

揭阳职业技术学院
生物工程系

授 课 教 案

2025— 2026 学年度第二学期

课程名称 食品毒理学

班 级 食品检验检测技术 241、241 (3+)

教 研 室 食品教研室

授课教师 林潇红

第一章：绪论

授课章节	第一章：绪论				
课时安排	6	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 1、毒理学发展简史 2、食品毒理学的研究方法 3、食品毒理学实验的原则和局限性 4、食品毒理学的发展趋势					
教学目的、要求： 一、知识目标 <ul style="list-style-type: none">掌握食品毒理学基本概念、实验原则及局限性。了解毒理学发展简史、食品毒理学研究方法与发展趋势。 二、技能目标 <ul style="list-style-type: none">能辨析核心概念，结合实验局限性分析实验结果。能简要阐述学科发展关键节点及研究方法应用逻辑。 三、素养目标 <ul style="list-style-type: none">培养严谨科学思维、辩证思维及食品安全责任意识。提升自主学习与归纳总结能力。 四、课程思政 <ul style="list-style-type: none">强化“以人民为中心”理念，引导学生树立守护公众食品安全的责任与担当。					
教学重点、难点： 教学重点：食品毒理学的基本概念、食品毒理学实验的原则和局限性 教学难点：食品毒理学实验的原则和局限性					
教学方法及手段：多媒体讲授					
教学过程： “民以食为天，食以安为先”，食品的安全性直接关系到广大人民的健康和安全，也关系到经济的发展、社会的进步、政局的稳定。进入 21 世纪以来，食品安全事件频发，如 2005 年苏丹红事件和人感染猪链球菌事件、2008 年三聚氰					

胺事件、2009 年地沟油事件、2010 年瘦肉精事件、2011 年毒黄瓜事件和塑化剂事件、2012 年黄金大米事件、2017 年毒鸡蛋风波等，这些事件不仅严重影响食品产业的发展，造成巨大的经济损失，也严重危害人民的身体健康和安全，动摇公众对食品安全和消费的信心。食品安全事件的发生映射出了食品安全监管和应急体系中的漏洞。经过近几年的不断努力，我国食品安全监管部门的应急体系建设正逐步完善，面对食品安全事件采取的应对措施积极，有效降低了食品安全事件的不良影响。食品安全事件的频发也得到一定程度的遏制。然而，我国的食品安全形势仍不容乐观，仍存在着深层次的管理问题和缺陷。食品毒理学的发展为保障和提升食品安全和质量提供了理论和技术支持，肩负着为监管部门提供科学决策依据的时代使命。

第一章 绪论

第一节 食品毒理学概述

食品毒理学是应用毒理学方法，研究食品中有毒有害外源化学物的性质、来源以及对人体健康的损害作用及其作用规律，评价其安全性，并确定其安全限值，以及提出预防管理措施的一门学科。

毒理学既是一门研究外源化学物对生物体的毒性反应、严重程度、发频率和毒性作用机制的科学，也是对毒性作用进行定性和定量评价的科学。毒理学能预测外源因素对人体健康和生态环境的危害，为确定安全限值、制定有关标准和管理方案乃采取防治措施提供科学依据，其基本任务是发现毒性、研究机制、科学管理，以达到预防的目的。

早期，毒理学属于药理学、法医学及病理学研究的范畴，其主要任务是探讨化学物质进入人体后引起的病理变化、毒作用机理、中毒症状和后果，以及寻找有效的解毒方法和治疗方法。继而形成的经典毒理学，是研究化学物质的测定、事故、特性效应和调节的中毒有害作用机理和保护作用的一门学科，主要研究内容是外源性化学物对生

物有机体的有害作用及机理。自 20 世纪 40 年代以来，由于社会生产的快速发展，人工合成的化学物大量进入人类环境，严重污染了环境，导致各种疾病发生，这引起了各国科学工作者的重视，再加上科学技术飞速发展的促进，使毒理学获得了长足进步，形成了多学科交叉的现代毒理学。现代毒理学是研究环境、

物理、化学和生物因素对生物体的毒作用性质、量化机理及防治措施的一门科学，包括毒性作用机制、毒素和毒性测定、化学物质毒性分级以及各种应用毒理学(如食品毒理学、卫生毒理学和机制毒理学)，可为制定法规、申报药品和保健食品提供必要的权威性研究资料及对环境因素进行危险性评价。

卫生毒理学是现代毒理学的一个重要分支学科，属于预防医学的范畴包括环境毒理学、工业毒理学、食品毒理学、农药毒理学、放射毒理学等。作为卫生毒理学的一个分支，食品毒理学也属于预防医学的范畴，它随着预防医学的发展而建立起来，是现代食品卫生学的一个重要组成部分，也是食品质量与安全专业不可或缺的一项知识，它是毒理学的基础知识和研究方法在食品科学中的具体应用。因此，食品毒理学是应用毒理学方法，研究食品中有毒有害外源化学物的性质、来源以及对人体健康的损害作用及其作用规律，评价其安全性，并确定其安全限值，以及提出预防管理措施的一门学科。

二、食品毒理学的学科任务、研究内容和研究对象

食品毒理学的学科任务是:研究食品中毒物的分布、形态及其进入人体的途径与代谢规律，阐明影响中毒发生和发展的各种条件;研究食品中化学物的急性和慢性毒性，特别应明致突变、致畸、致癌和致敏等特殊毒性，提出早期诊断的方法及健康监护措施;研究化学物在食物中的安全限量，评定食品的安全性，制定相关卫生标准。

食品毒理学的研究内容包括:食品中有害物质的来源、化学成分、理化性质在食物中的存在形式，摄人途径，在体内的代谢过程，有害物质的损害作用、毒性性质、大小，毒理机制，安全限量、管理和预防措施等。

食品毒理学的研究对象主要是食品中的有毒有害物质，包括:化学性污染物(如农用化学品、工业化学品、日用化学品、药物、各种环境污染物、重金属元素等)、生物性污染物(如动植物毒素、微生物毒素等)、食品包装材料、食品添加剂、食品中天然存在或加工过程中形成的有害物质等。

三、毒理学的研究领域

目前国际上较为认同的毒理学研究工作可分为以下三个领域:

(1)描述毒理学 利用毒理学基本原理和方法，探讨外源化学物对生物体损害作用，描述和鉴定其毒性。其主要任务是毒性鉴定、发现和描述毒性。它通过观

察和识别外源化学物对人体和环境的影响,包括用动物实验预测外源化学物的潜在危害;对接触人群的直接观察,为外源化学物的安全性评价和管理提供科学依据。

(2)机制毒理学 研究重点是外源性化学物对生物体产生毒作用的细胞、生化和分子机制。通过研究能阐明外源性化学物产生毒性的生物学过程,为建立敏感的预测试验、安全性评价、设计和生产安全性的化学物、化学性疾病的诊断和治疗提供依据。目前,其主要应用领域有:研制解毒剂;验证在人类、实验动物中均发现的毒效应;排除发生在实验动物但与人类可能无关的毒效应;研发、生产较为安全的药物,指导临床合理治疗疾病;老药新用治疗中毒;促进基础学科研究的发展。

(3)管理毒理学 根据描述毒理学和机制毒理学的研究资料进行科学决策;决定各种化学物能否进入人类生产和生活环境中,如进入其危险度能否为人们所接受以及如何防止其危害;协助政府部门制定相关法规条例和管理措施并付诸实施,以确保化学物、药品、食品等进入市场足够安全,达到保护人民群众身心健康的目的。

毒理学的这三个研究领域,每一方面都有其独有的特征,但又相互联系,危险度评价是三者之间关系的核心交叉,如图 1-1 所示。危险度评价是安全评价的进一步发展,是一种定量评价,可以预测化学物在接触人群中引起的有害健康效应的发生率。危险度(risk)是一种统计学概念,是指在特定条件下接触某种水平的化学物而产生健康损害的预期频率,可用绝对危险度或相对危险度表示。

第二节 毒理学发展简史

一、毒理学的起源和发展

毒理学起源于人类早期为获取食物而对各种外源物质进行品尝食用,人类对自然界中存在的有毒物质的认识可以追溯至 5000 年前,而有文字记载的历史约 3500 年。古希腊 Mithndales 六世利用罪犯筛选得到了 50 多种不同的毒物和解药,这是系统研究毒物与人体作用的开端。古埃及人 Ebers Papyrus 记载了颠茄草、铅、铜、锑等多种毒物,并且已经可以从桃仁中提取氢氰酸。古印度人记载了砒霜、鸦片、乌头类等毒物。古印第安人以含毒糖苷的植物种子提取物作为武器。

Pathagoras(公元前 580 年—公元前 498 年)研究了金属对生物体的毒性作用,

提出了中毒的因果关系，为早期毒理学的建立和发展做出了重要贡献。Hippocrates(公元前 460 年—公元前 377 年)提出了古代毒理学的概念，并在其著作中详细阐述了毒物的专业知识。Theophrastus(公元前 370 年—公元前 286 年)撰写了《理论植物学》和《植物学史》，成为重要的早期毒理学教材。Dioscorides(公元前 90 年—公元前 40 年)首先观察了汞的毒性，并对毒物进行了分类。

古代人类对外源性毒物与毒性知识的应用，主要反映在两个方面：一方面，在实践中逐渐积累了用天然毒物治疗疾病和解救中毒的经验；另一方面，将识别和发现的各种天然毒物应用于狩猎、战争冲突和谋杀。

二、近代毒理学的萌芽和发展

1. 萌芽一直到中世纪末期，社会上发生的中毒事件均以毒杀和误服解释。1198 年 Maimonides 发表了世界上第一本有关毒物的专著《毒物及其解毒药(Poisons and Their Antidotes)》，描述了治疗昆虫蜇咬、毒蛇和狂犬咬伤的方法，探讨了生物利用度，注意到牛奶、奶油和黄油可以延缓小肠对毒物的吸收，并且驳斥了某些当时流行的非科学的中毒治疗方法。欧洲文艺复兴时期，著名的医学家瑞士人 Paracelsus(1493-1541 年)最早指出理学实验研究的重要性，明确指出剂量的概念，指出所用物质都是有毒的，没有不是毒物的物质，唯有剂量使之区分为毒物还是药物(All substances are poisons, therein one which is not a poison, The right dose differentiates a poison from a remedy--Paracelsus)。即毒物和非毒物之间没有严格的界限，同一种化学物质，由于使用剂量、对象和方法的不同，则可能是毒物，也可能是非毒物。由此帕拉塞尔萨斯(Paracelsus)(图 1-2 所示)提出了至理名言“The dose makes the poison”，即剂量决定毒性。在此期间他与其他学者共同研究职业性铅中毒、汞中毒、煤烟和烟垢的毒性危害等，并提出了职业毒理学、法医毒理学和环境毒理学的早期概念，对药理学、毒理学、治疗学等生物医学的诸多领域都做出了前所未有的重要贡献，为近代毒理学的起源奠定了基础。

2. 发展进入 19 世纪欧洲工业革命后，由于生产环境的极端恶劣，体力劳动极其繁重又缺乏防护，因而职业中毒非常严重与频繁，如陶瓷工人发生铅中毒，多数采矿工人发生汞中毒、磷中毒，矿工多数患有硅沉着病(旧称硅肺、矽肺)，甲醛中毒也屡见不鲜。为适应当时的需要，许多学者围绕各种职业接触的化学物质开展了大量的实验研究工作，并出版了第一批毒理学书籍，促进了毒理学的迅

速发展。

近代毒理学的研究始于 16 世纪。巴黎大学的西班牙学者 Orfla(1798-1853 年)(图 1-3 所示)首次采用数千只狗作为实验动物对当时认为有毒的物质进行了实验验证,第一次用化学分析方法,系统地阐明了化学物质引起的中毒症状与该物质在机体内的浓度之间存在“剂量-效应(反应)关系”。1815 年,他出版了第一部专门研究化学物质有害作用的毒理学专著,首次提出毒理学是一门独立的学科。因此,Orfla 被视为现代毒理学奠基人。随后,Kobert(1854-1919 年)和 Lewin(1854-1929 年)相继于 1893 年和 1920 年出版了毒理学教科书爱尔兰医师 Marsh(1790-1860 年)创立了砷的检测方法,为现代毒理学和药理学的发展进一步奠定了科学基础。

进入 20 世纪以来,毒理学家们也有很多突出的成就,如对砷及其他一些重金属的毒作用机理探讨(C.Voegthlin, 1924 年),亚硝酸盐及硫代硫酸钠联用对化物中毒的治疗(陈气恢, 1934 年),BAL(二巯基丙醇)对砷中毒的治疗(R.A.Petera 等, 1945 年),对有机磷农药的研究(P.Muer, 1944-1946 年)等,促进了近代毒理学的成熟。19 世纪末到 20 世纪初,近代毒理学成为了一门独立的学科。

但在 20 世纪 50 年代以前,多数的毒理学研究是描述性的,主要依靠形态学的变化进行判断,着重研究中毒的后果、中毒的症状,可认为是药理学和法医学的延伸。

三、现代毒理学阶段

20 世纪后半叶,随着人类面临的食品安全的严峻挑战,现代毒理学逐渐发展起来。由于社会生产的快速发展,外源化学物日渐增多,大量化学物进入人类环境。这些外源化学物对生物界,尤其是对人类的巨大负面效应引起了关注,如震惊世界的反应停事件、水俣病事件、TCDD 污染以及多种化学物的致癌作用等(表 1-1)。毒理学者因此而做了很大努力,做了许多相关的研究工作,加之科学技术的发展,使毒理学研究有了长足的进步。此后,化学物中毒机理的研究也伴随着生理学、化学与物理学的发展而广泛展开,特别是生物化学与遗传学的飞速发展,推动毒理学从不同领域、不同角度、不同深度形成了众多的、交叉的分支学科,为毒理学发展提供了必要的基础理论。可以说现代毒理学的发展和生命科学的发展是同步进行的,生命科学的新理论、新技术又推动了现代毒理学的迅速

发展。如胆碱酯酶抑制剂、有机磷中毒及解毒机制、混合功能氧化酶及细胞色素 P450 对毒物代谢转化作用的研究都促进了现代毒理学的发展。

随着生产发展,外源性化学物的大量使用造成的中毒事件频发引起了人们的重视,欧美各国先后通过了有关外源性化学物的管理法规,规定了新化学物在投放市场前需经过毒理评价,为毒理学的发展提供了社会需求。1906 年美国率先通过了第一部《美国食品与药品法》。1938 年美国建立了美国联邦管理和执法机构--食品和药品管理局(FDA)。20 世纪 50 年代,美国著名的毒理学家 Lehman(1900-1979 年)等人出版的《食品、药品和化妆品中化学物的安全评价》首次被 FDA 指定为毒理学研究的指南。20 世纪 70 年代,美国环境保护局(EPA)开始制定危险度评定方法,并通过了《有毒物质控制法》和《污染治理法》。从 1975 年开始,毒理学的一个新的分支--管理毒理学应运而生,产品安全评价和危险度评定开始成为毒理学研究的主要目的和产物,各种危险度评定的规范和指导原则得以正式颁布。1992 年,美国 EPA 又提出了生态危险度评定的框架,并于 1996 年正式颁布。20 世纪七八十年代,分子生物学技术迅速发展,促进了其在毒理学研究中的应用,分子生物学手段开始在毒理学研究中占据重要地位。此后,毒理学发展进入鼎盛时期,分子毒理学也逐渐形成并快速发展。1986 年,美国 Vanderbi 大学医学院生化系环境毒理学中心更名为分子毒理学中心。1997 年,加拿大 Josephy 出版了《分子毒理学》(Molecular Toxicology)教材。

