

· 临床研究 ·

氧化应激和骨代谢水平与老年原发性骨质疏松症间的相互关系

王 簌¹ 林启旺² 白玉玲² 贾西² 胡梦琳² 张锴稳² 何海欣² 莫剑玲² 郭元¹ 娄爱菊^{3*}

1. 广州医科大学附属第三医院骨科, 广州 510150

2. 广州医科大学, 广州 510150

3. 广州医科大学荔湾医院肾内科, 广州 510170

中图分类号: R681 文献标识码: A 文章编号: 1006-7108(2015) 02-0192-05

摘要: **目的** 探讨氧化应激、骨代谢水平与老年原发性骨质疏松症间的相互关系。**方法** 回顾性分析 2012 年 5 月至 2013 年 12 月间, 我院体检的老年患者共 62 例, 平均年龄为 72.39 岁(62~92 岁), 其中男性 30 例, 女性 32 例, 根据 BMD 结果分为骨量正常组 14 例, 骨量减少组 19 例, 骨质疏松组 29 例。所有患者均抽取外周血, 检测 AOPP、SOD、 β -CTX 和 tPINP 水平。应用 SPSS10.0 对 3 组的数据进行比较分析。**结果** 骨质疏松组中血清 AOPP 高于骨量减少组和骨量正常组, SOD 水平则在骨质疏松组中最低($P < 0.05$)。各组间 β -CTX 和 tPINP 水平无统计学差异。相关性检测提示 AOPP 与 BMD($r = -0.59, P < 0.00$)、SOD($r = -0.58, P < 0.00$)呈负相关, 与 β -CTX($r = -0.31, P < 0.02$)、年龄($r = 0.53, P < 0.00$)呈正相关。同时, 为明确各指标对 BMD 的影响, 采用线性回归方程分析后发现, 血清 AOPP 和 SOD 水平对 BMD 影响较大。**结论** 氧化应激可引起骨代谢紊乱, 主要表现为骨破坏增加, 可影响老年患者 BMD, 对老年原发性骨质疏松症的发生和发展有重要影响, 抗氧化治疗可能对该病有一定的疗效。

关键词: 骨质疏松症; 骨代谢标志物; 晚期氧化蛋白产物; 超氧化物歧化酶; 骨密度

The relationship between oxidative stress and bone turnover in the elder people with Osteoporosis

WANG Le, LIN Qiwan, BAI Yuling, JIA Xi, HU Menglin, ZHANG Kaiwen, HE Haixin, MO Jianling, GUO Yuan, LOU Aiju

1. Institute of Orthopedics and Traumatology, the Third Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 510150, China

2. Guangzhou Medical University, Guangzhou 510150, China

3. Department of Nephrology, Liwan Hospital, Guangzhou Medical University, Guangzhou 510150, China

Corresponding author: LOU Aiju, Email: louaiju@126.com

Abstract: **Objective** To evaluate the relationship between oxidative stress and bone turnover in the elderly with osteoporosis.

Methods A retrospective study was conducted from May 2012 to December 2013. We included 62 cases of elder women ($n = 32$) and men ($n = 30$), with an average age of 72.39 years (62–92 years). There were divided to normal bone mass group ($n = 14$), osteopenia group ($n = 19$), and osteoporosis group ($n = 29$), according to the results of BMD. The blood levels of AOPP, SOD, β -CTX, and tPINP were examined and compared among the three groups using a SPSS 10.0 software. **Results** The AOPP level in osteoporosis group was higher than that in normal bone mass group and osteopenia group. Meanwhile, the SOD level was the lowest in osteoporosis group ($P < 0.05$). There was no statistical difference among the 3 groups in the values of β -CTX and tPINP. AOPP was negatively correlated with BMD ($r = -0.59, P < 0.00$) and SOD ($r = -0.58, P < 0.00$). On the contrary, AOPP was positively correlated with β -CTX ($r = 0.31, P < 0.02$) and age ($r = 0.53, P < 0.00$). Importantly, multiple regression analysis revealed that AOPP and SOD were determinant factors to BMD. **Conclusion** Oxidative stress can cause the disorder of bone metabolism, which is characterized by increasing of bone destruction that affects BMD. It plays an important role in

the occurrence and development of osteoporosis in elderly people. Antioxidant therapy may have a certain effect on the disease.

