多代连续饮用四种饮水的雌性大鼠骨生物力学性能和骨代谢水平的比较

谭 瑶,舒为群,邱志群,曾 惠,陈济安 (第三军医大学军事预防医学院环境卫生学教研室,重庆 400038)

[摘 要] **目的** 观察雌性 SD 大鼠多代连续单纯饮用自来水、纯净水、矿物质水和天然水,对其骨质密度、骨生物力学性能及骨代谢的影响。**方法** 取前期实验暴露于四种饮水条件下的 F2 代断乳健康雌性 SD 大鼠,各组 30 只,饮用与 F1 代相同饮水,除饮水外其他条件完全相同。饲养 10 个月后处死,腹主动脉取血并分离血清检测大鼠骨碱性磷酸酶(BALP)、骨钙素(BGP)、血清 I 型前胶原羧基端前肽(PICP)、I 型胶原交联羧基末端肽(ICTP),同时取右侧股骨,进行骨密度和骨生物力学检测。**结果** 血清中 BGP 含量天然水组高于自来水组($P<0.05$);PICP 含量纯净水组和天然水组低于自来水组($P<0.01$);ICTP 含量天然水组低于自来水组 ($P<0.01$)。拉伸试验显示:自来水组大鼠股骨最大桡度高于天然水组、矿物质水组和纯净水组($P<0.01$);自来水组弹性桡度高于天然水组($P<0.01$)和矿物质水组($P<0.05$)。自来水组大鼠股骨最大应变高于天然水组、矿物质水组和纯净水组($P<0.01$);断裂应变自来水组高于矿物质水组和天然水组($P<0.01$)。杨氏模量自来水组低于天然水组($P<0.05$)。**结论** 长期饮用不同水质的水,可能对大鼠骨骼的生长发育会造成一定的影响。

[关键词] 饮用水;骨密度;骨代谢;骨生物力学

[中图分类号] R123 [文献标识码] A [文章编号] 1672-5042(2012)03-0290-04

Long-term effects of four kinds of drinking water on bone biomechanical and bone metabolism in female rats

TAN Yao, SHU Wei-qun, QIU Zhi-qun, ZENG Hui, CHEN Ji-an (Department of Envirnomental Hygiene, College of military Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chong qing 400038, China)

Abstract: Objective To observe the effects of long-term drinking tap water, purified water, mineral water and natural water on bone density, bone biomechanical and bone metabolism in F2 generation female SD rats. **Methods** Female SD rats were randomly divided into 4 groups ($n=30$) on tap water as controls, or natural water, or mineral water, or purified water. The rats were allowed to pass on two consecutive generations, and F2 were studied for the content of BALP, BGP, PICP, ICTP in serum and bone density and bone biomechanics. **Results** Compared with control group, serum BGP of natural water group was significantly increased ($P<0.05$), serum PICP of purified water group and natural water group were significantly decreased ($P<0.01$), serum ICTP of natural water group was significantly decreased ($P<0.01$). The femur maximum radial degrees both and maximum strain of natural water group, mineral water group and purified water group were significantly decreased ($P<0.01$), the elastic radial degrees and the breaking strain of natural water group and mineral water group were significantly decreased ($P<0.01$, $P<0.05$), the Young modulus of natural water group was significantly increased ($P<0.05$). **Conclusion** Drinking different waters for a long time may have some influence on the growth and development of rat bone.

Keywords: drinking water; bone density; bone metabolism; bone biomechanics

水是生命之源,饮水质量与人体健康密切相关[1]。目前新型饮用水正在逐渐取代自来水成为主要饮用水源,其中纯净水、天然矿泉水和矿物质水所占比重最大。大量研究显示,水中的钙、镁等矿物元素主要以离子形式存在,比食物中的矿物元素更容易被机体吸收[2],饮水是机体补充矿物质元素的一种重要途径[2-3]。纯净水、天然水和矿物质水的水质不同,其中矿物元素含量的差异是否会对生物体内矿物元素代谢产生影响? 新型饮用水是否对骨骼健康有益处? 在遵循雌性特有自然生理过程的基础上,本研究采用雌性 SD 大鼠,观察并比较多代连续单纯饮用自来水、纯净水、矿物质水和天然水后对其骨代谢和骨生物力学指标的影响,为大众科学选择健康饮水提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物及分组 取前期实验暴露于自然水(T 组)、天然水(N 组)、矿物质水(M 组)、纯净水(P 组)四种饮水条件下的 F2 代断乳健康雌性 SD 大鼠共 120 只,分成以上 4 组,每组 30 只,体重 50 ~ 85 g。