目前,现代毒理学研究已从传统的自然毒素鉴定和参与药品开发,扩展到识别、评价和控制空气、水、食品、化妆品、动物饲料等人类环境中的外源性化学物,以及这些外源性化学物对人类健康和环境的危害。

四、我国食品毒理学的发展

我们的祖先在毒理学的早期形成中做出了卓越的贡献。神农尝百草时就已开始区分食物、药物与毒物,作为中国最早的一部药物学专著,《神农尝百草》已经有鉴别药物与毒物的典型记载,它将药物按其功用分为上品、中品和下品三类,即无毒可久服的药物、防治一般疾病的药物和有毒的药物;宋代宋慈著《洗冤录》(公元 1247 年),对服毒、解毒和检验毒物的方法有相当系统的记载,是世界上第一部法医毒理学著作;明朝时代《天工开物》一书中不仅描述了有毒物质,而且提出了一些预防生产过程中的中毒防护措施;明代李时珍的《本草纲目》不仅

对许多毒物都有记载，而且对生产性铅中毒的危害做了详尽描述：“铅生山穴石间……其气毒人，若连月不出，则皮肤萎黄，腹胀不能食，多致病而死。”其可视为、为世界上第一部药物学与毒理学的专著。

然而近代以来，我国毒理学研究在很长一段时间内一直停滞不前，直至 20 世纪 50 年代现代毒理学的理论和方法才在我国逐步建立和发展起来。我国食品毒理学早期的代表性工作是 20 世纪 60 年代初开始从事农药残留量标准制定及水果保鲜的研究工作。1975 年，卫生部组织举办了第一期食品毒理学培训班，为各省、市防疫部门和高等院校培养了一大批食品毒理学工作者，并在短时间内形成了一支庞大的食品毒理学队伍，在培训班讲义的基础上于 1978 年修订出版了我国第一部食品毒理学著作，为我国食品毒理学的发展与研究打下了良好的基础。

改革开放后，鉴于国际上毒理学的发展和我国实际需要，我国在一些医学院校的预防医学专业开设了卫生毒理学基础课程。此后，又设立了毒理学硕士学位和博士学位点。20 世纪 80 年代以来，随着食品工业的快速发展，以及食品科学与工程专业的迅速增多，一些院校又相继开设了食品毒理学课程。2002 年教育部批准食品质量与安全专业，许多院校将食品毒理学课程设为必修课或学位课。目前，我国已有 27 所高校或科研院所设立了卫生毒理学博士/硕士一级学科点，其中“985”单位(双一流)10 所，“211”学校 17 所。这些高校或科研院所的卫生毒理学博士生和硕士生研究方向涵盖了环境毒理学、食品毒理学、工业毒理学临床毒理学、药物毒理学、分析毒理学等，每年毕业研究生数百名，为疾病预防控制、卫生监督、卫生行政管理、药物安全评价、高等院校和科研院所等部门输送了大量高水平毒理学科科研技术人才。

20 世纪 80 年代以来，食品毒理学的学术团体与杂志也相继建立和出版。食品毒理学机构派出了大批学者赴美、欧、日等国访问、进修，他们学成归国后及时将国际上食品毒理学最新发展、理论、信息及研究技术带回国内，推动了我国食品毒理学与国际水平的接轨。1989 年，中华预防医学会成立了卫生毒理学及生化毒理学组;1993 年，中国毒理学会(Chinese Society of Toxicology, CST, 以下简称学会)成立，随后成立了 18 个专业委员会，其中包括食品毒理学专业委员会。学会通过举办国际性和全国性的学术会议交流不仅传入了国外的毒理学理论和

技术，同时也将我国的食物毒理学研究成果介绍给了全世界，从总体上推动我国食物毒理学发展到了一个水平，同时缩小了我国食物毒理学与国际先进水平的差距，迎来了我国食物毒理学新的发展时期。1994-1995年，我国颁布和实施了《食物安全性毒理学评价程序和方法》国家标准(GB15193)和《食物安全法》，随后于2003年和2014年两次修订《食物安全性毒理学评价程序和方法》国家标准，目前施行的《食物安全性毒理学评价程序和方法》国家标准(CB15193-2014)于2015年5月1日起正式实施，包括《食物安全性毒理学评价程序》(CB15193.1-2014)《食物毒理学实验室操作规范》(GB15193.2-2014)等17项新标准。2003年，根据《国务院机构改革方案》，在国家药品监督管理局(SDA)的基础上组建成立国家食品药品监督管理局(SFDA, State Food and Drug Administration),除原职能外，负责食物、保健品、化妆品的管理，从此我国食物和药物安全有了全国统一的协调管理机构。2008年，国家食品药品监督管理局归卫生部管理，为其直属机构。2018年成立国家市场监督管理总局，其职能包括了食物药品监督管理等。

第三节 食物毒理学的研究方法

食物毒理学是在药理学的基础上发展起来的综合性学科，需要应用多方面的知识和方法，如生理学、生物化学、遗传学、生态学、免疫学、生物学、微生物学、药理学、病理学、食物卫生学、流行病学、数理统计学、分析化学、仪器分析等才能完成其广泛而多样的研究任务。随着近年来分析化学、生物化学、分子生物学等学科的飞速发展，毒理学的研究方法已从宏观的整体动物实验、临床观察和流行病学研究发展到微观的探索细胞、亚细胞甚至分子水平的有害效应，层次分明地进行深入研究。

一、化学分析法

化学分析法是利用分析化学、物理化学和仪器分析等方法进行提取，研究毒物的化学组成、所含杂质、稳定性、溶解度、解离特性，以及生物材料(血液、尿等)、空气、水、食物和化妆品中的外源性毒物或其代谢产物的分析测定等，有助于毒物作用机理的研究。食物中有毒有害化学物质的化学分析主要采用的仪器有气相色谱(CC)仪、高效液相色谱(HPLC)仪、色质联用(HPLC-MS)仪、串联质谱(MS-MS)仪、原子吸收分光光度计、电耦合等离子发光分光光度计(ICP)、可

见或紫外分光光度计及其他一些常规化学分析仪器等。

二、生物学方法

运用生物学方法观察毒物对生物体的作用，包括生理、生化以及病理学等各方面的变化，以及对中毒事故的治疗或处理。

其中常用的生物学方法又可分为两大类:一类是实验研究，根据采用的方法不同，又可分为体内试验(in vivo test)和体外试验(in vitro test);另一类为流行病学调查。毒理学还利用限定人体试验和流行病学调查直接研究外源性化学物对人体和人群健康的影响

1. 实验研究 (1) 体内试验 电称整体动物试验-一般是以实验动物为模型(model)，按目标动物可能接触的剂量和途径使实验动物在一定时间内，按照一定的途径，接触(exposure)一定剂量的外源化学物之后观察动物出现的形态和功能的变化，确定所发生的毒性效应(effect)与反应(response)，包括外源化学物质对生物体的毒性作用、作用的性质和特征以及中毒的机理等，并最终将此毒理学研究的结果外推(extrapolation)至人，以明外源化学物质对人类危害的严重性、发生的机会与频率、人类中毒的诊断指征与救治措施以及预防中毒的定量的安全评价，以便最终保护人类的健康。通常评价外源性化学物的一般毒性多采用整体动物进行，如急性毒性试验、亚急性毒性试验、亚慢性毒性试验、慢性毒性试验、致畸和繁殖毒性试验等。整体动物实验不仅可以反映食品污染物的综合生物学效应，而且可以反映在动物整体状态下环境污染物的各种生物学效应。

体内试验多采用哺乳动物整体进行，常用的哺乳动物有大鼠、小鼠、豚鼠、家兔、仓鼠、狗、猫、猴等。检测环境污染物的毒性试验，会选用鱼类或其他水生生物，有时还可以用鸟类和昆虫进行试验。①优点:可以严格控制实验条件，如选择最敏感的实验动物品种，控制染毒的剂量和途径:能测定多种类型的毒作用。

②缺点:体内试验影响因素较多，难以进行代谢和机制研究;需要消耗大量的试验动物、时间和经费。

另外，虽然食品毒理学的实验动物多以哺乳动物为主，而且哺乳动物在解剖学、生理学、生物化学及外源化学物在机体内的代谢转化等方面与人类有共性的一面，但是哺乳动物在物种进化上、遗传上及其所决定的生理、生殖等方面毕竟

与人类有着本质的差别，所以在毒理学外推问题上，不论是理论或方法皆应慎之又慎，仍需深入研究。

(2)体外试验根据选用的指示生物不同，食品毒理学实验可分为微生物试验和哺乳动物体外试验。①微生物试验:微生物试验是一种利用受试物的诱变作用和微生物的表型变化来进行外源性化学物诱变性和致癌性的筛选方法。目前，主要用鼠伤寒沙门氏菌基因缺陷型的回复突变试验(*Salmonella typhimurium*/reverse mutation assay)，又称 Ames 试验。该方法是检测基因点突变中最为广泛应用的一种微生物体外实验方法，具有快速、简便、敏感、检出率高的特点，成为毒理学致突变遗传学的终点初筛检测的标准方法，并被各国列为安全性评价的试验内容之一。由于微生物细胞缺乏免疫系统，而哺乳动物具有免疫系统，因此，Ames 试验结果与哺乳动物体内的实际情况会有一些的差异。

②哺乳动物体外试验研究:哺乳动物体外试验研究是利用游离器官、培养的细胞或细胞器进行的研究，可分为以下 3 种不同的水平。a.器官水平:包括器官灌流和组织薄片培养两种方法。器官灌流技术是将特定的液体通过血管流经某一离体的脏器，借此可使离体脏器在一定时间内保持生活状态，与受试化学物接触，观察在该脏器出现的毒害作用，即脏器出现的形态和功能变化以及受试化学物质在脏器中的代谢情况。常用的灌流器官有肝、肾、肺、脑等。这种方法的优点是基本保持器官完整性，常用于毒物代谢的研究。

细胞水平，细胞培养在毒理学研究中应用极广泛，所应用的细胞包括从动物或人的器新分离的细胞即原代细胞(primary cell)，经传代培养的细胞如细胞株 (cell line)为细胞系(cell line)。胞培养可用于外源性化学物毒性和致癌性的各种过试验及解毒药前选，同时，也可用来研究化学物的代谢和中毒机理的探讨。

亚细胞水平，特细胞制成匀浆后，进一步离心分离成为不同的细胞器(organelle)成组分、如线粒体、微粒体、内成网等，进而用于实验。随着差速离心技术的发展，亚细胞平体外试验在毒理学研究中的应用日趋广泛。特别是在研究中毒机理，毒物引起损伤的亚胞定位以及化学物代谢方面有着很重要的意义。

优点:简单、快速、经济，条件易于控制。多用于外源化学物对机体急性毒作用的初光筛检、作用机制和代谢转化过程的深入观察研究。

缺点:体外试验与整体实验不同，缺乏神经-体液调节因素等的控制，不能全

面反映群体状况下的生物学效应:缺乏整体毒物动力学过程,并且难以研究外源化学物的慢性和作用。

体内试验和体外试验各有其优点和局限性,应根据实验研究的目的和要求,采用最适当的方法,并且互相验证。

2.流行病学调查

生物学实验是化学物质安全性评价的必不可少的步骤,特别是新化学物质尚未投入使用,暂时只能根据动物实验资料进行评价。但是若已投入使用,仅仅依靠动物实验资料进行评价,则远远不够。因为动物实验结果与人群中调查结果有很大差距。

流行病学调查方法即采取逆向研究或通过中毒事件,直接对由于种种原因食用了含有性物质的食物或饲料引起不良反应的人群或动物群体进行调查。调查结果可进一步验证动物实验的结果,并获得动物试验所不能获得的资料。流行病学调查主要用于研究疾病、健康和卫生事件的分布及其决定因素。

①优点:一方面,可以研究已知化学物对人群健康的影响(从因到果);另一方面,可对已知疾病的化学物病因进行探索(从果到因)。

②缺点:观察外源化学、物理及生物因素暴露人群的毒性效应大多数为慢性毒性效应所需时间较长;暴露人群的观察指标大多是非特异性的,需要足够的样本量与对照人群比较;外源性因素复杂,种类繁多,多种因素可能有联合作用,难以确定特定的毒性效应及其因果关系。

流行病学调查也可将动物毒性试验的结果在群体中验证,可直接观察对人体健康的影响,为制订有关卫生标准提供依据,以确定是否污染了环境或确保日常生活中所接触的微量物质不呈现任何毒性反应。例如,动物实验证明了 TCDD 为强致畸原,1~3pg/kg 体重就能影响母猴的妊娠过程。但是对于人类的作用就不同了,在意大利的 Seveso 发生过世界上最严重的爆炸性 TCDD 外泄事故,相当大范围居民区的污染量达 4~20ug/m³,居民中不少人患了氯痤疮”(chloranene)。但是,在连续三年对数千名育龄妇女妊娠结果的流行病学调查中未能证实自发性流产、死产或出生缺陷率有所增高。因此,在评判危险性时,实验动物资料与人群流行病学资料要相辅相成。

3.人体观察

通过中毒事故的处理或治疗，可以直接获得关于人体的毒理学资料，这是临床毒理学的主要研究内容。中毒的临床观察指在毒物、药物中毒救治或新药研发过程中出现中毒的临床观察。常见于偶然发生的事故，如误服、自杀、毒性灾害等，通过急性中毒事故的处理和治疗，可直接观察到中毒症状、毒效应的可能靶器官。有时可设计一些不损害人体健康的受控的实验，但仅限于低浓度、短时间的接触，并且毒作用应有可逆性。这类受控的临床研究又称志愿者实验，是在志愿者知情同意、不损害健康和 not 违背医学伦理前提下进行的临床研究。

