



复旦博学·公共卫生与预防医学系列 复旦博学·公共卫生与预防医学系列 复旦博学·公共卫生与预防医学系列

博
學



Gonggong Weisheng yu Yufang Yixue

公共卫生与预防医学系列

现代毒理学

● 主编 金泰虞

复旦大学出版社





复旦博学·公共卫生与预防医学系列 复旦博学·公共卫生与预防医学系列 复旦博学·公共卫生与预防医学系列



Gonggong Weisheng yu Yufang Yixue

公共卫生与预防医学系列

现代毒理学

● 主编 金泰虞

复旦大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

现代毒理学/主编金泰虞. —上海:复旦大学出版社,2004.10
(博学·公共卫生与预防医学系列)
ISBN 7-309-04189-5

I. 现… II. 金… III. 毒理学 IV. R99

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 096534 号

现代毒理学

主编 金泰虞

出版发行 **复旦大学出版社**

上海市国权路 579 号 邮编 200433

86-21-65118853(发行部) 86-21-65109143(邮购)

fupnet@fudanpress.com http://www.fudanpress.com

责任编辑 宫建平

装帧设计 马晓霞

总编辑 高若海

出品人 贺圣遂

印刷 上海江杨印刷厂

开本 787 × 1092 1/16

印张 10.75 插页 2

字数 288 千

版次 2004 年 10 月第一版第一次印刷

印数 1—3 100

书号 ISBN 7-309-04189-5/R · 867

定价 18.00 元

如有印装质量问题, 请向复旦大学出版社发行部调换。

版权所有 侵权必究

前 言

毒理学(toxicology)是研究化学物所造成的生物体不良效应的一门学科,有人认为就是研究毒物的学科。毒理学研究化学物所造成不良效应的性质及其细胞、生化和分子机制,并估测出现不良效应的可能性。现代毒理学不仅以化学物为研究对象,进而将化学物作为工具,阐明化学物与生物体之间的交互作用及其不良效应和剂量-反应(效应)关系。通过定量方法来估计各种化学物接触(exposure)如农药残留、饮用水污染等,造成人类潜在效应的可能性和对环境影响的意义,为指导化学物的安全使用和中毒防治提供依据。因此,毒理学既是一门有明确服务对象的应用科学,又是化学工业、药理、法医、预防医学等专业的基础科学。环境中化学物名目繁多,产生的不良效应变化多端,在进行定性定量评价物理和生物及其他一些有害因素对生物体的不良效应时,也应用毒理学的理论、原则与方法,故而毒理学已成为一门涉及广泛领域的学科。

基础毒理学包括描述毒理学(descriptive toxicology)、机制毒理学(mechanistic toxicology)和管理毒理学(regulatory toxicology)。描述毒理学主要涉及毒物的毒性,经过对毒物毒性的测试,能对化学物造成的毒性作用机制提供启示,也能提供化学物安全评价和管理毒理学所需要的基本信息;机制毒理学主要研究化学物与机体交互作用和影响化学物引起毒效应的条件和因素;管理毒理学是对外来化学物的毒性和潜在危险进行定性或定量的评价,包括对化学物的安全性评价和危险度评定,寻找人类安全接触化学物的水平,制定各类容许接触限值,为化学物的管理提供科学依据,保证人们在生产和使用时的健康与安全。

本书定名为《现代毒理学》,旨在将近年来在毒理学的理论与实践上的一些进展展现出来。经典的剂量-效应关系受到了毒物兴奋效应的挑战;作为毒理学基础的接触评估需要完善;接触毒物造成人体效应是毒物与机体交互作用的结果,人体的遗传易感性更受人们的关注;生物标志物在毒理学与流行病学中得以广泛应用;毒物的毒理学研究纵横发展,涉及广阔领域,如空气颗粒物、真菌毒素、藻类毒素和农药;化学物的安全性评价和危险度评定已是现代毒理学的重要主题。在目前我们的毒理学研究生教育中,已将这些内容包含在内,现将这些内容汇集成这本教材,以期研究生对毒理学进展的总体概念和某些内容有详细的了解。我们深知这些内容在不断的更新,可能不到几年就陈旧了,故“现代”两字仅仅是指目前的意思。

诚恳希望使用本书的师生和同道们批评指正。

金泰虞
2004年8月

目 录

第一章 毒物兴奋效应:剂量-反应关系的革命.....	1
第二章 接触评估	8
第三章 机体毒性遗传易感性	18
第四章 生物标志物与危险度评价	29
第五章 空气颗粒物毒理学	49
第六章 真菌毒素	61
第七章 藻类毒素毒理学研究	87
第八章 农药毒理学	96
第九章 健康危险度评价	112
第十章 基准剂量	124
第十一章 食品安全及其评价方法	129
第十二章 聚集和累积危险度评定及其不确定性分析	142
第十三章 后基因组时代毒理学科学性和艺术性的重新判定	146
第十四章 化学恐怖	151

第一章 毒物兴奋效应:剂量-反应关系的革命

金泰虞 陈 珏 陈 亮

内容提要

毒物兴奋效应是毒物在低于抑制浓度时对机体的刺激效应。这已被人们认识了很久,应该关注其在毒理学中的意义。毒物兴奋效应普遍存在于不同种属动物及不同毒物并具有不同效应,有别于剂量-反应关系,是毒物和机体交互作用的结果。

-
- 一、毒物兴奋效应理论的发展历程
 - 二、毒物兴奋效应的特征及与其他剂量-效应(反应)关系的区别
 - 三、毒物兴奋效应的普遍性
 - 四、毒物兴奋效应的可能作用机制
 - 五、毒物兴奋效应的评价方法
 - 六、毒物兴奋效应的毒理学意义
-

