

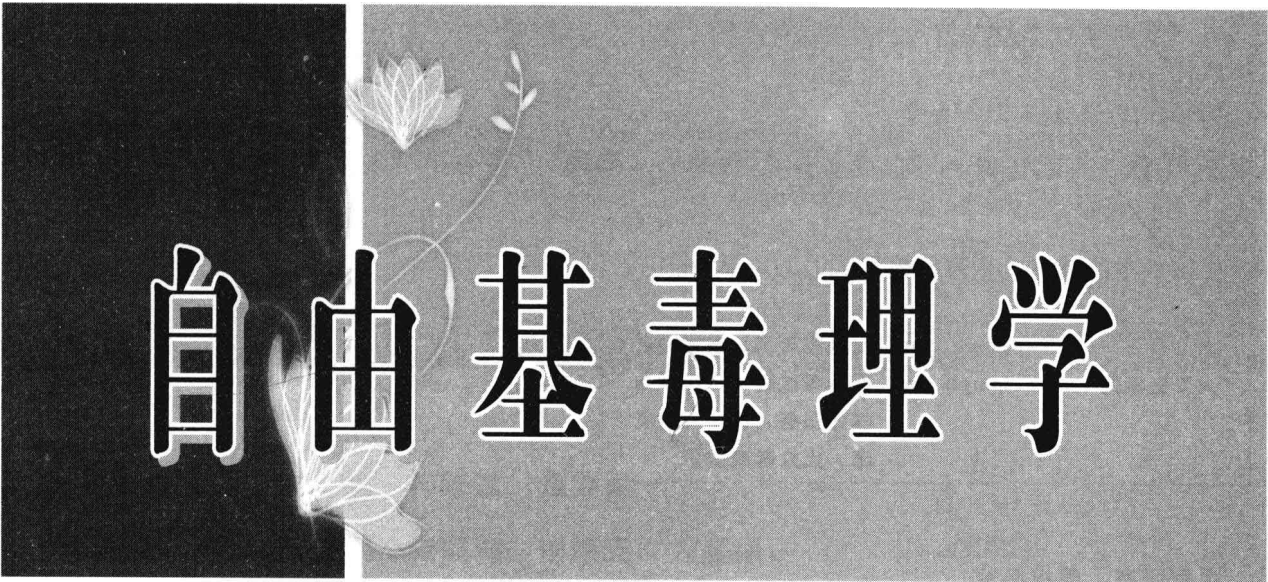
自由基毒理学



柯跃斌 郑荣梁 主编



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE



自由基毒理学

柯跃斌 郑荣梁 主编

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

自由基毒理学/柯跃斌等主编.—北京:人民卫生出版社,2012.12

ISBN 978-7-117-16355-2

I. ①自… II. ①柯… III. ①游离基-毒理学
IV. ①Q5②R99

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2012) 第 250176 号

人卫社官网	www.pmph.com	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	www.ipmph.com	医学考试辅导, 医学数据库服务, 医学教育资源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

自由基毒理学

主 编: 柯跃斌 郑荣梁

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-67605754 010-65264830

010-59787586 010-59787592

印 刷: 潮河印业有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 889×1194 1/16 印张: 25 插页: 2

字 数: 796 千字

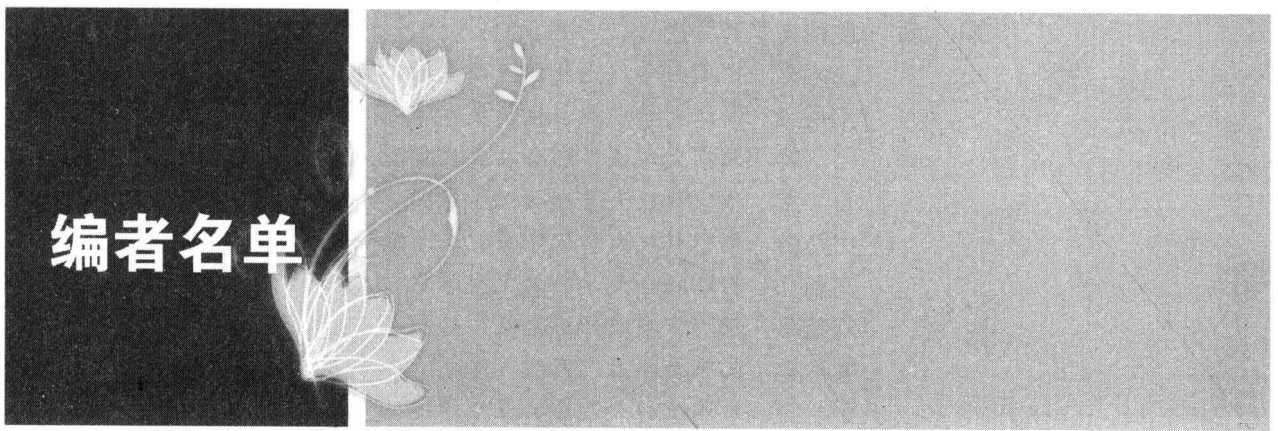
版 次: 2012 年 12 月第 1 版 2012 年 12 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-16355-2/R · 16356

定 价: 69.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

(凡属印装质量问题请与本社销售中心联系退换)