人体观察可减少由动物实验结果外推于人的不确定性，特别是一些神经毒物出现的毒性效应，如头晕、目眩等，需要通过表达描述了解其中毒症状。

三、新技术和新方法

近年来，一些新技术和新方法快速发展，在毒理学研究中的应用越来越多，如以基因组学、蛋白组学、代谢组学为代表的高通量、高灵敏度的快速检测和研究方法；基于毒性通路的暴露组学技术；基于不断强化的动物保护和 3R(即减少、替代和优化实验动物的使用)概念的替代毒理学技术；基于先进信息工具的数据整合与分析技术和模块研发；基因修饰动物应用于毒理学安全性评价等。这些方法大都具有高通量、低成本且省时经济的特点，测试剂量更加宽泛，更重要的是这些方法大都是非动物测试方法，动物试验被部分替代甚至完全替代。这些新技术新方法的应用必将推动我国食品毒理学学科取得快速蓬勃的发展。

第四节 食品毒理学实验的原则和局限性

食品毒理学实验的原则

在毒理学试验中，应遵循以下几个基本原则。(1)外源性化学物在实验动物产生的作用可以外推于人 基本假设为：①人是最敏感的动物物种；②人和实验动物的生物学过程包括化学物的代谢，与体重(或体表面积)相关。这两个假设也是全部实验生物学和医学的前提。以单位体表面积计算在人产生毒作用的剂量和实验动物通常相近似。而以体重计算则人通常比实验动物敏感，差别可能达 10 倍。因此，可以利用安全系数来计算人的相对安全剂量。已知人致癌物均对某种实验动物具有致癌性，实验动物致癌物是否都对人有致癌性，还不清楚，但这已作为动物致癌试验的基础。

(2)实验动物必须暴露于高剂量，这是发现对人潜在危害的必需的和可靠的

方法此原似的。则是根据质反应的概念，随剂量或暴露增加，群体中效应发生率增加。毒理学试验中，一般要设3个或3个以上剂量组，以观察剂量-反应(效应)关系，确定受试化学物引起毒效应及其毒性参数。毒性试验的设计并不是为了证明化学品的安全性，而是为了表征化学品可能产生的毒作用。仅仅检测受试化学物在人的暴露剂量是否引起毒效应是不够的。当引起毒效应的最低剂量(LOAEL)与人的暴露剂量接近时，说明该化学物不安全。当该剂量与人的暴露剂量有很大的距离(几十倍、几百倍或以上)时，才认为具有一定安全性，此距离越大安全性越可幕。如果在研究中所用的一系列剂量不能引起毒性效应，则认为所用量还不期足够高，应增加前量，以确定受试化学品的毒性，但如果在试验的最高剂量组的量与人可能的暴露剂量有足够的安全界限，则对于安全性评价来说未观察到毒效应的研究是可以接受的。

在毒理学试验中实验模型所需的动物数总是远少于处于危险中的人群数。为了在少量动物中得到有统计学意义的可靠的结果，需要应用相对较高的剂量，以使效应发生的频率足检测。例如，低达0.01%的癌症发生率，这意味着在100万人群中会有100人发生，此发生率太高，不能被公众接受。在实验动物直接检测如此低发几率将至少需要30000只动物因此，别无选择，在毒理学试验中，对相对较少的实验动物必须以较高剂量进行试验，然后局根据毒理学原则外推估计低剂量暴露的危险性。

(3)成年的健康(雄性和雌性未孕)实验动物和人可能的暴露途径是基本的选择选用成年的健康(雄性和雌性未孕)实验动物是为了使实验结果具有代表性和可重复性。以成年健康实验动物作为一般人群的代表性实验模型，而将幼年和老年动物、妊娠的雌性动物疾病状态作为特殊情况另作研究。这样可降低实验对象的多样性，减少实验误差。毒理学实验结果的敏感性取决于受试物处理引起毒效应强度和实验误差两个因素，处理引起的毒效强，实验误差小，则实验结果的敏感性增加，反映受试物处理的真实效应，反之亦然。

在下文所述的实验设计中要规定实验条件，严格控制可能影响毒效应的各种因素，实施质量保证，降低实验误差。只有这样，才能保证试验结果的准确性和可重复性。不能重复的实验结果是没有任何科学价值的。外源化学物以不同途径染毒，实验动物表现的毒性可有很大差异，这是由于染毒部位解剖生理特点不同，

外源化学物吸收进入血液的速度和量也不同，首先到达的器官和组织也不同。因此，毒理学试验中染毒途径的选择，应尽可能模拟人接触该受试物的方式。

二、食品毒理学实验的局限性

历史上，环境污染物及某些药物所引起的中毒和死亡事件多次发生，引起各国的重视推动了毒理学的发展。各国政府主管部门制订和多次修订了有关药品和各种化学品安全性评价的规范或准则，希望在啮齿类和非啮齿类的毒理学研究能为有关候选新药和各种化学品提供安全性证据，但以动物的资料预测人的毒性的预测价值尚有待于研究。有研究表明，对人的毒性约一半不能由临床前(动物)毒性研究预测。有的实验动物的毒性和人的相符率仅有 20%甚至更低。按照目前的规范，进行毒理学安全性评价，可以在一定程度上提高新药和各种化学品的使用安全性，但仍不能完全排除对人健康危害的危险。WHO 在《临床前药物安全性实验原则》的文件中指出“虽然事先对生物活性物质进行了最仔细彻底的研究，但给人使用时总是不可避免地要冒一定的危险”。这就是利用动物实验的局限性，即动物实验的结果外推到人的不确定性。

由上述可知，用实验动物的毒理学实验资料外推到人群接触的安全性时，会有很大的不定性。这是因为，外源化学物的毒性作用受到许多因素的影响。(1) 实验动物和人对外源化学物的反应敏感性不同,有时甚至存在着质的差别:虽然在毒理学实验中通过用两种或两种以上的动物,并尽可能选择与人对毒物反应相似的动物,但要完全避免物种差异是不可能的。而且,由于实验动物不能述说涉及主观感觉的毒效,如疼痛、腹胀、疲乏、头晕、眼花、耳鸣等,这些毒效应就难以或不可能发现。在动物实验中,可观察到体征(sign),而没有症状(aympiom)。(2) 在毒理学实验中,为了寻求毒作用的靶器官,并能在相对少量的动物上就能得到剂量-反应或剂量-效应关系,往往选用较大的染毒剂量,这一剂量通常要比人实际接触的剂量大得多。有些化学物在高剂量和低剂量的毒性作用规律并不一定一致,如大剂量下出现的反应有可能是由于化学物在体内超过了机体的代谢能力,这就存在高剂量向低剂量外推的不确定性。

(3)毒理学实验所用动物数量有限,那些发生率很低的毒性反应,在少量动物中难以发现。而化学物一旦进入市场,接触人群往往会很大。这就存在小数量实验动物到大量人群外推的不确定性。

(4)实验动物一般都是实验室培育的品系，一般选用成年健康动物，反应较单一，而接触人群可以是不同的人种、种族等，而且包括年老体弱及患病的个体，在对外源化学物毒性反应的易感性上存在很大差异。

以上这些均构成了从毒理学动物实验结果向人群安全性评价外推时的不确定因素。

第五节 食品毒理学发展趋势

一、食品毒理学学科发展趋势

随着现代毒理学的发展和分子生物学技术的不断创新与完善，以及新物质和材料的不断涌现，促进了食品毒理学学科的发展及与其他学科的交叉融合，形成了一些新的分支学科和理论体系，如营养毒理学、植物化学物毒理学、保健/功能食品毒理学、纳米食品毒理学、食品微生物危害的毒理学评价和风险评估、营养素/食品/膳食模式的风险/收益评估等。

二、由被动毒理学向主动毒理学发展

主动毒理学或称积极毒理学(positive toxicology)，主要包括发现毒理学(discovery toxicology)、预测毒理学(predictive toxicology)和预发展毒理学(predevelopmental toxicology)等内容。其含义是毒理学家在新产品开发的全部进程中，均应发挥积极主动的指导和决策作用，而不仅仅是在产品开发的中后期参与毒理学安全性评价。目的是在新化学物的创新早期对新化学物进行毒性筛选，及时发现和淘汰因毒性问题不适用于进一步研究开发的化学物或化学结构，或者有针对性地设计一些试验研究，解决某些重要化学物的特异性毒性问题，指导化学物合成，帮助选择先导化学物，从而预测和评价化学物的毒性。

三、由高剂量测试向低剂量测试发展

以基因组表达谱、蛋白质组表达谱、代谢组谱、生物标志物等敏感、特异的毒性指标体系将替代或部分替代以死亡、组织病理学为主的传统毒性指标体系。有可能使毒理学评价从“高剂最询低剂量推导”安成一低剂量原则”，毒理学实验将不再是观察高剂量引起的无效境，而是观察化学物在比较接近常态下的生物学过程，化学物造成健康相的生物学机制、使毒理学成为预防医学的重要组成部分。从面阐明和评价更接近实际条件下暴露对人类和其他生物的毒性效应、解决从高剂量向低剂量外推时不定性带来的误差

四、由低通量测试向高通量测试发展

现行毒性试验均为低通量方法，今后将建立大量中、高通量(highthroughput testing)的毒性试验方法、以满足快速、早期测试新产品的需求。目前，已建立了某些细胞毒性、遗传毒性、胚胎毒性和致畸性的高通量方法，如96孔和384孔板的高通量彗星试验和利用胚胎干细胞的体外模型系统检测遗传毒性等方法

五、生物标志物在食品毒理学研究中的应用

生物标志物在毒理学中的应用显得越来越重要。生物标志物包括反映机体暴露水平的暴露标志物、反映毒性作用的效应标志物和反映个体遗传敏感性的易感标志物在对外源物质进行毒性评价中，一个或多个灵敏的生物标志物组成的标志模型的确立能够为毒性作用的预测提供准确的和早期的依据，大大减少不确定性。尤其在人群流行病学研究中，以生物标志物为手段的监测研究正成为食品毒理学研究的一个热点

六、食品毒理学研究对风险评估的作用

风险评估(risk assessment)是指对人体接触食源性危害因子(化学、生物和物理因子)产生的已知或潜在的健康不良效应的可能性、严重性和不确定性进行科学评价。风险评估包括危害识别，危害特征描述，暴露量评估(特别是摄入量评估)和危险性特征描述等几个步骤。其中，危害识别和危害特征描述主要是通过毒理学的研究资料，包括动物试验、体外试验和人群流行病学资料获得物质的毒性大小和剂量反应关系特征、从而推出人群的安全暴露水平，并根据人群的暴露水平对人群摄入该类物质的风险进行评估，为政府制定标准和监管提供科学的依据，这是当今国际上食品毒理学研究的主要工作内容。因此，食品毒理学的主要研究任务之一就是作为风险评估的基础。

作业布置：

- 1.简述毒理学、食品毒理学及现代毒理学的主要研究内容、任务和目的。
- 2.食品毒理学的研究方法有哪几种？
- 3.描述毒理学、机制毒理学、管理毒理学的研究内容及相互关系是什么？
- 4.毒理学主要分支有哪些？

第二章：毒理学基本概念

授课章节	第二章：毒理学基本概念				
课时安排	6	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、毒物、毒性和毒作用 2、剂量、剂量-量（质）反应关系 3、表示毒性常用指标 4、安全限值 					
<p>教学目的、要求：</p> <p>一、知识目标</p> <ul style="list-style-type: none"> • 掌握毒物、毒性和毒作用的定义，理解并掌握剂量、剂量-量（质）反应关系。 • 掌握表示毒性的常用指标，熟悉安全限值的含义及内容。 <p>二、技能目标</p> <ul style="list-style-type: none"> • 能准确辨析毒物、毒性等核心概念，能解读剂量-量（质）反应关系。 • 能识别常用毒性指标，初步运用安全限值相关知识分析简单问题。 <p>三、素养目标</p> <ul style="list-style-type: none"> • 培养严谨科学思维、辩证思维及食品安全责任意识。 • 提升自主学习与归纳总结能力。 <p>四、课程思政</p> <ul style="list-style-type: none"> • 强化“以人民为中心”理念，引导学生树立守护公众食品安全的责任与担当。 					
<p>教学重点、难点：</p> <p>教学重点：毒物、毒性和毒作用的定义，剂量、剂量-量（质）反应关系，表示毒性的常用指标。</p> <p>教学难点：剂量、剂量-量（质）反应关系</p>					
教学方法及手段：多媒体讲授					
教学过程：					

第二章：毒理学基本概念

第一节 毒物、毒性和毒作用

1. 毒物 (toxicant、poison、toxic agent) :

是指在一定条件下，较小剂量就能引起机体功能性或器质性损伤的化学物质；或剂量虽微，但积累到一定的量，就能干扰或破坏机体的正常的生理功能，引起暂时或持久性的病理变化，甚至危及生命的物质。

化学物的有毒或无毒是相对的，不存在绝对的界线。在一定的条件下，任何一种化学物都有引起机体损害的潜力，而在另一条件下则对人的健康安全无毒。16 世纪著名瑞士医学家、毒理学实验研究的奠基人 Paracelsus 曾说：“物质本身并非毒物，只有在一定剂量下才变成毒物”。化学物的有毒或无毒主要决定于剂量，只能以产生毒效应的剂量大小相对地加以区别(The dose makesthe poison)。通常，凡是在日常可能接触的途径和剂量就能对机体发生损害的化学物称为毒物，而像粮、油、米、面、酱、醋、茶等生活用品就不归为毒物范畴。然而，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，也可引起毒效应。例如，食盐一次服用 15~60g 即有害于健康，一次用量达 200~250g 可因其吸水作用导致电解质严重紊乱引起死亡。

另一方面，接触途径也是使化学物成为毒物的条件。少量食盐经口摄入不会有不良作用，但同量食盐接触眼结膜、角膜或鼻黏膜，就会产生刺激作用，甚至引起溃疡。

人类早期对毒物的概念主要限于动植物中的天然毒素，随后又增加了对微生物毒素的认知。20 世纪 40 年代以后，大量化学合成品进入人类生产生活领域，人类接触的毒物种类迅速增加。根据美国《化学文摘》记载，2002 年登记注册的化学物质总数超过 4000 万种其中具有商业用途超过 65 万种，已投入市场和使用者在 7 万~8 万种，全球每年进入市场的新化学品 1500~2000 种。表 2-1 列举了一些世界上最著名的有毒物质。

食品毒理学中所谓的毒物，主要是指直接或间接污染食品的对人体有害的化学物。包括农用化学物质，如化肥、农药、兽药、生长激素等；生物毒素，如动、植物原料中的天然毒素微生物及其毒素、寄生虫及其毒素；食品加工过程中的食

品添加剂、器皿、包装材料中的有害物质，以及食品加工过程中产生的有毒物质。此外，还有重金属污染物以及放射性元素。毒物根据来源可以分为内源性毒物和外源性毒物两大类。前者指机体自身代谢所形成的毒物，后者主要指外环境中存在的化学物质，与机体接触并进入机体产生危害的物质，是目前毒理学主要的研究对象。

