

E-61 铝形态对铝吸收和脂质过氧化反应的影响

杨宏伟 赵华章 王文东 蒋展鹏
清华大学 环境科学与工程系 100084 北京

关键词：铝形态；小白鼠体内吸收；脂质过氧化反应；生物毒性

分 类：环境化学和毒理学研究

1 引言

随着分析技术的发展以及有关铝生物毒性报导的增加,人们逐渐加深了铝毒性方面的研究。一些研究者认为只有离子态铝才会对环境产生影响,单体态铝是致毒形态,而聚合铝是无毒或低毒的。但也有研究者认为不仅 Al_3 (如 Al^{3+})具有生物毒性, Al_6 等多聚物也具有毒性,甚至 Al_{13} 对小麦根部的毒性会比 Al^{3+} 的毒性高出 10 倍。铝的有机配合物毒性较低或基本无毒,但也有人认为,有机配体会促进铝在血液中的吸收。许多动物体内体外实验表明,铝的神经毒性作用与脂质过氧化过程有关。铝进入动物体内要经过吸收、转运和贮存几个环节,因此铝的吸收是决定铝是否具有生物有效性,是否能对动物体产生毒性的关键一步。因此,研究不同铝形态在动物体内的吸收,同时研究铝形态对脂质过氧化反应的影响,对于提示不同铝形态的生物有效性和毒性具有重要意义。

本文通过模拟配水得到了不同铝形态的溶液,以此作为受试物,研究了不同铝形态在小白鼠体内的吸收情况及其对脂质过氧化反应的影响。

2 试验材料和方法

2.1 试验材料

采用健康昆明种小白鼠,雌雄各半,体重为 18~22g,购于北京市实验动物中心。新鲜猪血(取自北京市第五肉联厂)。

2-硫代巴比妥酸(TBA),抗坏血酸, $FeSO_4$, H_2O_2 (33%水溶液), EDTA, 三氯乙酸, 以上试剂均为分析纯。2,6-二叔丁基对甲酚(BHT, 化学纯)。柠檬酸(右旋)葡萄糖(ACD)缓冲液,磷酸盐缓冲液(PBS)。高岭土配水, $HA/AlCl_3$ 配水,具体指标见表 1。腐殖酸(HA)储备液, DOC 约为 3g/L 和高岭土储备液 100g/L。

表 1 自配水配制方法

配水	配制方法	水质指标
高岭土配水	向 2L 自来水中加入 2.58mL 高岭土储备液, 混合均匀	总铝浓度为 0.6mg/L
PAC-c 配水	取 2L 自来水, 用稀盐酸调 pH 值为 4, 再加入 1.64mL PAC-c 溶液, 混合均匀	总铝浓度为 0.5mg/L
$HA/AlCl_3$ 混合体系	向 2L 自来水中加入 3.292mL 腐殖酸储备液和 0.203mL $AlCl_3$ 溶液, 混合均匀	DOC 浓度为 5mg/L, 总铝浓度为 0.5mg/L

2.2 试验方法

2.2.1 小白鼠吸收实验

将高岭土配水(高岭土铝)、 $HA/AlCl_3$ 配水(有机铝)、PAC-c、PAC-b、 $AlCl_3$ 、 $Al_2(SO_4)_3$ 溶液分别用滤纸过滤,并用 ICP 准确测定其铝浓度。分别以上述 6 种铝形态作为受试物进行实验。小白鼠购回后按常规饲养一周,随机分组,每组 5 只。实验采用灌胃给药,灌胃前禁食 12h。灌胃时首先将受试物稀释至 2.6mg/L(以 Al 计),然后迅速取 1mL 灌胃。对照组给予

去离子水。灌胃 2h 后, 通过摘眼球取全血, 然后进行血样分析。

2.2.2 脂质过氧化反应的测定

参照 Rucinski 等人的方法提取血小板, 参照 Aarsman 等人的方法和红细胞膜的制备方法破膜。破膜时, 取 70mL 血小板悬浮液, 采用细胞破碎机在冰浴条件下进行。超声功率为 80W, 每次持续 30s, 共 5 次。超声破膜后不用洗涤。用考马斯亮蓝法测得悬浮液中蛋白质浓度为 1.11mg/mL。

