围内而发生髌部骨折的患者进行骨结构的观察,发现其骨小梁发生明显的结构改变,从而指出由于骨结构的退化所引起的骨折危险性的增加要高于由骨量减低所引起的骨折^[18]。

人体的骨组织是一种有生命的组织,不健康的生活和饮食习惯对骨组织的生长发育有很大影响^[19]。引起中老年人骨质丢失的因素是十分复杂的,如:中老年人性激素分泌减少,钙调节激素的分泌失调致使骨代谢紊乱,老年人由于牙齿脱落及消化功能降低,致使蛋白质、钙、磷、维生素及微量元素摄入不足,户外运动减少,近年来分子生物学的研究表明骨质疏松症与维生素 D 受体(VDR)基因变异有密切关系^[20]。

4 结论

本实验通过给大鼠 60 天灌注高浓度酒精发现:长期高浓度酒精灌注可以导致大鼠骨质疏松,说明饮食习惯不当可以导致骨质疏松。因此,我们建议中老年人注意饮食习惯,少饮酒,多进行户外运动以及接受适量的日光照射,增加骨密度,预防和减少骨质疏松。

【参考文献】

- [1] Leidig G, Ziegler R. Diabetes mellitus a risk for osteoporosis. Exp Clin Endocrinol Diabetes 2001;109(Suppl 2):S493-S514.
- [2] Higashi Y, Takenaka A, Takahashi S, et al. Effect of proteins

- restriction on the messenger RNA contents of bone-matrix proteins, insulin-like growth factor and insulin-like growth factor binding proteins in femur of ovariectomized rats. *Br J Nutr*, 1996, 75: 811-823.
- [3] Boonen S, Mohan S, Dequeker J, et al. Down-regulation of the serum stimulatory components of the insulin-like growth factor (IGF) system (IGF- I, IGF- II, IGF-Bp-3 and IGFbP-5) in age-related (type II) femoral neck osteoporosis. *J Bone Miner Res*, 1999, 14: 2150-2158.
- [4] Rosen CJ, Spencer EM, Lin LC. *In vivo* fraction of IGF- II on bone formation and resorption in rats. *J Cell Biochem*, 1994, 56: 348-350.
- [5] Devedjian JC, George M, Casellas S, et al. Transgenic mice overexpressing insulin-like growth factor- II in beta cells develop type 2 diabetes. *J Clin Invest*, 2000, 105(6): 731-740.
- [6] 王晨光, 肖湘生, 陈星荣. 人腰椎体标本的区域骨密度分布特征. *中华放射学杂志*, 1998(8): 557-560.
- [7] 余卫, 秦明伟, 张燕, 等. 腰椎退行性骨关节病对骨密度测定的影响. *中华放射学杂志*, 2002(3): 245-248.
- [8] 曾天舒, 陈璐璐, 夏文芳, 等. 大鼠去卵巢后骨髓源性破骨细胞形成的动态变化及其与骨髓 IL-6、IL-6 受体表达的关系. *中国骨质疏松杂志*, 2003(4): 291-294.
- [9] 马文松, 刘磊, 朱小弟, 等. 骨质疏松血清 IL-6 与骨代谢生化指标的变化. *中国骨质疏松杂志*, 2002(4): 326-327.
- [10] 张星光, 吕肖锋, 李艳玲, 等. 普萘洛尔对去卵巢大鼠骨密度及血清 IL-6 的影响. *中国骨质疏松杂志*, 2004(1): 85-86.
- [11] 朱旭萍. 峰值骨量形成的某些影响因素. *苏州大学学报(医学版)*, 2000(1): 15-16.
- [12] Limpaphayom K, Bunyavejchevin S, Taechakraichana N. Similarity of bone mass measurement among hip, spines and distal forearm. *J Med Assoc Thai*, 1998, 81(2): 94-97.
- [13] 薛延. 骨质疏松症诊断与治疗指南. 北京: 科学出版社, 2000: 58.
- [14] Leboff MS, Fuleihan GE, Angell JE, et al. Dual-energy X-ray absorptiometry of the forearm: reproducibility and correlation with single-photon absorptiometry. *J Bone Miner Res*, 1992, 7(7): 841-846.
- [15] 刘忠厚. 骨质疏松学. 第5版. 北京: 科学出版社, 1998: 251.
- [16] 高铁军. 前臂远端骨密度和 Singh 指数预测骨质疏松性髋部骨折. *中华创伤杂志*, 1993, 9(1): 17.
- [17] Trivittayaratana W, Trivittayaratana P. The accuracy of bone mineral density at distal radius on non-forearm osteoporosis identification. *J Med Assoc Thai*, 2001, 84(4): 566-571.
- [18] 中国老年学学会骨质疏松委员会骨质疏松诊断标准学科组. 中国人骨质疏松症建议诊断标准(第2稿). *中国骨质疏松杂志*, 2000, 1(1): 1-3.
- [19] 杨健, 倪少凯, 苏敏. 骨密度随增龄变化及其测定影响因素的初步探讨. *中华放射学杂志*, 1998, 32(9): 639-640.
- [20] Hara S, Yanagi H, Amagai H. Effect of physical activity during teenage years, based on type of sport and duration of exercise, on bone mineral density of young, premenopausal Japanese Women. *Calcif Tissue Int*, 2001, 68(1): 23-30.

(收稿日期: 2008-11-26)