2.毒性：指毒物能引起机体损害的能力。

所引起的损害作用总称为毒作用或毒效应。

毒性较高的化学物在较小的剂量就能引起机体的损伤。

传统上，人们习惯按照毒性大小将毒物分为剧毒、高毒、低毒等。

3.中毒：中毒(poisoning/toxication)是指机体与化学物接触后引起的功能性或器质性的病变，从而引起病理的过程。根据病变发生发展的快慢，可区分为急性中毒、亚急性中毒和慢性中毒。

食物中毒(foodpoisoning)是指食用了被生物性、化学性有毒有害物质污染的食品，或食用了含有有毒物质的食品后出现急性、亚急性食源性疾病的过程。已经列入《中华人民共和国传染病防治法》管理的疾病不在其列。

食物中毒具有以下特征：①突然爆发，潜伏期短；②临床表现相似，且多见胃肠道症状；③易集体发病，但一般无传染性；④发病者均与某种食物有明确的联系，停止食用该种食物后，发病即停止。

毒物毒性的大小，通过生物体所产生的损害性质和程度而表现出来，可用动物实验或其他方法检测。

毒物及其分类

按毒物用途和分布范围分为：

工业化学品：如生产原料、辅料、中间体等；

食品添加剂：如食用色素、香精、防腐剂等；

日常化学品：化妆品、洗涤用品等；

农用化学品：如化肥、杀虫剂等；

医用化学品：如药物、消杀剂等；

环境污染物：如废水、废气、废渣中的各种学物质等；

生物毒素：如动物毒素、植物毒素等；

军事毒物：如芥子气等战争毒素；

放射性物质：如放射性核素、天然放射性元素等。

按化学结构和理化性质分类

按化学结构

芳香胺

卤代碳氢化合物

按理化性质

气体

液体

粉尘

按毒物生物学效应

刺激性、腐蚀性、窒息性、致敏、致癌、诱变和致畸等毒物。

按毒物作用的主要部位

神经系统、造血系统、呼吸系统及肝、肾、眼、皮肤等毒物。

按毒性的级别分类

剧毒、高毒、低毒等

按毒作用的生理生化机制分类

巯基抑制剂、高铁蛋白形成剂等

按毒作用的评价体系分类：

一般毒性（**general toxicity**）：指化学物在一定的剂量范围内经一定的接触时间，按照一定的接触方式产生的全身各系统对外源化学物的毒作用反应，又称基础毒性（**basic toxicity**）

特殊毒性（**specific toxicity**）：指接触化学物质后引起的包括致畸、致癌和致突变作用和生殖毒性，或引起特殊病理改变的毒作用。

二、毒性

1.毒性

毒性(**toxicity**)通常是指某种化学物对生物体的易感部位产生损害作用的能力。毒性是化学物本身固有的特性，一种物质进入生物体后，相同浓度及摄入途径条件下，其损害作用越大、毒性也越大。

一种物质是否有毒、其毒性大小是相对的，关键在于剂量。化学物的剂量(或浓度)与生物体产生中毒反应之间存在着一定的关系，即剂量-效应关系。能引起生物体发生中毒反应的剂量越小(或浓度越低)，则此物质的毒性越大;反之，引起中毒反应的剂量越大(或浓度越高)，则物质的毒性越小。不同化学物对生物体引起毒效应所需的剂量差别很大，毒性高的化学物，如肉毒梭菌毒素，以极小的剂量即可使动物死亡;有些外源化学物，如水只有饮人极大量时才能引起动物中毒，被列为实际无毒的物质。化学物的毒性除了与剂量有关外，还与接触的方式与途径(经口给药、注射给药、经皮给药)、与时间分布(一次给药多次给药)有关。

不同行业中毒物的毒性分级方法不同，我国《食品安全国家标准急性经口毒性试验》(GB15193.3-2014)中以实验动物的 LD₅₀确定食品中化学物毒性等级，将食物中的化学物分为极毒、剧毒、中等毒、低毒、实际无毒 5 个等级(详见第六章)。《中华人民共和国国家职业卫生标准职业性接触毒物危害程度分级》(GBZ230-2010)根据毒性危害指数(THI)将职业性接触毒物分为极度危害(I级)、高度危害(II级)、中度危害(III级)、轻度危害(IV级)4 个级别。

2.影响毒性的因素

毒性作用的发生不仅与化学物的剂量、接触途径、接触期限、吸收速率和接触频率等有密切关系，还与机体的年龄、遗传背景、性别、饮食、生理和健康状况有关。例如，基因的多态性对毒性作用的发生有较为明显的影响。过去认为，原发性高血压的发生与钠摄入量有密切关系，因此原发性高血压病人须严格限制钠的摄入。现在观点认为原发性高血压是遗传、营养和其他环境因素相互作用的结果，约有一半原发性高血压病人的血压变化与钠摄入量有关，其余则与钠摄入量无关，过分限制钠的摄入也会带来一系列钠缺乏症状。因此，限制钠摄入量并不适用于所有高血压患者。

3.选择性毒性

选择性毒性(selective toxicity)是指在接触条件完全相同的情况下，一种化学毒物只对某种生物产生损害作用，而对其他种类生物的毒性较小或无害;或只对生物体内某一组织器官有毒性，而对其他组织器官毒性较小或不具备毒性作用。

许多化学毒物具有选择性毒性。例如，砷可致人类皮肤、肺、肝和胃肠道的癌症，但在实验动物中未发现有此作用;再如镇静药反应停对人和猴等灵长类动

物有致畸作用，但对大鼠和小鼠则无此作用。大多数化学毒物只造成机体一个或几个组织器官的损害，而不能使所有的组织器官受害，这些都是选择性毒性的体现。

外源化学物对机体存在选择性毒性的原因主要有以下几个方面：

(1)物种和细胞学的差异 各物种之间的结构、生理、遗传和代谢等均有差别。如细菌具有细胞壁，青霉素可以通过抑制细菌细胞壁肽聚糖的合成抑杀细菌，而人体细胞没有细胞壁，因此青霉素对人体细胞的毒性作用很低。

(2)化学物生物转化过程的差异不同食物或组织器官对化学物在体内的生物转化过程不同。如细菌不能直接吸收叶酸，通过利用对氨基苯甲酸、谷氨酸和蝶啶来合成叶酸，哺乳动物体内不能合成叶酸。再如，正常情况下，醇在体内先代谢成甲醛进一步转化为甲酸但是人类眼睛中缺少将甲醛转变成甲酸的酶，甲醛能抑制视网膜氧化和磷酸化过程，使视网膜细胞发生恶性变化，进而发展成视神经萎缩，导致失明，因此人类眼睛对甲醇的毒性作用较机体更为敏感。

(3)不同组织器官对化学物的亲和力的差异不同组织器官对化学物的亲和力有较大的差异。如碘与甲状腺具有很高的亲和力，是一种有效的抗甲状腺药。医学上常常用放射性 I-131 治疗甲状腺功能亢进，自 1942 年用此方法治疗第一例甲亢患者以来，该方法已使用有近 70 多年的历史。全世界接受 I-131 治疗的甲亢患者已达 200 万，我国至今也已有 20 余万甲亢病人接受了 I-131 治疗。国内外大量的临床实践证明放射性 I-131 治疗甲亢具有简便安全疗效确切、复发率低、并发症少和费用较低等优点，是放射性核素治疗学最为成熟和应用最广泛的方法。

(4)不同机体或组织器官对化学物所导致损伤的修复能力存在差异一般肝肾等器官的再生能力较强，脱毒后，能较好地修复损伤部位，恢复正常功能；而脑组织的再生能力较差，一旦发生实质性损害则难以降解。例如，化合物 N-甲基-N-亚硝基脲对大鼠诱发的肿瘤主要在胸部，在肝脏中从未发现。这是因为肝脏能有效地将 RNA 和 DNA 分子中形成的 O⁶-烷基-鸟嘌呤进行酶解，而胸部组织中却不存在这种酶解作用。

选择毒性是毒作用的普遍特点，发生在物种之间、个体内和群体内，反映了生物反应的多样性和复杂性。选择性毒性的存在一方面给毒理学评价中用某种实

验动物来预测化学物对人类的毒性效应时带来了非常大的困难或障碍，在一定程度上将实验动物毒性试验的结果外推到人类的过程造成了影响。另一方面，人们又可利用生物的多样性和选择性毒性，开发有选择性毒性的农药来杀灭有害的昆虫、植物，从而保护农作物；研究开发新的人或兽用抗生素，选择性地杀灭机体内的微生物等。选择性毒性的存在对农业、畜牧业和医疗卫生事业等领域都有着重要的理论意义和广泛的实际应用价值。

三、半衰期

半衰期是指外源化学物在血浆中的浓度降低一半所需要的时间。例如，某一化学物在体内的半衰期为 8h，表示在染毒后 8h 血浆中的浓度为最高值的一半，再过 8h 又减少一半，为原来最高浓度时的 1/4。半衰期反映了化学物在机体内消除的情况，半衰期越短在体内消除的越快，它也是影响毒物毒性强度的另一重要因素。

四、毒作用及其类型

毒作用又称毒性作用或毒效应，是化学毒物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或有害效应。毒作用的特点是，在接触化学毒物后，机体表现出各种功能障碍、应激能力下降、维持机体稳态能力降低及对于环境中的其他有害因素敏感性增高等。

毒作用可按照化学物对机体损伤的表现，对毒作用的某个方面和特点从不同的角度进行阐述，其毒作用可以区分为下列类型。

1. 可逆性毒作用和不可逆毒作用

从组织损害的恢复情况即愈后的角度，外源物的毒性作用可分为可逆性毒作用与不可逆性毒作用两类。

(1)可逆性毒作用 是指停止接触外源化学物后其毒性作用可逐渐消失，造成的损伤可逐渐恢复。通常机体接触化学物的浓度越低、时间越短、造成的损伤越轻，则脱离接触后该毒物对机体的毒性作用消失得就越快，所产生的毒作用多是可逆的。

(2)不可逆作用 是指停止接触后毒物后引起的损伤仍继续存在，甚至进一步发展。机体接触的化学物的剂量大、时间长，常产生不可逆的作用。例如，长期吸入生产性粉尘引起的矽肺就是不可逆的。还有致突变、致癌、神经元损伤以及

肝硬化等往往是不可逆的。

有些外来化学物对某些酶的抑制或对某些组织细胞的损伤虽然不可逆，但停止接触后由于酶的重新合成或细胞的增生而得到补偿，使得中毒症状和体征逐渐消退，临床的表面现象为可逆。

外源化学物的毒性作用是否可逆，主要取决于被损伤组织和功能的再生与恢复能力。对于肝脏再生能力强的组织，多数外源化学物对其的轻度损害是可逆的，而对中枢神经系统这样的再生能力很差，甚至不能再生的组织所造成的损害基本上是不可逆的。化学毒物引起组织的形态学改变许多是不可逆作用。

2.速发毒作用与迟发毒作用

(1)速发毒作用 又称即时毒效应，是指某些外源化学物一经与机体接触，在短期内即出现或发生中毒的效应。比较典型的例子是某些化学物质的刺激毒性和腐蚀作用。再如吸入高浓度的一氧化碳、氢氰酸或硫化氢可立即出现中毒，甚至立即死亡。多数引起速发毒性的外源物，一般不会产生迟发毒性作用。

(2)迟发毒作用(delayed toxic effect) 是指机体接触化学物后毒效应需经过一定时间间隔才表现出来。这是由于在接触当时所产生的不可逆损伤并无临床表现，需要较长时间的发展才有所表现的缘故。例如，以三邻甲苯磷酸酯(TOCP)为代表的某些有机磷农药的具有迟发神经毒作用，在急性中毒恢复后 8~14d 又出现肢体麻痹、共济失调等临床表现相当严重的中毒性神经病;母亲在妊娠期间服用己烯雌酚会引起子代青春期阴道癌。化学物的致癌作用，也有较长的潜伏期，一般要在人类从初次接触到观察到肿瘤大多数需要 10~20 年的时间。

3.急性毒性作用和慢性毒性作用急性毒性(acute toxicity)和慢性毒性(chronic toxicity)，是按引起毒作用所需接触次数或期限来区分的。在毒理学实验中，按照染毒(exposure)次数或期限将外源化学物引起的中毒分为四种急性(acute)、亚急性(subacute)、亚慢性(subchronic)、慢性(chronic)染毒试验。急性一般指单次或接触时间不超过 24h;亚急性染毒的期限常为数天至 1 月;亚慢性染毒常为 1~3 月;慢性染毒在半年以上直至终生。相关的毒理学动物试验将在以后的章节中详细介绍。如在纽约、洛杉矶等城市多次发生的光化学烟雾事件便是急性中毒典型事例而在日本发现的水俣病及骨痛病都是由于金属污染物(前者为汞，后者为镉)污染环境，在食物链中富集，经过若干年长期作用下所致的慢性损害。

短期大剂量接触所引起的急性中毒和长期小剂量接触所引起的慢性中毒相比，所发生的毒作用的程度和性质会有差别。如，苯急性中毒主要表现在对中枢神经系统的抑制作用，而慢性中毒则主要表现为骨髓造血系统损害，甚至导致白血病。

同一外源化学物引起急性作用所需剂量比慢性作用每次接触的剂量大。但是不同外源化学物产生急性作用所需剂量可相差很远。如二英(dioxin, TCDD)，其LD为0.001mg/kg体重，比乙醇10000mg/kg体重小10'倍，而布氏杆菌毒素的LD比TCDD还要小10倍。一般而言，急性毒性往往在1次(或24h内多次)接触后不久，即出现临床中表现。

同一种外源化学物急性和慢性毒性损伤的器官、系统和作用机制可能一致，也可能不一致。有些外源化学物只有急性毒性而没有慢性毒性或其慢性毒性不明显，这存在争议。有的外来化学物常见慢性毒性，而很少有急性毒性的发生。

4.局部毒作用和全身毒作用

根据毒作用发生的部位和影响的范围，外源物的毒性效应可分为局部毒作用和全身毒作用。

(1)局部毒作用(localtoxic effect)是指某些化学物在机体最初直接接触的部位造成损伤。如接触或摄入强酸、强碱等腐蚀性物质可直接损伤皮肤、胃肠道;吸入刺激性气体蒸气和雾作用，如氯气、氢氰酸可对呼吸道黏膜、眼结膜或角膜具有刺激作用。这类作用表现为接触部位的细胞广泛受损。

(2)全身毒作用(systemic toxic effect)是指食品中的外源化学物被吸收进入机体后从进入(接触)部位经吸收，随血液循环分布过程到达体内其他组织器官才引起的毒效应其损害一般发生于一定的组织和器官系统。除少数高度活泼的化学物质之外，大多数外源性化学毒物都可引起全身毒作用。如CO与血红蛋白有极强的亲和力，可引起全身性的缺氧重金属铅吸收后可引起血液、神经、消化、生殖等多系统病变。