早在 16 世纪,毒理学鼻祖 Paracelsus 就一语道破毒理学研究的天机,提出“剂量决定毒物”,即所有物质都有一定毒性,唯有剂量能区别毒物。因此,自毒理学诞生之日起,剂量-效应(反应)关系便是毒理学研究的核心。剂量-效应关系反映的是接触剂量与生物效应之间的联系。目前毒理学界认可的剂量-效应关系模型是线性和阈值型,但随着研究的深入,人们发现剂量-效应关系并非简单的单相变化,更多的时候是双相改变。在 20 世纪 90 年代,毒物兴奋效应再一次受到关注。毒物兴奋效应是指任何低于抑制浓度的毒物对机体的刺激效应。

一、毒物兴奋效应理论的发展历程

毒物兴奋效应最早可追溯到公元前 1 世纪,卡帕多西亚国王 Mithradates VI Eupator 为了避免敌人的毒害,通过长期服用少量毒物来增加对毒物的抵抗力,被称为“毒药毒不死的人”。20 世纪 40 年代, Southam 和 Ehrlich 在研究红雪松提取物对真菌的作用时,观察到一种双相的剂

量-效应曲线,正式命名为毒物兴奋效应(hormesis)。hormesis 源于希腊语,本意是“to excite(激活)”。19 世纪 80 年代,德国学者 Schulz 采用酵母菌模型研究抗生素时发现:低剂量的各种抗生素能促进细菌生长,剂量增加到一定程度才表现出抑制生长的效应。这一概念被部分临床医学学者接受,成为顺势疗法(即以毒攻毒)的理论基础。因此毒物兴奋效应自诞生起,就与临床治疗紧密相连,而并未在毒理学界广为流传。此后,著名的微生物学家 Hueppe 再次证实了 Schulz 的发现,确认化学物对微生物的生长具有双相调节作用,并对该现象的普遍性和特殊情况作了补充和完善。1912 年, Schulz 著书介绍双相效应,并用已故同事 Arndt 和自己的名字将这一规律命名为 Arndt-Schulz 定律。20 世纪 30 年代,对毒物兴奋效应的研究已初具规模,日本、欧洲和美国的多家权威研究机构提供了令人信服的实验资料,证明低剂量的放射和化学物能促进细菌、植物和真菌类生物增殖。但此后该理论便被搁置,原因众多。其中该理论内在的局限性表现为:兴奋效应过于微弱,不易被发现;实验规模

庞大,难以复制等。外部影响因素有:20世纪初期的社会焦点是高剂量接触的不良效应,低剂量的生物效应往往被忽视;顺势疗法的盛名导致人们对其产生了过高的期望,当实际疗效无法达到预期目标时,整个兴奋效应的理论就被怀疑和抵制了。经历了几十年的波折后,直到20世纪末期,美国EPA评价致癌性时,将低剂量的兴奋效应列入考虑范围。1990年,美国的政府机构、工业企业以及学术团体成立低浓度接触的生物效应(biological effects of low level exposure)专门组织,在互联网上建立了专门网站([Http://www.belleonline.com](http://www.belleonline.com)),及时发布和交流有关信息,并组织了数次国际会议。

二、毒物兴奋效应的特征及与其他剂量-效应(反应)关系的区别

长期以来线性和阈值型的剂量-效应关

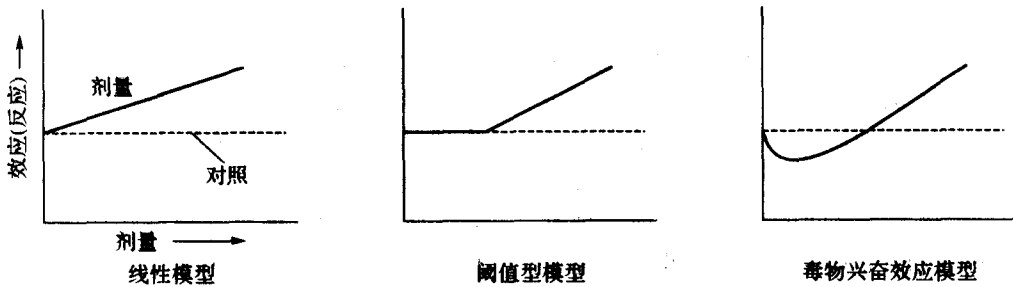


图 1-1 3种剂量-效应(反应)关系的比较

表现为以下几个方面:最大兴奋效应的强度不超过对照的两倍,通常为对照的130%~160%;兴奋效应的剂量范围较窄,通常在NOAEL的20倍跨度内;最大兴奋效应剂量通常是NOAEL的1/5。它的曲线是U形或倒U形,更常见的是J形或β形,因为只有当剂量无限接近零时,才能达到U形的另一个高峰点。图1-2以β形毒物兴奋效应为例,说明其特点。兴奋效应是一种复杂的生物学现象,究竟是有害或有利,还必须根据特定的生物和生态环境进行分析。

系在毒理学研究中处于主导地位。这两种模型认为:随着外源化学物的剂量增加,机体的不良效应增强,或出现某种效应的个体在群体中所占比例增加。线性和阈值型模型都认为接触与效应始终成正比关系。不同之处在于:线性模型认为整个接触过程,无论剂量高低,效应始终与剂量成正比;而阈值型模型则假设在低剂量时有一段无反应期,当剂量达到一定阈值时才表现出效应,并与接触剂量成正比(图1-1)。线性模型多用于非致癌物的毒性评价,阈值型模型多用于致癌物的毒性评价,无明显不良效应剂量(NOAEL)就是建立在阈值型模型的假设基础上的。而毒物兴奋效应是生物体的一种适应性反应,以双相剂量反应为特征(低剂量兴奋,高剂量抑制),具有相似的兴奋效应强度和剂量范围。毒物兴奋效应的定性特征为双相剂量-效应关系,即低剂量兴奋,高剂量抑制。定量特征

