文章编号: 1001-0580(2007)03-0316-02 中图分类号: R 115 文献标志码: A 【论 著】

铝螯合剂对染铝大鼠肝酶谱及必需元素影响*

禚金花, 刘萍, 冯国昌, 姚玉娜

摘 要: 目的 探讨铝螯合剂 1, 2- 二甲基- 3- 羟基- 4- 吡啶酮(DHPO)对铝染毒大鼠血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)及肝脏中铝、锌、铜、铁、钙、镁等元素的影响。方法 $AlCl_3$ 染毒 Wistar 大鼠 3 周后分别给予不同剂量的 DHPO 1 周, 测定血清 ALT、AST、ALP 活力及肝脏中铝、锌、铜、铁、钙、镁等元素含量。结果 各组大鼠的 ALT 活力比较差异均无统计学意义($P > 0.05$); 低、中、高剂量组的 AST 活力显著低于模型组($P < 0.01$); 低剂量组 ALP 活力与模型组比较差异有统计学意义($P < 0.01$); Al 含量测定结果显示: 低、中、高剂量组均显著低于模型组($P < 0.01$), 且含量呈下降趋势, 中、高剂量组的大鼠肝脏中锌、铜、铁、钙、镁的含量与阴性对照组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论 DHPO 在促进排铝的同时, 对肝脏中锌、铜、铁、钙、镁含量无影响, 且在一定剂量范围内对 AST、ALP 活力具有恢复作用。

关键词: 1, 2- 二四基- 3- 羟基- 4- 吡啶酮(DHPO); 肝酶谱; 铝; 必需元素

Effect of aluminum chelating agent on liver zymogram and on essential elements of rats induced by aluminum *ZHUO Jin-hua, LIU Ping, FENG Guo-chang, et al. Department of Chemistry and Microbacteria Detection, College of Public Health, Shandong University (Jinan, 250012, China)*

Abstract: **Objective** To inquire into the effects of 1, 2- dimethyl- 3- hydroxypyrid- 4- pyridine(DHPO) on alanine aminotransferase(ALT), glutamic oxalacetic transaminase(AST), and alkaline phosphatase(ALP) in serum and elements aluminum(Al), zinc(Zn), copper(Cu), iron(Fe), calcium(Ca) and magnesium(Mg) in liver of rats induced by aluminum. **Methods** Wistar rats were administered with aluminum chloride for 3 weeks. Then they were treated with different doses of DHPO. The activity of ALT, AST and ALP in serum was detected, and the concentrations of Al, Zn, Cu, Fe, Ca and Mg in liver tissue were measured. **Results** The result of ALT activity demonstrated that there was no statistical significance among all the groups($P > 0.05$). The AST activity of low, moderate and high DHPO dose groups was lower than the positive control($P < 0.01$). The result of ALP activity indicated that the low DHPO dose group was significantly different from the positive control($P < 0.01$). The aluminum concentration of the three different dose groups was significantly lower than the positive control($P < 0.01$). Compared with the negative control, the Zn, Cu, Fe, Ca, Mg concentrations of the moderate and high DHPO dose groups were not significantly different($P > 0.05$). **Conclusions** DHPO could effectively enhance the elimination of Al in liver, but dose not affect the excretion of Zn, Cu, Fe, Ca and Mg. DHPO can recover the activity of AST and ALP in serum being damaged by aluminum in some degree.

Key words: 1, 2-dimethyl-3-hydroxyprid-4-pyridine(DHPO); liver zymogram; aluminum; essential elements

铝是自然界含量最丰富的金属元素。20 世纪 70 年代以来, 人们逐渐发现铝具有神经毒性, 其与阿尔茨海默氏病、关岛帕金森氏痴呆综合征、透析性脑病等神经失调性疾病有关, 并对造血系统及骨组织有毒性作用[1,2]。1, 2- 二甲基- 3- 羟基- 4- 吡啶酮(DHPO)是人工合成的中性小分子物质, 目前已用于治疗地中海贫血患者因长期输血造成的铁中毒[3]。本实验以 Wistar 大鼠为研究对象, 通过测定其肝脏中铝、锌、铜、铁、钙、镁的含量及血清中谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)的活力, 探讨 DHPO 的排铝效果、必需元素对肝脏中是否具有促排作用及对肝脏功能的影响。

