

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.08.015

膝骨关节炎人群中血清锌与血脂紊乱的相关性研究*

刘小华^{1,2} 龙慧中¹ 李嘉添¹ 王雨晴¹ 陈佳光¹ 谢东兴¹ 杨拓^{3Δ}

(1 中南大学湘雅医院骨科 湖南长沙 410006;

2 长沙市第四医院骨科 湖南长沙 410008; 3 中南大学湘雅医院健康管理中心 湖南长沙 410008)

摘要 目的:探讨膝骨关节炎(Osteoarthritis, OA)人群中血清锌(Zinc, Zn)水平与血脂紊乱的相关性。**方法:**采用横断面研究,纳入在中南大学湘雅医院健康管理中心进行健康体检的 935 例膝 OA 患者作为研究对象。通过分光光度法检测纳入研究对象的血清 Zn 水平,并通过贝克曼库尔特 AU 5800 全自动生化分析仪检测血脂水平。根据血清 Zn 水平将研究人群进行五分类,采用 Logistic 回归模型探讨血清 Zn 水平与血脂紊乱的相关性。**结果:**Logistic 回归模型结果显示,校正年龄和性别后,与第 1 分类(最低)血清 Zn 组相比,第 2-5 分类血清 Zn 组血脂紊乱患病率比值比和 95% 可信区间(95% confidence interval, 95% CI)分别为 1.66 (95% CI: 1.08, 2.56)、1.25 (95% CI: 0.81, 1.93)、1.61 (95% CI: 1.04, 2.49)和 3.04 (95% CI: 1.97, 4.68)(趋势检验 $P < 0.001$)。多因素校正和性别亚组分析结果无明显变化。**结论:**膝 OA 人群血清 Zn 水平与血脂紊乱患病呈正相关,OA 人群高血 Zn 可能为发生血脂紊乱的危险因素。

关键词:骨关节炎;血清锌;血脂紊乱;横断面研究

中图分类号:R684.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)08-1467-04

Association between Serum Zinc Level and Dyslipidemia in the Knee Osteoarthritis Patients*

LIU Xiao-hua^{1,2}, LONG Hui-zhong¹, LI Jia-tian¹, Wang Yu-qing¹, CHEN Jia-guang¹, XIE Dong-xing¹, YANG Tuo^{3Δ}

(1 Department of Orthopaedics, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan, 410006, China;

2 Department of Orthopaedics, The Fourth Hospital of Changsha, Changsha, Hunan, 410008, China;

3 Health Management Centre, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan, 410008, China)

ABSTRACT Objective: To examine the association between serum zinc (Zn) and dyslipidemia in knee osteoarthritis (OA) patients.

Methods: A cross-sectional study was conducted in the Department of Health Examination Center, Xiangya Hospital, Central South University, and 935 knee OA patients were included. Serum Zn was measured by spectrophotometry method and blood lipid assessment was performed on a Beckman Coulter AU 5800 system. The serum Zn concentration was classified into five categories. **Results:** Compared with the lowest quintile, the age-sex adjusted odds ratios and 95% confidence interval (95% CI) for dyslipidemia were 1.66 (95% CI: 1.08, 2.56), 1.25 (95% CI: 0.81, 1.93), 1.61 (95% CI: 1.04, 2.49), and 3.04 (95% CI: 1.97, 4.68) from the second to fifth quintiles of serum Zn, respectively (P value for trend < 0.001). The findings were not materially altered by adjustment for more potential confounders, and similar results were observed for men and women separately. **Conclusions:** The findings of the present study indicated that there was a positive association between the level of serum Zn and dyslipidemia in knee OA patients, and high level of Serum Zn may be a risk factor for developing dyslipidemia.

