



普通高等教育“十一五”国家级规划教材



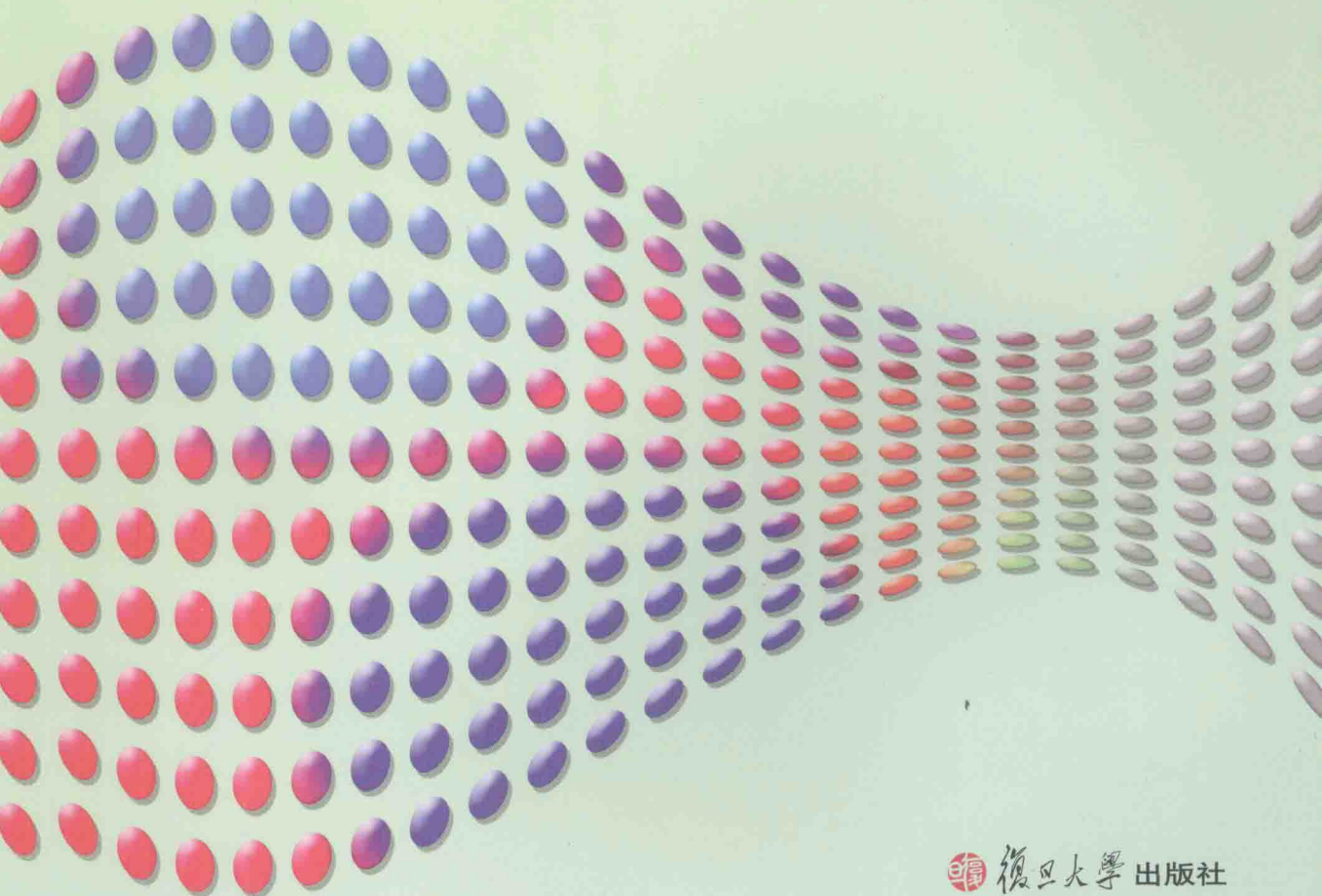
预防医学国家级教学团队教材

基础毒理学

B a s i c T o x i c o l o g y

(第二版)

周志俊◎主编



复旦大学出版社



普通高等教育“十一五”国家级规划教材



预防医学国家级教学团队教材

基础毒理学

Basic Toxicology

(第二版)

主 编 周志俊

副主编 张天宝 唐 萌

主 审 金泰虞

编 委 (按编写章节顺序排序)

周志俊 (复旦大学)

王素华 (包头医学院)

洪 峰 (贵阳医学院)

常秀丽 (复旦大学)

朱勇飞 (湖南师范大学)

韩光亮 (新乡医学院)

杨惠芳 (宁夏医科大学)

唐 萌 (东南大学)

吴 庆 (复旦大学)

牛 侨 (山西医学院)

范奇元 (遵义医学院)

张天宝 (第二军医大学)

图书在版编目(CIP)数据

基础毒理学/周志俊主编. —2版. —上海:复旦大学出版社,2014.8
预防医学国家级教学团队教材
ISBN 978-7-309-10859-0

I. 基… II. 周… III. 毒理学-医学院校-教材 IV. R99

中国版本图书馆CIP数据核字(2014)第164727号

基础毒理学(第二版)

周志俊 主编
责任编辑/傅淑娟

复旦大学出版社有限公司出版发行
上海市国权路579号 邮编:200433
网址:fupnet@fudanpress.com <http://www.fudanpress.com>
门市零售:86-21-65642857 团体订购:86-21-65118853
外埠邮购:86-21-65109143
常熟市华顺印刷有限公司