Key words: Osteoporosis; Bone turnover markers; Advanced oxidation protein products (AOPP); Superoxide dismutase (SOD); Bone mineral density (BMD)

老年原发性骨质疏松症可以引起骨质丢失,诱发骨折,严重影响患者的生活质量和预期寿命。一方面,在该病患者中,体内活性氧水平明显增高,提示氧化应激在该病发生和发展中起重要作用^[1]。活性氧可以破坏体内的蛋白质,脂质,DNA 等物质,使蛋白质转化成晚期氧化蛋白产物(advanced oxidation protein products, AOPP),诱发机体的炎症反应^[2]。同时,氧化应激还可能引起机体抗氧化能力的下降,表现为抗氧化物酶如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)合成异常,进一步损伤机体^[3]。另一方面,该病患者体内骨代谢水平可能出现紊乱,通过监测 β -胶原降解产物(β C-telopeptide of type collagen, β -CTX)和总 I 型前胶原氨基端延长肽(total procollagen I N-terminal peptide, tPINP)可以分别反映体内骨质破坏和骨质修复的情况^[4]。如前所述,氧化应激与该病的发生和发展密切相关,而且该病患者常合并骨代谢异常,但是目前关于氧化应激,骨代谢水平与该病间的相互关系尚未完全阐明。因此,本研究拟通过检测老年原发性骨质疏松患者体内 AOPP 水平和骨代谢标志物的变化,明确氧化应激和骨代谢水平对骨密度(Bone mineral density, BMD)的影响及其相互关系。

1 材料和方法

1.1 研究对象

回顾性分析 2012 年 5 月至 2013 年 12 月期间,在我院体检并行 BMD 检测的老年患者。入选本研究的患者肝肾功能正常,近 3 个月均未服用影响骨代谢的相关药物,并且均采集外周血行 β -CTX, tPINP, AOPP 和 SOD 检测。对于长期服用抗氧化相关药物如维生素 E、C、A,或长期饮酒,或长期服用激素替代治疗,或合并除骨质疏松外其他内分泌及代谢性疾病的患者均不纳入本研究。

本研究共纳入老年患者 62 例,平均年龄为 72.39 岁(62~92 岁),男性 30 例,女性 32 例,其中根据患者骨质疏松情况分为骨量正常组 14 例,骨量减少组 19 例,骨质疏松组 29 例。3 组患者年龄,性别,身体质量指数(BMI 指数)经统计学比较,均具有可比性,各组基本情况见表 1。

表 1 3 组患者的临床资料比较

Table 1 The comparison of clinical data of patient among the three groups

组别	性别 (男/女,例数)	年龄 (岁)	BMI 指数
骨量正常组	9/5	72.07 $\pm$ 7.70	23.54 $\pm$ 1.94
骨量减少组	9/10	69.89 $\pm$ 5.62	23.97 $\pm$ 1.60
骨质疏松组	12/17	74.17 $\pm$ 9.14	23.65 $\pm$ 1.92
统计量	$\chi^2 = 2.00$	$F = 1.70$	$F = 0.27$
P 值	0.37	0.19	0.77

1.2 方法

1.2.1 BMD 检测:所有患者 BMD 均采用双能 X 线骨密度仪(Hologic QDR4500,美国)对腰 1-4 椎体进行检测并评价。根据 WHO 的诊断标准,当患者 BMD 与同性别健康青年成人峰值骨量相比,下降不超过 1.0 个标准差时,诊断为骨量正常;下降在 1.0 至 2.5 个标准差时,诊断为骨量减少;下降达到 2.5 个标准差时,诊断为骨质疏松。

1.2.2 氧化与抗氧化水平的检测:以外周血清中 AOPP 水平作为评价氧化水平的指标。所有患者均在清晨空腹下采集外周静脉血 5mL, EDTA 抗凝,取血后立即放在冰上,离心获取血清并避光保存。依据 Witko-Sarsat 等^[5]报道的方法测定血清中 AOPP 水平,即取 EDTA 抗凝血清与 PBS 按 1:5 充分混匀,加入 10 μ L 冰醋酸组成混合液。混合液在 340 nm 分光光度计下测定吸收值,单位为 μ mol/L。