1.1.2 实验用水 自来水为重庆市管网末梢水,每天早上将管道中存留余水放 2 min 后,接新鲜水更换。天然水、矿物质水、纯净水为市售瓶装饮用水。

1.2 方法

1.2.1 繁殖程序 繁殖程序参照欧共体经合组织的两代繁

[作者简介] 谭 瑶(1983 -),女,重庆市云阳县人,助理实验师,本科,主要从事消饮用水与健康方面的研究。电话:(023)68752717

[收稿日期] 2012-01-10 [修回日期] 2012-02-07

殖实验标准 OECD416(two-generation reproduction toxicity study)并参考中国 GB15193.15-2003 繁殖试验标准进行实验设计。流程见图 1。

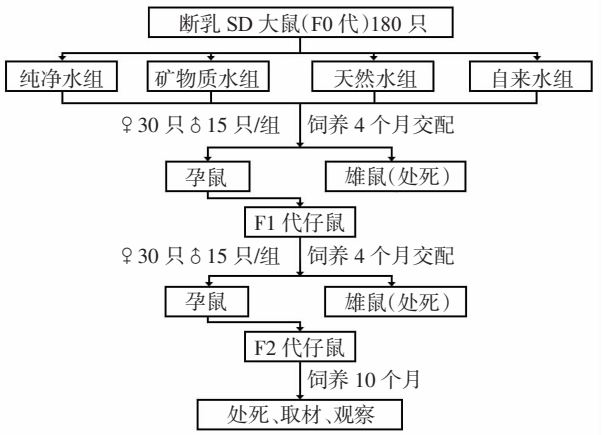


图 1 实验大鼠繁殖流程

1.2.2 动物饲养 每组动物按分组饮水瓶给水、自由饮水及进食。组间除饮水外其他条件均一致。每日早上定时更换饮水及添加饲料。

1.2.3 取材 实验结束时,10% 水合氯醛腹腔麻醉后腹主动脉取血并分离血清以备血清学检测。同时取右侧股骨,剔除肌肉,仔细剥离表面附着的软组织,避免损伤骨表面,用生理盐水浸湿的纱布包裹后,再用锡箔纸包裹,置于 -20 ℃低温冰箱保存,试验前 24 h 将标本取出,室温下解冻。用游标卡尺量取股骨中段外径和骨长。

1.2.4 骨代谢指标的检测 酶联免疫法测定 BALP、BGP、PICP、ICTP(北京永辉生物科技有限公司)。

1.2.5 骨生物力学检测 股骨拉伸试验在 Instron 1011 万能材料实验机上进行,支点跨距 17 mm,加压点为中点,加载速度为 2 mm/min,进行拉伸实验,试验中的数据自动保存在与试验机连接的计算机中,自动生成载荷—位移曲线,并分析最大负荷、最大应力、最大伸长、断裂负荷、断裂能量、模数、刚性系数等指标。

用游标卡尺测量骨断面的内外径,根据文献[4]进行计算骨材料特性。

在皮质骨为等厚的假设下,该骨的横截面对其形心轴的惯性矩I为:

$$I = \frac{\pi(BH^3) - bh^3}{64}$$

B 是空心椭圆的外长轴,b 是空心椭圆的内长轴,H 是空心椭圆的外短轴,h 是空心椭圆的内短轴。

1.2.6 水样中主要矿物元素含量分析 对实验中使用的各种水样中的 Na、K、Ca、Mg 等矿物质含量进行等离子体光谱法(ICP)检测。

1.2.7 统计学分析 应用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析及重复测量方差分析,以$P < 0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 水样中主要矿物元素含量

四种水样的总硬度(以 $CaCO_3$ 计)和溶解性总固体均呈现出自来水组大于天然水组大于矿物质水组大于纯净水组的趋势,可以认为纯净水和矿物质水是含矿物质极少的饮水。而天然水与自来水相比矿物质含量有一定程度减少,但相比纯净水和矿物质水可认为是含有一定矿物质的水(表 1)。