开本 787×1092 1/16 印张 19 字数 462 千
2014年8月第2版第1次印刷

ISBN 978-7-309-10859-0/R·1404
定价:48.00元

如有印装质量问题,请向复旦大学出版社有限公司发行部调换。
版权所有 侵权必究



第二版前言

由复旦大学出版社出版的《基础毒理学》第一版教材从2008年至今已经5年余。作为一本“简化版”的基础毒理学教材,在使用的学校反映都不错,当然也发现一些问题。《基础毒理学》第二版在此基础上进一步完善提高。

第二版与第一版相比,我们的指导思想没有变,继续强调基本理论、基本知识的讲授和基本技能的介绍。在章节安排上,听取了部分教师意见将原先的第四章非特异性靶器官毒作用折分成几章,并增加其内容的广度与深度,以与实际教学安排相对应。

如在第一版前言中所说,教材的编写过程就是一个学习的过程。参与编写的各位老师付出了大量心血,但也收获颇丰。限于我们水平和能力,新版教材肯定仍然会存在错误或不当之处,敬请老师、同学们提出宝贵意见,以便我们改正。

《基础毒理学》再版得到了复旦大学公共卫生学院的支持。对于学院的支持以及各位编写老师和学术秘书黄敏的辛勤劳动,在此一并表示感谢!

编 者

2014年7月



第一版前言

《基础毒理学》教材是复旦大学出版社和复旦大学公共卫生学院在 2005 年根据教育部高等教育司《关于申报“普通高等教育‘十一五’国家级教材规划”选题的通知》精神,申请获批准出版的教育部“十一五”国家级规划教材。从申请立项到正式出版经历了两年时间。可以说,没有教育部的文件精神,没有复旦大学教务处和复旦大学出版社的强力推动支持,这本书是不会问世的。

毒理学作为预防医学的基础学科,在我国教学已经有近 30 年的历史。人民卫生出版社从 1987 年出版第一版规划教材以来,至今已经有了第五版。北京大学公共卫生学院和四川大学华西公共卫生学院都出版过相关的教材。复旦大学(原上海医科大学)公共卫生学院从 20 世纪 80 年代末自编了《基础毒理学》内部教材,在预防医学、药学专业教学中使用。众所周知,教材是体现教学内容和教学要求的知识载体,是进行教学的基本工具,因此,不同学校,甚至不同教师在毒理学教学中根据自己的教学计划、教学重点选择不同教科书是正常现象。现在复旦大学出版社出版的“十一五”国家级规划教材《基础毒理学》为毒理学教学的教材选用又多了一份选择。这是我国高等教育中教材出版百家争鸣、百花齐放特色的具体体现。

毒理学发展至今,不再是简单地研究化学物所造成的生物体不良效应的一门学科。现代毒理学不仅以化学物为研究对象,阐明化学物与生物体之间的交互作用及造成的不良效应和剂量-反应(效应)关系,也是以化学物作为工具,研究机体内部的正常生理、生化及调节机制,从而认识自我。毒理学是一门涉及领域广泛的学科,它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、环境保护、生态学等专业的基础科学。基于这样的认识,我们在编写过程中,认真学习、借鉴其他教材的成功经验,参考相关毒理学专著,注意教材与专著的异同,力求以本科生必须掌握的毒理学基础理论、基本知识和基本技能为重点,简明扼要地阐述毒理学的概念、原理和应用。力求用较少的文字将基本理论、基本知识讲清楚,对基本技能有介绍。在编写框架上,强调了“基础”,以描述毒理学中的毒性(toxicity)、机制毒理学中的危害(hazard)和管理毒理学中的危险(risk)为主线,以剂量-反应(效应)关系为核心,系统介绍毒性发生、发展过程,以及毒性评价、控制和管理等。在内容上,增加了危险性交流的相关内容,减少了具体试验方法的介绍,只保留了目前本科教学中经常使用的实验方法。从而,使《基础毒理学》更为精练,便于学生学习。

在教材编写过程中,复旦大学教务处、复旦大学公共卫生学院和复旦大学出版社领导给予了大力支持,在此表示衷心的感谢。

对教师来讲,编写教材也是一个学习提高的过程,通过反复的交流讨论,我们对以前一些习以为常的现象有了进一步准确的、统一的认识。由于我们水平和能力有限,本教材肯定存在不少错误或不当之处,敬请各位老师、同学提出宝贵意见。

作 者

2007 年 12 月

复旦大学出版社向使用本社《基础毒理学(第二版)》作为教材进行教学的教师免费赠送多媒体课件,该课件有许多教学案例,以及教学PPT。欢迎完整填写下面表格来索取多媒体课件。

教师姓名: _____
任课程名称: _____
任课程学生人数: _____
联系电话:(O) _____ (H) _____ 手机: _____
e-mail 地址: _____
所在学校名称: _____
邮政编码: _____
所在学校地址: _____
学校电话总机(带区号): _____
学校网址: _____
系名称: _____
系联系电话: _____
每位教师限赠多媒体课件一份。
邮寄多媒体课件地址: _____
邮政编码: _____