以外周血清中 SOD 水平作为反映机体内的抗氧化水平的指标。根据说明书操作,采用酶联免疫检测试剂盒(中国生工生物工程有限公司, ESK5163)检测血清中 SOD 水平,单位为 U/mL。

1.2.3 骨代谢指标物的检测:收集患者血清标本, β -CTX 和 tPINP 采用罗氏公司生成的全自动电化学发光仪(E170; Roche 诊断仪,瑞士)进行测定,测试过程中所用的相关试剂均由罗氏公司提供,批内变异和批间变异均 $<5\%$ 。

1.3 统计学处理

本研究中,所有资料均符合正态分布,数据采用 $\bar{x} \pm s$ 描述,组间比较采用方差分析,进一步两两比较采用 LSD 法。组间率的比较采用卡方检验。AOPP 与 BMD, β -CTX, tPINP 和 SOD 间的相关性采用 Pearson 相关检测。采用线性回归对 BMD 与

AOPP,SOD,β-CTX 和 tPINP 的相关性进行评价。采用 SPSS10.0 软件进行统计分析, $P<0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 3 组患者间血清 AOPP 和 SOD 的比较

表 2 3 组患者的不同检测指标的比较

Table 2 The comparison of biomedical markers among the three groups

组别	BMD(g/cm ²)	AOPP(μmol/L)	SOD(U/mL)	β-CTX(ng/mL)	tPINP(ng/ml)
骨量正常组	1.04±0.09	78.39±3.22	47.35±5.67	0.38±0.29	43.50±17.14
骨量减少组	0.79±0.09 [*]	80.76±3.81 [*]	44.28±5.03	0.40±0.22	39.80±14.36
骨质疏松组	0.60±0.06 [#]	84.13±4.74 [#]	39.88±6.95 [#]	0.49±0.27	47.41±20.88
F	167.35	9.83	7.66	1.05	1.00
P 值	0.00	0.00	0.00	0.36	0.37

注:与骨量正常组比较,* $P<0.05$;与低骨量组比较,[#] $P<0.05$

2.2 3 组患者间血清骨代谢指标间的比较

反映骨质破坏的指标 β-CTX 在 3 组间比较时可见,骨质疏松组要稍高于骨量减少组和骨量正常组,但是该差异无统计学意义。对反映骨形成的指标 tPINP 检测时,各组间并无明显差异, $P>0.05$ (见表 2)。

2.3 AOPP 与各指标的相关性,以及影响 BMD 因素的评价

在检测 AOPP 与各指标相关性时发现,AOPP 与年龄,BMD,β-CTX,SOD 均具有一定的相关性,其中 AOPP 与 BMD 的相关性最强,两者呈负相关。另外,AOPP 与年龄、β-CTX 呈正相关,与 SOD 呈负相关。AOPP 与 tPINP 的相关性不强。进一步采用线性回归分析影响患者 BMD 水平的因素后发现,血清 AOPP 和 SOD 水平可以影响 BMD 值的大小,而且通过逐步回归法可得到回归方程: $BMD = 1.85 - 0.02\beta\text{-CTX} + 0.01\text{PINP}$,由于年龄,β-CTX 和 tPINP 回归系数在检测时无统计学意义,均予以排除(具体见表 3 和 4)。

表 3 AOPP 与年龄,BMD,骨代谢指标的相关性

Table 3 The correlation between AOPP and age, BMD and bone turnover markers

项目	年龄	BMD	SOD	β-CTX	tPINP
r	0.53	-0.59	-0.58	0.31	0.07
P 值	0.00	0.00	0.00	0.02	0.57

3 讨论

随着人口老龄化,大量研究发现,体内氧化-还原平衡可能会被打破,机体此时会处于氧化应激状

对 3 组患者外周血清中 AOPP 水平进行比较后发现,骨质疏松组中患者 AOPP 水平最高,骨量正常组最低,各组间有统计学差异, $P<0.05$ 。对反映抗氧化应激能力的 SOD 进行检测后发现,骨量正常组中 SOD 含量最高,其次是骨量减少组,骨质疏松组含量最低,且该差异有统计学意义,具体见表 2。