Key words: Osteoarthritis; Serum zinc; Dyslipidemia; Cross-sectional study

Chinese Library Classification (CLC): R684.3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)08-1467-04

前言

骨关节炎(Osteoarthritis, OA)是由多种因素引起关节软骨纤维化、破裂、溃疡和脱失而导致的慢性退行性关节疾病^[1]。既往一项多中心流行病学研究报告,我国 40 岁以上人群原发性 OA 的总体患病率高达 46.3%,女性和男性患病率分别为 50.4%和 41.6%^[2]。随着全球范围内老龄化趋势的不断加深和肥

胖人口的不断增多,OA 的患病率仍在不断攀升并已成为最常见的慢性关节病,是全球范围内引起患者疼痛和残疾的主要原因之一^[3]。既往研究表明 OA 和多种代谢性疾病密切相关,如高血压、糖尿病和血脂紊乱等。最新的一项纳入 48 项观察性研究的荟萃分析结果表明 OA 人群血脂紊乱的风险是非 OA 人群的 2 倍,而血脂紊乱又可能为 OA 患病的危险因素^[4]。因此,明确 OA 人群血脂紊乱的危险因素对 OA 以及 OA 合并症的防

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81802212);吴阶平医学基金会临床科研专项资助基金课题(320.6750.17258)

作者简介:刘小华(1979-),硕士研究生,副主任医师,研究方向:关节疾病的临床防治研究,电话:18627587331, E-mail: 248701785@qq.com

Δ 通讯作者:杨拓,博士,助理研究员,主要研究方向:关节疾病的临床防治研究, E-mail: yangtuo@csu.edu.cn

(收稿日期:2018-10-30 接受日期:2018-11-23)

治都具有重要的临床意义。

锌(Zinc, Zn)是在人体内起着催化、调节等重要作用的一种微量元素^[9]。国内外尚无人研究直接探讨膝 OA 患者中血 Zn 与血脂紊乱患病的相关性。本研究拟通过横断面研究明确 OA 人群中血清 Zn 水平与血脂紊乱之间的相关性, 以期为临床中膝 OA 患者的合并症的管理提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 研究对象

本研究采用横断面研究设计, 纳入 2013 年 10 月至 2014 年 11 月自行前往中南大学湘雅医院健康管理中心进行健康体检的人群作为研究对象, 研究的方法学设计已在既往发表的论文中详细论述^[6,7]。本研究的开展获得了中南大学湘雅医院伦理审查委员会的批准(批件号: 201312459), 所有纳入研究对象均由本人自愿签署了纸质知情同意书。

研究对象的纳入标准: ① 自行前往中南大学湘雅医院健康管理中心进行健康体检的 40 岁或以上体检者; ② 完成基本的体格检查, 包括身高、体重及血压测量; ③ 完成人口学基本资料和生活方式的标准化问卷调查, 包括年龄、性别、文化程度、活动量、吸烟、饮酒及药品使用情况; ④ 完成负重站立状态下双侧膝关节前后位 X 线片的拍摄; ⑤ 完成抽血检查血液生化指标, 包括空腹血糖、高密度脂蛋白、甘油三酯; ⑥ 诊断为 OA 的患者。研究对象的排除标准如下: ① 未完成上述基本的检验检查; ② 非 OA 患者。

1.2 膝 OA 的评定

本研究中所有研究对象均完成了负重站立状态下双侧膝关节前后位 X 线片的拍摄, 两位严格受训的骨科医师独自依据 KL 评分标准评估研究对象双侧膝关节退行性改变程度, 当至少有一侧膝关节的 KL 评分达到 2 级或更高时, 则诊断为膝 OA^[8]。

1.3 血 Zn 的测定以及血脂紊乱的诊断

本研究中血 Zn 水平通过分光光度法进行测定; 使用贝克曼库尔特 AU 5800 全自动生化分析仪(美国贝克曼库尔特有限公司)检测血清甘油三酯及高密度脂蛋白胆固醇浓度, 根据中国糖尿病学会的标准诊断血脂紊乱: 甘油三酯 ≥ 1.7 mmol/L 和/或高密度脂蛋白胆固醇 < 0.9 mmol/L(男性)或 < 1.0 mmol/L(女性), 或目前正在使用调脂药物调节血脂诊断为血脂紊乱^[9]。

1.4 校正因素的评估

本研究考虑的混杂因素详见表 2。其中, 年龄、性别、吸烟情况、饮酒情况、文化程度和活动水平通过标准化问卷获取。体重指数(Body mass index, BMI)由身高和体重值计算得出。收缩压 ≥ 140 mmHg 或舒张压 ≥ 90 mmHg, 或目前正在使用降压药物控制血压诊断为高血压患者。空腹血糖 ≥ 7.0 mmol/L, 或目前正在使用降血糖药物控制血糖诊断为糖尿病患者。