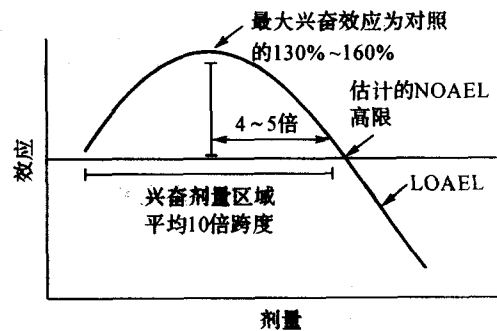


图 1-2 β形毒物兴奋效应模型的特点
注:LOAEL为观察到不良效应的最低剂量水平或阈值剂量。

三、毒物兴奋效应的普遍性

采用兴奋效应、U形+剂量-效应关系(U shaped+dose response)、低剂量+激活(low dose+stimulation)、 β 曲线+剂量-反应关系(β curve+dose response)、适应+污染(adaptation+pollution)、顺势疗法(homeopathy)等关键词在 BIOSIS、MEDLINE、Current Contents、Agricola 等生物医学和农学数据库进行检索,或以早期的研究者的姓名在科学引文索引(SCI)中进行检索,发现8500多项相关研究中大约有350项研究,计593次实验报告了兴奋作用。这些

研究采用的测试模型主要有包括人体在内的动物、细菌、植物、真菌以及原虫,其中较多的是动物和植物。动物主要为大鼠和小鼠,人体研究相对较少(表1-1)。受试化学物质范围较广,主要有乙醇及其代谢产物、烃类化合物、抗生素类、杀虫剂、植物生长激素、金属、杀菌剂、除草剂等,其中最多的是金属(表1-2)。测试终点包括肿瘤、生殖、生长、生存、寿命以及代谢效应,以生长促进为终点所占的比例为最高,其次为代谢效应、生殖、生存和寿命(表1-3)。可见毒物兴奋效应广泛存在于各种种属、各种化学物质以及各种观察终点(表1-1和表1-3中的反应级别是根据表1-5估算所得)。

表 1-1 不同种属的兴奋效应报道例数

种 属	高度反应	中度反应	轻度反应	比例(%)
细菌	17	27	11	9.3
原生动物	7	9	2	3.0
真菌	24	8	6	6.4
植物	112	63	32	34.9
动物	88	130	57	46.4
总计	248	237	108	100

表 1-2 有毒物兴奋效应的化学物质及占有报道案例的比例

化学物质	比例(%)	化学物质	比例(%)
金属	29.6	促生长素类	4.6
杀虫剂	9.0	烃类化合物	4.2
抗生素	7.9	杀真菌剂	1.5
除草剂	7.2	其他	30.6
乙醇及其代谢产物	6.2	总计	100.0

表 1-3 不同观察终点的兴奋效应报道例数

观察终点	高度反应	中度反应	轻度反应	比例(%)
生长	161	147	61	62.2
代谢效应	38	27	25	15.2
寿命	21	5	5	5.2
存活率	13	15	3	5.7
生殖能力	7	18	9	5.7
其他	8	22	5	5.8
总计	248	237	108	99.8

四、毒物兴奋效应的可能作用机制

尽管已有大量事实证明毒物兴奋效应的存在,并已应用于农业、医学和生物技术领域,但是毒物兴奋效应的理论仍未得到广泛承认,主要原因之一是无法解释其作用机制。由于引发兴奋效应的刺激物和发生兴奋效应的生物种属及器官多种多样,且兴奋效应可出现于不同的观察终点,因此兴奋效应并不局限于特定的刺激物、生物种属和器官,而是机体对外界刺激的非特异性反应。

目前有关毒物兴奋效应的作用机制存在以下几种假设:①为抵抗外来刺激,机体产生的应激调节机制,在生理学上是一种非特异性反应,牵涉机体的多个系统,与刺激物的化学性质、刺激物的特异性效应无关。当机体在维持动态平衡时应激过度就会出现兴奋效应,是一种反弹(rebound)或过度补偿(overcompensation)。②酶或受体结合位点的饱和,使得不同剂量的同一物质表现出完全不同的效应。受体调控机制是高效和精细的,同一配体在不同浓度下可表现为激活或抑制,从而出现双相效应。例如,乙醇在低剂量有兴奋效应,但在高剂量下对神经系统有抑制性。③在低剂量和

高剂量下的作用机制不同,例如,多种人体必需微量元素以及氟和砷等物质本身就具有多种作用方式,其具体效应取决于剂量。大多数学者认为第一种假设较为合理,可以揭示毒物兴奋效应的普遍性和非特异性,但仍不能从生理学和病理生理学上阐明这种反应机制。分子生物学技术的迅猛发展,为毒物兴奋效应的机制研究提供了理论依据和更多的实验方法,能从细胞和分子水平进一步探讨兴奋效应的机制。例如是否牵涉到DNA修复和抗氧化能力增强,热激蛋白等保护性蛋白质合成增加,细胞凋亡增多等。实际上毒物兴奋效应是毒物与机体相互作用的结果。

五、毒物兴奋效应的评价方法

为了定量评价化学物的兴奋效应,Calabrese等提出了评价标准。该标准分为两个部分,一是实验设计评价,主要包括是否确定无作用水平(NOAEI)以及低于NOAEI的剂量组数;二是反应或效应的评价,主要针对与对照组相比的兴奋效应有统计学意义的剂量组数、强度以及研究的重复性3个方面。具体评价指标见表1-4,参照表1-4的标准计算某一化学物的总分,然后再参照表1-5,得出毒物兴奋效应的强度。