编者名单

主 编 柯跃斌 郑荣梁

副主编 崔凤梅 李煌元 方呈祥

主 审 赵金垣 庄志雄

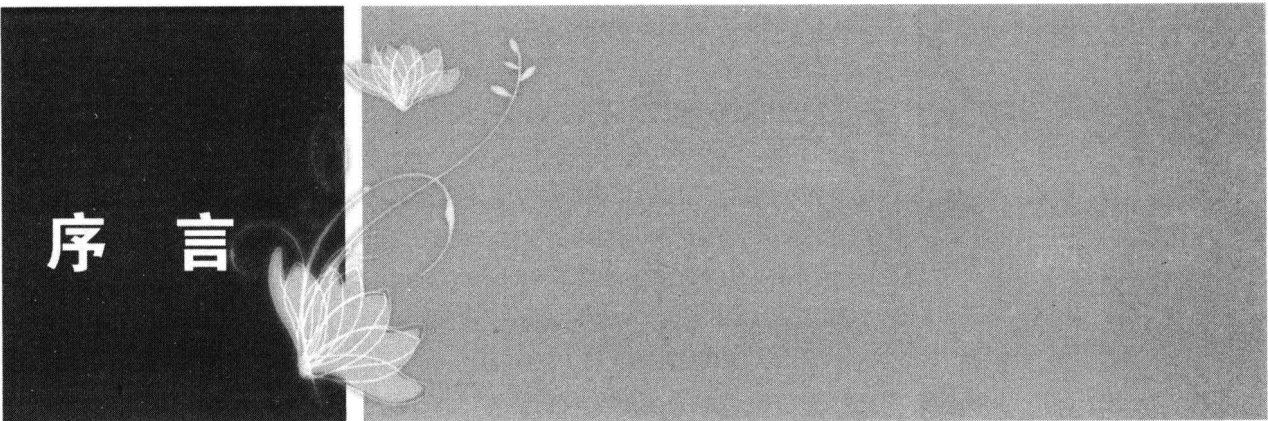
编 委 (按姓氏笔画排序)

王 旗	北京大学医学部公共卫生学院
王江峰	浙江浙商企业家健康服务中心
王春明	兰州大学生命科学学院
方呈祥	武汉大学生命科学学院
孔德华	浙江大学农业与生物技术学院
庄志雄	深圳市疾病预防控制中心
孙贵范	中国医科大学公共卫生学院
李 冰	中国医科大学公共卫生学院
李煌元	福建医科大学公共卫生学院
吴 媚	四川大学华西公共卫生学院
陈传德	香港大学深圳医院
林昌俊	兰州大学生命科学学院
周 云	清华大学化学系
郑荣梁	兰州大学生命科学学院
郑秋生	石河子大学药学院
赵金垣	北京大学第三医院
柯跃斌	深圳市疾病预防控制中心
贾 光	北京大学医学部公共卫生学院
徐德祥	安徽医科大学公共卫生学院
唐焕文	广东医学院公共卫生学院
崔凤梅	苏州大学医学部放射医学与防护学院
强亦忠	苏州大学医学生物技术研究所



编者 (按姓氏笔画排序)

- 卫涛涛 中国科学院生物物理研究所
王岳飞 浙江大学农业与生物技术学院
巴 特 北京大学医学部公共卫生学院
石 年 华中科技大学公共卫生学院
卢乃浩 华中科技大学化学与化工学院
刘和亮 河北联合大学公共卫生学院
刘建军 深圳市疾病预防控制中心
关 里 北京大学第三医院
李 昕 中国医科大学公共卫生学院
杨细飞 深圳市疾病预防控制中心
沙 炎 深圳市职业病防治院
张雁林 北京大学第三医院
张锦周 深圳市疾病预防控制中心
陈 田 北京大学医学部公共卫生学院
陈 秋 苏州大学医学部放射医学与防护学院
陈晓燕 深圳市疾病预防控制中心
陈裕明 中山大学公共卫生学院
明志君 苏州大学医学部药学院
赵赞梅 北京大学第三医院
姚三巧 河北联合大学公共卫生学院
莫 继 深圳市疾病预防控制中心
徐新云 深圳市疾病预防控制中心
郭 健 北京大学医学部公共卫生学院
陶功华 深圳市疾病预防控制中心
黄海燕 深圳市疾病预防控制中心
谭晓荣 河南工业大学生物工程学院



序 言

生物体内一定的自由基水平是维持正常生命活动所必需的,自由基与细胞的增殖、分化、凋亡、坏死等多种病理、生理现象密切相关。正常情况下,机体的氧化与抗氧化处于一种动态的平衡之中,但由于各种原因,如某些外源化合物、电离辐射或机体自身的抗氧化防御体系受损等,均可使机体的自由基水平明显增高,机体的氧化与抗氧化失衡,导致机体的氧化应激。过量的自由基特别是活性氧自由基,可以攻击包括 DNA 在内的几乎所有的生物分子,产生多种不同的后果(如癌症、心血管病、畸形及衰老等)。预防自由基在体内的过多产生以及消除所产生的过多自由基被认为是预防和控制主要慢性非传染性疾病的重要途径。为此,自由基毒理学近年来成为生物医学的一个重要研究热点。

近 20 年来,新理论、新技术和新方法的应用赋予自由基毒理学研究新的活力。使之发生了前所未有的巨大进展,而这些进展的取得,在很大程度上得益于科学新思想的渗透和新技术的应用。特别是分子生物学、生物化学、细胞学理论和技术的飞速发展,赋予了毒理学工作者新的启迪和工具,从而改变了毒理学研究的基本格局,毒理学学科向微观和宏观两方面发展,分科越来越细,真正实现了从整体和器官水平向细胞和分子水平的飞跃,自由基毒理学正是在这样的背景下发展起来的。

