

# 酒精性骨质疏松症造模鼠的骨与生化代谢特征

齐振熙<sup>1</sup>, 王明千<sup>2</sup>

(1. 福建中医学院科研处, 福建 福州 350108; 2. 福建中医学院骨伤系)

**【摘要】** 目的: 观察酒精中毒引发骨质疏松造模鼠的骨与生化代谢变化特征, 探讨酒精对骨质疏松症形成过程的毒性作用。方法: SD 大鼠 120 只分为 3 组, 实验组 A 给予 45°白酒 8 ml · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>, 每天 2 次灌胃, 实验组 B 给予 45°白酒 6 ml · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>, 每天 2 次灌胃, 对照组以 8 ml 生理盐水灌胃, 分别于 8、16、24 周取材, 进行相关骨代谢指标的测定。结果: 各实验组动物骨小梁稀疏, 髓腔脂肪细胞增大、增多; 骨细胞数量减少, 退变固缩或出现脂滴, 成骨细胞减少, 尤其实验组 A 改变最为明显。16 周后实验组 A 的 BMD 显著下降; 24 周后骨 Ca、HOP 含量及 Ca/HOP 比值均呈显著降低; 血清 AKP、BGP、血 Ca 及钙磷乘积显著下降; 而尿 Ca、P、HOP 排泄量则呈显著增多。结论: 酒精中毒可引起模型鼠骨代谢紊乱, 继发骨质疏松。

**【关键词】** 酒精中毒; 骨质疏松; 骨代谢

**Feature of bone and biochemical metabolism of osteoporotic rat induced by alcohol** QI Zhen-xi<sup>\*</sup>, WANG Ming-qian.<sup>\*</sup> *Scientific Research Institute, Traditional Chinese Medicine College of Fujian, Fuzhou 350108, Fujian, China*

**ABSTRACT Objective:** To observe the feature of bone and biochemical metabolism of osteoporotic rat induced by alcohol, and investigate the effect of alcohol during the development of osteoporosis. **Methods:** 120 Sprague-Dawley rats were divided into three groups randomly, experiment group A was administered 45° distillate spirit 8 ml per kilogram every day and two times a day; experiment group B was administered 45° distillate spirit 6 ml per kilogram every day and two times a day; control group was administered equivalent saline. Specimens were dislodged at the time of 8, 16, 24 weeks and the index of associated bone metabolism were assayed.

**Results:** The bone trabecula became rarefaction in experiment groups, adipocyte in medullary cavity accreted and increased; osteocyte decreased, cataplasiaed, pyknosised and lipid droplet emerged, all change of the number of osteoblast decreased was more significantly in group A. BMD significantly decreased in group A after 16 weeks; the content of Ca, HOP and the ratio of Ca/HOP significantly decreased; the content of AKP, BGP in blood serum, the content of Ca and the calcium-phosphorus product in blood significantly decreased; but the content of Ca, P, HOP in urine significantly increased after 24 weeks. **Conclusion:** Alcoholism induces metabolic disorder of bone, which can cause osteoporosis.

**Key words** Alcoholism; Osteoporosis; Bone metabolism

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是由于多种病因引起全身骨质及骨组织的微细结构的改变, 致使骨强度减弱、骨脆性增加, 极易发生骨折的系统性骨代谢疾病。近年来的研究证实, 酒精是骨质疏松症的诱因之一<sup>[1]</sup>, 但其发病机制目前尚不完全明了。本研究通过建立酒精性骨质疏松症大鼠模型, 观察给予不同剂量的酒精引起模型鼠骨代谢及生化代谢的变化特征, 探讨酒精在骨质疏松症形成过程中的毒性作用。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 健康成年 SD 大鼠 120 只, 雌雄各半, 体重 200~250 g, 平均 (221.5 ± 11.8) g, 清洁级, 由浙江动物中心提供。

**1.2 动物造模与分组** 随机分为 3 组, 每组 40 只。适应性喂养 1 周, 酒精灌胃法造模<sup>[2]</sup>, 以后每周称重 1 次, 调整酒精用量。实验组 A 给予 45°白酒 8 ml · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>, 每天 2 次 (含纯酒精约 4g · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>) 灌胃, 实验组 B 给予 45°白酒 6 ml · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>, 每天 2 次 (含纯酒精约 3g · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup>) 灌胃, 对照组给予 8 ml 生理盐水灌胃。分别于 8、16、24 周后处死取材。