表 1-4 筛选化学物兴奋效应的评价标准

研究设计标准		效应(反应)评价标准	
是否确定 NOAEL	分 数	具有统计学意义的剂量组数	分 数
是	1	1	2
否	1	2	4
低于 NOAEL 的剂量组数		3	8
1	1	≥4	16
2	2	剂量强度(对照组%)	
3	3	>110%≤125%	0.5
4	4	>125%≤150%	1
≥5	5	>150%≤200%	2
		>200%≤400%	3
		重复的研究资料	
		有	3
		无	0

表 1-5 评价毒物兴奋效应的定量标准

总分	兴奋效应的证据级别
1~2	无~低
>2~8	低
>8~12	低~中
>12~16	中
>16~20	中~高
>20	高

现举一例说明,如果评价某一化学物的兴奋效应研究确定了 NOAEL,且低于 NOAEL 的剂量有 4 组,和对照组相比较有统计学意义的组数也为 4 个,4 组剂量的效应强度均为对照组的 150%~200%,但没有报告重复数据。其计算的最后结果为 29 分,说明该化学物存在的兴奋效应的分类为高。

六、毒物兴奋效应的毒理学意义

虽然毒物兴奋效应仍处于论证阶段,尚未被学术界普遍接受,但可以想象其深远的影响力。剂量-效应(反应)关系概念的更新将引发毒理学各个领域的改革,包括实验设计、动物模型的选择和危险度评价等方面。

在实验设计时,应考虑在低于 NOAEL 的剂量范围中设立几个剂量组,以考察兴奋效应是否存在及其特征。早期的职业接触限值主要强调毒物的高剂量效应,目的是确定职业接触的 NOAEL 和 LOAEL,较少考虑低于 NOAEL 水平所引起的反应。随着技术的革新,高剂量接触毒物的情况日益减少,人们逐渐将注意力转移到低剂量接触的效应,因此有必要考虑毒物兴奋效应。此外,目前对毒物兴奋效应的研究都集中单一因素的效应,缺乏对混合物的研究。事实上,石油、污水等常见的污染物也存在毒物兴奋效应,但多种物质的联合毒物兴奋效应研究将会非常复杂。

目前有关兴奋效应的报道多采用非哺乳类动物模型,与现行的危险度评价所采用的模型不完全一致。此类实验的结果外推

需谨慎,如条件允许,可选用多种动物模型进行比较,以得到合理的解释。

毒物兴奋效应对危险度评价的影响将最为深刻。首先,动物实验和人群资料的结果不宜做简单的线性外推,而应根据生物学特征进行模拟分析,充分考虑不同剂量下的生物效应。在描述危险度特征时,不仅要说明高剂量下的效应,更应同时说明可能出现的兴奋效应。其次,评价某一因素的危险度时,不能以单个指标为标准,而应采用多个指标,全面考虑该因素对生物体的影响。因为可能采用某一指标时,该因素已产生明显不良效应,但对于另一观察指标,该因素则有明显的兴奋效应。再次,毒物兴奋效应将影响政府部门制定参考剂量(RfD)(图 1-3)。如果忽视兴奋效应的存在,制定的 RfD 很有可能落在低于零等效点(zero equivalent point, ZEP)的区域内,由此制定的 RfD 将增加环境治理的难度,增加不必要的经济负担。也有相反的情况,如自来水的净化处理时,强调高剂量消毒剂的灭菌作用,而忽视低剂量消毒剂的促细胞菌落生长作用。

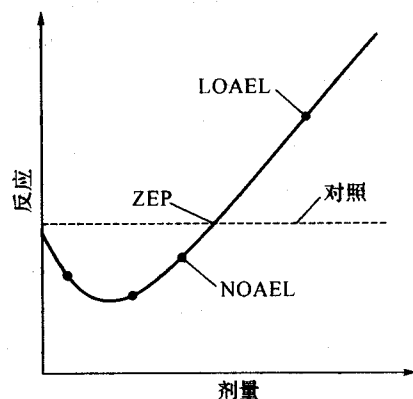


图 1-3 毒物兴奋效应对 RfD 制定的影响

当然,毒物兴奋效应的研究还需进一步完善,特别是以下几个方面:

(1) 兴奋效应的生物学意义不明确。究竟兴奋效应是否对生物体有保护作用?如果有保护作用,那么有多大?在没有足够的事实回答这些问题前,是没有理由改变现行的危险度评价体系的。

(2) 从社会伦理学角度看,兴奋效应可能难以被整个人群接受。就算兴奋效应是

一种明确的保护作用,但对高剂量接触产生的不良效应仍然存在一个阈值。通常情况下,不良效应比兴奋效应更令人担忧(图1-4)。如果着眼于保护人类健康,则有理由忽略低剂量兴奋效应所带来的有利作用,以经济上的损失谋求最大限度地保护人类健康是可以接受的。尤其是兴奋效应可能是一种适应性反应,个体差异将导致敏感性低的个体不能产生足够的保护效应。既然现行的体系在制定接触标准时考虑了高剂量不良效应的敏感人群,那么对低剂量兴奋效应的敏感人群同样也不容忽视。因此,兴奋效应要真正应用于管理毒理学,还需更多的事实和理论依据,尤其是流行病学资料。