2.2 对骨代谢生化指标的影响

F2 代大鼠饮用四种水 10 个月,血清中 BGP 含量 N 组比 T 组升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);血清中 PICP 含量 T 组高于 P 组和 N 组,差异有统计学意义($P < 0.01$);血清中 ICTP 含量 N 组低于 T 组,差异有统计学意义($P < 0.01$);血清中 BALP 含量各组差异无统计学意义(表 2)。

2.3 对骨生物力学的影响

2.3.1 骨结构力学指标 拉伸试验显示,T 组大鼠股骨最大挠度高于其余三组,差异有统计学意义($P < 0.01$);T 组弹性挠度高于 N 组($P < 0.01$)和 M 组($P < 0.05$),差异有统计学意义。最大载荷、弹性载荷各组间差异无统计学意义(表 3)。

2.3.2 骨材料力学指标 大鼠股骨最大应变 T 组高于其余三组,差异有统计学意义($P < 0.01$);断裂应变 T 组高于 M 组和 N 组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。杨氏模量 T 组低于 N 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。最大应力各组间差异无统计学意义(表 4)。

3 讨论

随着经济的快速发展及大众消费观念的改变,自来水已经不是唯一的饮用水,各种品牌的纯净水、矿泉水、山泉水、天然水、矿物质水频频出现,其作为日常饮用水的比例逐年增高,而且一些水声称对健康有特殊益处,不少人产生疑问:新型饮用水是否对骨骼健康有特殊益处? 近年来关于水中多种矿物元素与骨骼关系的研究也开始涌现。

Wynn 等[5]对 30 名女性营养师进行研究发现,在钙充足的条件下,碱性水中含有的大量碳酸氢盐使 PTH 和 S-CTx 显著减少,该团队认为喝碱性矿泉水有助于预防骨丢失和骨质疏松[6]。Kurttio 等[7]研究发现骨骼可能是饮用水中天然铀化学毒性的靶点。也有研究表明常规饮用高钙含量的矿泉水对骨密度有积极作用[8]。本组实验中饮用的自来水、天然水、矿物质水、纯净水的总硬度(以 $CaCO_3$ 计),分别是200.3、69.6、2.3、0.8 mg/L。四种水的化学耗氧量 COD ≤1.0 mg/L,表明水中有机物对水质的影响较小。由此可见,几种水的水质区别主要在于水中矿物元素含量的多少,尤其是 Ca、Mg 含量的多少。四种水中 Ca、

表 1 四种水中主要矿物元素含量情况

组别	溶解性总固体(mg/L)	总硬度(mg/L)	Ca(mg/L)	Mg(mg/L)	Na(mg/L)	K(mg/L)	耗氧量 COD(mg/L)
T 组	229.00	200.30	52.90	12.70	12.40	2.50	1.00
N 组	87.20	69.60	10.60	9.40	9.00	3.80	0.60
M 组	10.90	2.30	0.02	0.40	0.10	3.40	0.60
P 组	1.20	0.80	0.04	0.02	0.10	<0.50	0.50

表 2 饮用四种水对多代繁殖 SD 大鼠骨代谢生化指标的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	BGP (ng/L)	PICP (ng/L)	BALP (μg/L)	ICTP (ngl/L)
T 组 ($n=25$)	25	725.31 ±67.17	229.58 ±16.36	11.05 ±0.86	1 187.44 ±83.36
N 组 ($n=19$)	19	789.63 ±54.42 *	200.94 ±12.39 #	11.34 ±0.82	1 051.17 ±69.16 #
M 组 ($n=20$)	20	715.12 ±68.27	235.70 ±10.82	10.94 ±0.84	1 173.57 ±77.09
P 组 ($n=28$)	28	739.91 ±90.43	191.78 ±16.23 #	11.40 ±0.69	1 261.86 ±328.88

*:与 T 组比较,$P<0.05$;#:与 T 组比较,$P<0.01$

表 3 饮用四种水对多代繁殖 SD 大鼠股骨结构力学的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	最大载荷(kN)	弹性载荷(kN)	最大挠度(mm)	弹性挠度(mm)
T 组	26	0.189 ±0.016	0.186 ±0.043	1.755 ±0.380	1.601 ±0.340
N 组	17	0.172 ±0.031	0.173 ±0.027	1.323 ±0.256 #	1.133 ±0.236 #
M 组	24	0.193 ±0.056	0.196 ±0.054	1.337 ±0.303 #	1.246 ±0.306 *
P 组	17	0.208 ±0.056	0.186 ±0.066	1.366 ±0.366 #	1.113 ±0.542