请将本页复印完整填写后,邮寄到上海市国权路 579 号

复旦大学出版社傅淑娟收

邮政编码:200433

联系电话:(021)65654719

e-mail: shujuanfu@163.com

复旦大学出版社将免费邮寄赠送教师所需要的多媒体课件。



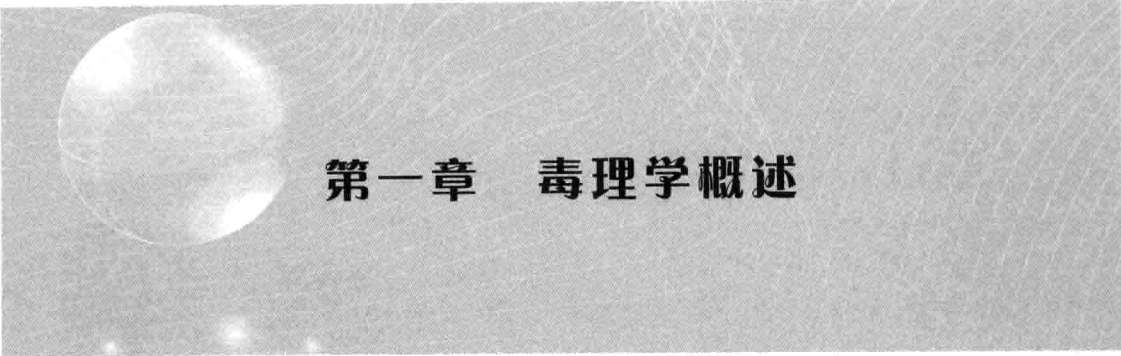
第一篇 理论部分

第一章 毒理学概述.....	002
第一节 毒理学基本概念 / 002	
第二节 毒理学研究范畴 / 007	
第三节 毒理学研究方法 / 012	
第四节 毒理学历史与发展 / 015	
第五节 毒理学在预防医学中的应用 / 021	
第二章 毒物在体内的过程.....	024
第一节 毒物的吸收、分布和排泄 / 024	
第二节 毒物的生物转化 / 038	
第三节 毒物动力学 / 047	
第三章 毒作用及其影响因素.....	053
第一节 毒效应谱和毒作用类型 / 053	
第二节 毒作用机制 / 055	
第三节 毒性作用影响因素 / 077	
第四章 常规毒性测试及其替代实验.....	085
第一节 常规毒性及描述参数 / 085	
第二节 经典实验方法 / 088	
第三节 替代实验 / 097	
第五章 外源化学物的致癌作用.....	100
第一节 化学致癌物的分类 / 100	
第二节 化学致癌机制 / 103	
第三节 化学致癌的影响因素 / 109	
第四节 外源化学物致癌性的测试和评价 / 111	
第五节 外源化学物致癌的预防 / 114	
第六章 遗传毒性.....	116
第一节 概述 / 116	
第二节 遗传毒性的形成机制及影响 / 119	
第三节 遗传毒性的检测方法 / 125	
第七章 生殖毒性与发育毒性.....	127
第一节 概述 / 127	

第二节 生殖毒性与发育毒性机制 / 135	
第三节 生殖毒性与发育毒性评价 / 138	
第八章 靶器官毒理学	149
第一节 肝脏毒理学 / 149	
第二节 肾脏毒理学 / 155	
第三节 免疫毒理学 / 159	
第四节 神经和行为毒理学 / 163	
第五节 其他系统毒理学 / 166	
第九章 毒理学安全性评价、健康危险度评定和危险管理	175
第一节 化学物的毒理学安全性评价 / 175	
第二节 健康危险度评定 / 178	
第三节 健康危险度评估的发展方向 / 188	
第四节 危险管理和交流 / 189	
第十章 毒理学应用及分支	193
第一节 卫生毒理学 / 193	
第二节 药物毒理学 / 203	
第三节 生态毒理学 / 206	
第四节 其他分支 / 210	
第五节 纳米毒理学 / 214	
第十一章 毒理学实验基础	222
第一节 实验设计原则 / 222	
第二节 毒理学实验结果的统计分析 / 225	
第三节 整体动物实验 / 227	
第四节 离体器官实验 / 234	
第五节 细胞实验 / 236	
第六节 分子生物学实验 / 245	
第七节 毒理基因组学 / 253	
第十二章 毒理学实验室质量管理	256
第一节 毒理学实验室质量管理体系的产生背景和意义 / 256	
第二节 良好实验室规范 / 264	
第三节 GLP 质量管理体系在我国的应用现状和展望 / 273	

第二篇 实验部分

实验一 实验动物生物材料的采集及解剖.....	282
实验二 急性毒性实验常用染毒方法及半数致死浓度的测定.....	284
实验三 鼠伤寒沙门菌回复突变实验.....	288
实验四 动物骨髓细胞染色体畸变分析.....	291
实验五 小鼠骨髓多染性红细胞微核实验.....	293
实验六 小鼠精子畸形实验.....	294
实验七 大鼠致畸实验.....	296
主要参考文献	299



第一章 毒理学概述

毒理学(toxicology)一词由希腊文 toxikon 和 logos 两词组合演变而来,原文含义是描述毒物的科学。毒理学是研究化学物对生物体的毒性和毒作用机制的一门学科,目的是了解化学物与生物体之间的相互作用关系,阐明化学物对生物体引起的有害效应性质和剂量-反应(效应)关系,确定化学物对生物体引起有害效应的能力,为指导化学物的安全使用和中毒防治提供依据。

毒理学的迅速发展源于人们对人类社会接触各种化学物后是否引起健康损害的担忧。随着人类社会生产的发展和生活条件的改善,人们在从事生产或日常生活中接触化学物的品种和数量愈来愈多。全世界登记的化学物已超过 800 万种,常用的也有 7 万~8 万种。在人的一生中不可避免地可通过生产、使用或滥用(事故或自杀)短时接触化学物,也可通过各种环境介质(水、土壤、食品污染等)长期持久地接触化学物。对人体来说,这些化学物是从外界环境中摄入,而非机体内源产生,它们具有生物活性,在一定条件下直接或间接损害人的健康,所以被称为外源化学物(xenobiotics)。