**1.3 观察指标和检测方法** 组织病理学观察: 取股骨头制

基金项目: 福建省教育厅科技项目 (JA03122)

通讯作者: 齐振熙 Tel: 0591-22861012 E-mail: zqxj@fjtc.edu.cn

备石蜡切片, HE 染色, 于光镜下观察骨小梁、骨细胞、髓腔及脂肪细胞形态、结构和数量的变化。透射电镜观察: 取股骨头制备超薄切片, 透射电镜下观察骨质内细胞的超微结构。

应用美国 Lunar 公司生产的 DPX-L 型双能 X 线骨密度仪 (DEXA), 检测全身的骨密度 (BMD) 值。采用干片化学法, 用美国柯达公司 (Joshon - 75XRC 型) 测定仪, 测定血清钙、磷、骨钙素 (BGP)、碱性磷酸酶 (AKP) 及尿钙、磷 (U-Ca, U-P) 含量。用吸光光度定量比色法测定尿羟脯氨酸 (U-HOP) 含量。采用改良 Neuman-Lorgan 法测定骨羟脯氨酸 (HOP) 含量。采用 Connecty 法测定骨钙含量。

1.4 统计学处理 实验数据运用 SPSS 11.5 统计软件包处理分析, 行 F 检验及 q 检验, 参数值用均值 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。

2 结果

2.1 组织病理学观察 对照组正常; 实验组 B 出现松质骨小梁变薄, 髓腔脂肪细胞增大; 实验组 A 骨小梁明显稀疏, 松质骨小梁变薄, 甚至断裂, 类骨质区域减少, 髓腔脂肪细胞增大增多。

2.2 电镜观察 对照组正常; 与对照组比较可见实验组 B 骨细胞数量减少, 出现脂滴, 成骨细胞减少, 髓内脂肪细胞增大; 实验组 A 骨细胞数量明显减少, 退变固缩或出现脂滴, 成骨细胞明显减少, 髓内脂肪细胞增大。

2.3 全身骨骼 BMD 含量 16 周后实验组 A 全身骨骼 BMD 含量明显低于对照组, 与之比较差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 24 周后实验组 A 与对照组比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 实验组 B 与对照组比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 实验组 A 与实验组 B 比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 不同时期全身骨骼 BMD 含量变化

( $\bar{x} \pm s, g/cm^2, n = 12$ )

Tab. 1 The change of BMD in different time

( $\bar{x} \pm s, g/cm^2, n = 12$ )

Groups	Time (weeks)		
	8	16	24
Experiment group A	0.258 ± 0.012	0.198 ± 0.002	0.163 ± 0.014
Experiment group B	0.260 ± 0.022	0.223 ± 0.004	0.194 ± 0.015
Control group	0.278 ± 0.025	0.269 ± 0.001	0.257 ± 0.017

注: 与对照组相比,  $P < 0.05$ , 与对照组相比,  $P < 0.01$ ; 与实验组 B 相比,  $P < 0.05$

Note: Compare with control group,  $P < 0.05$ ; Compare with control group,  $P < 0.01$ ; Compare with experiment group B,  $P < 0.05$

2.4 血清 AKP 和 BGP 含量 24 周后, 实验组 A 血清 AKP 含量明显下降, 与对照组比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 而与实验组 B 比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 实验组 B 与对照组比较, 差异无显著性统计学意义。实验组 A 血清 BGP 含量明显下降, 与对照组比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 与实验组 B 比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 血清 AKP、BGP 含量变化 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Tab. 2 The change of AKP, BGP in serum ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Groups	AKP (King's/ml)	BGP (ng/ml)
Experiment group A	12.42 ± 9.22	1.37 ± 1.16
Experiment group B	14.85 ± 8.93	1.16 ± 0.82
Control group	15.74 ± 6.92	2.41 ± 1.03

注: 与对照组相比,  $P < 0.01$ ; 与实验组 B 相比,  $P < 0.05$

Note: Compare with control group,  $P < 0.01$ ; Compare with experiment group B,  $P < 0.05$