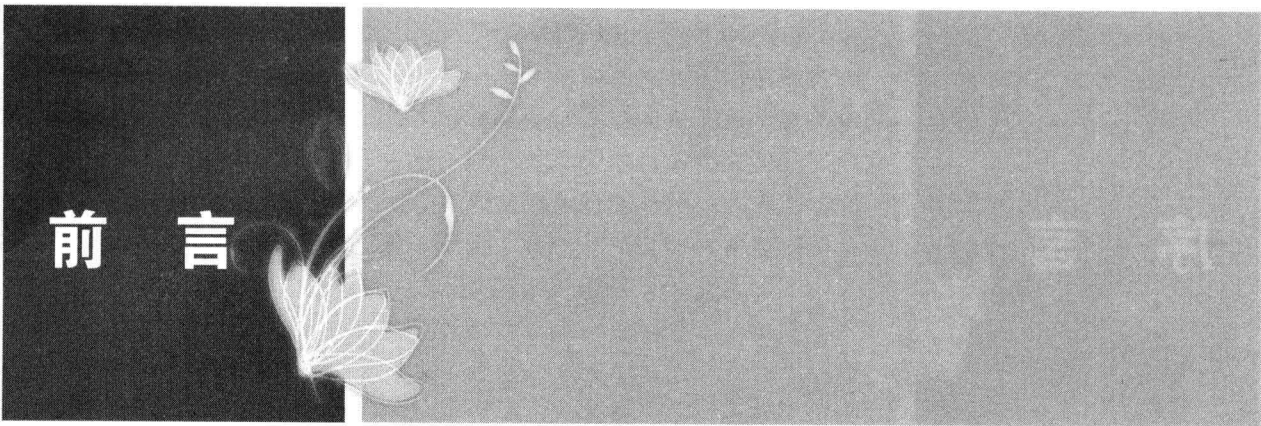
作为国内第一部自由基毒理学领域的专著,该书主要包括自由基毒理学基础、自由基的毒作用机制、环境因子的自由基毒作用、自由基介导的组织损伤、自由基毒理学研究方法与技术、自由基毒理学前沿领域等内容。使该书具有系统性、完整性和先进性。

难能可贵的是,该书是在老一辈毒理学家的支持帮助下,由一批中青年科技工作者编写而成的,有继承也有发展,文中折射的思想活跃而敏锐,使该书具有新、全、要、清四大特点。参考文献多是近五年发表的优秀著作,书中许多精美插图都是作者自己精心设计制作。其中第五章涉及自由基毒理学研究方法与技术,主要引用了国际著名期刊 *Free Radic Biol Med* 中介绍的最新研究方法与技术,方便读者学以致用,具有可操作性,因此是一部不可多得的专业参考书。

中国工程院院士,中国毒理学会名誉理事长

陈君石

2012 年 8 月



前言

自由基毒理学是一门年轻的学科。1997 年 Kendall B. Wallace 发表了专著 *Free Radical Toxicology* (《自由基毒理学》), 标志着自由基毒理学正式成为一门新的科学。但该著作主要内容仅限于自由基化学和自由基靶器官毒性作用, 作为一门学科其体系显然不够完善和系统。目前国内关于自由基生物学和医学方面已有少量著述, 但还没有一部关于自由基毒理学的专著。

为促进自由基生物医学进一步深入和发展, 并对现代毒理学作必要补充和完善, 把自由基生物医学和现代毒理学有机地结合为一个整体学说, 形成了一门新的学科——自由基毒理学。在赵金垣教授、庄志雄教授和郑荣梁教授的支持下, 我们以中华预防医学会自由基预防医学专业委员会和中国毒理学会有关专业骨干为班底, 会聚近 20 余所高等院校和科研院所的学科精英, 总结国内外自由基毒理学领域的最新研究成果, 结合工作中的思考, 编著了体系更完善的《自由基毒理学》。

发扬学术民主, 本书篇章结构的形成凝聚了大家的智慧。我们于 2009 年 12 月在深圳召开了《自由基毒理学》编委会议。我国著名毒理学家赵金垣教授和庄志雄教授及人民卫生出版社资深编辑再学老师亲临指导, 中华预防医学会自由基预防医学专业委员会及中国毒理学会的知名教授和各专业优秀学者, 群英荟萃, 大家群策群力, 提出了许多的宝贵意见。2011 年 2 月, 在编著处于最困难的时期, 郑荣梁教授、强亦忠教授再赴深圳, 给予大力支持, 并主持编撰和审稿工作, 使初稿在不断修改后得到完善。徐德祥教授严谨治学, 在繁忙的科教工作之余亲自撰稿。崔凤梅副教授在关键时刻顾全大局, 勇挑重担, 做了大量扎实的工作。笔者为对每一位作者的辛勤劳动负责, 坚持不懈, 牺牲发表 SCI 论文的时间, 连续三个春节全部投入编撰工作。正是因为有这样一批专家的鼎力支持和热情参与, 我们才终于战胜重重困难, 完成了一个几乎不可能完成的任务。

为体现学术创新, 我们没有参考 Kendall B. Wallace 的 *Free Radical Toxicology*, 所以本书具有一定的原创性。但因编者水平有限, 时间仓促, 书中存在错误在所难免。由于参考文献条目太多, 限于篇幅, 我们未能一一列举, 如有疏漏敬请海涵。

真诚希望本书能作为一块铺路石, 在同行编著有关自由基毒理学方面的书时少走弯路, 使自由基毒理学这门学科更加新颖、科学、系统、完整。

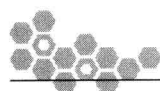
谨以此书献给我们心灵交流的园地——中华预防医学会自由基预防医学专业委员会。

柯跃斌

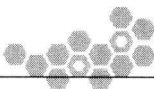
2012 年 10 月

目 录

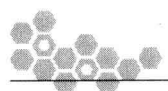
第一章 自由基毒理学基础.....	1
第一节 绪论.....	1
一、概述.....	1
二、毒理学中自由基的概念.....	2
三、自由基毒理学的定义、特征及基本概念.....	2
四、自由基毒理学的研究对象、任务、内容和研究方法.....	5
五、自由基毒理学的研究现状和发展展望.....	6
第二节 自由基的特性与自由基反应.....	11
一、自由基的特性.....	11
二、自由基的产生.....	12
三、自由基反应.....	13
四、自由基的清除.....	16
第三节 活性氧及其生理作用.....	16
一、概述.....	16
二、活性氧的产生及反应.....	16
三、活性氧的生理作用.....	21
第四节 活性氮及其生理作用.....	29
一、概述.....	29
二、活性氮的产生与反应.....	29
三、一氧化氮的生理作用.....	32
四、ONOO ⁻ 的生理作用.....	36
第五节 化学物质的氧化与抗氧化作用.....	37
一、化学物质的氧化作用.....	37
二、化学物质的抗氧化作用.....	40
第二章 自由基的毒作用机制.....	51
第一节 自由基的生物学反应.....	51
一、自由基介导的生物小分子损伤.....	51
二、自由基介导的生物大分子损伤.....	54
第二节 毒物作用的自由基机制.....	74
一、毒物中毒的基本过程.....	74
二、中毒过程中自由基的生成.....	75