所有研究对象的血液样本均在其禁食 12 小时之后于清晨空腹时抽取。第一时间离心血液标本(3000 转/分钟, 10 分钟), 仔细收集上清液即血清并立即放入 4℃ 环境保存。采用己糖激酶法检测空腹血糖含量。

1.5 统计学分析

本研究通过均值 $\pm$ 标准差的形式表示计量数据, 通过百分

比的形式表示分类数据。计量数据和分类数据之间的差异之间的差异通过分别通过曼 - 惠特尼 U 检验和卡方检验进行检测, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

采用三个纳入不同校正混杂因素的 Logistic 回归模型评价 OA 人群中不同血 Zn 水平分类与血脂紊乱患病之间的相关性。根据血 Zn 水平在研究人群中的五分位数分布情况分为五组, 以最低血 Zn 水平组作为参考值, 分别计算不同血 Zn 分类中血脂紊乱患病率的比值比(Odds ratio, OR)和 95% 可信区间(95% confidence interval, 95% CI)。模型 1 中纳入的校正混杂因素包括年龄、性别; 模型 2 在模型 1 的基础之上增加校正 BMI (≥ 28 kg/m², < 28 kg/m²)、吸烟情况、饮酒情况; 模型 3 在模型 2 的基础之上增加文化程度、运动水平、糖尿病、高血压病。

2 结果

本研究最终共纳入 935 名膝 OA 患者以探讨血 Zn 水平与血脂紊乱之间的相关性。根据血 Zn 五分类的基本信息详见表 1。

Logistic 回归模型结果显示(表 2), 校正年龄和性别(模型 1)后, 与第 1 分类(最低)血 Zn 组相比, 第 2-5 分类血 Zn 组血脂紊乱患病率 OR 值分别为 1.66 (95% CI: 1.08, 2.56)、1.25 (95% CI: 0.81, 1.93)、1.61 (95% CI: 1.04, 2.49)和 3.04 (95% CI: 1.97, 4.68)(趋势检验 $P < 0.001$)。在模型 1 中添加各种潜在的混杂因素后(模型 2 和模型 3), 结果仍保持不变。男性亚组校正年龄和性别(模型 1)后, 与第 1 分类(最低)血 Zn 组相比, 第 2-5 分类血 Zn 组血脂紊乱患病率 OR 值分别为 1.91 (95% CI: 1.10, 3.33)、1.05 (95% CI: 0.60, 1.83)、1.29 (95% CI: 0.75, 2.22)和 2.65 (95% CI: 1.55, 4.52) (趋势检验 $P = 0.003$)。女性亚组校正年龄和性别(模型 1)后, 与第 1 分类(最低)血 Zn 组相比, 第 2-5 分类血 Zn 组血脂紊乱患病率 OR 值分别为 1.33 (95% CI: 0.65, 2.71)、1.63 (95% CI: 0.81, 3.25)、2.30 (95% CI: 1.10, 4.81)和 3.74 (95% CI: 1.77, 7.92) (趋势检验 $P < 0.001$)。性别亚组分析在模型 1 中添加各种潜在的混杂因素后(模型 2 和模型 3), 结果都保持不变。

3 讨论

既往有多项研究表明 OA 人群中血脂紊乱患病的风险增高^[4,10], 其机制可能为二者存在一些共同的危险因素, 比如肥胖。但也有研究表明 OA 是血脂紊乱的独立危险因素, 一项在英国的 Chingford 地区进行的调查选取了年龄为 45-64 岁的 1003 名女性作为研究对象, 在校正肥胖等因素的影响之后, 血清胆固醇水平仍与 OA(特别是膝 OA 与手 OA)呈正相关^[11]。载脂蛋白 A1 作为脂质运输蛋白的主要成分, 在 2009 年进行的一项研究中, Oliviero 等通过选取 16 例 OA 患者与 33 例健康人作对照, 发现载脂蛋白 A1 在 OA 患者血清中的含量更高^[12]。