2.5 血清钙、磷及钙磷乘积 24 周后, 实验组 A 血清钙含量明显下降, 与对照组比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 与实验组 B 比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 实验组 B 与对照组比较, 差异无显著性统计学意义。而血清磷含量均未见明显改变, 实验组 A 钙磷乘积水平明显降低, 与对照组比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 与实验组 B 比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 血清 Ca、P 含量及钙磷乘积变化 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Tab. 3 The change of Ca, P and their product of multiplication in serum ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Groups	Ca (mmol/L)	P (mmol/L)	Ca × P
Experiment group A	2.28 ± 0.34	2.25 ± 0.14	5.09 ± 0.30
Experiment group B	2.46 ± 0.33	3.25 ± 0.17	7.73 ± 0.42
Control group	3.69 ± 0.42	2.17 ± 0.15	7.96 ± 0.46

注: 与对照组相比,  $P < 0.05$ , 与实验组 B 相比,  $P < 0.05$

Note: Compare with control group,  $P < 0.01$ ; Compare with experiment group B,  $P < 0.05$

2.6 骨 Ca、HOP、Ca/HOP 变化 24 周后, 实验组 A 骨 Ca、HOP、Ca/HOP 均明显下降, 与对照组比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 其中骨 Ca、Ca/HOP 与实验组 B 比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 实验组 B 与对照组比较, 差异无显著性统计学意义。见表 4。

表 4 骨 Ca、HOP、Ca/HOP 变化 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Tab. 4 The change of Ca, HOP, Ca/HOP in bone ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Groups	Ca (μg/mg)	HOP (μg/mg)	Ca/HOP
Experiment group A	122 ± 17.3	43.9 ± 3.43	2.57 ± 0.62
Experiment group B	203 ± 19.4	47.9 ± 4.13	4.32 ± 0.54
Control group	234 ± 24.5	46.5 ± 4.75	5.29 ± 0.70

注: 与对照组相比,  $P < 0.01$ , 与实验组 B 相比,  $P < 0.05$

Note: Compare with control group,  $P < 0.01$ ; Compare with experiment group B,  $P < 0.05$

2.7 尿钙磷和羟脯氨酸含量 24 周后, 实验组 A 和实验组 B 尿羟脯氨酸含量的升高与对照组比较, 差异有显著性统

计学意义 ( $P < 0.01$ ); 尿钙含量的升高实验组 A 与对照组比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 实验组 B 与对照组比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 尿磷含量的升高实验组 A 与对照组比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.01$ ), 实验组 B 与对照组比较, 差异有显著性统计学意义 ( $P < 0.05$ )。见表 5。

表 5 U-Ca、U-P、U-HOP 含量变化 ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Tab. 5 The change of U-Ca, U-P, U-HOP ( $\bar{x} \pm s, n = 12$ )

Groups	U-Ca (mg/24 h)	U-P (mg/24 h)	U-HOP (ug/24 h)
Experiment group A	1.56 ± 0.53	8.87 ± 2.32	854.91 ± 347.39
Experiment group B	1.28 ± 0.51	5.67 ± 2.73	600.24 ± 264.24
Control group	0.87 ± 0.20	4.79 ± 1.22	249.03 ± 87.89

注: 与对照组相比,  $P < 0.01$ ; 与对照组相比,  $P < 0.05$

Note: Compare with control group,  $P < 0.01$ ; Compare with control group,  $P < 0.05$

### 3 讨论

**3.1 酒精性骨质疏松症模型的建立** 骨质疏松症是以骨量减少、骨组织显微结构退化为特征, 其主要病理变化是骨基质和骨矿物质含量减少。本研究采用大剂量酒精灌胃, 结果显示各实验组骨小梁明显稀疏, 骨皮质变薄; 髓腔脂肪细胞增大、增多; 骨细胞数量减少, 退变固缩或出现脂滴, 成骨细胞减少。骨密度及骨矿含量改变是诊断骨质疏松症的可靠指标<sup>[3]</sup>。骨质疏松症建议诊断标准明确指出 OP 动物模型应符合骨密度减少这一特点。因此, 测量 BMD 是衡量骨代谢结果的一个重要指标。本研究结果表明, 随着酒精摄入量的加大, 对 BMD 的影响就越来越明显, 实验组大鼠的骨矿含量呈明显下降, 证实酒精性骨质疏松症模型的成功建立。

**3.2 酒精中毒对骨细胞的影响** 酒精能抑制各种成骨的刺激作用, 导致成骨细胞的增殖减少, 骨形成减少<sup>[4]</sup>。酒精对破骨细胞有直接刺激作用, 增加破骨细胞对骨质的吸收。本研究结果提示酒精可加重大鼠骨丢失, 其机制是诱导骨高转化