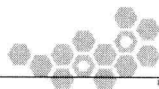
三、自由基对生物大分子的损伤	78
四、毒物解毒	79
五、氧化性损伤的修复	80
六、凋亡	81
第三节 活性氧与信号传导及受体	82
一、活性氧与配体/受体相关信号	82
二、活性氧与第二信使	84
三、活性氧与蛋白磷酸化	84
四、活性氧的信号传导机制	85
五、NADPH 氧化酶相关信号参与自由基的毒作用机制	86
六、小结	87
第四节 活性氧与基因表达	87
一、活性氧调控基因结构的活化	87
二、活性氧调控转录因子	88
三、活性氧对基因转录后的调控——对 miRNA 的调控	91
四、活性氧对基因翻译后的调控	92
五、小结	92
第五节 活性氧与细胞功能和细胞效应	92
一、活性氧对生物大分子的损伤	93
二、活性氧与细胞周期及细胞增殖	94
三、活性氧与细胞分化	94
四、活性氧与细胞凋亡	95
五、活性氧与细胞迁移	96
六、小结	97
第三章 环境因子的自由基毒作用	102
第一节 自由基介导的环境物理因子毒作用	102
一、电离辐射	102
二、非电离辐射	108
第二节 自由基介导的环境化学因子毒作用	111
一、金属	111
二、砷	120
三、苯系物	127
四、多环芳烃	133
五、汽车尾气	139
六、香烟	144
七、大气颗粒物	148
八、二氧化硅	155
九、过度给氧	159
十、农药	165
十一、药物	169
十二、阿片类药物	175
第三节 自由基介导的环境生物因子毒作用	181
一、非酶促反应产生的环境生物因子	181



二、酶促反应产生的环境生物因子·····	182
三、几种代表性由自由基介导的环境生物因子的毒作用·····	182
第四章 自由基介导的组织损伤·····	191
第一节 氧化应激与肺损伤·····	191
一、呼吸系统的结构功能概述·····	191
二、自由基介导的肺疾病概述·····	192
三、自由基引起肺损伤的机制·····	193
四、自由基介导的肺损伤类型·····	194
五、某些环境因子与呼吸系统的氧化损伤·····	195
六、其他有关方面的问题与展望·····	197
第二节 自由基介导的肝脏毒性作用·····	198
一、概述·····	198
二、肝脏结构与功能·····	198
三、肝毒物·····	199
四、外源性化学物对肝脏的毒性作用及其机制·····	200
五、氧自由基对肝损害的检测与评价·····	202
第三节 自由基介导的肾损伤·····	206
一、概述·····	206
二、自由基对肾细胞和肾间质的损伤·····	207
三、自由基介导的各种因素引起的肾损伤·····	207
四、抗氧化剂的保护作用·····	212
第四节 氧自由基介导的心血管损伤·····	212
一、概述·····	212
二、心血管系统的结构和功能·····	213
三、氧自由基和血管损伤·····	214
四、动脉粥样硬化·····	216
五、心脏损伤·····	217
六、总结与展望·····	217
第五节 氧化应激与神经毒性作用·····	218
一、概述·····	218
二、神经系统的结构和功能·····	219
三、氧化应激和神经退行性疾病·····	220
四、氧化应激的生物化学和神经毒性·····	221
五、氧化应激在 AD 中的作用·····	223
六、氧化应激在 PD 发病机制中的作用·····	224
七、氧化应激在肌萎缩侧索硬化症中的作用·····	226
八、氧化应激在 MS 中的作用·····	227
九、总结与展望·····	228
第六节 氧化应激对胰腺的影响·····	228
一、胰腺的结构和功能·····	229
二、氧化应激与急性胰腺炎·····	230
三、氧化应激与慢性胰腺炎·····	232
四、氧化应激与胰腺癌·····	233



五、氧化应激与其他胰腺疾病	233
六、总结与展望	233
第七节 氧化应激的皮肤毒性作用	234
一、概述	234
二、皮肤的结构和功能	234
三、作用于皮肤的氧化剂	235
四、作用于皮肤的抗氧化剂	237
五、氧化剂与皮肤肿瘤	238
六、皮肤疾病中氧化剂的作用	239
七、饮食干预及代谢转化	240
八、总结与展望	242
第八节 氧化应激与生殖毒作用	242
一、概述	242
二、外源化学物生殖毒作用靶	243
三、氧化应激引起的生殖毒作用	245
四、精子氧化性损伤的检测	249
第五章 自由基毒理学研究方法与技术	254
第一节 概述	254
第二节 自由基及抗氧化物的测定方法	255
一、常用测定方法概述	255
二、活性氧的测定方法	257
三、脂质过氧化的测定	263
四、抗氧化酶类的测定方法与技术	271
五、抗氧化类物质的测定	273
六、抗氧化能力的测定	275
第三节 其他活性物种的测定方法	276
一、一氧化氮与一氧化氮合酶的测定	276
二、硫化氢的测定	278
第四节 体内氧化应激的检测	281
一、小鼠肝脏缺血再灌注损伤模型的应用	281
二、F ₂ -异前列腺素的定量方法	283
第五节 某些生物因子的应用技术	284
一、λ 原噬菌体的应用	284
二、低表达细胞株的建立与应用	291
第六节 其他自由基毒理学的研究方法与技术	295
一、细胞氧化损伤	295
二、DNA 氧化损伤与基因表达	297
三、蛋白质氧化损伤检测方法	297
四、氧化损伤标志物的检测	300
第六章 自由基毒理学研究的前沿领域	305
第一节 DNA 氧化损伤的修复机制	305
一、DNA 氧化性损伤的酶性修复	305