基于对人类影响的考虑,毒理学一般以实验动物为研究对象,研究实验动物接触外源性化学物后发生的毒效应,并用这些研究结果预测、外推到人,以便最终保护人类健康。尽管实验动物多为哺乳动物,其解剖学、生理学、生物化学与人类有许多共性的一面,但在生理、生殖、代谢等进化方面仍有许多本质区别,使得这些实验结果外推至人时常与真实情况存在一定差异。这又推动了以人自身为研究对象的临床毒理学或人群毒理学的发展。它是以事故接触或职业、环境接触的人群为研究对象,观察不同接触后对健康的早期影响,由于没有种属外推的问题,故对一些已经有广泛人群接触的化学物的毒理学研究特别看重。此外,随着人们环境保护意识的增强、对人类所在的生态环境的关注,生态毒理学的发展也非常迅速。生态毒理学(ecotoxicology)是研究有毒有害因子对生态环境中各种生物的伤害作用及其机制的科学。有的学者认为这里的生物应当包括人,也有的学者认为不包括人,且用生态环境中非人类生物来限定。总之,不论如何发展,毒理学始终用一些模式生物(离体或整体)研究化学物对之的影响,并用其研究结果预测对另外一些生物(通常是高级的、不容易作为研究目标对象,如人)的影响。

第一节 毒理学基本概念

毒理学研究对象是化学物,俗称毒物。事实上,化学物的有毒或无毒是相对的,并不存在

绝对的界线。任何一种化学物在一定条件下可能是有毒的,而在另一条件下则对人的健康是安全无毒的。著名瑞士毒理学家 Paracelsus 曾说:“化学物只有在一定的剂量下才具有毒性”,“毒物与药物的区别仅在于剂量”。中国古代也有一句习俗语“万物皆毒唯量焉”。因此,化学物的有毒或无毒主要决定于剂量,只能以产生毒效应所需的剂量大小相对地加以区别。实际上,几乎所有的化学物,当它进入生物体内超过一定量时,都能产生不良作用,即使是安全的药物或食品中的某些主要成分,如果过量给予,均可引起毒效应。例如,各种药物一旦超过安全剂量均可产生毒效应,严重者会引起中毒。食盐一次服用 15~60 g 即有害于健康,一次用量达 200 g 以上可因其吸水作用导致电解质严重紊乱引起死亡。

一、毒物与毒性

所谓毒物(poison, toxicant)通常是指在一定条件下以较小的剂量作用于生物体,扰乱破坏生物体的正常功能,或引起组织结构的病理改变,甚至危及生命的一些外源化学物。由于剂量决定一切,通常会认为,凡是在日常可能接触的途径和剂量,即能对机体发生损害的外源化学物称为毒物,像油、盐、醋等生活用品就不会归为毒物范畴了。

目前,毒理学研究关注的常见外源化学物,包括以下 9 类。①工业化学物,如原料、中间体、辅助剂、杂质、成品、副产品、废弃物等。②环境污染物,如工业生产中排入环境的废气、废水和废渣,以及农田使用农药对环境的污染。③食品中的有害成分,如天然毒素、食品变质后产生的毒素、不合格的食品添加剂和防腐剂等。④农用化学物,如杀虫剂、杀菌剂、化肥、除草剂、植物生长激素等。⑤生活日用品中的有害成分,如烟酒嗜好品、化妆品、洗涤剂、染发剂、蚊香的某些组分。⑥生物毒素(toxin),如动物(蛇毒)、植物(蕁毒)和细菌毒素。⑦医用药物,包括兽医用药。⑧军用毒剂,主要指化学武器。⑨放射性核素。这些化学物多数是人类在生产生活中不可缺少或无法避免的物质,它们可以通过不同途径进入人体,给人们带来潜在危害,在一定条件下损害人的健康。

毒性(toxicity)通常是指某种化学物引起机体损害的能力。毒性的概念是抽象的,是化学物本身固有的特性。随着观察指标的不同,毒性的描述范围很广。在实验条件下,毒性是指化学物引起实验动物某种毒效应所需的剂量(浓度)。化学物的毒性大小是与机体吸收该化学物的剂量、进入靶器官的剂量和引起机体损害的程度有关。因此,化学物毒性大小,通常可用剂量-反应(效应)关系来表示。引起实验动物某种反应(效应)所需剂量愈小,则毒性愈大;反之亦然。不同化学物对生物体引起毒效应所需的剂量差别很大。有些化学物,只要接触几微克即可导致死亡,常被称为极毒化学物;另一些化学物,即使给予几克或更多,也不会引起有毒效应,常被认为是实际无毒的化学物。高毒性化学物仅以小剂量就能引起机体的损害,低毒性化学物则需大剂量才能引起机体的损害。在同样剂量水平下,高毒化学物引起的机体损害程度较严重,而低毒性化学物引起的损害程度往往较轻微。

二、接触与剂量

接触(exposure,有时翻译为暴露)是指可以影响人类健康的一些因素或物质(exposure is a substance or factor affecting human health)。在公共卫生领域通常是指人体表(皮肤、口腔、呼吸道等)与环境介质(水、土壤、空气)有害物之间的联接(contact between a substance in environmental medium and the surface of human body)。一般将机体摄入后的化学物的量称为剂量。谈到人群接触的含义常包括接触水平和持续时间两方面含义。在动物实验或离体实

验中,常用染毒或给药(administration)一词。常见的染毒方式有呼吸道、消化道、经皮和注射等。

化学物只有与机体接触或进入体内,并且达到一定的量才能引起机体的不良反应。通常化学物进入机体内最主要的途径是消化道(摄入)、呼吸道(吸入)以及皮肤吸收,有时还有其他途径。能够迅速进入血流的毒物通常引起的毒作用最大。一般吸收速度依静脉、吸入、腹膜、皮下、肌肉、皮内、经口、皮肤顺序递减。用于溶解化学物的溶剂不同以及规格不同可以大大影响吸收速率,有时不同给药途径所致毒性有天壤之别。工业毒物接触主要以呼吸道和皮肤为主,而事故或自杀等原因则以口服为主。如果不同途径接触同样的量其效应相同,则提示该化学物吸收非常迅速与完全。