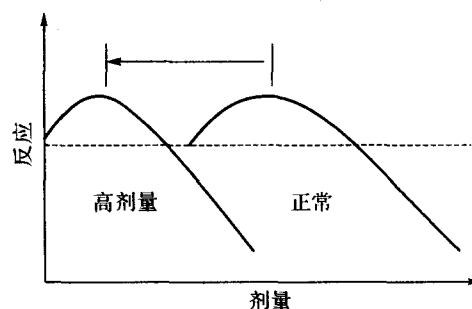


图1-4 毒物兴奋效应敏感人群的剂量-效应(反应)关系

(3) 兴奋效应可能会带来不良的社会效应。利欲熏心的人们可能会以此为幌子,逃避环境治理的责任。这不仅会给人类健康和生存环境带来严重危害,还可能威胁到社会安全。

参 考 文 献

- [1] 周平坤,夏寿萱. 真核基因损伤修复和基因表达的辐射兴奋效应. 国外医学·放射医学核医学分册, 1996,20(5):223~226
- [2] Calabrese EJ and Baldwin LA. Hormesis and high-risk groups. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2002,35:414~428
- [3] Calabrese EJ and Baldwin LA. Hormesis as a default parameter in RfD derivation. *BELLE Newsletter*, 1998
- [4] Calabrese EJ and Baldwin LA. Hormesis as biological hypothesis. *Environ Health Perspec*, 1998,106 (Suppl):357~362
- [5] Calabrese EJ and Baldwin LA. Hormesis: U-shaped dose responses and their centrality in toxicology. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2001,22:285~291
- [6] Calabrese EJ and Baldwin LA. The dose determines the stimulation (and poison): development of a chemical hormesis database. *Int J Toxicol*, 1997,16:545~559
- [7] Calabrese EJ, Baldwin LA. Applications of hormesis in toxicology, risk assessment and chemotherapeutics. *Trends Pharmacol Sci*, 2002,23(7):331~337
- [8] Calabrese EJ, Baldwin LA. Chemical hormesis: its historical foundations as a biological hypothesis. *Hum Exp Toxicol*, 2000,19:2~31
- [9] Calabrese EJ. Evidence that hormesis represents an "overcompensation" response to a disruption in homeostasis. *Ecotoxicology and environmental safety*, 1999,42:135~137
- [10] Calabrese EJ. Hormesis: changing view of the dose-response, a personal account of the history and current status. *Mutat Res*, 2002,511(3):181~189
- [11] Damelin LH, Vokes S, Whitcutt JM, et al. Hormesis: a stress response in cells exposed to low level of heavy metals. *Hum Exp Toxicol*, 2000,19:420~430
- [12] *Dorland's Illustrated Medical Dictionary*. 29th Edition. WB Saunders Company, 人民卫生出版社, 2001,832.
- [13] Jentch S, Seufert W, Sommer T. Ubiquitin-Conjugating Enzymes: Novel Regulators of Eukaryotic Cells. *TIBS*, 1990,15:195~198
- [14] Koeter HBWM and Visser R. Work in OECD on chemical safety: Approaches for human risk assessment. *Ind Health*, 2000,38(2):109~119

- [15] Mehendale HM. Amplified interactive toxicology of chemicals at nontoxic levels; Mechanistic considerations and implications to public health. *Environ Health Perspec.* 1994,102(Supp 9):139~149
- [16] Miller CS. Are we on the threshold of a new theory of disease? Toxicant-induced loss of tolerance and its relationship to addiction and abdication. *Toxicol Ind Health*, 1999,15:398~402
- [17] Miller CS. Toxicant-induced loss of tolerance-An emerging theory of disease? *Environ Health Perspec.* 1997,105(Supp 2):445~453
- [18] Rodricks JV. Hormesis and toxicological risk assessment. *Toxicological Sciences*, 2003,71:134~136
- [19] Rozman KK, Doull J. Scientific foundations of hormesis. Part 2. Maturation, strengths, limitations, and possible applications in toxicology, pharmacology, and epidemiology. *Crit Rev Toxicol*, 2003, 33(3~4):451~462
- [20] Sielken RI and Stevenson DE. Some implications for quantitative risk assessment if hormesis exists. *BELLE Newsletter*, 1998,6(3):13~17
- [21] Stebbing ARD. A mechanism for hormesis? A problem in the wrong discipline. *Critical reviews in toxicology*, 2003,33:463~467
- [22] Stebbing ARD. Hormesis-the stimulation of growth by low levels of inhibition. *Sci Total Environ*, 1982, 22:213~234
- [23] TITAC. Chemical hormesis; Beneficial effects at low exposures, adverse effects at high exposure. *Insights of the Texas Institute for Advancement of Chemical Technology Inc*, 1998
- [24] Townsend JF and Luckey TD. Hormeliosis in pharmacology. *J Am Med Assoc*, 1960,173:44~48

第二章 接触评估

周志俊

内容提要

接触评估是毒理学研究中危险度评定的重要内容,是研究毒物的分布及其影响因素的科学。通过环境监测了解接触水平并进行问询获得接触时间,才能进行接触评估。利用毒物代谢动力学的原理,估计毒物在人体内的分布,作为危险度评估的基础。

-
- | | |
|-----------|----------------------|
| 一、概述 | 七、生物监测 |
| 二、问询表 | 八、生理学基础的药物动力学模型 |
| 三、环境监测 | 九、接触评估的误差 |
| 四、个体接触监测 | 十、接触与剂量 |
| 五、皮肤接触评定 | 十一、个体差异与个体接触-剂量关系的评估 |
| 六、接触评估的替代 | |
-

一、概述

接触(exposure)是指人类、动物暴露于可以影响人类健康的一些因素或物质的情况,在环境和职业卫生领域通常是指人体体表(皮肤、呼吸道等)与环境介质(水、土壤、空气)有害物之间的相互联系。一般将摄入机体后的化学物质的量称为剂量。接触的含义有二:接触水平和持续时间。

接触评估(exposure assessment)是研究影响人类健康因素或物质的分布以及影响因素的科学,是指测量或评估人群接触环境中外源性化学物的过程。接触评估通常包括描述接触的性质、途径、幅度(水平)、期限(持续时间)和时程变化,以推算出接触的剂量(dose)或水平(level)。对一个人群还要描述接触人群的年龄、性别、数量、分组和其他特征,如营养状况、吸烟等有关的影响因素,如能获得易感性(susceptibility)资料则更好。其次还要描述在评估过程中所有不确定因素,以了解评估结果的波动范围及可信性(reliability)等。