二、DNA 氧化性损伤的非酶性修复	309
第二节 氧化应激与突变	313
一、自由基诱发的基因突变	313
二、自由基诱发的染色体畸变	315
三、抗氧化剂的抗突变作用	315
第三节 氧化应激与癌变	316
一、致癌物代谢产生自由基的致癌作用	316
二、自由基致癌机制	319
三、自由基与癌的进展和预后	320
四、自由基与癌的防治	321
第四节 氧化应激与致畸	322
一、概述	322
二、氧化应激及其形成过程	322
三、氧化应激诱发胚胎致畸的分子机制	323
四、展望	327
第五节 中医药与自由基	327
一、概述	327
二、自由基与中医证型	327
三、中药的抗氧化作用机制	329
四、自由基与中医药的发展趋势	331
第六节 自由基与端粒和端粒酶	333
一、端粒和端粒酶概述	333
二、自由基与端粒	334
三、自由基与端粒酶	337
第七节 纳米材料与自由基	340
一、概述	340
二、纳米材料的自由基效应	340
三、影响纳米材料产生自由基能力的因素	341
四、纳米材料诱导自由基产生的机制	343
五、小结	344
第八节 自由基与表观遗传效应	344
一、概述	344
二、基因表达的表观遗传调控及机制	344
三、DNA 氧化与 DNA 甲基化的关联	346
四、自由基与表观遗传	347
五、表观遗传与疾病	347
六、氧化、甲基化与生命进程	349
七、表观基因组与人类表观基因组计划	350
缩写词	355
英中文名词对照	361
中英文名词对照	374

第一章

自由基毒理学基础

第一节 绪 论

一、概述

1900 年, M. Gomberg 首次发现三苯甲基自由基, 从而出现了自由基的概念。1929 年, 人们又发现了寿命更短的甲基自由基和乙基自由基, 使自由基的存在得到了进一步的确认。自由基生物学萌芽于 20 世纪 40 年代, 1968 年 I. Fridovich 和 J. McCord 师生发现了超氧化物歧化酶(SOD), 首次揭示自由基与机体的密切联系, 至此自由基生物学从生物物理学领域扩展到生物化学、细胞生物学、医药学、环境科学和毒理学等广泛领域。我国自由基生物学创始于 20 世纪 60 年代初, 中国科学院生物物理研究所、军事医学科学院和兰州大学生物系等机构配合原子能和平利用的研究发表了早期的研究论文。进入 20 世纪 80 年代后, 随着现代检测分析技术的迅速发展, 生物学和医学领域内有关自由基反应的研究也得到了飞速发展。1982 年国际自由基研究学会成立, T. F. Slater 任首届主席。1986 年在中国生物物理学会领导下成立了中国自由基生物学与自由基医学专业委员会, 方允中任首届主任。当时在我国, 方允中教授、郑荣梁教授等在自由基生物学, 陈瑗教授等在自由基医学方面做了大量工作。

与自由基生物医学的发展几乎同步, 20 世纪 20 年代, 许多事件的发生促成现代毒理学雏形的形成, 如砷化物治疗梅毒导致的中毒事件。第二次世界大战时期毒理学快速发展, 20 世纪 40 年代前后, 机制毒理学研究使人们加深了对许多化学物毒性作用的了解, 并研制出多种解毒剂, Miller 夫妇发现了活性中间体在致癌中的作用以及混合功能氧化酶在内质网中的作用, 这些发现以及 1944 年的纸色谱法和 1948 年的放射性标记二苯并蒽的应用, 促进了对细胞色素 P450 蛋白家族的大量研究工作的开展。人们逐渐认识到自由基在毒理学作用机制上的广泛性。1965 年成立了国际毒理学协会。20 世纪 60 年代后 5 年, 由于发展了化学物的超痕量(10^{-9})分析和快速检测点突变的技术, 以及在研究 TCDD 的毒性机制后发现芳烃受体(AhR)是一种高亲和力的细胞结合蛋白, 毒理学迅速发展并逐步形成了细胞毒理学、分子毒理学、受体毒理学等新的分支学科, 20 世纪 70 年代至 80 年代, 涉及毒理学的相关专著、期刊和学会呈指数扩展。国内于 1993 年成立了中国毒理学会, 历任理事长是吴德昌院士、叶常青教授、庄志雄教授。1987 年, 刘毓谷教授主编了《卫生毒理学基础》, (1996 年再版), 2000 年张桥教授主编该教材第 3 版。2003 年, 王心如、周宗灿教授共同主编了《毒理学基础》。

1997 年 Kendall B. Wallace 发表了专著 *Free Radical Toxicology*(《自由基毒理学》), 标志着自由基毒理学正式成为一门新的学科, 但该著作主要内容限于自由基化学和自由基靶器官毒性作用。2005 年成立了中华预防医学会自由基预防医学专业委员会, 赵金垣教授任主任委员。在郑荣梁教授、赵金垣教授和庄志雄教授的支持下, 我们以中华预防医学会自由基预防医学专业委员会和中国毒理学会有关专业骨干为班底, 总结国内外自由基毒理学领域的最新研究成果, 结合工作中的思考, 编著了体系更完善的《自由基毒

理学》。

二、毒理学中自由基的概念

一切物质都是由原子组成的,不同能量的电子分布在离原子核不同距离的原子轨道上,每个原子轨道上最多只能分布两个电子,它们自旋的方向必须相反,称为成对电子(paired electrons)。距原子核最远的电子能量最高,称为价电子,它可以与其他原子或分子的电子结合成共价键。当 A 与 B 两个分子或原子形成共价键时,就可用 A:B 来表示。构成共价键的两个电子既可以由 A 或 B 中任一个分子或原子提供,也可以由 A 和 B 各贡献一个电子,但这两个电子的自旋方向相反。外界物理能量和化学能量都可能使共价键断裂。构成共价键的两个电子有可能由 A 或 B 独占,称为异裂;也可能由 A 或 B 各分得一个电子,称为均裂:



均裂后 A 和 B 各得到一个电子,不再成对,称为不成对电子(unpaired electron)。这些独立存在的、具有不成对电子的分子或原子、离子和基团就定义为自由基(free radical)。可见,自由基是指含有一个或一个以上不成对电子的任何原子、分子、离子和基团,主要由化合物中共价键的均裂所致。

自由基既可以是原子或分子,也可以是带有正或负电荷的离子,还可以是作为分子片段的基团,其共同特征是最外层的电子不成对。有些过渡金属(transition metal)元素也具有不成对电子,不过这些不成对电子存在于电子层的内层而非外层,它们不是自由基。

毒理学中的自由基则主要是指非结合状态的自由基,此种自由基具有极高的反应活性,通过自由基的连锁反应,可以在自由基的产生部位或远离其产生部位的其他部位,攻击包括 DNA、蛋白质、脂质、糖类在内的几乎所有的生物分子,产生严重的损害作用。在与生物机体有关的自由基中,活性氧自由基(ROS)最为重要;同时,机体中也存在稳定的笼蔽自由基(caged radical),如线粒体电子转运过程中的自由基,它们不会攻击其他生物分子,而以一种稳定的状态存在。

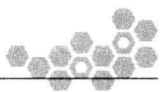
研究表明,与生物体有关的自由基,主要有 O 中心自由基(如:羟基自由基 $\cdot OH$ 、超氧阴离子自由基 $O_2\cdot$ 、烷氧化物自由基 $LO\cdot$ 、过氧化物自由基 $LOO\cdot$ 等)、N 中心自由基(如:苯基二胍自由基 $C_6H_5N=N\cdot$ 等)、S 中心自由基(如:烷硫自由基 $R-S\cdot$ 等)、C 中心自由基(如:三氯甲基自由基 $CCL_3\cdot$ 等)、H 中心自由基(如:H 原子等)、过渡金属离子(如: Fe^{2+}/Fe^{3+})等。在自由基对 DNA、蛋白质、脂质、糖类等生物分子发生攻击的过程中,主要发生氢抽提反应、电子转移反应、加成反应、终止反应及歧化反应等 5 种基本的自由基反应。

三、自由基毒理学的定义、特征及基本概念

自由基毒理学(free radical toxicology)是研究环境因子通过自由基及其代谢产物对人类及其他生物体(living organisms)的损伤、毒性效应或有害影响(adverse effects)及其作用规律的一门学科。现代自由基毒理学发展为研究环境因素(物理、化学和生物因素)通过自由基及其代谢产物与人体及其他生物体交互作用导致损害作用的学科。它不仅是现代毒理学的一个重要分支,也是自由基生物学和自由基医学的重要组成部分。

生物体内一定的自由基水平是维持正常生命活动所必需的,自由基与细胞的增殖、分化、凋亡、坏死等多种病理、生理现象密切相关。正常情况下,机体的氧化与抗氧化处于一种动态的平衡之中,但由于各种原因,如某些外源化合物、电离辐射或机体自身的抗氧化防御体系受损等,均可使机体的自由基水平明显增高,机体的氧化与抗氧化失衡,导致机体的氧化应激。过量的自由基特别是活性氧自由基,可以攻击包括 DNA 在内的几乎所有的生物分子,产生损伤,从而引发多种不同的后果(如肿瘤、畸形及衰老等)。近年来,自由基学说成了毒理学领域研究的热点之一。

许多外来化学物的毒性涉及代谢活化,这个过程常伴有单电子氧化还原机制,即通过自由基介导,反应中产生的自由基可以是毒作用的直接原因,也可以启动次级反应产生氧自由基等,还可以仅仅作为产生



毒性终产物的中介。

越来越多的证据表明,自由基和活性氧对细胞功能有许多微妙的调控作用。这种调控作用可能产生一些非预期后果,而不一定会直接杀伤细胞。

氧化产物也可以参与到淋巴细胞分化过程中,它至少是导致细胞凋亡的机制之一。氧化剂之所以引起这种改变可能是产生于外源性物质或者是细胞因子的一种特别的反应。

尽管氧化剂如何影响这些调控机制还不完全明确,但是谷胱甘肽、硫醇类显然起到十分重要的作用。氧化还原状态对细胞的代谢十分重要,氧化还原状态的变化或者特定硫醇的氧化可以导致特定蛋白(酶)的激活或抑制等。

本书系统地论述了自由基毒理学,介绍了自由基毒理学的基本概念和基础理论,自由基的毒作用机制,深入详尽地讨论了重要环境因子的自由基毒作用和自由基介导的组织损伤,介绍了自由基毒理学研究方法与技术,并探讨了自由基毒理学某些前沿领域的问题。全书分成六大章节。本书把自由基生物与自由基医学和现代毒理学有机地结合为一个整体,形成了一门新的学科,是对自由基生物与自由基医学的深入和拓展,也是对现代毒理学的必要补充和完善。

(一) 毒性及其影响因素

在自由基毒理学中,毒性(toxicity)指环境因子如化学物质(通过自由基)造成机体损害的能力。在同等剂量下,对机体损害能力越大的化学物质,其毒性越大。相对于同一损害指标,需要剂量越小的化学物质,其毒性越大。如同“毒物”和“非毒物”是相对的一样,化学物质的毒性大小也是相对的。只要达到一定的剂量水平,化学物质就具有毒性,而如果低于某一剂量水平时,不具有毒性。因此,剂量是化学物质毒性的决定因素。

除了剂量外,接触条件如接触途径、接触期限、速率和频率等因素对化学物质的毒性及其性质也有影响。

1. 接触途径 多数情况下,化学物质需要进入血液并随血流到达作用部位才能发挥其毒性,而同一种化学物质经由不同途径(经口、皮肤、呼吸道等)与机体接触时,其吸收系数(即入血量与接触量之比)是不同的。例如,经静脉染毒时,化学物质直接入血,吸收系数为1,即完全被吸收,通常表现出的毒性也最高。静脉外其他途径染毒,一般吸收系数都小于1,表现出的毒性也相对较低。经口染毒时,化学物质在胃肠道吸收后经由门静脉系统到达肝脏被代谢。在这种情况下,代谢产物的毒性直接影响化学物质对机体的损害能力。