在毒理学中有内剂量、外剂量和生物有效剂量等剂量概念。接触剂量(exposure dose)或外剂量(external dose)是指环境中机体接触毒物的总量。体内负荷(body burden)或内剂量(internal dose)表示通过各种途径吸收进入体内血循环的外来化学物及其代谢产物的含量。例如,血铅和血镉浓度可分别作为铅和镉的内剂量,尿中扁桃酸和三氯乙酸浓度可分别估测接触苯乙烯和三氯乙烯的内剂量。靶剂量(target organ dose)或生物有效剂量(biological effective dose)是指到达机体的特定效应部位(组织、细胞和分子)并与其相作用的外来化学物代谢产物的含量。虽然生物有效剂量能真正反映化学物对机体发生效应的剂量,但剂量的估测需详细的毒物代谢动力学资料,在实际使用时较为复杂。目前,多用替代指标(surrogate)的浓度(或强度)来推测效应部位的浓度,如测定血中化学物与血红蛋白或白蛋白形成的加合物及白细胞DNA加合物等作为接触的生物标志,代替靶组织DNA与化学物的加合物,间接估测效应剂量。

在一次或少量次数给药时,我们可以通过特定方式描述实验动物接受化学物的量。此时剂量单位多用实验动物单位体重(kg)接受多少化学物量(mg)表示。这实际上已经指示进入实验动物体内量。而在较长时间染毒或人群研究中,我们很难精确算出摄入多少量,此时常用环境介质中存在化学物的量来表示剂量,如空气中某化学物浓度(mg/m^3)、饮水中某化学物浓度(mg/L)、饲料中某化学物浓度(mg/kg)。此时要估计实际摄入量必须结合消耗的空气、水和饲料量来进行。在剂量表示时,有学者提出考虑到动物与人的种属差异,最好以单位体表面积(m^2)用了多少化学物量(mg)来表示,这样更加合理。

在剂量表示中还有一个重要的指标是累计剂量,是指在一定的接触时间内实验动物或人总计给予或摄入的化学物量。简单情形有短间接触大剂量和长时间接触小剂量,两者接触的累计剂量相同,出现的不良效应是否相同并无完全定论,在一定剂量范围内,它们的效应是相同的。这通常取决于出现的不良效应性质和引起这一效应变化的化学物阈值。

三、效应与反应

效应(effect)是指外源性化学物对生物体作用所引起的生物学改变,这类生物效应的强度是连续增加或减少的变量,可以用计量数据表示其强度,称量效应(graded effect)。这就是统计学中所说的计量资料,如化学物引起酶活力的改变、炎症程度的增加、心率的改变等。

反应(response)是某些效应只能以有或无、正常或异常、阴性或阳性表示,称为质效应(quantal effect)。这是统计学中的计数资料,如是否死亡、是否发生肿瘤、是否出现畸胎等。

效应可以按照设定的标准界限转化为反应,如将白细胞计数按照一个设定的界值分为低

下、正常。这一界值的设定通常会根据不同研究目的、依据效应的分布状态来确定。这就是统计学中的计量与计数资料的转换。

四、生物效应与生物标志

生物体是一个复杂的“开放”系统,通过许多生理功能和生化反应与环境交换物质和能量,并保持动态平衡。生物体对外源化学物的作用具有一定的代偿能力,以维持体内环境的平衡稳定。但是机体的代偿能力是有限的,如果生物体超量接触化学物,代偿功能可受损害,机体出现各种功能障碍、应激能力(stress)下降、维持体内稳态(homeostasis)能力降低,以及其他环境有害因素的敏感性增高等。接触化学物后,各个体出现的效应并不都是完全一样的。一般可分为5种情况:①所接触的化学物(或代谢物)在体内的负荷虽有增加,但并不引起代谢、生理、生化或其他功能活动的改变;②体内负荷进一步增加,引起了代谢、生理功能或组织器官形态结构的轻微变化,但此种改变没有病理生理学意义;③负荷水平足以导致有病理生理意义的改变,但尚未出现明显的临床症状;④个体因过量接触健康受到严重损伤,出现临床疾病;⑤严重中毒或死亡。

化学物的有害效应(adverse effect)或毒效应(toxic effect)是指进入体内的化学物其代谢产物达到一定剂量,并与靶(器官、组织、细胞、分子)相作用所引起的不良生物学改变。例如,有机磷酸酯农药在生物体内抑制胆碱酯酶活性,临床上出现瞳孔缩小、肌肉颤动、大汗、肺水肿等毒效应。化学物引起毒效应的强度范围很宽,包括早期生物学效应、生理、生化正常功能的改变、器官组织的病理改变、临床征象、疾病甚至死亡。从预防医学的观点研究化学物对生物体的有害效应,应将这些有害的生物学改变看作化学物对生物体产生毒效应的连续过程。采用灵敏可靠的生物学指标作为观察终点(end point),以便早期识别轻微可逆的有害效应,这对预防化学物中毒具有十分重要的意义。

近年来,对几百种化学物的毒效应观察,发现在低剂量时一些化学物作用方向与高剂量的表现完全相反,从而出现了毒物兴奋效应(hormesis)概念。毒物兴奋效应的现象发源于抗生素的研究,德国学者Schulz注意到高剂量抗生素抑制细菌生长,而剂量低到一定程度反而促进细菌生长。后来许多实验发现辐射、某些化学物都有类似作用。其含义是在一定剂量时化学物可引起一定的毒效应(激发/抑制),而在低于未可见的有害作用水平(NOEL)剂量水平以下时却表现为相反的作用(抑制/激发)。化学物低剂量时产生的毒物兴奋效应,是由于机体作出了过度补偿(over compensation),是机体的过激反应(overshoot)或称为反弹(rebound)所致。一般认为,毒效应是化学物与机体交互作用的结果,但并非所用化学物都有毒物兴奋作用;毒物兴奋作用多数是对生物体有益的,但并非所有化学物都是如此。