除急性损伤外,环境因素要经过相当长接触时间后才产生影响。流行病学研究要

评价接触与效应的关系,效应大多明确,人们也往往十分重视效应的确认;但接触因素则因间隔时间长、没有足够的记录等,往往重视不够,这给研究带来了偏性,造成结果判断困难。实质上,只有接触与效应完全确认、没有错分,才能判定因果联系以及准确评价干预接触的效果。对于研究剂量-效应(反应)关系,接触评估是独立的自变量因素(independent variable),是健康效应因果关系中的“因”,十分重要。

接触评估的主要目的是以经济、有效的方式获得准确、可靠具有生物学意义的接触估计数值。随着对接触评估的准确和可靠性要求的提高,毫无疑问接触评估的成本也会随之上升。通常评估的方法取决于研究的目的和经费支持情况,接触错分会导致过低或过高估计健康的危险,应当尽量避免。可以通过分类(如问卷调查)、测量(如大气监测)和数学模型等方式,开展接触评估。

接触的持续时间(duration)、浓度(concentration)和频率(frequency)是描述接触评估的3个重要参数。这3个参数都可以作为流行病学研究的接触指数使用,抑或结合这3个参数形成新的接触指数。这

些指标的应用主要取决于研究对象的作用性质,如急性效应用短时间内浓度作为接触指数较为合适,如长期效应则用累计接触量表示较为合适。

在流行病学研究中,接触评估可以个体为单位一一进行,也可以一组人群为单位。个体接触评估的优越性显而易见,但有时非常困难。以组别作为评估的基本单位,常将一类有相同接触特征的人群归在一起,如根据工人在同一地点从事同样工作的相似性,抑或生活在同一环境之中,将此类人群称为同质接触组(homogenous exposure group)。

通常,接触浓度随时间、空间而变化。一般认为,测量的数据分布是偏于较低一边并拖长长的尾巴,接近于对数正态分布。此时,常用几何均数(GM)和几何标准差(GSD)描述数据的集中水平和离散程度。但有时并不完全理想,可以应用数理统计方

式,找出合适的模型。

接触程度的表示非常复杂。由于接触评价多数是回顾性的,较难得到定量的资料,往往是定性或半定量式的表示接触程度,有时仅仅根据接触持续时间来表示。累计接触量是常用指标之一,它兼顾了不同时限的接触水平和接触时限的长短,为综合评价指标(表 2-1)。但要注意对某些效应(近期)如 1 个月或半年的累计接触量更有意义。接触期限根据接触长短来划分,不考虑实际接触水平的变化,这种表示方法在一家工厂可能还比较有效,但遇到不同工厂工人的调查资料汇总时就会遇到困难。接触水平是根据某一时间研究对象的接触水平来划分的,有时不一定是基于量化资料来划分,如可以是岗位、工种等半定量资料。在量化过程中必须考虑环境中有害物的浓度波动,求得代表性数据。

表 2-1 一般流行病学接触变量的剂量假设示例和可能的偏差来源

“接触”变量	不明确的假设
工种名称	同一工种的观察对象具有近似、相同的接触强度和接触时间并产生相同量的效应
工作年限	每年的接触强度不变并且不存在随时间改变的趋势,所以每年产生相同量的效应;趋势可能产生偏差
接触年限	每年的接触强度不变并且不存在随时间改变的趋势,所以每年产生相同量的效应;趋势可能产生偏差
累积剂量	短期高浓度接触与长期低浓度接触相当;如果在低浓度与高浓度接触之间不存在线性效应则能够引起偏差
平均接触水平	与接触持续期限是相关的。观察对象接触时间太短不足以达到稳态或时间太长以致形成累积的慢性效应时,将引起偏差

接触评定的基本过程包括:确定接触因素的性质、种类及接触方式,确定进入途径和靶器官,建立毒物动力学模型,建立在靶组织中引起效应的毒效学模型,设计评估工作策略及收集接触资料,用模型推算接触剂量(或水平)、靶组织中的浓度并作有关修正,联系效应或反应做流行病学分析,从调研结论评价接触评估的正确性和可信性。

二、问询表

问询表是常用的接触评估方式之一,在

无其他资料来源时有时是唯一的方式,有时可以同时与其他方式结合进行,特别适合于大样本量的研究。通过问询表可以了解有无接触、接触持续时间、接触频率以及接触方式。目前,尚无完全标准化的问询表格,其表格的设计需要经验以及对问题的理解程度等多方面的知识。

问询表格可以通过自填、直接访谈、电话访谈、直接观察或从其他记录中摘抄的方法填写完整,各种方式都有其优缺点。设计问询表进行接触评估,必须考虑能获得围绕研究目的接触指数,减少这些接触指数的错

分,询问和被询问者对指标非常容易理解和应用,研究者非常容易分析处理。

三、环境监测

环境监测是对作业环境进行有计划、系统的监测,分析环境中有害因素的性质、强度及其在时间、空间的分布及消长规律。空气中的化学物质可以气体、蒸气和雾、烟、尘等不同形态存在,有时则以多种形态同时存在于空气中。由于化学物质在空气中以不同形态存在,各种形态的飘浮、扩散规律也各不相同,需要选用不同的采样方法和采样仪器。合理的监测必须充分考虑采样策略(点的选择、时间选择、频度等)和采样技术(采样动力、样品收集)。

定点区域采样是常用的采样方式。在一些特定情况下,可以对污染源周围进行监测,进而评价污染源的污染性质和范围、采取干预措施的效果等。在评价环境质量上,有时此方法非常实用。