*:与 T 组比较,$P<0.05$;#:与 T 组比较,$P<0.01$

表 4 饮用四种水对多代繁殖 SD 大鼠股骨材料力学的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	杨氏模量(M Pa)	最大应力(M Pa)	最大应变(mm/mm)	断裂应变(mm/mm)
T 组	26	848.17 ±160.13	1 925.62 ±258.00	4.50 ±0.97	3.22 ±1.353
N 组	17	1 117.87 ±29.83 *	2 161.82 ±476.31	3.41 ±0.65 #	1.79 ±1.15 #
M 组	24	971.25 ±261.06	1 956.29 ±497.19	3.43 ±0.78 #	1.94 ±0.84 #
P 组	17	1 101.72 ±343.33	2 012.25 ±452.02	3.50 ±0.94 #	2.37 ±1.13

*:与 T 组比较,$P<0.05$;#:与 T 组比较,$P<0.05$

Mg、Na、K 含量比例不同,自来水组中 Ca、Mg 的比例较其余三组大,钙镁元素比例与已报道的钙镁比例为3:1时跟最适合人体的数值更接近[9]。检测结果提示水中 Ca、Mg 元素的含量不同以及钙镁比例可能是引起几种水质对骨骼某些生长发育指标出现差异的原因。

骨代谢中具有代表性的有骨形成指标,骨碱性磷酸酶(BALP)、骨钙素(BGP)、血清 I 型前胶原羧基端前肽(PICP);骨吸收指标,I 型胶原交联羧基末端肽(ICTP)等。实验结果显示,N 组大鼠血清中 BGP 含量高于 T 组,提示饮用天然水后 BGP 沉积到骨矿中的量较自来水少,骨形成的速度较自来水慢。本实验观察到 PICP 含量 T 组高于 P 组和 N 组,提示饮用自来水大鼠的成骨细胞活性高于饮用纯净水和天然水,成骨细胞合成胶原速度和骨的正常矿化速度比纯净水和天然水快。骨生物力学性能的检测是评价骨质量不可缺少的指标[10]。骨生物力学是骨质量和骨结构的综合反映,可以直接反映骨组织的抗骨折能力,对骨质量进行准确评估以及对骨折危险度准确预测[11]。提示自来

水组骨基质胶原蛋白含量和骨骼韧性可能比矿物质水组和天然水组高。自来水组骨骼的韧性比矿物质水组和天然水组好,对抗外力的屈服性较好,这与结构力学的结论一致。长期单纯饮用自来水较软水而言,能增强成骨细胞活性,使骨形成活动增强,且对骨骼抗骨折和变形的能力有一定的优势,可能会降低骨折的风险。天然水组在拉伸试验中杨氏模量上优于其他组,提示天然水组在一定应力作用下,发生弹性变形较其他组小,骨骼较其他组不容易产生弹性变形。可能与其 ICTP 含量较低,破骨细胞活性相对偏低,骨吸收不活跃,形成与吸收的动态平衡中,骨形成的作用稍强,骨中矿物质和胶原蛋白含量相对偏高有一定关系;同时也提示天然水组较自来水组骨胶原空间结构的稳定性和性能均有提升。推测是由于天然水中含有丰富的镁离子,使体内镁含量升高,沉积到骨骼钙池的镁含量增加,同时镁含量的升高增强了机体对钙的有效吸收,使骨骼本身更具有弹性。

骨代谢指标 PICP 含量纯净水组低于自来水组,骨形成速率和成骨细胞活性低于自来水组;ICTP 含量纯净水组有高于自来水组的趋势,骨吸收可能会出现较自来水组更活跃的情况,从而使骨吸收大于骨形成,代谢水平的动态平衡被打破的可能性较自来水组大,存在骨质流失的风险也稍大。纯净水组的最大桡度和最大应变低于自来水组,提示该组骨骼抵抗外力和变形的能力较自来水组弱,纯净水组骨代谢指标的变化支持其生物力学性能的结论。推测其可能是由于纯净水中矿物元素含量较低,加速了机体固有矿物质的排出。本实验结果提示硬度适中的自来水比较适合作为日常饮用水。

[参考文献]

[1] Madej D, Kaluza J, Antonik A, et al. Calcium, magnesium, iron and zinc in drinking water and status biomarkers of these minerals among elder people from Warsaw region[J]. Rocz Panstw Zakl Hig, 2011, 62(2): 159 – 168.