5.超敏反应

超敏反应(hypersensitive)又称过敏反应，是指已经致敏的机体再次接受相同抗原刺激后，所引起的生理功能紊乱或组织细胞为主的异常的适应性免疫应答。引起超敏反应的外源化学物称为过敏原(allergen)，可以是完全抗原，也可以是半

抗原。当这些过敏原与机体接触后作为一种半抗原与内源性蛋白质结合形成抗原，从而产生抗体，人体通常需要 1~2 周的时间来生成足够量的抗体，当机体再次接触该化学物或相似化学性质的化学物，将发生抗原抗体反应，于是激发超敏反应的典型表现。其临床表现因人而异，与剂量也无关。人类最常见的化学物过敏的反应有皮炎、荨麻疹、皮肤瘙痒和结膜炎等，有时可引起严重的过敏性休克，甚至死亡。我国著名食品安全学家陈君石教授在 2013 年中国理学会第六届全国毒理

学大会上呼吁将食物过敏纳入毒理学研究领域。目前研究发现，约有 170 种食品可导致食物过敏反应，但对食物过敏的生物学及免疫学机制仍不清晰，食物过敏的诊断缺乏统一标准，治疗手段单一。食物过敏是机体对食物产生的一种不良反应，是人体对食物中抗原物质产生的由 IE 介导和非 IgE 介导的免疫反应，主要表现为呼吸道、皮肤、黏膜及消化系统内或全身性变态反应。根据流行病学调查，近年来食物过敏发病率上升趋势随着城市化发展、环境恶化等因素而增加，不同地区、种族、年龄的食物过敏发生特征及流行现状也有所不同。

婴幼儿及儿童食物过敏发病率高于成人。婴儿期最常见的过敏原是牛奶和鸡蛋。随着儿童成长,花生、坚果、海鲜、鸡蛋和牛奶通常可能引发过敏反应;成人常见花粉过敏，同时导致食物过敏的交叉反应。食物过敏的患病率在发达国家和发展中国家呈上升趋势，美国有 300 万人对花生和坚果过敏，6 岁以下儿童食物过敏的患病率为 5%~8%，成人为 1%~2%。在过去 10~15 年间，食物过敏明显增加了个人以及全球卫生事业的负担。

我国卫生部颁布的 GB7718-2011《预包装食品标签通则》,是第一部对过敏原提出要求的法规。其所列出的易引起过敏的食物有:含有麸质的谷物、甲壳纲类动物、鱼类、蛋类花生、大豆、乳、坚果及包含这 8 类食物的加工制品，并且要求如果将这 8 种食物的一种或几种用作配料时，宜在配料表中使用易辨识的名称，或在配料表附近位置加以提示。

由于各国、各地区和各民族人民的居住环境、饮食习惯、生活方式、身体素质等不同，机体对食物的适应性有差异，对过敏原的抵御能力也有差异。在美国，花生、坚果、鸡蛋和牛奶是威胁健康的主要过敏原，而在日本则是大豆、鱼、甲壳类动物、花生、鸡蛋和牛奶。

6.高敏感性与高耐受性高敏感性(hypersensibility)是指少数个体对某种外源化学物具有较高的反应性或高感受性,一般这些生物体在接触较低剂量的特异外源化学物后,当大多数生物体尚未表现任何异常时,就有少数生物个体出现了中毒症状。

高敏感性与过敏性反应不同,不属于抗原抗体的反应,不需要预先接触,只要机体接触-次小剂量的该化学物即可产生毒性作用,其中毒症状表现与该生物群体接触较高剂量时的中毒症状相同。如果以人群作为研究对象,这部分个体称为易感人群。

与此相对应的是,接触外源化学物的人群中,有少数个体,他们对某种外源化学物特别不敏感,能够耐受远远高于大多数个体所能耐受的剂量,即这些个体具有高耐受性(hyperresistibility)。

7.特异质反应特异质反应(idiosyncratic reaction, IR)是由遗传决定的,具有先天性遗传缺陷的某些生物体对化学物的异常反应,表现为对某种化学物的异常敏感或者是异常不敏感。IR 是罕见的,发生率一般在 1/100000~1/100。例如苯丙酮尿症(phenylketonurics, PKU)是新生儿中发病率较高的一种隐性遗传病,是一种常见的氨基酸代谢病。患者由于在常染色体上缺少正常基因 P(基因型是 Pp),而导致体细胞中缺少一种苯丙氨酸羟化酶,体内的苯丙氨酸不能按正常的代谢途径转变成酪氨酸,只能转变成苯丙酮酸。苯丙酮酸在体内积累过多,会对婴儿的神经系统造成不同程度的损害,因而新生儿出生三四个月后,出现智力低下的症状,且头发发黄,尿液中有一种特殊的味。为保障消费者的健康安全,GB2760-2014《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》规定,对于使用食品添加剂阿斯巴甜的食品应在商标或说明书中标明“阿斯巴甜(含苯丙氨酸)”字样,以达到警示的目的。

五、损害作用与非损害作用

外源化学物在机体内产生的生物学效应包括损害作用和非损害作用,研究外源化学物的损害作用并阐明作用机制是毒理学的主要任务之一。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.非损害作用

在非损害作用(non-adverse effect)中,一切生物学变化都是暂时的和可逆的,并在机体代偿能力范围之内,机体与化学物停止接触后,不能检出机体维持体内稳态能力的降低。非损害作用具有以下的特点:

(1)不造成机体形态、结构、功能异常;不造成机体生长发育过程和寿命的改变;

(2)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;

(3)不影响机体的功能容量,如进食量、体力劳动负荷能力等涉及到解剖、生理、生化和行为方面的指标;

(4)不引起机体对其他某些环境因素不利影响的易感性增高。

2.损害作用

损害作用(adverse effect)是指影响机体行为的生物化学改变、功能紊乱或病理损害,对外界环境应激能力的下降。损害作用具有以下的特点:

(1)使机体正常形态、生长发育过程均受到影响,寿命缩短;

(2)造成机体功能容量的各项指标改变、生理、生化和行为方面的指标变化超出正常值范围;

(3)维持体内的稳态能力下降、对额外应激状态的代偿能力降低;

(4)对其他环境有害因素的易感性增高;

(5)化学物所造成的机体生物学改变是持久的和不可逆的。

此外,下列代谢和生化方面的改变也被认为是损害作用:

(1)化学毒物的剂量增加,机体对它的代谢速率反而降低,或消除速率减慢;

(2)代谢过程中的某些关键酶受到抑制;

(3)酶系统中两种酶的相对活性比值发生改变;

(4)一些酶受到抑制后,致使相关的天然底物浓度增高,造成机体的功能紊乱;或在负荷试验中,对专一性底物的代谢和消除能力降低。损害作用和非损害作用的区分确定是一件非常复杂的工作,需要大量的知识和技术。随着分子生物学以及整个生命科学的不断发展,对损害作用和非损害作用的区别也逐渐深入。不断出现一些新的概念、方法,有可能对一些更为细微的生物学变化进行更为灵敏的测定用一些更能反映机体内细微生物学变化的灵敏指标取代旧的指标,所以过去可

能认为是非损害作用的，今后可能认为是损害作用。

3.正常值和对照值在毒理学研究中，为了确定化学物的损害作用和无损害作用，常常需要一个“正常值”作为比较。通常正常值的确定方法为，选择一群按当前的认识水平认为是“健康”或“正常”或符合某一标准的个体，进行某项指标的测定，以 $\pm 2SD$ 作为正常值的范围。另外在进行试验研究时还要设立未经受试物处理的对照组，在完全一致的试验条件下与试验组进行相同指标的测定。对照组的测定值应在正常值范围内，并与试验组的结果比较，进行统计学检验。这种观察指标的数值如符合下列情况之一者，即可认为超过正常范围，属于损害作用。

(1)与对照组相比，差异显著($P < 0.05$)，且不在正常值范围内；

(2)与对照组相比，差异显著($P < 0.05$)但数值仍在正常值范围内。可是在停止接触受试物后，该差异在一段时间内仍继续存在；

(3)与对照组相比，差异显著($P < 0.05$)，数值虽仍在正常值范围内。但在机体处于功能或生化应激状态下该差异更为明显。对于某些尚未建立正常值的指标，常把试验组与对照组的测定值进行比较，如具有统计学意义则认为出现了损害作用。

总之，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数值后发生质变而转变为前者。随着科学研究的不断深入，检测技术和手段的进步，有关外源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将不断得以更新。

六、靶器官与效应器官

外源化学物直接发挥毒作用的器官就称为该物质的靶器官(Target organ)。外源化学物进入机体后，通过血流有选择性地运送至靶器官。如脑是甲基汞的靶器官，肾和肺是镉的靶器官。毒作用的强弱，主要取决于该物质在靶器官中的浓度，但靶器官不一定是该物质浓度最高的场所。

出现毒性效应的器官称为效应器官。效应器官可以是靶器官，也可以不是靶器官。例如马钱子碱中毒可引起抽搐和惊厥，靶器官是中枢神经系统，效应器官是肌肉。有机磷农药可抑制胆碱酯酶的活性，导致胆碱能神经持续兴奋，此时有机磷农药的靶器官是神经系统，而唾液、虹膜括约肌、横纹肌、肠道平滑肌等是效应器官。因此有机磷农药中毒表现为流涎瞳孔缩小、全身肌纤维震颤、排便频繁或腹泻等。

蓄积器官是化学物在体内的蓄积部位，毒物在蓄积器官内的浓度高于其他器官。但对于蓄积器官并不一定显示毒性作用，因为蓄积器官内没有该毒物的特异性受体，因而，蓄积器官不同于靶器官。例如 DDT、六六六等有机氯农药的靶器官是中枢神经系统和肝脏，但是这类农药的蓄积器官是脂肪组织。

七、毒效应谱

化学物与机体接触后，可引起机体的多种毒效应，包括肝、肾、肺等实质性损伤、内分泌系统紊乱、免疫抑制、神经行为改变、出现畸胎、形成肿瘤等多种形式。效应的范围则从微小的生理生化正常值的异常改变到明显的临床中毒表现，甚至死亡。毒效应的这些性质与强度的变化构成了化学物的毒效应谱(spectrum of toxic effects)。具体可以表现为：①机体对外源化学物的负荷增加，即在体内化学物和(或)其代谢物的量及分布的增加；②意义不明的生理和生化改变；③亚临床改变；④临床中毒；⑤甚至死亡。毒效应谱还包括致癌、致突变和致畸胎作用。随着外源化学物异常变动程度的加强，对人体健康的影响逐渐由生理性向病理性发展。

八、生物标志物

生物标志物(biomarker)是指各种化学物通过生物屏障并进入组织或体液对生物体系作用后所引起机体器官、细胞、亚细胞的生化、生理、免疫和遗传等任何可测定观测值的改变，包括进入体内的该化学物或其代谢产物的可监测指标。生物标志物是毒理学的前沿性研究，它的研究和利用已引起了国内外预防医学界的广泛关注。生物标志物在食品毒理学领域的应用同样促进了食品毒理学的发展，在阐明食品污染物接触与健康损害方面发挥了重要的作用。

1989年美国国家科学院(NAS)按照外源化学物与机体的关系及其表现形式，以及反映暴露到疾病各个阶段的连续变化关系，将生物标志物分为暴露标志物、效应标志物和易感性标志物三大类(图 2-1)。

第二节 剂量、剂量-反应关系

一、剂量(dose)：指给予机体化学物质的数量、接触或被吸入体内的数量或在体液或组织中的浓度。一般多指进入机体的数量。

剂量通常采用每公斤体重摄取的毫克数(mg/kg)来表示。

接触剂量(exposure dose) 又称外剂量(external dose)是指外源化学物与机

体(如人、指示生物、生态系统)的接触剂量，可以是单次接触或某浓度下一定时间的持续接触。

吸收剂量(absorbed dose) 又称内剂量(internal dose)，是指外源化学物穿过一种或多种生物屏障，吸收进入体内的剂量。

到达剂量(delivered dose) 又称靶剂量(target dose)或生物有效剂量(biologically effective dose)，是指吸收后到达靶器官(如组织、细胞)的外源化学物和 / 或其代谢产物的剂量。

二、效应和反应

效应(effect): 是量反应，指接触一定剂量外来化学物后所引起的一个生物、器官或组织的生物学改变。

此种变化的程度用计量单位来表示，例如毫克、单位等。

反应(response): 是质反应，指接触某一化学物的群体中出现某种效应的个体在群体中所占比率，

一般以百分率或比值表示，如死亡率、肿瘤发生率等。

其观察结果只能以“有”或“无”、“异常”或“正常”等计数资料来表示。

三、剂量效应关系和剂量反应关系

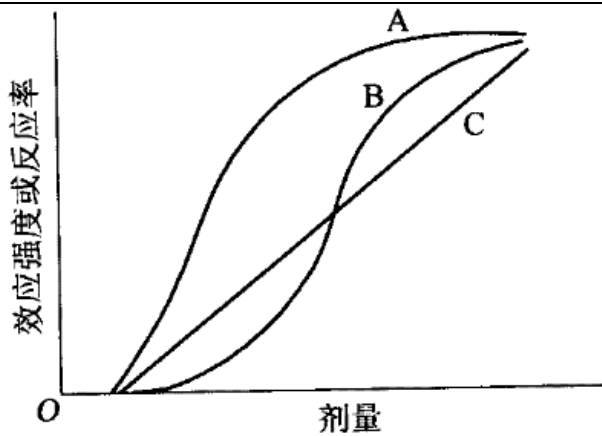
剂量-效应关系(dose-effect relationship, DEP): 剂量—量反应关系

剂量-反应关系(dose-response relationship, DRP): 剂量-质反应关系

即随着外源化学物的剂量增加，对机体的毒效应的程度增加，或出现某种效应的个体在群体中所占比例增加。

剂量-效应关系曲线

以剂量为自变量，反应百分率为因变量在自然对数坐标上作图所得的曲线



剂量-反应曲线的三种类型

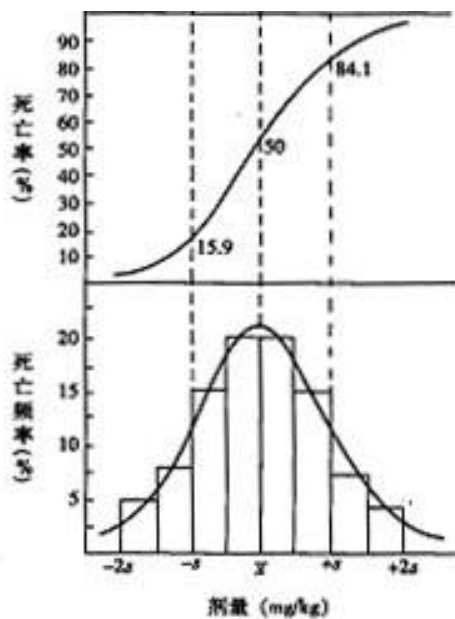
剂量-效应关系曲线：反映了人体或实验动物对外源化学物毒作用易感性的分布，一般可呈现上升或下降的不同类型的曲线，