表 4 逐步回归法检测 BMD 与氧化还原水平,骨代谢指标的相关线性关系

Table 4 The linear relationship between BMD and other biomedical markers by the stepwise regression method

项目	AOPP	SOD
非标准回归系数	-0.02	0.01
标准回归系数	-0.43	0.28
P 值	0.00	0.03

态。Zhang 等^[6]通过检测不同年龄段小鼠外周血中 AOPP 的水平发现,年老大鼠体内 AOPP 水平要高于年轻的大鼠,Cervellati 等^[7]则通过检测和比较绝经前后妇女体内 AOPP 水平发现,绝经妇女 AOPP 水平要高于非绝经妇女,考虑一方面是由于年龄因素决定,另一方面是由于体内雌激素释放减少,导致机体氧化应激水平增高。同时,本研究也发现,年龄与患者血清 AOPP 水平呈正相关,也进一步提示老龄化是引起机体氧化-还原平衡失调的重要因素之一。

老龄化可使机体处于氧化应激状态,而且可影响机体骨代谢平衡,严重者甚至可以导致骨质疏松。骨质疏松症可表现为骨量减少、骨骼微结构发生变化、骨骼弹性下降、骨质变脆,是威胁老年人生活质量和远期寿命的重要慢性疾病之一^[8]。国内统计数据显示,70~79 岁年龄段男性骨质疏松发病率为 36.41%,女性为 59.55%,80 岁以上男性骨质疏松发病率为 57.53%,女性为 75.56%^[9]。随着对氧化应激研究的不断深入,Zhong 等^[10]发现利用 AOPP 刺激成骨样细胞,可引起成骨细胞凋亡,减少 I 型胶原的分泌。另外,Baek 等^[11]用 AOPP 刺激破骨细胞时,破骨细胞增殖率上升,并且可以释放炎性介质破

坏骨质。因此,可推测氧化应激与骨质疏松的发生和进展有密切联系^[12,13]。但是,对于老年患者体内氧化应激水平与骨代谢指标,以及 BMD 间的相互关系仍未完全阐明。

在本研究中,我们发现反映骨破坏的指标 β -CTX 虽然在骨质疏松组中相对较高,但是 3 组比较后,该差异无统计学意义。反映骨形成的指标 tPINP 在 3 组间比较后也无统计学差异,提示本研究检测的骨代谢指标对于诊断骨质疏松的意义有限。Jenkins 等^[14]研究也获得类似结果,因此诊断骨质疏松的金标准仍是 BMD,但是骨代谢指标可以反映机体骨代谢平衡的情况。在本研究中,对氧化和抗氧化指标检测后发现,在骨质疏松组中,血清中 AOPP 含量明显高于骨量减少组和骨量正常组,3 者间有统计学差异。另外,3 组间 SOD 的含量也有一定差异,其中骨质疏松组最低,骨量正常组最高,可推测氧化还原平衡与骨质破坏间有密切联系。Pansini 等^[15]也发现,在绝经性骨质疏松患者中,体内氧化应激水平要高于非绝经患者,而且骨吸收指标明显增高,进一步提示体内高氧化应激水平可能促进了机体骨质的破坏。

另外,我们进一步研究了老年患者体内 AOPP 水平与患者 BMD,骨代谢指标间的关系,结果发现 AOPP 与 BMD 间存在负相关,即 AOPP 水平越高 BMD 越低,同时,AOPP 水平与骨破坏指标 β -CTX 呈正相关,因此这也进一步说明了氧化应激可以促进骨质破坏,导致骨破坏指标升高。我们根据线性回归方程,对本研究中监测的可能影响 BMD 的指标进行了分析,发现血清 AOPP 和 SOD 水平均是影响骨质密度的重要指标。Saito 等^[16]认为,反应体内氧化应激水平的另一指标,晚期糖基化终产物 (advanced glycation end product, AGE) 与骨质疏松发病间有密切联系,因为 AGE 可以影响骨胶原的交联,而 AGE 与 AOPP 均为氧化应激作用蛋白质的产物,两者均可与 RAGE 受体结合发挥作用^[17],因此进一步说明氧化应激对 BMD 的负性调节作用。