Zn 是人体中第二丰富的微量元素, 不能储存在体内, 因此需要定期膳食摄入以补充体内必需的 Zn 元素^[13]。Zn 在人体内许多生化途径中起着至关重要的作用, 体内 Zn 的水平影响许多器官系统, 包括消化系统、中枢神经系统、免疫系统、骨骼和生殖系统等^[14]。Zn 作为大量酶的辅助因子和作为多种蛋白质结构组成的必需元素^[15], Zn 缺乏可导致生长迟缓、皮炎、性腺机能减退、伤口愈合延迟、胸腺萎缩或淋巴细胞减少以及感染率增高^[16]。值得注意的是, 目前也有研究表明人体内 Zn 水平增高可

能与某些疾病的发生相关。Milton 等的一项前瞻性队列研究表明膳食 Zn 摄入增多可引起心血管疾病发病的风险增高,提示高 Zn 是心血管疾病发病的危险因素^[17]。Yary 等的研究则表明

血清 Zn 水平升高和高血压患病密切相关,表明血 Zn 水平增高可能为高血压患病的危险因素^[18]。此外,还有研究表明高血 Zn 和口腔癌患病风险相关^[19]。

表 1 研究对象的基本信息表 (n=935)

Table 1 Basic characteristics of included subjects (n=935)

Basic characteristics	Quintiles of serum Zn ($\mu\text{mol/L}$)					<i>P</i>
	Q1 (≤ 11.00)	Q2 (11.01-12.20)	Q3 (12.21-13.30)	Q4 (13.31-14.70)	Q5 (≥ 14.71)	
Number	195	186	194	174	186	-
Median serum Zn (mmol/L)	9.90	11.70	12.80	13.90	15.70	-
Age (years)	56.97 $\pm$ 8.43	55.49 $\pm$ 7.48	54.50 $\pm$ 7.21	54.13 $\pm$ 7.50	53.11 $\pm$ 6.87	<0.001
Sex (% female)	43.1	44.6	45.9	34.5	29.0	0.002
BMI (kg/m^2)	24.86 $\pm$ 3.81	24.79 $\pm$ 3.40	24.92 $\pm$ 3.27	25.06 $\pm$ 3.25	25.32 $\pm$ 3.10	0.566
Smoking (%)	24.1	29.6	22.7	23.6	23.7	0.547
Drinking (%)	34.4	31.7	36.1	40.2	47.3	0.019
Education level (% with or above high school background)	43.1	43.0	51.0	47.1	57.0	0.033
Activity level (h/week)	2.56 $\pm$ 3.76	1.35 $\pm$ 2.74	2.57 $\pm$ 3.76	2.28 $\pm$ 3.50	1.97 $\pm$ 2.65	0.001
Hypertension (%)	42.6	39.2	36.6	39.1	36.6	0.741
Diabetes (%)	11.3	11.3	9.8	13.8	14.5	0.609

Abbreviations: Zn, zinc; BMI, body mass index. Data are mean $\pm$ standard deviation, unless otherwise indicated. *P* values are for test of difference across all quintiles of serum zinc.

表 2 膝关节炎患者血清锌和血脂紊乱的相关性 (n=935)

Table 2 Relationship between serum zinc and dyslipidemia in knee osteoarthritis patients (n = 935)