随着分子生物学和分子毒理学的发展,以及化学物对机体免疫功能、神经行为、遗传及生殖过程有害影响的研究,毒理学者正在使用极其敏感的方法,选择化学物引起毒效应的早期生物学指标作为观察终点,发现外来化学物对健康的危害。凡是能检测化学物引起有害效应的生理、生化、免疫、细胞分子变化的生物学指标,又可称为效应的生物标志(biomarker of effect)。

生物标志(biomarker)是机体与环境因子(物理、化学或生物学的)相互作用所引起的任何可测定的改变,包括环境因子在体内的变化,以及机体在整体、器官、细胞、亚细胞和分子水平上各种生理、生化改变,这些改变必须有明确的生物学意义。生物标志一般分为接触标志物、效应标志物和易感性标志物3类。

五、联合作用

毒理学研究对象常限于某一化学物。人们虽已经认识到人类现实生活接触化学物的复杂性、多重性,但真正研究多个化学物之间的联合作用的较为简单的手段并不多。理论上,目前对联合作用的类型已经有一个共同认识。联合作用(combined action)是指两种或两种以上的化学物同时或前后进入机体所产生的生物学作用。联合作用有4种类型,包括:①独立作用(independent effect),两种或两种以上的化学物同时或先后与机体接触,由于其各自毒作用的受体、部位、靶器官等不同,且其所引起的生物学效应也不互相干扰,从而表现为各化学物的各自毒效应,此种情况称为独立作用。②相加作用(additive effect),同时接触几种化学物后所产生的生物学作用(或毒效应)强度,表现为各单一化学物分别产生的效应强度的总和。③协同作用(synergistic effect),两种或两种以上化学物同时或前后相继进入机体,表现出的毒效应强度大于各自单独作用之和,该作用称为协同作用。④拮抗作用(antagonistic effect),两种化学物同时或先后给予机体,其中一种化学物可干扰另一种化学物原有的生物学作用使其减弱,或两种化学物相互干扰,使混合物的生物学作用或毒作用的强度低于两种化学物中任何一种单独给予机体时的强度,这样的联合作用称为拮抗作用,亦称减毒作用。

虽然,理论上我们能清楚地将联合作用划分为上述类型,但实际研究却是非常困难,需要有好的实验设计去说明、验证。目前有一些数据模型用于预测混合物的联合毒性,如浓度相加模型、独立作用模型、相互作用模型。这些模型的使用都有一定的局限性。

六、毒性的时程变化与反复低剂量接触后耐受

虽然我们已经认识到,有害效应或毒效应是进入体内的化学物及其代谢产物达到一定剂量后与靶(器官、组织、细胞、分子)相互作用所引起的不良生物学改变,但还没有考虑时程(time course)的概念。事实上,给予不同化学物后,因吸收的快慢、是否代谢活化、特定病损的进展速度等因素不同,会在给药后不同时间出现不良效应。这是有时在不同时间观察点会出现不同甚至相互矛盾的生物效应的一个重要原因。为什么在传统的急性毒性研究中,需要有足够长的实验观察时间,就是不要漏掉晚期出现的不良效应。比较完整的毒理学研究应当包括给药后某效应随时程变化的规律,而不是简单的在某一特定观察时点效应与剂量的变化关系,除非有足够数据提示在这一时点观察已经完全有代表性了。

还有一个概念是时间毒理学(chronotoxicology),这很容易与给药后毒效应不同时程变化相混淆。时间毒理学源于时间生物学,研究化学物与机体内在的生物节律相互作用的规律。简单地说,时间毒理学研究在实验对象不同生物节律状态下给予化学物后不良效应出现的变化异同,研究给予化学物后对实验对象生物节律生理变化的影响。

反复接触低剂量的化学毒物后机体出现的另外一个现象是耐受(tolerance)。现在发现耐受是毒理学中的一个较为普遍的现象,所谓耐受是指实验动物或人在低剂量接触某一化学物一段时间后,再次接触较高剂量该化学物时不出现明显的首次接触后引发的不良效应的现象。对耐受研究的经典的案例是有机磷酸酯,实验动物反复接受小于致死剂量的有机磷酸酯时,会表现出典型的中毒症状及胆碱酯酶活力降低,但当继续接受一些时间后,症状会减轻甚至消失。在职业卫生工作中也有许多发现,接触同样水平工业毒物的新老工人在效应方面有明显差别,新工人出现的症状与体征较多,在汞、铅、镉等的接触者中,这一现象较为明显。难以完全用工人的选择效应(selective effect)作解释,而很可能与金属毒物的吸收、蓄积、排泄的动力

学有关,也可能与金属硫蛋白诱导合成有关,还可能与机体的其他适应性调整有关。新近研究发现,耐受现象的机制非常复杂,用一种指标考量可能是耐受,但用另外一种指标考量时仍发现有不良作用。一般认为,耐受是机体对外界的适应似为一种保护作用,但可能掩盖了潜在的毒作用,故在毒理学研究中须予以特别注意。