综上所述,在老年原发性骨质疏松患者体内,通常氧化应激水平较高,可借助血清 AOPP 水平进行监测,并且 AOPP 水平与骨质破坏间存在密切的相关性,提示体内可能通过氧化应激作用,刺激炎症因子的产生和释放,最终作用与成骨细胞和破骨细胞,打破了骨修复和骨破坏之间的平衡,导致了骨质疏松的发生和进展。同时,本研究也存在一定的不足:第一,研究纳入的样本量较少;第二,由于体检时仅

对患者腰 1-4 椎体的 BMD 进行了检测,可能造成部分患者 BMD 评价不全面,因此,下一步有必要开展更大更全面的临床研究,进一步对相关问题进行阐明。但是,基于本研究结论,在治疗骨质疏松症时,加用抗氧化剂治疗具有一定的临床指导意义。

【 参 考 文 献 】

- [1] Turner CH. Aging and fragility of bone. *J Musculoskelet Neuronal Interact*, 2007,7(4):342-343.
- [2] Selmecli L. Advanced oxidation protein products (AOPP): novel uremic toxins, or components of the non-enzymatic antioxidant system of the plasma proteome? *Free Radic Res*, 2011,45(10):1115-1123.
- [3] Nojiri H, Saita Y, Morikawa D, et al. Cytoplasmic superoxide causes bone fragility owing to low-turnover osteoporosis and impaired collagen cross-linking. *J Bone Miner Res*, 2011, 26(11):2682-2694.
- [4] Yoshimura NL, Muraki S, Oka H, et al. Biochemical markers of bone turnover as predictors of osteoporosis and osteoporotic fractures in men and women: 10-year follow-up of the Taiji cohort. *Mod Rheumatol*, 2011,21(6):608-620.
- [5] Witko-Sarsat V, Friedlander M, Nguyen Khoa T, et al. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. *J Immunol*, 1998,161(5):2524-2532.
- [6] Zhang YB, Zhong ZM, Hou G, et al. Involvement of oxidative stress in age-related bone loss. *J Surg Res*, 2011,169(1):e37-42.
- [7] Cervellati C, Bonaccorsi G, Cremonini E, et al. Oxidative stress and bone resorption interplay as a possible trigger for postmenopausal osteoporosis. *Biomed Res Int*, 2014,2014:569-563.
- [8] Zhao J, Xia W, Nie M, et al. The levels of bone turnover markers in Chinese postmenopausal women: Peking Vertebral Fracture study. *Menopause*, 2011,18(11):1237-1243.
- [9] Zhang Mengmeng, Li Yagang, Liu Ying, et al. 16019 Hans: Investigation of bone mineral density and morbidity of osteoporosis in Changchun City. *Chinese Journal of Osteoporosis*, 2009, 7:534-537.
- [10] Zhong ZM, Bai L, Chen JT. Advanced oxidation protein products inhibit proliferation and differentiation of rat osteoblast-like cells via NF-kappaB pathway. *Cell Physiol Biochem*, 2009,24(1-2):105-114.
- [11] Baek KH, Oh KW, Lee WY, et al. Association of oxidative stress with postmenopausal osteoporosis and the effects of hydrogen peroxide on osteoclast formation in human bone marrow cell cultures. *Calcif Tissue Int*, 2010,87(3):226-235.
- [12] Doshi SB, Agarwal A. The role of oxidative stress in menopause. *J Midlife Health*, 2013,4(3):140-146.
- [13] Wilson C. Bone: Oxidative stress and osteoporosis. *Nat Rev Endocrinol*, 2014,10(1):3.

动能力及功能独立性评分呈负相关,BMD 值与日常生活活动能力及功能独立性评分呈正相关。

【 参 考 文 献 】

[1] Matuszewska A, Szechiński J. Mechanisms of osteoporosis development in patients with rheumatoid arthritis [J]. Postepy Hig Med Dosw, 2014, 68(0) :145-152.

[2] Shi GH, Li PC, Wei XC. Progress on treatment of osteoporotic vertebral compression fracture [J]. Zhongguo Gu Shang, 2013, 26(10) :878-882.

[3] Li C, Li Q, Liu R, et al. Medicinal herbs in the prevention and treatment of osteoporosis. Am J Chin Med, 2014, 42(1) :1-22.