2. 接触期限、速率和频率 在毒理学研究中,通常按给动物染毒的时间长短分为急性、亚慢性和慢性毒性试验。急性毒性试验为1次或24小时内多次对实验动物高剂量染毒,而亚慢性和慢性毒性试验则为较长时间内(至少1个月以上)对动物反复多次低剂量染毒。许多化学物质的急性染毒与较长时间染毒的毒性表现不同,一般前者迅速而剧烈,后者则相对平缓。除了强度差别外,有时还有性质差别。例如,有机溶剂苯的急性中毒表现是中枢神经系统抑制,而重复接触则导致再生障碍性贫血和白血病。

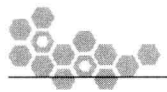
不同化学物质即使染毒剂量相同,但吸收速率不同则中毒表现也将不同。吸收速率快者(如静脉注射)可在短时间内到达作用部位并形成较高浓度,从而表现出较强的毒性。

与时间相关的另一个影响因素是接触频率。对于具体的化学物质而言,接触的间隔时间如短于其生物半减期($t_{1/2}$)时,进入机体的量大于排出量,易于积累至一个高水平,从而引起中毒。反之,如接触的间隔时间长于 $t_{1/2}$ 时,就不易引起中毒(高剂量接触时除外)。

在毒理学研究中,不同阶段的试验可用于观察化学物质的不同毒作用或毒性终点(endpoint)。如急性毒性试验以受试物引起的机体死亡为毒性终点指标;亚慢性、慢性毒性试验以受试物造成的生理、生化、代谢等过程的异常改变为毒性终点指标;而遗传毒理学试验则以受试物导致的基因突变、染色体畸变、畸形、肿瘤形成等为毒性终点。因许多毒性终点之间无法类比,故化学物质的毒性分级标准以终点为基础,如急性毒性根据半数致死量(LD_{50})分级,致畸物则根据致畸指数分级。

(二) 剂量、剂量-量反应关系和剂量-质反应关系

1. 剂量 剂量(dose)有多种表示方式。不但可指机体接触环境因子如化学物质的量或在试验中给予机体受试物的量(外剂量),又可指化学物质被吸收入血的量(内剂量)或到达靶器官并与其相互作用的



量(靶细胞,生物有效剂量)。虽然靶剂量直接决定了化学物质所致机体损伤的性质与强度,但由于检测比较复杂,故毒理学中的剂量通常是指机体接触化学物质的量或给予机体化学物质的量,单位为 mg/kg 、 mg/cm^2 皮肤等。当一种化学物质经由不同途径与机体接触时,其吸收系数与吸收速率各不相同。因此在提及剂量时,必须说明接触途径。

2. 量反应与质反应 反应(response)指环境因子如化学物质与机体接触后(通过自由基)引起的生物学改变,可分为两类:一类属于计量资料,有强度和性质的差别,可以某种测量数值表示。如有机磷农药抑制血中胆碱酯酶活性,其程度可用酶活性单位的测定值表示。这类效应称为量反应(graded response)。另一类效应属于计数资料,没有强度的差别,不能以具体的数值表示,而只能以“阴性或阳性”、“有或无”来表示,如死亡或存活、患病或未患病等,称为质反应(quantal response)。量反应通常用于表示化学物质在个体中引起的毒效应强度的变化,质反应则用于表示化学物质在群体中引起的某种毒效应的发生比例。

3. 剂量-量反应关系和剂量-质反应关系 剂量-量反应关系(graded dose-response relationship)表示环境因子如化学物质的剂量与个体发生的量反应强度之间的关系。如空气中的 CO 浓度增加导致红细胞中碳氧血红蛋白含量随之升高,是表示剂量-量反应关系的实例。

剂量-质反应关系(quantal dose-response relationship)表示化学物质的剂量与某一群体中质反应发生率之间的关系。如在急性吸入毒性试验中,随着苯的浓度增高,各试验组的小鼠死亡率也相应增高,表明存在剂量-质反应关系。

剂量-量反应关系和剂量-质反应系统称为剂量-反应关系,是毒理学的重要概念。化学物质的剂量越大,所致的量反应强度应该越大,或出现的质反应发生率应该越高。在毒理学研究中,剂量-反应关系的存在被视为受试物与机体损伤之间存在因果关系的证据。当然,前提是排除试验干扰因素造成的假象。

(三) 损害作用与毒作用

化学物质(通过自由基)对机体产生的生物学作用既有损害作用又有非损害作用,但其毒性的具体表现是损害作用。研究损害作用并阐明作用机制是毒理学的主要任务之一。

化学物质的毒作用(toxic effect)是其本身或代谢产物在作用部位达到一定数量并停留一定时间,与组织大分子成分互相作用的结果。毒作用又称为毒效应,是化学物质对机体所致的不良或有害的生物学改变,故又可称为不良效应、损伤作用或损害作用。

但在许多情况下,区别损害作用和非损害作用比较困难,尤其在临床表现出现之前更是如此。一般认为,损害作用与非损害作用之间有以下区别:

1. 损害作用(adverse effect) 环境因子所致的机体生物学改变是持久的,可逆或不可逆的,造成机体功能容量如进食量、体力劳动负荷能力等涉及解剖、生理、生化和行为等方面指标的改变,维持体内稳态的能力下降,对额外应激状态的代偿能力降低以及对其他环境有害因素的易感性增高,使机体正常形态、生长发育过程受到影响,寿命缩短。