对气体和蒸气的采集有以下几种方式:
①通过动力系统,主动收集一定量空气样,富集其中污染物的主动采集。应用动力系统的主动采集,可以从大量空气样品中,将有害物质吸收、吸附或阻留下来,使原来低浓度的物质得到浓缩,适合于检测空气中含量较低的有害物质。
②通过扩散或渗透,吸附有害物的被动式采集。
③吸收液吸收采集。
④用真空袋或真空容器采集,如惰性塑料袋、玻璃瓶、不锈钢桶等,可以用于无需采集大体积空气样品的无机气体、非活性气体等。需要注意内壁的吸附及吸收影响。
⑤用直读式检测仪直接检测空气中特定的有害物。应用反应性液体或直读式检测仪,可以在现场迅速知晓污染程度。

可以用液体的吸收液或固体的吸附剂来吸收气体和蒸气。最常用的固体吸附剂是活性炭(activated charcoal),可用于吸附低分子量的烃类化合物及一些无机气体和蒸气。对一些氧化烃类化合物,可以用硅胶吸附。对于大分子量化合物或空气中浓度特别低需要大量采样的化合物,可以用气相色谱柱填充料吸附。对一些与活性炭结合

后无法再解离的化合物,还可以用被称为“分子筛”的吸附剂。

空气中颗粒性物质通常用滤膜采集。需要注意,滤膜应该可以阻挡待测物质,但又不能影响其采样流量。可以选择不同孔径的滤膜,分别采集不同粒径的颗粒物。国内常用的有纤维滤纸(膜)和筛孔滤膜,前者有定量滤纸、玻璃纤维滤纸、过氯乙烯滤膜等,后者有微孔滤膜和聚氨酯泡沫塑料等。

四、个体接触监测

个体接触监测所关心的是处于环境中人的接触状况,而不是人们所处环境介质的状况,因此在个体接触监测中的样本应该是人,而不是他们的工作或生活场所。个体接触监测已经在职业流行病学中得到了广泛的应用,并开始应用于环境流行病学的研究中。尽管在环境流行病学中的应用还存在很多问题,但是个体接触监测能为人们提供比环境监测更多、更有代表性的信息。环境中有害物质的水平及其造成的危害要明显低于职业场所,因此要求其接触评估的方法更敏感,同时,环境接触的持续时间要比职业接触长,这就要求有与职业接触评估不同的采样方法。

不同污染物有不同的特性、环境浓度、持续时间及接触频率,对于这些特征的评估可以通过调查问卷、直接观察、仪器测量及使用生物标志物,接触时间、频率和类型通常是通过调查问卷、观察和记录获得的,个体接触水平则要用仪器来测量。

虽然个体监测得到的信息比环境监测更有科学价值,但费钱、费力,难以实施,通常不应用于大样本人群,而是在人群中的对一个有代表性的样本进行研究。进行个体接触监测需要制定一个合理的采样策略;在采样的过程中要对样本的选择、样本的大小、监测时间、监测器的选择和数据的分析、解释等进行精心的安排。对于这些因素的考虑最为关键的一条就是:在大多数环境中,无论是个体还是个体之间不同时间的接触水平都是在变化的。因此仅仅对接触平均水平的估计是不够的,还需要对不同接触

水平进行评估,需要建立一个更有效的监测方法来避免可能的偏倚。

对一个群体中部分个体进行测量,首先要根据接触特点将人群划分成几个小的亚群,在环境流行病学中主要是根据离污染源的距离,在职业流行病学中主要是根据工作性质、有害物的性质和作业条件的相似性来划分的。这有一个潜在的假设,即每一个接触组内的接触条件是相同的。测定每一个接触组中抽出的样本的数据,测定要重复进行以估计个体不同时间、个体间及组间的变异,选择的测量人数及测量次数取决于测量的方法和人群接触不同水平的分布情况。为避免偏倚,个体选择和测量都应该是随机的。

采样的持续时间取决于健康观察终点、测量方法的检测限和环境的污染水平。个体空气采样装置要求轻便,便于携带,不影响个体的日常行动;采样器应放于个体呼吸带相近之处(离嘴和鼻子30 cm以内);可以用采样泵主动采样,也可以利用被动扩散原理的被动式采样。被动式采样不需要采样泵,可用于气态污染物的采样。被动采样方便、成本低,通常用于需要长时间采样的研究。

与环境监测相比,个体监测可以提高接触评估的可信度,但在很大程度上取决于采样的准确性和严格性,好的接触评估要求有恰当的个体监测。

五、皮肤接触评定

由于皮肤的吸收作用,可能过低或过高估计经皮吸收的化学物的危险性。皮肤是人体最大的器官,表面积约为 2 m^2 ,对保护我们免受环境中的物理、化学、生物的影响具有重要的意义。许多脂溶性化学物可以通过未受损的皮肤,一些化学物可以引起局部效应,如局部的刺激和光敏性增加。了解化学物与皮肤间的相互作用,能够很好地帮助我们理解经皮接触的特点。化学物可通过皮肤吸收进入机体并在靶器官造成有害效应,也可在皮肤的接触部位造成刺激反应,乃至灼伤或皮肤变性,还可通过复杂的

免疫系统造成免疫性反应。一种化学物质往往会表现为几种作用。

皮肤接触可以发生在许多职业环境下,如将手或前臂浸在溶剂中或手持污染工具或接触含有污染物的物体表面,化学物意外泼溅到身体或衣服表面,喷洒作业造成的气雾剂沉积在身体表面,都可发生皮肤接触。非职业暴露的途径还有泡浴、淋浴、洗涤等。