	Quintiles of serum Zn ($\mu\text{mol/L}$)					<i>P</i> for trend
	Q1 (lowest)	Q2	Q3	Q4	Q5 (highest)	
Median serum Zn (mmol/L)	9.90	11.70	12.80	13.90	15.70	-
Total						
Model 1 (95% CI)	1.00 (reference)	1.66 (1.08, 2.56)	1.25 (0.81, 1.93)	1.61 (1.04, 2.49)	3.04 (1.97, 4.68)	<0.001
Model 2 (95% CI)	1.00 (reference)	1.64 (1.06, 2.55)	1.26 (0.81, 1.97)	1.65 (1.06, 2.59)	3.26 (2.09, 5.09)	<0.001
Model 3 (95% CI)	1.00 (reference)	1.68 (1.07, 2.63)	1.29 (0.82, 2.02)	1.63 (1.03, 2.58)	3.27 (2.07, 5.16)	<0.001
Male						
Model 1 (95% CI)	1.00 (reference)	1.91 (1.10, 3.33)	1.05 (0.60, 1.83)	1.29 (0.75, 2.22)	2.65 (1.55, 4.52)	0.003
Model 2 (95% CI)	1.00 (reference)	1.92 (1.09, 3.38)	1.06 (0.60, 1.89)	1.30 (0.74, 2.29)	2.83 (1.63, 4.91)	0.002
Model 3 (95% CI)	1.00 (reference)	1.88 (1.04, 3.38)	1.07 (0.59, 1.92)	1.22 (0.69, 2.18)	2.71 (1.54, 4.79)	0.004
Female						
Model 1 (95% CI)	1.00 (reference)	1.33 (0.65, 2.71)	1.63 (0.81, 3.25)	2.30 (1.10, 4.81)	3.74 (1.77, 7.92)	<0.001
Model 2 (95% CI)	1.00 (reference)	1.24 (0.60, 2.58)	1.62 (0.80, 3.27)	2.31 (1.09, 4.92)	3.97 (1.85, 8.53)	<0.001
Model 3 (95% CI)	1.00 (reference)	1.36 (0.64, 2.87)	1.68 (0.82, 3.44)	2.42 (1.12, 5.22)	4.34 (1.98, 9.48)	<0.001

Note: Abbreviations: Zn, zinc. Values are adjusted OR (95% CI) unless otherwise indicated. OR: Odds ratio; CI: confidence interval.

Model 1 included age (continuous data), sex (male, female);

Model 2 included age (continuous data), sex (male, female), BMI ($\geq 28 \text{ kg/m}^2$, $<28 \text{ kg/m}^2$), smoking status (yes/no), and drinking status (yes/no) (age, BMI, smoking status and drinking status for the sex subgroup);

Model 3 added hypertension (yes/no), diabetes (yes/no), activity level (quintiles), education level (% with or above high school background) on the basis of model 2.

本研究表明在 OA 人群中, 血 Zn 水平与血脂紊乱患病正相关, 表明人体内血 Zn 水平过高可能为血脂紊乱的危险因素。本研究对 935 名膝 OA 患者血 Zn 水平和血脂紊乱患病进行横断面分析, 发现血 Zn 水平与血脂紊乱患病呈正相关, 和既往文献报告结果一致。既往有学者在国人高胆固醇血症人群、高甘油三酯血症人群以及混合高脂血症人群中检测血 Zn 的水平, 发现高胆固醇血症人群、高甘油三酯血症人群以及混合高脂血症人群中血 Zn 水平较正常人群高^[20]。朱惠莲等研究发现高脂血症合并高血压患者较单纯高血压患者或对照组中的血清 Zn 水平更高^[21]。Black 等通过一项随机双盲对照试验发现给成年男性补锌 50mg/d 或者 75mg/d 相比安慰剂对照组高密度脂蛋白胆固醇水平降低^[22]。但是, 目前探讨高 Zn 影响脂质代谢相关的基础研究较少, 高 Zn 引起血脂紊乱的机制尚有待进一步深入研究。

本研究有以下几点优势。首先, 本研究为国内外首个基于较大样本人群探讨膝 OA 患者中血 Zn 水平和血脂紊乱患病相关性的临床研究, 并首先发现 OA 人群中血 Zn 水平和血脂紊乱患病呈正相关。此外, 本研究采用多因素校正模型对潜在混杂因素进行了校正, 提高了本研究结果的可靠性。然而, 本研究也存在一定的局限性。由于本研究采用横断面研究设计不能得出 OA 人群中血 Zn 水平与血脂紊乱患病之间的因果关系, 因此需进一步的前瞻性研究或干预试验以明确血 Zn 水平与血脂紊乱患病之间的因果关系。

综上所述, 膝 OA 人群中血清 Zn 水平与血脂紊乱患病呈正相关。提示 OA 人群中高血 Zn 可能为血脂紊乱患病的危险因素, 适当降低 Zn 的摄入可能有助于 OA 合并症的防治。

参考文献(References)