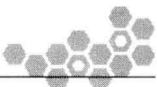
2. 非损害作用(non-adverse effect) 与损害作用不同,非损害作用所致机体发生的一切生物学变化都是暂时和可逆的,应在机体代偿能力范围之内,不造成机体形态、生长发育过程及寿命的改变,不降低机体维持稳态的能力和对额外应激状态代偿的能力,不影响机体的功能容量的各项指标的改变,也不引起机体对其他环境有害因素的易感性增高。

损害作用与非损害作用都属于生物学作用,后者经过量变达到某一水平后可发生质变而转变为前者。由于现有水平的限制,人们对于损害作用的认识尚不完全,现在认为是非损害作用的生物学改变将来可能会被判定为损害作用。随着科学研究的不断深入,检测技术和手段的进步,有关化学物质的毒作用机制在更深层次的阐明,损害作用的指标和概念必将不断得以更新。

(四) 靶器官

外源性化学物质被吸收后可随血流分布到全身多个组织器官,但聚集量各有不同,而其直接发挥毒作用的部位往往只限于一个或几个组织器官,这样的组织器官称为靶器官(target organ)。

许多化学物质有特定的靶器官,它们可以作用于同一个或几个靶器官,这在化学结构与理化性质近似的同系物或同类物中更为多见。如卤代烃都可引起肝脏损伤;苯系物均可通过血-脑脊液屏障而作用于中



枢神经系统。另外,在同一靶器官产生相同毒效应的化学物质,其作用机制可能不同。如苯胺和 CO 均可作用于红细胞,影响其输送氧的功能,但前者使血红蛋白中的 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} ,形成高铁血红蛋白,而后者是直接和血红蛋白结合为碳氧血红蛋白,两者之间表现出作用机制的差异。

组织器官成为化学物质的靶器官是多种因素作用的结果。机体对于化学物质的处置过程、化学物质本身的结构与理化性质、组织器官的组织结构与生理功能、代谢酶的活化状态以及化学物质或其代谢产物与生物大分子如核酸、酶、受体、蛋白质间相互作用的能力等都可以明显地影响化学物质对于特定组织器官的毒作用。

四、自由基毒理学的研究对象、任务、内容和研究方法

自由基毒理学的研究对象包括环境中某些因素(物理、化学及生物等)通过自由基及其代谢产物对人类及其他生物体的损伤、毒性效应或有害影响及其作用规律,特别是通过自由基导致的遗传特性发生改变或 DNA 损伤,是其研究关注的重点。

自由基毒理学是现代毒理学的重要组成部分。因此,自由基毒理学既具有现代毒理学的一些共性,也有其自身特性。

自由基毒理学的主要任务是阐明环境中某些因素(物理、化学及生物等),主要是环境毒物,通过自由基及其代谢产物对人类及其他生物体的损伤、毒性效应或有害影响及其作用规律。探讨自由基与基因的交互作用、自由基诱发性特别是遗传毒性的机制,并对环境因素、自由基及其对生物体的损伤、毒性效应或有害影响进行检测分析,对人体健康的影响与遗传危险度评定,探索自由基对人体早期损害的指标,建立评价预警指标体系。并在此基础上,采取干预措施,确保人体健康。

随着毒理学的迅猛发展,自由基毒理学的研究对象和主要任务也在变化,主要表现为:从整体动物实验到替代试验,从传统毒理学到系统毒理学,从描述毒理学到预测毒理学等方面。

从整体动物实验到替代试验:传统毒理学以整体动物实验为主要研究手段,以发病率和死亡率、病理组织形态学和生化功能改变,以及“致畸、致癌、致突变”效应为主要观察终点,以此类推对人体健康的可能危害。由于人和动物对某些化学物质的代谢存在差异,敏感动物的某些器官组织结构(如兔眼角膜)与人的也不尽相同。有人质疑现有动物实验的设计是否能准确地预示对人体的危害?从伦理角度以及来自公众和动物保护组织的压力,是否一定要用动物实验达到预期目的?1959年 Russel 和 Burch 在《人性动物实验技术原则》一书中提出:正确的科学实验设计应考虑到动物的权益,尽可能减少动物用量,优化完善实验程序或使用其他手段和材料替代动物实验的“3R”原则:第一个“R”是替代试验(replacement),即利用简单的生物系统如培养的细菌细胞、哺乳动物和人的组织、细胞及特殊的动物器官或非生物构建体系等方法取代动物实验;第二个“R”是减少动物的使用数量(reduction),即在保证实验质量的前提下,选择合适的动物和方法,改进实验设计,减少动物用量;第三个“R”是优化(refinement),即指通过改进和完善实验程序,减轻或减少给动物造成的疼痛和不安,提高动物福利。“3R”内容受到各国政府和科学界的高度重视,研究工作和研究成果得到广泛开展和应用。特别在最近 10~15 年,对体外实验方法的研究形成高潮,世界上许多国家已相继建立相应机构进行动物实验体外替代方法的研制和评价。许多研究机构对已建立的替代方法进行了严格的验证,包括评价方法的可靠性、有效性和适用性,并将通过正式验证的方法纳入统一标准,对替代方法的应用进行规范化。

从传统毒理学到系统毒理学(systems toxicology):人类环境基因组计划的主要目标是推进有重要功能意义的环境应答基因多态性的研究,确定它们引起环境暴露致病危险性差异的遗传因素,并以开展和推动环境-基因相互作用对疾病发生影响的人群流行病学研究为最终目的。美国国家环境卫生科学研究所(National Institute of Environmental Health Sciences, NIEHS)于 2000 年成立了国家毒理基因组学研究中心(National Center for Toxicogenomics, NCT),开展毒理基因组学研究,从基因组全局研究外来化合物对基因和基因产物的影响及相互作用。应用基因组的信息与技术,在分子水平上研究化学物的毒性及其毒作用机制。毒理基因组学除了利用微阵列技术进行基因组规模的转录表达谱分析外,还整合了其他研究领域的信息,包括细胞或组织水平的全面蛋白表达谱分析、基因多态性分析、代谢中间产物的整体分析及计算机