目前,我们对皮肤接触评估的认识还不够全面成熟。1962年,Durham和Wolfe首先提出了皮肤接触途径在危险度评价中的重要性。由于控制技术的发展和卫生条件的改善,呼吸道的接触有了实质性的减少,经皮肤接触就变得相对重要。皮肤接触评估发展的一个最大障碍就是没有生物相关暴露标志物。这就像经呼吸道接触不能知道是否有物质的蓄积,产生的有害效应是由一段时间的平均剂量造成还是由峰剂量造成。其次就是取样方法的非标准化问题。通过皮肤吸收的接触剂量与机体摄入量关系复杂,许多研究都将皮肤的接触量当作机体经皮肤的摄入量。经皮肤进入机体的化学物量并不总是与沉积在皮肤表面的化学物量呈一恒定的比例。

当皮肤接触到某一物质,如果机体内该物质的浓度低于皮肤表面的浓度,皮肤内外就会发生扩散运动,这一扩散速率主要由皮肤及物质的物理和化学特性决定,符合Fick定律。描述皮肤转运有滞后时间和稳态扩散通量两个概念。滞后时间是指从皮肤接触到物质透过皮肤与受体结合或入血液循环的时间。不同物质的滞后时间长短不同,从数分钟到数小时。滞后时间之后就是稳态扩散期,这一时期的特点是进入体内的量与皮肤表面的物质量呈线性关系,用稳态扩散通量描述。稳态扩散通量是指单位时间单位体表面积通过的物质量。特定皮肤浓度的物质,其稳态扩散通量主要由通透常数(K_p)决定。化学物经皮吸收非常复杂,皮肤类型、皮肤面积、皮肤温度、皮肤状况(如出汗)、皮肤湿度、皮肤表面有无遮挡覆盖物等都可影响。近年的研究发现可以用化学物的定量结构-活性关系(QSAR)来估计皮肤的通透性。

皮肤接触测量有4个基本要素:暴露密度、皮肤暴露表面积、持续时间、暴露频率。暴露密度定义为:一定皮肤面积上沉积物质的量。目前尚无广泛认可的取样方法来测定暴露密度,一般以单位面积上的质量表示。在不同的暴露条件下,以质量代替密度是有差别的,尤其是在自然环境下较低剂量的暴露测量和职业环境下较大剂量的暴露测量;如浓度随时间会产生变化,则以质量代替浓度也不合适。暴露面积可以通过显影技术测量,但皮肤的暴露面积及解剖位置会随着时间的变化而变化,这一变化就会影响到经皮吸收量。如果物质持续沉积在皮肤或衣服上,持续时间的影响就不大。不过在物质的蒸发及吸收较快的情况下,持续时间及暴露频率对皮肤吸收就有较大的影响。

皮肤接触的评估可以通过直接的物理测量沉积在皮肤上的量,也可应用显影术和生物监测等方式间接测量。这些方法各有优缺点,没有一种方法适用于所有化学物质或所有情况。直接法包括替代皮肤法和清洗法。替代皮肤法又分为全身性和局部两种。研究者穿着防护服装或局部贴防护垫,结束后脱下防护服或取下防护垫,测量其吸附的化学物量。这里存在的主要偏倚是,所用吸附材料对待测量物质的吸收不同于皮肤对该物质的吸收,测量的是质量而不是浓度。如局部贴防护垫的办法,还存在着代表性问题,一般贴片越多,代表性越好,变异也越小。皮肤清洗主要用于局部污染量的测量,用清洗液将固定面积内的污染物洗脱下来。显影技术是新近发展的方法,沉积在衣服或皮肤上的物质与荧光示踪剂反应后用图像检测,既可以测量全身暴露量,也可测量局部皮肤的暴露量。由于图像的饱和度及加入的荧光剂量均会影响测量的结果,实际应用还存在一定的困难。

皮肤接触评估对我们了解许多化学物的危险性具有重要的意义,虽然做起来非常复杂,但我们已经对影响暴露及经皮进入机体的一些参数有了进一步的了解,已经认识到暴露密度、皮肤暴露表面积、持续时间、暴露频率的重要性,在皮肤测量模型的研究应用上也有了突破。

六、接触评估的替代

评估职业性或环境性物质接触的理想方法是定量检测空气或皮肤的外剂量,或者检测机体组织或排泄物的内剂量。可惜的是,在许多研究设计中,尤其是在回顾性研究中,实施上述方法非常困难。这就需要使用其他的方法进行接触评估,目前常用的有工作接触矩阵(job exposure matrixs)、接触的自我报告和由专家进行的接触评估,这在病例-对照研究中使用最多。

在所有的职业流行病学设计中,职业和行业已被用作最基本的接触替代词,考虑职业中共同的接触是识别潜在的危险性接触的初始步骤。在许多职业中接触复杂的混合物非常普遍,按照行业或职业进行分类是描述这些联合接触的捷径。对于从就业记录途径或自我报告职业史的途径获得的资料,按照职业或行业进行分析的一大优势在于资料的精确性,此种分析的主要问题是不能将特定的物质清楚地确定为某危险因子。

工作接触矩阵,是通过职业推断职业接触,将职业和(或)行业列在一个轴上,将接触物质列在另外一个轴上,矩阵中间的空格显示特定职业中是否接触特定物质及其强度、频率和(或)概率。在一些工作接触矩阵中,将时间跨度列为矩阵的第三根轴,队列研究已使用这种矩阵模式很长一段时间。矩阵空格中的数据经常是以检测出的接触水平为基础的。在没有检测数据或数据有较大差异的情况下,运用其他方法补充数据,如专家判断、由已知接触水平进行外推、凭经验估计性或确定性的模拟等。根据特定研究,对这些工作接触矩阵进行设计并将接触分配到非常详细的职业列表中。

20世纪80年代,开始形成通用的工作接触矩阵应用于人群病例-对照研究。通用的工作接触矩阵使用欧洲或美国的编码系统编码职业和行业,这样能够统一描述一定范围的职业和行业中的接触。许多研究检验了通用工作接触矩阵的有效性,但结果并不十分理想,如将工作接触矩阵与其他接触评估方法如接触水平的监测、专家评定等进