- [1] 中华医学会骨科学分会关节外科学组. 骨关节炎诊治指南(2018 年版)[J]. 中华骨科杂志, 2018, 38(12): 705-715
- [2] 薛庆云, 王坤正, 裴福兴, 等. 中国 40 岁以上人群原发性骨关节炎患病状况调查[J]. 中华骨科杂志, 2015, 35(12): 1206-1212
- [3] Jevotovsky D S, Alfonso A R, Einhorn T A, et al. Osteoarthritis and stem cell therapy in humans: a systematic review [J]. Osteoarthritis Cartilage, 2018, 26(6): 711-729
- [4] Baudart P, Louati K, Marcelli C, et al. Association between osteoarthritis and dyslipidaemia: a systematic literature review and meta-analysis[J]. RMD Open, 2017, 3(2): e442
- [5] Lin W, Li D. Zinc and Zinc Transporters: Novel Regulators of Ventricular Myocardial Development[J]. Pediatr Cardiol, 2018, 39(5): 1042-1051
- [6] Zeng C, Wei J, Li H, et al. Relationship between Serum Magnesium Concentration and Radiographic Knee Osteoarthritis[J]. J Rheumatol, 2015, 42(7): 1231-1236
- [7] Zeng C, Wei J, Terkeltaub R, et al. Dose-response relationship between lower serum magnesium level and higher prevalence of knee chondrocalcinosis[J]. Arthritis Res Ther, 2017, 19(1): 236
- [8] Xie D X, Wei J, Zeng C, et al. Association between metabolic syndrome and knee osteoarthritis: a cross-sectional study [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2017, 18(1): 533
- [9] 中华医学会糖尿病学分会代谢综合征研究协作组. 中华医学会糖尿病学分会关于代谢综合征的建议[J]. 中华糖尿病杂志, 2004, 12(3): 156-161
- [10] Calvet J, Orellana C, Larrosa M, et al. High prevalence of cardiovascular co-morbidities in patients with symptomatic knee or hand osteoarthritis[J]. Scand J Rheumatol, 2016, 45(1): 41-44
- [11] Hart D J, Doyle D V, Spector T D. Association between metabolic factors and knee osteoarthritis in women: the Chingford Study [J]. J Rheumatol, 1995, 22(6): 1118-1123
- [12] Oliviero F, Sfriso P, Baldo G, et al. Apolipoprotein A-I and cholesterol in synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis and osteoarthritis[J]. Clin Exp Rheumatol, 2009, 27(1): 79-83
- [13] Fallah A, Mohammad-Hasani A, Colagar A H. Zinc is an Essential Element for Male Fertility: A Review of Zn Roles in Men's Health, Germination, Sperm Quality, and Fertilization [J]. J Reprod Infertil, 2018, 19(2): 69-81
- [14] Tuerk M J, Fazel N. Zinc deficiency [J]. Curr Opin Gastroenterol, 2009, 25(2): 136-143
- [15] Sun W, Yang J, Wang W, et al. The beneficial effects of Zn on Akt-mediated insulin and cell survival signaling pathways in diabetes [J]. J Trace Elem Med Biol, 2018, 46: 117-127
- [16] Alker W, Haase H. Zinc and Sepsis[J]. Nutrients, 2018. [Epub ahead of print]
- [17] Milton A H, Vashum K P, McEvoy M, et al. Prospective Study of Dietary Zinc Intake and Risk of Cardiovascular Disease in Women[J]. Nutrients, 2018. [Epub ahead of print]
- [18] Yary T, Virtanen J K, Ruusunen A, et al. Association between serum zinc and later development of metabolic syndrome in middle aged and older men: The Kuopio Ischaemic Heart Disease Risk Factor Study [J]. Nutrition, 2017, 37: 43-47
- [19] Chen F, Wang J, Chen J, et al. Serum copper and zinc levels and the risk of oral cancer: A new insight based on large-scale case-control study[J]. Oral Dis, 2018. [Epub ahead of print]
- [20] 燕小梅, 孟秀香, 张莹. 老年人血清总胆固醇、甘油三酯、铜、锌的测定与相关性分析[J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(11): 2630-2631
- [21] 朱惠莲, 王身笏, 许月初, 等. 单纯性肥胖症儿童血脂、载脂蛋白 A1、B100 的研究[J]. 卫生研究, 2000, 29(2): 104-105
- [22] Black M R, Medeiros D M, Brunett E, et al. Zinc supplements and serum lipids in young adult white males[J]. Am J Clin Nutr, 1988, 47(6): 970-975