剂量-效应曲线主要有三种类型。

- (1) 对数曲线 (A)
- (2) S 形曲线 (B)
- (3) 直线关系 (C)

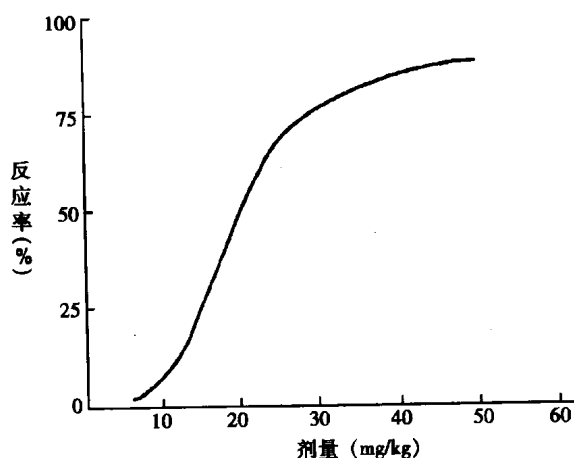
1.S 形曲线是典型剂量反应曲线，多见于剂量-质反应关系中，分为对称 S 形曲线和非对称 S 形曲线两种形式。

对称 S 形曲线：当群体中的全部个体对某一化学物质的敏感性差异呈正态分布时，剂量与反应率之间的关系表现为对称 S 形曲线(较少见)



非对称 S 形曲线：该曲线在靠近横坐标左侧的一端曲线由平缓转为陡峭的距

离较短，而靠近右侧的一端曲线则伸展较长。它表示随着剂量增加，反应率的变化呈偏态分布（最常见）



2. 直线：化学物质剂量的变化与反应的改变成正比。由于在生物体中，反应的产生要受到多种因素的影响，情况十分复杂，故此种曲线体内试验少见。

3. 抛物线：为一条先陡峭后平缓的曲线，类似于数学中的对数曲线，又称为对数曲线型。这种曲线只需将剂量换算为对数即可转变为一条直线。可见于剂量-量反应关系中

对称 S 型曲线的转换：

反应率换为概率单位作为纵坐标

剂量为横坐标，即可变成直线。

不对称 S 型曲线：

反应率变换为概率单位

剂量变为对数剂量作横坐标，即可变成直线。

确定剂量反应关系的意义

更好地了解毒作用的性质和特点

便于选择直线化方法，进行统计学处理

便于进行内插和外推

第三节 毒性参数和安全限值

一、毒性上限参数

毒性的上限参数主要涉及一系列外源化学物的致死剂量或浓度。致死剂量 LD 是指在急性毒性试验中外源化学物引起受试实验动物死亡的剂量，一般用 mg/(kg 体重)表示。如果当外源化学物存在于空气中或水体中，就称致死浓度

(lethal concentration,LC)用 mg/m³或 mg/L 表示。

绝对致死剂量

绝对致死剂量(浓度)(absolute lethal dose LD100 或 LC100)是指外源化学物引起一群受试动物个体全部死亡所需要的最低剂量(浓度)。如降低此剂量,就会有受试动物存活者。“一群”的观念较广,可能包括 10 个、20 个、100 个甚至更多的个体。由于在一个动物群体中有个体差异的存在,受试群体中总是有少数高耐受性或高敏感性的个体,故 LD100 作为评价化学物毒性大小或常有很大的波动性。因此,一般不把 LD100 作为评价化学物毒性大小或对不同化学毒物的毒性进行比较的指标。

2.半数致死量

半数致死量是指经过一定途径给予受试物后,经过统计学处理得到的能使一群受试动物个体半数死亡所需的剂量。

这个概念是 1927 年由 Trevan 提出的一种带有置信限估计的中介值,是反映化学物毒效应的上限指标。外源化学物毒性大小与 LD50 呈反比,即毒性越大,LD50 的值越小;反之 LD50 的值越大(见表 2-10)。常用于评价外源化学物急性毒性大小最主要的参数,也是对不同化学物进行急性毒性分级的基础标准。

表示 LD50 的单位为每千克体重所摄入受试物质的毫克数、克数或毫升数,即 mg/kg 体重 g/kg 体重或 mL/kg 体重。例如,滴滴涕(DDT)的 LD50 为 300mg/kg 体重(大鼠、经口)。在计算 LD50 时,应同时计算其 95%可信区间。95%可信区间过大,所得的 LD50 即不可信。

3.最小致死剂量

最小致死剂量(minimum lethal dose,MLD,LD01。或 MLC, LC01。)是指外源化学物使受试动物一个群体中仅引起个别动物出现死亡的剂量。从理论上讲,低于此剂量不能使动物出现死亡。该参数易受受试动物中个别动物敏感性大小的影响。同样,一般也不把 LD01 作为评价化学物毒性大小指标。

4.最大耐受量

最大耐受量(maximal tolerance dose, MTD,LD0,或 MTC,LC0,)是指外源化学物在一个动物群体中不引起受试动物死亡的最高剂量。MTD 常在急性致死毒性以外的试验中作为设计最大剂量的参考数值。

二、毒性下限参数

1.观察到损害作用的最低剂量

观察到损害作用的最低剂量(lowest observed adverse effect level,LOAEL)是指在一定时间内,一种外源化学物按一定的方式与机体接触,使某项灵敏的观察指标开始对机体产生不良效应的最低剂量。即引起超过机体自稳适应(homeostatic adaption)极限的最低剂量,从理论上讲,低于此剂量的任何剂量都不应对机体产生任何损害作用。能否观察到化学物质造成的损害作用,在很大程度上受到检测技术灵敏度和精确性、被观察指标的敏感性以及样本大小的限制。

2.阈剂量阈剂量(threshold level)是指外源化学物引起生物体某种非致死性有害作用的最小剂量或浓度。分为急性阈剂量(acute threshold dose, Lim)、慢性剂量(chronic threshold doseLm。)。通常情况下,一种外源化学物的急性阈剂量比慢性阈剂量高,受试对象表现出的中毒症状也较为明显

用不同的指标、方法观察毒作用,可以得出不同的剂量(见表 2-13)。由于受试验动物分组、有限的检测水平以及试验方法的局限性,得到剂量几乎不可能,实际得到的可能是 LOAEL。

3.未观察到有害作用的水平未观察到有害作用的水平(no-observed adverse effect level,NOAEL)是指外源化学物在一定时间内,按一定方式与最敏感的实验动物接触后,根据现有的知识水平,采用现代的检测方法和最灵敏的观察指标,未能观察到对机体有任何损害作用的最高剂量。从理论上讲,在 NOAEL 的基础上,任何剂量的微小增加即可达到剂量水平。但由于受到检测手段的限制,常不能发现机体的细微异常改变,只有剂量增加到一定水平时,才能看到损害作用。故在实际工作中得到的这两个剂量之间存在一定的差距。对于同一化学毒物,在使用不同种属动物、染毒方法、接触时间和观察指标时,会得到不同的 NOAEL 和 LOAEL。因此,在表示某种化学物的 LOAEL 和 NOAEL 这两个毒性参数时应注明实验动物的种属、品系、接触途径、接触时间和观察指标。需要指出的是,对于特定毒物的 NOAEL 和 LOAEL 都不是一成不变的,随着检测手段的进步和更为敏感的效应指标的发现,这两个毒性参数会逐渐得以更新。

寻求确定 NOAEL 是食品毒理学和管理毒理学的重要内容和主要目的之一。食品毒理工业毒理和环境毒理的各种卫生标准,如某种化学物的每日允许摄入量

(ADI)和最高允许残留量(MRL)等，大多是以“无观察到有害作用的剂量”作为基本依据和参数来制定的。

第四节 安全限值

安全限值

动物试验外推到人通常有三种基本的方法：

利用不确定系数(安全系数)；

利用药物动力学外推(广泛用于药品安全性评价并考虑到受体敏感性的差别)，

利用数学模型。

(1)每日容许摄入量(acceptable daily intake, ADI)是以体重表达的每日容许摄入量，以此量终生摄入无可测量的健康危险性(标准人为 60kg)。

(2) 可耐受摄入量(tolerable intake, TI)是由 IPCS(国际化学品安全规划署)提出的，是指没有可估计的有害健康的危险性对一种物质终生摄入的容许量。

ADI 值是根据对小动物（大鼠、小鼠等）近乎一生的长期毒性试验中所求得的最大无作用剂量（MNL），取其 1/100-1/500 作为 ADI 值。

$$\frac{\text{最大无作用量 (MNL)}}{100\text{到}500} = \text{ADI}$$

(3) 参考剂量(reference dose, RfD)和参考浓度(reference concentration, RfC)，是指一种日平均剂量和估计值。

参考剂量和参考浓度是美国环境保护局(EPA)对非致癌物质进行危险性评价提出的概念

(4)最高容许浓度(maximal allowable concentration ,MAC): 系指某一外源化学物可以在环境中存在而不致对人体造成任何损害作用的浓度。

安全系数(safety factor, SF):

是根据所得的最大无有害作用剂量(NOEL)提出安全限值时，为解决由动物实验资料外推至人的不确定因素及人群毒性资料本身所包含的不确定因素而设置的转换系数。

安全系数一般采用 100，据认为安全系数 100 是为物种间差异(10)和个体间

差异(10)两个安全系数的乘积。

不确定系数(UF): 为求得可耐受摄入量(TI)说明关键研究(pivotal study)的适宜性(可信性), 物种间外推, 在人个体间变异, 全部资料的适宜性(充分性)和毒性的性质的各个因子的乘积。

将临界效应(critical effect)的 NOAEL 或 LOAEL 除以不确定系数即求得安全限值。

作业布置:

- 1、毒理学中主要的毒性参数有哪些?试述描述毒物毒性常用指标及意义。
- 2、选择性毒性出现的原因是什么?
- 3、为什么把毒效应谱看成连续谱?
- 4、损害作用的特点是什么?
- 5、简述剂量-反应关系的概念及主要曲线类型。

第三章：外源化学物的生物转运

授课章节	第三章：外源化学物的生物转运				
课时安排	2	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容：</p> <p style="margin-left: 20px;">一、概述</p> <p style="margin-left: 20px;">二、生物膜及跨膜转运</p> <p style="margin-left: 20px;">三、外源化学物的吸收</p> <p style="margin-left: 20px;">四、外源化学物的分布</p> <p style="margin-left: 20px;">五、外源化学物的排泄</p>					
<p>教学目的、要求：</p> <p>一、知识目标</p> <ul style="list-style-type: none"> • 掌握毒物、毒性、毒作用、生物膜及跨膜转运，理解剂量-反应关系。 • 掌握常用毒性指标，熟悉安全限值，了解外源化学物的吸收、分布、排泄。 <p>二、技能目标</p> <ul style="list-style-type: none"> • 能辨析核心概念，解读剂量-反应关系及跨膜转运机制。 • 能识别毒性指标，运用相关知识分析简单问题。 <p>三、素养目标</p> <ul style="list-style-type: none"> • 培养严谨、辩证的科学思维，强化食品安全责任素养。 • 提升自主梳理、归纳学科核心知识的能力。 <p>四、课程思政</p> <ul style="list-style-type: none"> • 引导学生坚守食品安全底线，树立守护公众健康的责任与担当。 					
<p>教学重点、难点：</p> <p style="margin-left: 20px;">教学重点：生物膜及跨膜转运</p> <p style="margin-left: 20px;">教学难点：外源化学物的吸收、分布和排泄</p>					
<p>教学方法及手段：多媒体讲授</p>					
<p>教学过程：</p> <p style="margin-left: 40px;">第三章 毒物的生物转运</p> <p style="margin-left: 40px;">第一节 概述</p> <p style="margin-left: 40px;">毒物的体内过程：毒物与机体接触后，一般都经过吸收（Absorption）、分布</p>					

(Distribution)、代谢 (Metabolism) 及排泄 (Elimination) 四个过程，即外源化学物在体内的动态变化过程。

生物转运(biotransport): 是指外源化学物主要依据物理学规律，本身不发生化学结构改变，从接触部位吸收，转运进入血液、再转运至组织与脏器（分布）、最终转运到排泄器官离开机体。

即为外源化学物在体内量改变的过程。

生物转化(biotransformation): 是指外源化学物经酶催化后化学结构发生改变的代谢过程，即为外源化学物在体内质改变的过程。

第二节 生物膜及跨膜转运

一、生物膜的结构与功能

外源性化学物的生物转运过程（吸收、分布、排泄）是通过生物膜屏障的过程。

生物膜？

第二节 生物膜及跨膜转运

一、生物膜的结构与功能

生物膜是细胞膜（质膜）和细胞器膜（核膜、线粒体膜、内质网膜和溶酶体膜等）的总称。

1、简单扩散的概念：

外来化合物在体内的扩散是依其浓度梯度差决定物质的扩散方向，即由生物膜的分子浓度较高的一侧向浓度较低的一侧扩散，当两侧达到动态平衡时，扩散即中止。

2、简单扩散的特点：

不需要消耗能量，不需要载体。

毒理学意义：在一般情况下，大部分外源化学物是通过简单扩散进行生物转运的。

3、简单扩散能够进行的条件：

膜两侧存在浓度梯度。如 O₂ 由肺泡进入血液和 CO₂ 由血液进入肺泡细胞。

外源化合物有脂溶性。外源化合物的脂溶性可以用脂水分配系数来表示，即当一种物质在脂相和水相的分配达到平衡时，其在脂相和水相中溶解度的比值。

一般来说，脂水分配系数越大，越容易透过生物膜而进行扩散。

3、简单扩散能够进行的条件：

浓度梯度。

有脂溶性。

外源化学是非解离状态。解离型，极性大，脂溶性小，不易通过生物膜；反之，非解离状态的化学物容易透过。因此弱有机酸在酸性环境中，弱有机碱在碱性环境中多处于非解离状态，易于透过生物膜。