率, 其中抑制成骨细胞的增殖, 而轻微增加破骨细胞的骨吸收作用, 结果破骨细胞的作用大于成骨细胞。已有研究<sup>[5]</sup>表明酒精可影响钙激素的代谢, 急性期引起短暂的高甲状旁腺激素。慢性酒精中毒患者, 血中维生素 D 和它的代谢都降低。酒精对成骨细胞功能起减退作用, 可减少骨形成减低骨矿化。本研究中组织形态学结果显示, 大剂量酒精可引起实验动物股骨头骨细胞变性坏死, 成骨细胞退变减少, 骨小梁骨质丧失而变细, 骨皮质变薄, 髓腔内脂肪细胞膨大堆积等一系列骨质疏松的病理改变。碱性磷酸酶和骨钙素作为骨形成指标, 可反映成骨细胞的活动, 本研究结果表明, 大剂量酒精的摄入可明显导致实验动物碱性磷酸酶和骨钙素代谢下降。羟脯氨酸是目前常用的骨吸收指标, 骨 HOP 是骨胶原的生化标志物, 同钙磷组成骨的重要成分; 尿 HOP 排出量的多少直接反映了体内骨形成的状况。尿钙是肠道钙吸收, 骨钙溶解, 肾小管钙重吸收等多种作用综合平衡的结果, 24 h 尿钙总量, 可基本反映骨代谢中骨吸收的状况。本研究结果可见大剂量酒精的摄入明显影响大鼠尿生化代谢, 使尿钙磷大量丢失, 尿 HOP 含量明显增高。组成骨的无机成分的钙磷检测结果显示, 大剂量酒精使实验动物血清钙的含量明显下降, 钙磷乘积水平降低, 从而减少骨钙盐的沉积。

本研究结果表明大剂量酒精的摄入, 可引发大鼠骨代谢紊乱, 骨形成不足, 骨吸收增加, 从而导致骨质疏松。

### 参考文献

- 郭坤亮, 安洪, 蒋电明, 等. 早期酒精性股骨头缺血坏死骨细胞凋亡的实验研究. 重庆医科大学学报, 2003, 28(3): 313-315.
- 郭天明, 天岳. 酒精中毒致股骨头坏死的动物模型. 汕头大学医学院学报, 1999, 12(2): 17-20.
- 王冬梅, 董亚琳, 潘龙, 等. 补肾壮骨颗粒对原发性骨质疏松症大鼠生化指标和骨密度的影响. 安徽中医学院学报, 2004, 23(6): 23-25.
- Kein RF. Alcohol-induced bone disease impact of ethanol on osteoblast proliferation. Alcohol Clin Exp Res, 1997, 21(3): 392-399.
- Sarli M, Plotkin H, Zanchetta JR. Alcoholic osteopathy. Medicina B Aires, 1994, 54(4): 363-370.

(收稿日期: 2005-08-19 本文编辑: 王宏)

## 《亚太传统医药》征稿启事

首份关于亚太地区传统医药的综合资讯期刊《亚太传统医药》杂志 9 月正式创刊发行。《亚太传统医药》杂志是由联合国亚太技术转让中心、中国科学技术部、国家中医药管理局支持, 并经国家新闻出版总署和国家科技部批准在国内外公开发行的亚太地区传统医药行业综合资讯期刊(月刊, 刊号为: ISSN1673-2197 CN42-17127/R)。本刊以传统医药的继承与发展为重点, 关注行业热点、重点、难点, 介绍亚太及世界各国传统医药的经验、理论、实践及其在科研、医疗、教育、产业等方面的状况和政策法规、文化与市场环境, 传播行业资讯, 促进国际交流合作。主要栏目有观察、阐述、医疗、科研、教育、产业、跨越、商情等, 欢迎投稿、荐稿。学术论文来稿格式请按 GB7713-87《科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式》书写, 并附中英文摘要、关键词、参考文献和第一作者简历及联系方式。来稿 1 个月内进行初步处理, 2 个月内决定是否录用, 在此期间请勿他投。作者文责自负, 允许编辑部对来稿进行适当裁剪编辑。来稿请附软盘或通过电子邮件投稿。稿件一经采用, 赠当期刊物 2 册。本刊可破季订阅, 请直接与杂志社联系邮购。

来稿请寄: 北京市东直门内南小街 16 号《亚太传统医药》杂志编辑部, 邮编: 100700, Tel: 010-84034639, Fax: 010-64061635, E-mail: journal@apctt-tm.net。