第二节 毒理学研究范畴

毒理学发展至今,不再是简单地研究化学物所造成的生物体不良效应的一门学科。现代毒理学不仅以化学物为研究对象,阐明化学物与生物体之间的交互作用及造成的不良效应和剂量-反应(效应)关系,也以化学物作为工具,研究机体内部的正常生理、生化及调节机制,从而认识自我。近代毒理学的研究理论和研究方法已广泛用于寻找高效低毒的农药、选择更为安全的药物和食品添加剂,研制化学物的特效解毒剂,化学毒品的管理以及控制工业化学物、环境污染物等对人类健康引起的危害。毒理学是一门涉及广泛领域的学科,它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、环境保护、生态学等专业的基础科学。

毒理学研究基本可以分为描述性、机制和管理毒理学研究 3 个方面,每一方面有其独特的特征,但又相互联系,危险度评价是三者之间关系的核心交叉之处(图 1-1)。这一划分涵盖了毒理学发展的各种分支的内容。

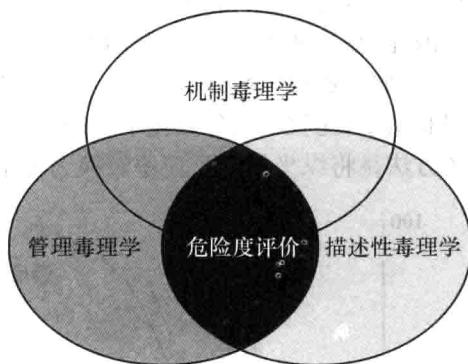


图 1-1 毒理学研究范畴示意

一、描述性毒理学

毒理学的首要任务是对外源化学物可能引起的接触者的健康危险作出评价,通常称为毒理学安全评价。研究通常模拟人的接触途径、接触时间等条件,以及关心的效应出现的时间变化规律,选择合适的动物模型、给药方式和期限,在适当的观察期内,观察化学物对动物的一般毒性和特殊毒性,如致突变作用、致癌作用、致畸作用等,发现在什么剂量下引起何种不良效应。这样的工作属于描述性毒理学(descriptive toxicology)范畴。描述性研究主要是通过毒性测试,为安全性评价、危险度分析管理提供数据,也为机制研究提供合理线索。

为了保证毒理学数据的可比性,毒理学实验方法要保持一致,目前 OECD 公布的毒理学实验方法指南是国际接受度最好的。我国涉及化学品管理的不同政府部门颁布的毒理学试验方法指南或标准,都有 OECD 颁布的指南“影子”或者直接引用了指南的部分内容,这些标准(指南)虽有文字表述差异,但其核心内容基本一致。当然,光靠指南(标准)还不够,要获得真实可靠可信数据,实验室的质量管理是不可或缺的环节。只有这样,才能保证获得的数据在危险度评价应用时能合理推测人的情况。

通过描述性研究,我们可以掌握化学物引起某一毒效应的剂量-效应或反应的关系。剂量-效应或反应的关系的描述是描述毒理学,甚至是毒理学的核心。剂量-反应(效应)关系(dose-response or effect relationship)是指外源化学物作用于生物体时的剂量与引起生物作

用的发生率或剂量强度之间的相互关系。随着剂量与计数资料的转换,剂量-效应关系可转换为剂量-反应关系。在公共卫生领域关注剂量-反应关系更多一些。

由于外源化学物的剂量是决定毒作用大小的主要因素,任何生物体都有个体易感性差异,接触群体中的不同个体不会对同一化学物的同一剂量发生同样的效应。因此,化学物引起某种生物作用的发生率或剂量强度,是随剂量增加而增加,机体出现某种生物作用,如要肯定其某因果联系,则必须存在明确的剂量-反应(效应)关系,否则不能肯定。

接触群体中的个体对某种毒效应的发生频率,可能是正态分布、对数正态分布或其他分布。如果以某种毒效应发生率为纵坐标,以剂量为横坐标,即可构成剂量-反应曲线。大多数毒理学的剂量-反应关系呈对称的“S”形曲线或不对称“S”形曲线,如将不对称“S”形曲线的剂量以对数表示,也可成为对称的“S”形曲线(图1-2)。

在低剂量范围内,随着剂量的增加,毒效应发生率增加较为缓慢;而在主要的剂量-反应曲线部分,随剂量增加,毒效应发生率急速上升,特别是在曲线的中点附近,斜率(slope)最大,剂量略有变动,反应即有较大增减;而当剂量继续增加时,毒效率的发生率又趋向和缓(图1-2)。因此,在毒理学资料中,常用引起50%动物反应率的剂量作为评价外来化学物毒性的主要参数,如半数效应剂量(ED_{50})、半数中毒剂量(TD_{50})和半数致死剂量(LD_{50})。为了计算可信限和斜率,比较不同外来化学物的毒性参数,可将对称“S”形剂量-反应曲线转化成直线,转换的方法是将纵坐标的反应率转换为概率单位(probit unit),见图1-3。

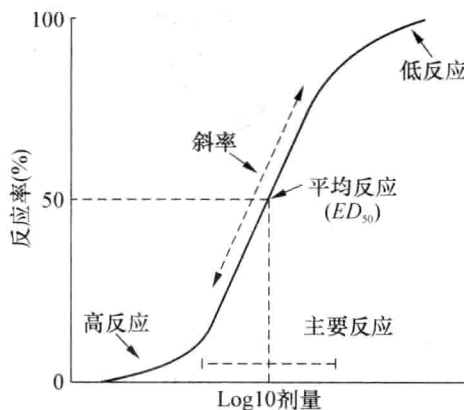


图1-2 剂量-反应关系曲线(S形)