1 材料与方法

1.1 材料 722 型紫外可见分光光度计(上海精密仪器厂); THERMO ELEMENTAL GF95Z- M6 原子吸收分光光度仪(美国热电公司); 离心机(北京医用离心机厂); 万分之一电子天平(ER- 182, A&D)(日本 Tykyo 公司); 仪表恒温水箱(上海跃进医疗器械厂)。三氯化铝结晶(AR)、氯化钠(AR)(广东汕头市西陇化工厂); DHPO 由本课题组合成; ALT、AST、ALP 试剂盒(南京建成生物工程研究所); 铝、锌、铜、铁、钙、镁标准液(国家标准物质研究中心); 高氯酸(GR)(上海桃浦化工厂); 硝酸(GR)(上海振兴化工二厂)。

1.2 实验动物 健康雄性 Wistar 大鼠(山东大学实验动物中心), 分笼饲养, 自由进食及饮水。

1.3 方法

1.3.1 ALT、AST、ALP 活力测定 取 Wistar 大鼠 30 只, 体重 160~ 220 g, 雄性。按体重随机分为 6 组, 每组 5 只, 均以灌胃方式给药。阴性对照组: 生理盐水 1 ml/d, 给予 4 周。模型对照组: 前 3 周给予 $AlCl_3$ 281.398 mg/(kg·d), 第 4 周给予生理盐水 1 ml/d。预防组: 给予 $AlCl_3$ 281.398 mg/(kg·d), 4 h 后给予 DHPO 27.44 mg/(kg·d), 给药 4 周。低、中、高剂量组: 给予 $AlCl_3$ 281.398 mg/(kg·d) 3 周后, 第 4 周分别给予 DHPO 13.82, 27.44, 54.88 mg/(kg.d)。各组大鼠前 3 周均给药 5 d, 间隔 2 d 后再继续给药。最后一次给药后禁食禁水 24 h, 断头取血, 将血液收集到试管中, 3 500 r/min 离心 10 min, 吸取上层血清于 E- P 管中。ALT、AST、ALP 的测定按照试剂盒步骤操作。

1.3.2 元素分析 取肝脏 0.4 g 左右于石英消化管内, 加 0.2

* 基金项目: 山东省科技厅资助项目(012100104); 济南市青年科技明星计划(200205)
作者单位: 山东大学公共卫生学院卫生检验研究所, 济南 250012
作者简介: 禚金花(1980-), 女, 山东潍坊人, 硕士在读, 研究方向: 微量元素与人体健康和疾病的关系。
通讯作者: 刘萍

ml 高氯酸、4 ml 硝酸消化后测定。Zn、Cu、Fe、Ca、Mg 采用火焰原子吸收分光光度法，锌的测定线为 213.9 nm，铜的测定线为 324.8 nm，铁的测定线为 248.3 nm，钙的测定线为 422.7 nm，镁的测定线为 285.2 nm，火焰类型均为空气－乙炔焰。Al 采用石墨炉原子吸收分光光度法，测定线为 309.3 nm。

1.3.3　大鼠体重变化　从实验前一天开始记录体重变化，直至实验结束，观察药物对体重的影响。

1.4　统计分析　采用 SAS 6.0 统计软件进行多样本均数比较的 Dunnet－ t 检验。

表 1　ALT、AST、ALP 活力的测定结果（$x \pm s$, $n = 5$）

组　别	ALT 活力（U/ml）	AST 活力（U/ml）	ALP 活力（U/100 ml）
阴性对照组	48.00±9.81	134.00±10.27	33.55±4.76
模型组	55.00±5.93	160.00±11.32[a]	47.45±3.71[a]
预防组	58.00±9.35	157.00±26.49	45.65±8.66[b]
低剂量组	53.00±17.59	134.00±9.90[c]	37.67±3.02[c]
中剂量组	45.00±11.01	137.00±9.42[c]	46.89±8.49[b]
高剂量组	51.00±13.26	135.00±8.69[c]	51.88±15.52[b]

注：与阴性对照组比较，a $P < 0.01$，b $P < 0.05$；与模型组比较，c $P < 0.01$

2　结　果

2.1　血清中 ALT、AST、ALP 活力测定结果（表 1）　结果表明，各组大鼠的 ALT 活力差异均无统计学意义；低、中、高剂量组的 AST 活力显著低于模型组（$P < 0.01$），但与阴性对照组比较，差异无统计学意义；模型组的 AST 活力显著高于阴性对照组（$P < 0.01$）；模型组、预防组及中、高剂量组大鼠血清 ALP 活力均显著高于阴性对照组（$P < 0.01$，$P < 0.05$），低剂量组显著低于模型组（$P < 0.01$）。