[4] Orwoll ES, Shapiro J, Veith S, et al. Evaluation of teriparatide treatment in adults with osteogenesis imperfecta [J]. Clin Invest, 2014, 124(2) :491-498.

[5] Karunanayake AL, Pathmeswaran A, Kasturiratne A, et al. Risk factors for chronic low back pain in a sample of suburban Sri Lankan adult males [J]. Int Rheum Dis, 2013, 16(2) :203-210.

[6] Sirola J, Rikkinen T, Tuppurainen M, et al. Should risk of bone fragility restrict weight control for other health reasons in postmenopausal women? —A ten year prospective study [J]. Maturitas, 2012, 71(2) :162-168.

[7] Sirola J, Tuppurainen M, Rikkinen T, et al. Correlates and predictors of self-rated health and ambulatory status among elderly women—Cross-sectional and 10 years population-based cohort study [J]. Maturitas, 2010, 65(3) :244-252.

[8] Nevitt MC, Cummings SR, Stone KL, et al. Risk factors for a first-incident radiographic vertebral fracture in women > or = 65 years of age: the study of osteoporotic fractures [J]. Bone Miner Res, 2005, 20(1) :131-140.

[9] Jibo F, Sha L, Xiaogang D, et al. Correlational analysis among bone mineral content of the lumbar vertebrae and the hip joint and osteocalcin in patients with osteoporosis [J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 2013, 19(8) :927-929.

[10] Xiaogang D, Yong Q, Jianshe E, et al. Research and evaluation of the effect of flavonoids drynaria fortunei on serum osteocalcin and bone mineral density in osteoporotic patients [J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 2013, 19(5) :519-521.

[11] Jibo F, Yong Q, Sha L, et al. Clinical study of the effect rhizome drynaria flavonoid treatment by iontophoresis on the bone mineral density of the lumbar vertebrae in osteoporosis patients [J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 2013, 19(12) :1256-1258.

[12] Wilhelm M, Roskovensky G, Emery K, et al. Effect of resistance exercises on function in older adults with osteoporosis or osteopenia: a systematic review [J]. Physiother Can, 2012, 64(4) :386-394.

[13] Macintyre NJ, Lorbergs AL, Adachi JD. Inclinator-based measures of standing posture in older adults with low bone mass are reliable and associated with self-reported, but not performance-based, physical function [J]. Osteoporos Int, 2014, 25(2) :721-728.

[14] Kashii M, Yamazaki R, Yamashita T, et al. Surgical treatment for osteoporotic vertebral collapse with neurological deficits: retrospective comparative study of three procedures—anterior surgery versus posterior spinal shorting osteotomy versus posterior spinal fusion using vertebroplasty [J]. Eur Spine, 2013, 22(7) :1633-1642.

[15] Criteria of weight for adults. National Health and Family Planning Committee of the People's Republic of China, 2013, 04, 18.

[16] Jibo F, Sha L, Xiaogang D, et al. Correlational analysis among bone mineral content of the lumbar vertebrae and the hip joint and osteocalcin in patients with osteoporosis [J]. Chinese Journal of Osteoporosis, 2013, 19(8) :927-929.

[17] Jibo F, Sha L, Jianshe E, et al. Multiple regression analysis to bone mineral density of the lumbar spine in med-old women [J]. The Journal of Cervicodynia and Lumbodynia, 2011, 32(4) :284-287.

(收稿日期: 2014-06-30, 修回日期: 2014-08-14)

(上接第 195 页)

[14] Jenkins N, Black M, Paul E, et al. Age-related reference intervals for bone turnover markers from an Australian reference population. Bone, 2013, 55(2) :271-276.

[15] Pansini F, Cervellati C, Guariento A, et al. Oxidative stress, body fat composition, and endocrine status in pre- and postmenopausal women. Menopause, 2008, 15(1) :112-118.

[16] Saito M, Marumo K. Collagen cross-links as a determinant of

bone quality: a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. Osteoporos Int, 2010, 21(2) :195-214.

[17] Thornalley PJ. Glycation in diabetic neuropathy: characteristics, consequences, causes, and therapeutic options. Int Rev Neurobiol, 2002, 50:37-57.

(收稿日期: 2014-04-15, 修回日期: 2014-05-20)