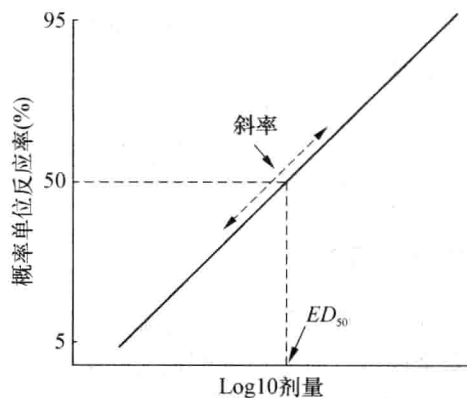


图1-3 剂量-反应关系曲线(直线型)

随着人们对低剂量或极低剂量的效应研究,发现剂量反应关系的曲线非常复杂,还存在“U”形、“J”形或指数型等形式。低剂量研究使人们注意到了,在一定低剂量范围内,其化学物作用的方向完全与高剂量相反,出现了毒物兴奋效应现象。

根据剂量-反应关系资料,可以证实接触外源化学物引起某种毒效应之间的因果联系。通过对剂量-反应关系曲线的分析,可以确定引起毒效应的阈剂量(threshold dose)或无作用剂量(no-effect dose or level)、计算 ED_{50} 及可信限和斜率等参数。在剂量-反应关系的资料应用时,必须注意观察的指标不同,其关系曲线可完全不同。如果应用不当,往往会带来严重偏差,如将急性毒性的剂量-反应关系代表慢性毒性的剂量-反应关系。

二、机制毒理学

外源化学物的毒作用机制是毒理学研究的重要内容之一,也是毒理学基础理论探讨的重

要部分。通过生物整体、器官水平、细胞或亚细胞水平和分子水平的研究,不但能深入揭示化学物的毒作用部位、性质和过程等基本规律,阐明化学物对生物体有害作用的发生和发展,而且对探讨中毒的早期诊断指标和防治措施也有重要意义。研究外源化学物如何进入体内及在体内分布与排泄、如何经各种生物膜进入靶部位、如何与靶分子发生反应引起不良效应,这一系列过程都是机制毒理学(mechanistic toxicology)研究范畴。机制毒理学研究化学物引起毒效应的细胞、生化、分子机制,其结果在实际应用中非常重要。

化学物对生物体的有害作用是在一定条件下与机体交互作用的结果,与化学物本身、接触剂量和生物体特征都有明确关系。化学物的结构可决定其特有的物理性质和化学性质,理化性质和化学活性又决定化学物固有的生物活性。研究掌握化学结构与毒作用关系的规律,有助于预测新化学物的生物活性,推测毒作用机制。有关化学结构与毒作用关系的研究,近年虽已发展应用化学物的某些理化参数,通过回归分析方法定量地找出化学结构与其毒效应之间的相互关系,称为量化构效关系(quantitative structure activity relationship, QSAR)。但是, QSAR 研究方法尚有许多问题有待解决,应用还有一定限制。因此,掌握一些相对的定性的化学结构和理化性质与毒效应关系的规律,将对化学物毒作用的认识有一定帮助。

有机化学物中的脂肪族烃类多具有麻醉作用,一般随其碳原子数增多而作用增强(甲烷、乙烷例外),但达 9 个碳原子之后,随碳原子数增多而麻醉作用减弱。烃类的饱和程度越高,化学活性越活泼,因而毒性也大。例如,碳链长度相同时,其毒性:炔烃>烯烃>烷烃。卤代烷烃均较其母体烃的毒性大,卤代化学物的毒性一般按氟、氯、溴、碘的顺序而增强,卤素原子数愈多,毒性也愈大。通常认为,无机化学物的毒性与溶解度有关,如硫酸钡不溶于水,基本无毒,而氯化钡易溶于水,则毒性很强;三氧化二砷(砒霜)易溶于水,为剧毒,三硫化二砷难溶于水,毒性非常小,两者毒性大小差 3 万倍左右;铅化合物在血中溶解度的大小顺序为氧化铅>金属铅>硫酸铅>碳酸铅,其毒性大小与溶解度完全一致。化学物的挥发度与熔点、沸点、蒸汽压等有关,挥发度大的化学物在空气中形成蒸汽的浓度高,引起中毒的危险性大。例如,苯和苯乙烯的 LC_{50} 均为 45 mg/L,苯的挥发度为苯乙烯的 11 倍,其中毒危险性要比苯乙烯大得多。

外源化学物从环境进入机体到产生有害效应,可分为 3 个阶段:①接触相(exposure phase),是指化学物的组成、理化性质、接触浓度或剂量,以及进入体内的途径等;②毒物动力学相(toxicokinetics phase),是化学物进入体内的吸收、转运、分布、蓄积、生物转化和排出过程;③毒效动力学相(toxicodynamics phase),是指化学物的活性形式到达靶组织,作用于受体,与其他分子结合并产生毒效应。外源化学物对哪些靶器官或组织产生有害作用,决定于化学物的结构和理化性质,以及与受体的亲和力。外源化学物引起毒效应的性质和毒性强度,与该化学物在体内的生物转化及活性物质在靶组织的生物效应剂量有关。

机制性研究资料在证实实验动物观察到的效应,如肿瘤、出生缺陷,是否直接与人有关时非常有用。如有机磷酸酯化学物的毒性机制主要是抑制乙酰胆碱酯酶,它们在人、大鼠、昆虫都是一样的,唯一区别是不同种属的生化转化差异。又如糖精致动物膀胱癌,但在正常使用情况下对人不会致癌,因为机制研究发现致动物膀胱癌是在极大剂量下糖精沉积在尿中形成结晶所致。

机制性研究资料在药物研发过程中也非常有益,如臭名昭著的反应停(thalidomide)在 20 世纪 60 年代造成了巨大人类悲剧,但一名以色列医生发现“反应停”对麻风结节性红斑有很好的疗效,机制研究发现它可以作用于与血管形成有关的基因,据此作为治疗某些感染性疾病