2.2　肝脏中铝、锌、铜、铁、钙、镁的含量（表 2）　结果显示，模型组 Al 含量明显高于阴性对照组（$P < 0.01$），低、中、高剂量组均明显低于模型组（$P < 0.01$），且含量呈下降趋势，高剂量组与阴性对照组比较差异无统计学意义；中、高剂量组大鼠肝脏中锌、铜、铁、钙、镁的含量与阴性对照组比较差异无统计学意义（$P > 0.05$）。

2.3　大鼠体重变化　DHPO 对大鼠体重影响，结果表明，各组大鼠的体重均呈上升趋势，且各组体重比较差异均无统计学意义。

表 2　铝对肝脏中元素含量的影响（$x \pm s$, μg/g）

组　别	Al	Zn	Cu	Fe	Ca	Mg
阴性对照组	0.91±0.70	21.34±6.61	2.34±0.41	22.32±6.60	49.41±5.23	182.88±13.81
模型组	7.18±2.87[a]	25.28±1.30	1.96±0.38	26.99±7.02	54.28±5.18	195.94±17.97[b]
预防组	2.73±1.25[b]	23.32±3.39	2.90±0.08[b]	28.33±9.91	53.44±8.57	191.38±10.86
低剂量组	3.32±0.43[ac]	19.42±3.28[c]	1.68±0.27[b]	21.38±4.48	44.24±6.66[d]	183.72±21.77
中剂量组	2.66±0.67[ac]	22.99±4.31[d]	2.47±0.40	22.39±3.52	53.44±5.27	193.84±16.44
高剂量组	1.36±0.76[c]	21.22±3.16[d]	2.38±0.33	28.52±7.99	47.23±8.07	183.02±17.78

注：与阴性对照组比较，a $P < 0.01$，b $P < 0.05$；与模型组比较，c $P < 0.01$，d $P < 0.05$

3　讨　论

目前，临床上普遍采用去铁胺（DFO）治疗铁和铝过量，但其有毒副作用大、口服无效、不易合成且价格昂贵等缺点，DHPO 作为新型铁离子螯合剂具有分子量小、口服易吸收且毒副作用小等优点[4]。根据 Fe^{3+} 与 Al^{3+} 所带电荷相同、离子半径相近，本实验将 DHPO 作为新型铝螯合剂进行动物实验，研究其对荷铝大鼠肝脏中铝的促排作用，对锌、铜、铁、钙、镁含量及血清中 ALT、AST、ALP 活力的影响。结果显示，DHPO 能显著排出大鼠肝脏中的铝。其机制可能是，铝与铁竞争运铁蛋白铁的结合部位，DHPO 发挥转铁蛋白的作用，与血液中的铝结合，促进肝脏中铝动员，降低铝含量。临床上常用肝酶谱 ALT、AST、ALP 的活力衡量肝实质损伤程度[5]。本实验表明，铝可使 AST 活性增加，不同剂量的 DHPO 均可降低其活性；随着铝摄入量的增加，ALP 活力显著提高，低剂量的 DHPO 对其活力改变具有恢复作用，中、高剂量组的活力提高说明较高剂量的 DHPO 也会引起 ALP 活力的改变。有报道显示[6]，Al^{3+} 与 ATP 结合形成的 Al－ATP 络合物与酶结合，可改变酶的活性，DHPO 能促进 Al 与 ATP 的解离，恢复酶活力。中、高剂量组的锌、铜、铁、钙、镁含量与阴性对照组比较无显著变化，说明 DHPO 对锌、铜、铁、钙、镁等元素在体内的动员及排出无影响，能使体内元素保持平衡。

参考文献

〔1〕 Lyne Le' vesque, Craig A Mizzen, Donald R Mclachlan, et al. Ligand specific effects on aluminum incorporation and toxicity in neurons and astrocytes[J]. Brain Research, 2000, 887: 191－202.

〔2〕 Giulio Lupidi, Mauro Angeletti, Anna Maria Eleuteri, et al. Aluminum modulation of proteolytic activities[J]. Coordination Chemistry Reviews, 2002, 228: 263－269.

〔3〕 Gary M Brittenham. Iron chelators and iron toxicity[J]. Alcohol, 2003, 30: 151－158.

〔4〕 Robert A Yokel. Aluminum chelation principles and recent advances [J]. Coordination Chemistry Reviews, 2002, 228: 97－113.

〔5〕 周新，涂植光. 临床生物化学和生物化学检验〔M〕. 北京：人民卫生出版社，2003: 166.

〔6〕 Sahar S Abd EI－Rahman. Neuropathology of aluminum toxicity in rats(glutamate and GABA impairment)[J]. Pharmacological Research, 2003, 47: 189－194.

收稿日期：2006-06-19　（宋艳萍编辑　张亚莲校对）

中国公共卫生 CPH