[2] Arnaud MJ. Higher calcium urinary loss induced by a calcium sulphate-rich mineral water intake than by milk in young women[J]. Br J Nutr, 2008, 99(1): 206 – 209.

[3] Martinez Ferrer A, Peris P, Reyes R, et al. Intake of calcium, magnesium and sodium through water: health implications[J]. Med Clin (Barc), 2008, 131(17): 641 – 646.

[4] 陈孟诗,赖胜祥,李 良,等. 大鼠的骨生物力学指标选取及测试[J]. 生物医学工程学杂志, 2001, 18(4): 547 – 551.

[5] Wynn E, Kriega MA, Aeschlimannb JM, et al. Alkaline mineral water lowers bone resorption even in calcium sufficiency: alkaline mineral water and bone metabolism[J]. Bone, 2009, 44(1): 120 – 124.

[6] Wynn Dumartheray E, Krieg MA, Burckhardt P. Bicarbonate from mineral water lowers bone resorption even in calcium sufficiency[J]. International Congress Series, 2007, 3: 303 – 309.

[7] Kurttio P, Komulainen H, Leino A, et al. Bone as a possible target of chemical toxicity of natural uranium in drinking water[J]. Environ Health Pexspect, 2005, 113(1): 68 – 72.

[8] Costi D, Calcaterra PG, Lori N, et al. Importance of bioavailable calcium drinking water for the maintenance of bone mass in post-menopausal women[J]. J Endocrinol Inverst, 1999, 22(11): 852 – 856.

[9] Gabriella Tamasi. Heavy metals in drinking waters form Mount Amiata (Tuscany, Italy) possible risks from arsenic for public health in the province of siena[J]. Sci Total Environ, 2004, 327(1 – 3): 41 – 51.

[10] Hayashi K, Yamamoto M, Murakawa Y, et al. Bone fragility in male glucocorticoid-induced osteoporosis is not defined by bone mineral density[J]. Osteoporos Int, 2009, 20(11): 1889 – 1894.

[11] 李铁军,文华军,丁中伟. 辛伐他丁和吉非罗齐对高血脂症伴骨量减少患者骨代谢和骨密度的影响[J]. 局解手术学杂志, 2011, 20(1): 57 – 59.

(编辑:杨 颖)

(上接第 289 页)

[参考文献]

[1] Liu YK, Xu H, Liu F, et al. Treatment of type C intercondylar fractures of distal humerus using dual plating[J]. Zhonghua Wai Ke Za Zhi, 2009, 47(12): 892 – 895.

[2] Yang Y, Huang PQ, Fang JW. Treatment of severely comminuted fractures of humeral intercondylar through approach of osteotomy olecranon with double-plate internal fixation[J]. Zhongguo Gu Shang, 2009, 22(5): 335 – 336.

[3] Jupiter JB, Neff U, Holzach P, et al. Intercondylar fractures of the humerus: an operative approach[J]. Bone Joint Surg(Am), 1985, 67(2): 266 – 269.

[4] 张庆武,张 威. 钢板内固定治疗肱骨近端骨折 45 例临床分析[J]. 局解手术学杂志, 2010, 19(1): 43.

[5] Tang XJ, Zhou CK, Wang XM, et al. Dual steel plate for the surgical management of intercondylar fractures of the humerus through approach of osteotomy of olecranon[J]. Zhongguo Gu Shang, 2009, 22(5): 331 – 333.

[6] 田 建,王金武. 肱骨髁间骨折的外科手术治疗进展[J]. 中国矫形外科杂志. 2008, 16(20): 1553 – 1556.

[7] Osti M, Benedetto KP. Results of arthroscopically assisted refixation of fractures of the intercondylar eminence[J]. Z Orthop Unfall, 2010, 148(3): 288 – 291.

[8] Park HJ, Urabe K, Naruse K, et al. Arthroscopic evaluation after surgical repair of intercondylar eminence fractures[J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2007, 127(9): 753 – 757.

[9] 谢志新,吴 迪,虢新莲. Y 形钢板和双钢板经不同置入途径治疗肱骨髁间骨折的比较[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2011, 15(17): 3103 – 3108.

(编辑:周小林)