2、滤过

滤过：水溶性物质透过生物膜上的亲水性孔道的过程。

细胞膜上有一些亲水性孔道或间隙，它们由嵌入脂质双分子层的蛋白质结构中某些亲水性氨基酸构成。

毒理学意义：水及一些溶于水而不溶于脂质的物质，

可通过滤过完成生物转运过程。

3、易化扩散（载体扩散）

易化扩散：利用载体由高浓度处向低浓度处移动的过程。

特点

需要载体；

不消耗代谢能量；

具有一定的主动性和选择性。（载体结合位点）

毒理学意义：葡萄糖、某些氨基酸、甘油等亲水化合物，

可通过易化扩散完成生物转运过程。

易化扩散可能的机制：细胞膜上的载体蛋白与被转运物质在高浓度一侧结合，引起载体蛋白的构象发生改变，进而把转运物质传送到低浓度一侧再发生解离。

主动转运是什么？有什么特点？

4、主动转运

主动转运：外来化合物透过生物膜由低浓度处向高浓度处移动的过程。

主动转运的主要特点

逆浓度梯度转运，需消耗能量；

转运过程需要载体；

载体对被转运的化学物有选择性；

受饱和限速和竞争性抑制的影响。

主动转运对于外源化学物（如某些糖类、氨基酸、核酸和无机盐等）在胃肠道中的吸收，以及（有机酸和有机碱）通过肝脏和肾脏的排出过程具有重要的意义。

胞吞作用和胞吐作用分别是什么？

胞吞作用包括哪些？有什么区别？

5、膜动转运

膜动转运：颗粒物和大型分子物质的转运常伴有膜的运动。

可分为胞吞作用和胞吐作用：

将细胞表面的颗粒物转运入细胞内的过程

将颗粒物由细胞内运出的过程

特点：

在转运过程中生物膜结构发生变化

转运过程具有特异性

主动选择性并消耗一定的能量

吞噬：固体外源化学物被伸出的生物膜包围，然后并入细胞内，达到转运的目的。

胞饮：液体外源化学物被伸出的生物膜包围，然后并入细胞内，达到转运的目的。

膜动转运不是主要转运形式；在机体的某些部位，如肺泡巨噬细胞，可通过吞噬作用将烟和粉尘等颗粒物转运进入细胞。入侵机体细胞的细菌、病毒、死亡的细菌、组织碎片、偶氮色素都可通过吞噬作用被细胞清除。

2、胞吐：某些大分子物质也可通过被生物膜包裹，再从细胞内转运到细胞外的过程。

第三节 毒物的吸收

定义：外源化学物经各种途径透过机体的生物膜而进入血液的过程称为吸收

(absorption) 。

消化道——吸收外源化学物最主要的途径；

呼吸道——吸收大气污染物的主要途径；

皮肤——不少污染物质进入机体的途径；

注射(腹腔、肌肉、皮下、静脉)——毒理学试验中的特殊染毒途径

一、消化道吸收

胃肠道是外来化合物最主要吸收途径。

许多外来化合物可随同食物或饮水进入消化道并在胃肠道中吸收。

外来化合物在胃肠道的吸收可在任何部位进行，但主要在小肠。

消化道吸收特点：大多数毒物以简单扩散方式吸收

(1) 口腔粘膜：

吸收极少——停留时间短；

(2) 胃：

酸性物质呈非解离状态，脂溶性大，易被吸收。

(3) 小肠：(主要吸收部位)

吸收面积大；

pH 趋于中性或弱碱性的化学物——易被吸收；

影响消化道吸收的因素有哪些？请简述。

影响消化道吸收的因素：

肠道的蠕动情况：

减少小肠的蠕动——接触时间长——增加吸收

化学物的溶解度和分散度：

不易溶解的化合物与胃肠道黏膜的接触面积受限而不易被吸收；

粒径较大的物质不易通过扩散被吸收随粪便排出

胃肠道的酸碱度

胃肠道内容物状况：

内容物多——吸收减少和变慢

当内容物与毒物形成不易被吸收的复合物，或者改变胃肠道的酸碱度将影响吸收过程。

二、呼吸道吸收

呼吸道：肺呼吸时气流所经过的通道。

上呼吸道：鼻、鼻窦、咽和喉

下呼吸道(气管树)：气管及其以后一分再分的管道

鼻腔 气管 支气管及其分支 肺泡

呼吸道吸收的特点：

肺是呼吸道中主要的吸收器官，以肺泡吸收为主：肺泡数量多(3 亿个)、表面积大(50-100 m²，相当于皮肤吸收面积的 50 倍)、周围毛细血管密布、供血丰富、毛细血管与肺泡上皮细胞膜很薄

主要吸收气体、小颗粒气溶胶和脂水分配系数较高的物质

主要通过简单扩散方式吸收

影响气体吸收速率的因素：

肺泡和血液中的浓度差：

血/气分配系数：当气体在血液和肺泡中达到平衡时，血液与肺泡中所含气体的质量浓度(mg/L)比； 血/气分配系数高 吸收速度快：

溶解度和分子量：

脂溶性物质：脂/水分配系数大者吸收速率快

非脂溶性物质：分子量大者吸收慢 ——亲水性孔道(过滤)

肺通气量和血流量：

通气/血流比 吸收量

三、皮肤吸收

毒物主要经胃肠道和呼吸道吸收；皮肤通透性较弱，是机体与外界环境的屏障。

有些毒物可通过皮肤吸收而引起全身作用：

多数有机磷农药，可透过完整皮肤引起中毒或死亡；CCl₄ 经皮肤吸收引起肝损害等。

皮肤的结构：

分为 3 层：表皮、真皮及皮下组织；

3 层的总厚度为 1.25 mm

皮肤吸收的途径有哪两个？主要和次要？

毒物经皮吸收的两个不同阶段分别是？

皮肤吸收的途径：

表皮脂质屏障——主要的吸收途径

毒物—角质层—透明层—颗粒层—生发层和基膜—真皮（需通过许多细胞层后才能进入血液）

皮肤附属器(汗腺、皮脂腺和毛囊)——不占主要地位

附属器的面积仅占表皮面积的 0.1%~1%

有些电解质和某些金属可由此途径被少量吸收

表皮吸收主要方式：简单扩散

毒物经皮吸收的两个不同阶段：

第 1 阶段：外源物质以简单扩散透过皮肤表皮，即角质层的过程，为穿透阶段。

穿透速度与脂溶性相关：脂溶性越大穿透性越强。

第 2 阶段：即由角质层进入表皮深层（颗粒层、棘层和生发层）和真皮，并被吸收入血，为吸收阶段。

扩散速度与水溶性有关：真皮组织疏松，毛细血管壁细胞具有较大的膜孔，血流的主要成分是水，毒物在这阶段的扩散速度取决于本身的水溶性。

经完整皮肤吸收，毒物必须具有脂溶性又具有水溶性。脂/水分配系数接近 1 的化合物最容易经皮吸收。

四、其它途径

经眼吸收

经胎盘吸收

经静脉、腹腔、皮下和肌肉注射

不同的吸收途径会影响化学物进入血液中的速度、浓度以及毒效应

第四节 毒物的分布

一、外源化学物分布的毒理学意义

定义：外源化学物通过吸收进入血液和体液后，随血流和淋巴液分散到全身

各组织的过程称为分布。

毒物分布的特点：不均匀性

毒理学意义：研究化学毒物在体内的分布规律，有利于了解化学毒物的靶器官和贮存库，进而探讨其中毒规律和防治措施。

二、影响外源化学物分布的因素

(1) 组织器官的血流量：

在分布的开始阶段，大部分外源物与血浆蛋白结合，随血液流动到达全身各器官和组织；供血丰富的器官，初始分布浓度高。

灌注速率高的器官：心、肝、肾、脑、肺、肾上腺、甲状腺

灌注速率低的器官：皮肤、骨骼肌、结缔组织、脂肪

二、影响外源化学物分布的因素

(1) 组织器官的血流量：

(2) 组织器官与外源性物质的亲和力：

随着时间的延长，受到外源性化学物经膜扩散速率和器官组织对化学物质亲和力的影响，引起外源性化学物的再分布。

如铅一次经口染毒 2 h 后，剂量的 50% 在肝内，一个月后铅在体内的残留剂量的 90% 与骨结合。

三、贮存库

贮存库：进入血液的外源化学物在某些器官组织内蓄积而浓度较高，如果外源化学物对这些器官组织未显示明显的毒作用，称为贮存库。(区别于靶器官)

靶器官：外源化学物直接产生毒性作用的部位称为靶器官。

铅蓄积于骨骼，其作用部位是造血系统、神经系统和胃肠道

甲基汞积聚于脑，百草枯积聚于肺均可引起这些组织的病变

机体的主要贮存库是血浆蛋白、肝和肾、脂肪组织和骨骼。

四、体内主要的贮存库

1. 血浆蛋白

与血液中的蛋白质，特别是白蛋白（血浆中含量最多的蛋白质）发生结合——不易透过细胞膜进入靶器官产生毒作用(对机体起到保护作用)。

外源化学物与血浆蛋白的结合是可逆的，与血浆中游离型外源化学物形成动

态平衡(当解离部分分布到其他组织或被肾小球滤过, 而使其在血中的浓度降低时, 平衡被打破, 与血浆蛋白结合的毒物就可逐渐地解离出来)。

四、体内主要的贮存库

1. 血浆蛋白

不同的外源化学物与血浆蛋白的结合具有竞争性(结合力更强的外源化学物将取代已被结合的外源化学物, 使之成为游离态而显示毒性)。

幻灯片 57

2. 肝和肾

肝脏和肾脏与外源化学物的亲和力较强, 毒物在其中的浓度远远高于血浆中的浓度。

镉 (Cd)在肝中浓度可高于血浆浓度 100-700 倍

存在特殊的结合蛋白, 能与某些毒物结合。

肝内有配体蛋白, 能与多种有机酸结合;

在肝或肾细胞内某些含巯基的蛋白能与重金属结合, 形成金属硫蛋白, 从而保护机体不受损害

2. 肝和肾

肝、肾既是毒物贮存的场所, 又是重要的代谢和排泄器官。

外源化学物在肝脏中进行生物转化, 并经过肾脏排出体外

3. 脂肪

脂溶性毒物易蓄积于脂肪组织中, 作为“脂肪贮库”;

在脂肪中贮存的毒物往往不具有活性, 对脂肪代谢无影响, 可减轻其他靶器官的负荷;

氯丹、DDT、多氯联苯等均易贮存于脂肪中

3. 脂肪

在一定条件下, 贮存在脂肪中的毒物可重新游离出来;

饥饿状态下, 储备脂肪将被动用供给机体能量, 其中的外源化学物可重新成为游离状态, 可使血中的毒物浓度突然升高, 而引起中毒

脂溶性毒物对肥胖者比消瘦者毒性小

4. 骨骼组织

骨骼是代谢活性较低的惰性组织，骨骼中某些成分与某些外源性化学物具有特殊亲和力；

铅可取代骨骼中的钙，而贮存于骨中，体内的铅 90%贮存在骨组织中。

氟离子可替代羟基磷灰石中的 OH⁻，使骨中氟含量上升，引起氟骨病

4. 骨骼组织

在一定条件下，贮存在骨骼中的毒物可重新游离出来，进入血液循环，呈现毒性作用。

正常的弱碱性体液时，骨骼中的铅以磷酸三铅的形式存在，当体液趋于弱酸性时，此物质可随血液到达其他组织并造成损害。

五、体内屏障

体内屏障是导致外源化学物在生物体内分布不均匀的重要因素之一；

体内屏障的生理功能是防止或缓解组织中不需要的物质或具有损害作用的外源化学物进入组织中，同时保障组织需要的物质尽量进入；

较为重要的屏障有血脑屏障、胎盘屏障、血眼屏障等。

1. 血脑屏障(blood-brain barrier)

血脑屏障并非是防止毒物进入中枢神经系统的完全屏障，仅表现为较身体其他多数部位的通透性小；炎症时可改变其通透性；新生儿由于血脑屏障没有发育完全，因此吗啡、铅等物质对他们的毒性大。

2. 胎盘屏障(Placental barrier)

胎盘屏障是由位于母体血液循环系统与胚胎之间的几层细胞构成的；

2. 胎盘屏障(Placental barrier)

胎盘具有在母体与胎儿间进行营养物质和代谢产物交换的功能，还具有阻止一些外源化学物由母体透过胎盘进入胚胎、保护胎儿正常生长发育的作用；

大部分外源化学物透过胎盘的机理是简单扩散，而胚胎发育所必需的营养物质，则通过主动转运而进入胚胎。

第五节 毒物的排泄

排泄：

外源化学物及其代谢产物向机体外转运的过程

是母体化学物及其代谢产物或其结合物向机体外转运的过程，机体物质代谢全过程的最后一个环节

排泄的途径：

通过肾脏随尿液排出；

通过经肝脏随同胆汁混入粪便排出；

少量气态物质通过肺随同呼出气体而排出；

随同汗液以及乳汁、唾液、泪液和肠道分泌物排出

一、经肾排出

肾脏：

是机体内重要的排泄器官

外源化学物代谢产物中的水溶性极性化合物主要经肾脏排泄

部分脂溶性的外源化学物在生物转化过程中转变为水溶性的化合物，以便随同尿液排出。

经肾脏排泄主要通过肾小球滤过、肾小管重吸收和肾小管主动分泌来完成。

肾小球被动滤过：

一种被动转运过程；

肾小球毛细血管内皮细胞膜有较大的膜孔，通透性较大；

凡分子直径小于此种膜孔直径的化合物均可随水一起滤过，其相对分子量一般 $< 60000\text{Da}$ ；

与血浆蛋白结合的毒物或代谢产物，多半不能通过，仍然存在于血液中。

肾小管的重吸收

肾小球的滤过液进入肾小管，有两条去路：

解离的、极性的水溶性毒物不再被重吸收，而随尿液排出；

未离解、非极性和脂水分配系数大的，可通过肾小管上皮细胞重吸收到血液中（重吸收主要发生于近曲小管，占75%。可通过主动机制和被动机制吸收）。

肾小管的主动分泌

来自血浆的某些代谢物，经肾小管细胞的转运进入肾小管管腔，随同尿液由肾小管排出体外

有机阴离子转运系统

有机阳离子转运系统

这些转运系统主要存在于肾小管上皮细胞底侧膜上

二、经肝胆排出

毒物 肝脏 胆汁 肠道 粪便排出或进入肝肠循环

经肠道吸收的外来化合物首先流经肝脏

肝细胞随同胆汁进入小肠后，可能有两种去路：

直接排出体外：极性化合物，随粪便排出。

肝肠循环：脂溶性的被重吸收，经门静脉回到肝脏 再次随胆汁分泌，形成循环。

肠肝循环：一部分外源化学物的代谢产物随同胆汁进入小肠后，在肠粘膜和肠内菌丛的水解酶的作用下，被分解为脂溶性较高的产物，它们又被肠道重新吸收经肝门静脉进入肝脏，这种现象被称为肠肝循环。