向塑料试管中加入 100 μ L 膜悬浮液, 然后按下列顺序加入下面试剂: 抗坏血酸 160 μ M(最终浓度, 下同), EDTA 10 μ M, 铝形态溶液, FeSO_4 , H_2O_2 。试管中溶液的总积用 PBS(pH 值可调)调节至 1000 μ L。

将试管在 37℃ 下培养至所需时间, 取出后加入下述溶液: 浓度为 1%(w/v, 下同)TBA 溶液 1mL, 浓度为 2.8%三氯乙酸 (其中含 BHT0.03%)1mL。然后在 100℃ 下加热反应, 反应结束后, 冷却至室温。然后采用分光光度计在 535nm 波长下测定 TBA 反应物质(TBARS)的生成量, 该数值即可反映脂质过氧化的程度。每组实验平行做 3 次, 同时做空白实验。

3 结果与讨论

3.1 铝形态对铝吸收的影响

对照组的血铝浓度最低, 其它各组的血铝浓度和吸收率按 PAC-c、PAC-b、 AlCl_3 、高岭土铝、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 、有机态铝的顺序递增。这表明铝在小白鼠体内的吸收与铝形态有着密切关系。但统计结果表明, 在 0.05 水平上, AlCl_3 、高岭土铝、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 三者间无显著差异; 高岭土铝、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 和有机态铝三者间无显著差异; 而对照组、PAC-c、PAC-b、 AlCl_3 和有机态铝间存在显著差异。这说明不同铝形态具有不同的吸收率首先是因为配体不同引起的, 与腐殖酸络合的铝形态更容易被吸收。这与柠檬酸铝更易吸收的道理是相同的。高岭土铝和 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 的吸收率介于 AlCl_3 和有机态铝之间, 同样是由于配体不同引起的。由于 PAC-c、PAC-b 和 AlCl_3 的聚合度和分子量依次降低, 因此结合上述结果可知, 对于配体相同的铝形态, 分子量越小, 进入血液中的铝浓度越高, 吸收率也越高。

3.2 铝形态对脂质过氧化反应的影响

采用高岭土铝、 Al_c 、 Al_b 、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 、 AlCl_3 和有机态铝作为暴露铝形态, 分别在 pH 值为 5.29 和 7.4 条件下进行试验, 样品的 pH 值对样品的吸光度影响较大。在 pH 值为 7.4 时, 所有样品的吸光度相差不大。统计结果也表明在 0.05 水平上各组间无明显差异。这是因为样品中铝形态的加入量很小, 在中性体系中的稀释作用使铝形态进一步水解聚合, 在很短的时间内各铝形态均转化成了氢氧化铝沉淀, 因此各样品的吸光度相差不大。在 pH 值为 5.29 的条件下, 样品中的铝形态在短时间内基本保持不变。在 0.05 水平上, 除有机态铝与空白组之间无明显差异外, 其它各组间均存在明显差异。这说明不同铝形态对脂质过氧化反应的影响不同。吸光度越大, 铝形态对脂质过氧化反应的促进程度越大。由图中可以看出, 铝形态按有机态铝、 Al_c 、高岭土铝、 Al_b 、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 、 AlCl_3 的顺序对脂质过氧化反应的促进程度依次增大。有机态铝主要是 Al^{3+} 与 HA 络合形成的中性铝形态; 高岭土铝是高岭土由于水化作用而进入水中的铝形态; Al_c 是聚合铝中分子量最大, 聚合度最高, 溶解度最低的铝形态; Al_b 是介于 Al_c 和 Al_a (可认为是 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 或 AlCl_3) 间的铝形态; 对于 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 和 AlCl_3 , SO_4^{2-} 的存在更易使 Al^{3+} 聚合。不难看出, 所研究的铝形态按有机态铝、 Al_c 、高岭土铝、 Al_b 、 $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 、 AlCl_3 的顺序聚合度逐渐下降, 铝形态的电荷密度逐渐增大, 游离的 Al^{3+} 含量逐渐升高。因此可以认为, 铝形态对脂质过氧化反应的影响主要是通过游离的 Al^{3+} 来完成的。