肠肝循环的毒理学意义：由于有些外源化学物再次被吸收，使其在体内停留时间延长，毒性作用增强。

代谢

三、经呼吸道排出

一些气体和挥发性物质：通过简单扩散由肺排出

影响经肺排泄速率的因素：

在血液中的溶解度：血/气分配系数小者，排泄速率较快；

肺泡壁两侧气体的分压差：与排泄速度成反比；

呼吸率和血液流量：影响挥发性物质排泄速率。

非可溶性颗粒物：肺泡 细支气管 支气管 咽部 随痰咳出或吞入消化道。

四、其它排出途径

乳汁

有机碱和亲脂性毒物，易从血浆扩散入乳腺管内，在乳汁中浓集，进入婴儿体内

经乳腺排出的方式是简单扩散

汗液和唾液

I、Br、F 及其化合物、Hg 等可通过简单扩散方式排出
 毛发和指甲脱落
 有些重金属--铅、汞、锰、砷等可蓄积于毛发和指甲
 生物转运的毒理学意义：
 吸收与毒性：进入体内毒物的量（吸收途径、吸收部位）
 分布与毒性：组织器官中毒物的量；毒物分布不均匀，浓集点可能是靶器官；
 贮存对急性中毒有保护作用，但其是慢性中毒的一个重要条件。
 排泄与毒性：排出体外毒物的量；肝肠循环可使外源化学物再次吸收，使其
 在体内停留时间延长，毒性作用增强。

第四章：外源化学物的生物转化

授课章节	第四章：外源化学物的生物转化				
课时安排	2	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 一、概述 二、I 相反应的相关酶系 三、I 相反应 四、II 相反应的相关酶系 五、II 相反应 六、影响生物转化过程的有关因素					
教学目的、要求： 了解 I,II 相反应的相关酶系及其反应 熟悉影响生物转化过程的有关因素					
教学重点、难点： 教学重点：影响生物转化过程的有关因素 教学难点：I,II 相反应的相关酶系及其反应					
教学方法及手段：多媒体讲授					
教学过程：					

第一节 概述

如第三章所述, 机体所接触的外源化学物在体内会经过吸收、分布、生物转化(即代谢)和排泄过程, 简称 ADME 过程。这一动态过程中的各个环节在时相上交叉存在并相互联系和影响。其中吸收、分布、排泄三个过程属于生物转运过程, 发生的是量的变化; 生物转化是该过程中唯一发生化学变化即质变的环节。外源化学物质在机体内的浓度随时间变化的规律可用数学方程式或动力学参数来描述。毒物动力学可描述外源物质进入机体的速率以及化合物进入机体后将产生的 ADME 过程。在毒物动力学研究中, 生物转化则是外源化学物在机体内经过多种生物转化酶的催化而发生一系列化学结构改变并形成代谢产物(metabolites)的过程, 同时还包括某些自发的非酶促生物化学反应。

外源化学物可通过各种不同途径以不同的形式进入机体并分布到作用部位。而细胞膜的构造决定了其在吸收大多数水溶性或极性物质时, 有较强的选择性, 即允许一些水溶性营养成分通过, 但对绝大多数有毒水溶性物质有明显阻滞作用。然而, 细胞膜对脂溶性物质并无选择性吸收, 故使得一些脂溶性有毒物质进入机体并富集, 最终造成毒害。这些化学毒物的生物转化主要依靠体内的生物转化酶)来催化。肝脏, 机体主要的代谢器官, 肝细胞表达的生物转化酶类型最多、含量最高, 对绝大多数外源化学物的生物转化过程起主要作用。但并非唯一的代谢器官, 肺、肾、胃肠道、神经、皮肤、丸肾上腺、胎盘等, 也具有生物转化外源化学物的能力, 这属于肝外代谢, 对某些外源化学物的代谢具有重要意义。在生物转化过程中, 酶具有极重要的作用, 这些代谢酶可分为微粒体酶和非微粒体酶, 种类繁多, 并具有多态性。前者主要存在于肝脏, 后者除肝脏外, 也存在于其他组织。

外源化学物进入机体后可不经代谢直接以原型排出体外, 或经历 I 相反应 (phase I reaction) 生成代谢物直接排出体外, 或再经历 II 相反应 (phase II reaction) 形成结合物后排出体外。I 相和 II 相反应均被认为是机体内生物转化过程的两个典型阶段。I 相反应是指对脂溶性物质的氧化 (oxidation)、还原 (reduction) 和水解 (hydrolysis) 反应, 包括羟基化环氧化、脱氨基和脱硫基反应等, 使脂溶性物质成为易于反应的活性代谢物, 水溶性提高易于通过肝和胆汁等途径排泄出体外。但 I 相反应产生的活性代谢物也可以和富电子的 DNA 碱基、磷脂等基团发生反应,

导致 DNA 的化、环化和缺失等一系列突变性损伤，其结果不仅导致癌变的发生，也导致人体衰老和其他一些疾病的发生。外源化学物进入组织，特别是进入肝细胞后，经 I 相反应，一般能使非极性的化学物产生极性基团，同时也改变化学物原有的基团，或增加新的功能基团(如一 OH、-SH、-NH₂与一 COOH 等)，使其易于进行 II 相反应。II 相反应是具有一定极性的外源化学物或经 I 相反应的代谢产物与体内某些内化学物或基团之间发生的结合 (conjugation) 反应，会掩盖外源化学物的某些功能基团，它们的生物活性、分子大小、溶解度等发生改变。这些结合产物有利于从肝、肾和小肠黏膜分泌或转运以促进外源化学物的排出。因此，II 相反应即结合反应虽属耗能反应，但它在保护机体不受外源性化学物的影响方面起着重要作用。上述过程将明显增加外源物质或毒素的水溶性，使其更易于排出体外。

外源化学物经代谢所形成的产物在化学结构上必然发生改变，进而导致溶解性(solubility)和生物学活性(biological activity)的变化。外源化学物生物转化的毒理学意义则表现在其代谢产物溶解性以及毒性强弱的改变上。通常，生物转化是将亲脂的外化学物转变为极性较强的亲水性物质(I 相)，从而有利于其经尿液或胆汁排出，否则易于在体内积累，造成不良影响。外源化学物经机体生物转化(II 相)后，其代谢产物的水溶性常较外源化学物原型增强，这一作用被称为代谢解毒)(metabolic detoxication)或代谢失活)(metabolic inactivation)，使外源化学物毒性降低或变成无毒产物，如一些脂溶性物质。但仍有少数外源化学物经代谢作用后毒性增强或从无到有，即代谢活化)(metabolic activation)，使外源化学物变成有毒或毒性更大的产物，如苯并[a]芘、黄曲霉毒素 B₁(AatoxinB, AFB₁)和苯等。因此，不论是失活还是活化，外源化学物都经过分子结构的改变，即活性基团的增减或改变、整个分子的缩合或降解或与某些化学物质结合等。由此可见，在整个过程中，机体与外源化学物的相互作用均在分子水平上进行。而一种外源化学物在体内能否发挥其毒作用以及其毒作用的强弱程度，很大程度上是取决于机体的代谢能力，而代谢产物的量则取决于外源化学物与机体相互作用的相对速率。

综上所述，研究外源化学物的生物转化是毒理学基础理论研究的重要组成部分，它有助于阐明毒作用机理，解释毒物的联合作用，判断或评价环境中外源物质对机体的危害程度以及指导毒理学实验，并对很多实际工作均具有十分重要的

意义。

第二节 I 相反应的相关酶系

I 相代谢是通过氧化反应、还原反应或水解反应引入或暴露化合物极性基团，多数情况下，I 相代谢产物的极性增高，导致其生物活性减弱或丧失，但也可能形成活性代谢物。其相关酶系可分类如下：

微粒体酶系

微粒体酶系(microsomal enzyme system)是肝脏、肺、肾、小肠、胎盘和皮肤处细胞内质网上的一个酶系统。微粒体(microsome)并不是独立的细胞器，而是在细胞匀浆和差速离心过程中获得的、由破碎的内质网自我融合形成的近似球形的膜囊泡状结构，它包含内质网膜和核糖体。外源化学物可影响微粒体酶活力。在混合功能氧化酶系中，有些酶特异性差，能催化化合物的羟基化、脱甲基化、脱乙酰基化、卤素原子氧化等多种类型的氧化反应，故称为混合功能氧化酶(mixed-function oxidase; MFO)。MFO 催化 O₂ 分子中的一个氧原子加到底物分子上使之羟化，另一个氧原子被 NADPH+H⁺ 提供的氢还原成水，但此过程无高能磷酸化合物生成，又称细胞色素单加氧酶(monoxygenase)或羟化酶(hydroxylase)。

1. 混合功能氧化酶

除肌肉外、几乎所有脏器与组织都含有 MFO，不过肝脏含量最高。MFO 主要由三部分组成：血红素蛋白类(细胞色素 P450 和细胞色素 b₅，均含有铁卟啉环结构，具有传递电子的功能)、黄素蛋白类(还原型辅酶 II-NADPH-细胞色素 P450 还原酶、还原型辅酶 I-NADH-细胞色素 b₅ 还原酶)和脂类。某些化合物可消耗辅酶或抑制辅酶的合成，进而抑制 MFO 酶活性，或其中间代谢产物抑制 MFO 酶活力。MFO 不仅催化胆固醇、胆酸、类固醇维生素 D 及前列腺素等内源性化合物的代谢和合成，还对抗外源化学物的蓄积和损害作用。(1)细胞色素 P450 酶系细胞色素 P450(cytochrome P450, CYPs)酶系是混合功能氧化酶系中的一个主要成分，相对分子质量 5000，是含铁环的血红素蛋白。细胞色素 P450 和其他血红素蛋白结构之间的差别是在第 5 个配位上为酶氨基酸链上的半胱氨酸的巯基(S⁻)。CYPs 主要分布在肝脏、肺和皮肤等处，该酶系的主要功能是代谢和/或活化药物前毒物和前致癌物以及致变剂，改变原型物的活性、使其活性降低或消失，极性增加而易于排出体外；其次是代谢胆固醇、胆汁酸、甾酮物质、维生素 D 与前列

腺素等体内物质。细胞色素 P450 酶活力不稳定，易受某些药物的影响。细胞色素 P450 酶催化脂肪族或芳香族的羟基化、杂原子(N-、S-和 1-)氧化和 N-羟基化、杂原子(O-、S-、N-和 Si-)脱烷基化、不饱和烯烃的环氧化等反应，以及氧化酯裂解、增环反应、芳烃环脱卤反应、环偶联反应、芳烃环迁移、缩环反应等复杂反应类型。细胞色素 P450 酶是一蛋白质超家族，其每一种都有相对特异的底物。其中有些 P450 为结构型，有些则为诱导型。由于该酶含有的铁离子在还原态与 CO 结合，可在光谱 450nm 波长处出现最大吸收峰，故由此而得名。此外根据 P450 酶系的基因测序结果，按照氨基酸序列同源性可分为：家族、亚家族和单酶。通常，P450 酶的氨基酸序列同源性>40%即属于同一家族(如 CYP1)，如>59%，则属于同一亚家族(如 CYP1A)。P450 的命名是用斜体词根 CYP 代表除小鼠(小鼠用 CYP)之外所有物种的细胞色素 P450 的基因和 cDNA。

(2)NADPH 细胞色素 P450 还原酶 NADPH 细胞色素 P450 还原酶 (cytochromeP450reductase, CPR)是肝微粒体酶系的主要组分，是定位在内质网膜上的一个重要的黄素蛋白以黄素腺嘌呤二核苷酸(favin adenine dinucleotide,FAD)和黄素单核苷酸(favin mononucleotide, FMN)为辅基，是唯一传递电子给人细胞色素 P450 酶系以帮助完成其氧化功能的辅酶。NADH 细胞色素 b,还原酶 (NADHcytochromeb, reductase)催化脂肪酸脱饱和电子，传递途径中 NADH 上的氢原子转至 FAD 上，形成 FADH₂，使传递链下一成员细胞色素 b,铁卟啉蛋白中的铁离子得以还原。电子传递顺序为 NADPH→FAD→FMN→P450。CPR 与 CYPs 的电子传递反应是细胞色素氧化还原反应的限速步骤。除了 CYP 酶系外，CPR 也能为亚铁血红素加氧酶、脂肪酸去饱和酶及延长酶、鲨烯单加氧酶和固醇类还原酶提供电子。CPR 还直接介导一系列化合物的代谢反应，能还原醛及醌类化合物。醛被还原成相应的醇，而醌则通过单电子还原产生半醌自由基，半醌自由基在有氧的条件下会自氧化而生成母体醌类和超氧离子，后者能够转化为过氧化氢和氢氧根离子，从而启动脂质过氧化。

(3)磷脂么磷脂能促进 CYPs 和黄素蛋白类(NADPH-CYP450 还原酶和 NADH 细胞色素 b,还原酶)相互作用，固定膜上的蛋白酶，促进底物羟基化反应或增强外源化学物与 CYPs 的结合作用。

2.微粒体含黄素单加氧酶

微粒体含黄素单加氧酶(microsomal avin-containing monooxygenases,FMOs)与细胞色素 P450 酶系一样,是一种微粒体酶,主要分布在肝、肾、肺等组织的内质网膜上,其催化的反应以 FAD 为辅酶,同时需要还原型 NADPH 和 O₂的参与。FMO 催化亲电子的胺、伯胺,分别氧化成 N-氧化物,以及羟胺和肟。含硫外源化学物和磷化氢可分别氧化生成 S-和 P-氧化物。由 FMO 催化的很多反应也可被细胞色素 P450 催化,但其催化机制与细胞色素 P450 不同。FMO 催化第一步是 NADPH 还原 FAD,被还原的 FAD 结合分子氧形成 C4a-过氧羟黄素(hydroperoxylavin)。因此,当底物结合于 FMO 时,酶已处于活化形式,便于进行氧化反应。FMO 的另一特性是形成的活性较强的代谢物不使酶失活,而是离开 FMO 产物结合域,抑制或共价修饰微粒体上的邻近蛋白如 CYP450,而不是 FMO 本身。此外,FMO 优先化 NADPH 去氢,而对谷胱甘肽或半胱氨酸等亲核物质的去氢氧化作用较弱。

3.环加氧酶

环加氧酶(cyclooxygenase,COX)又称前列腺素 H 合成酶或前列腺素内过氧化物合成酶,是花生四烯酸转化为前列腺素类物质的限速酶。COX 将花生四烯酸转化成前列腺素 C₂(PGG₂),过氧化物酶进一步将 PGG₂还原成前列腺素 H(PGH₂)。COX 有三种异构体:①COX-1 是一种结构酶,参与保护胃肠黏膜、调节肾血流和促进血小板聚集等正常生理作用。该酶在人体多种组织持续表达,对外界刺激不敏感,但参与炎症过程;②COX-2 既是诱导酶也是结构酶。在正常生理状态下,多数组织无法检出该酶,但组织损伤和炎症等因素则诱导其表达。肿瘤的发生、发展和转移也与 COX-2 有密切关系;③COX-3 是 COX-1 的一种变异型,主要存在于大脑皮质、心脏和主动脉中。该酶不参与炎症过程,其生理和病理学意义尚不很清楚。

4.乙醇氧化系统

肝微粒体内有少量的乙醇氧化系统(MEOS),是乙醇-P 单加氧酶,可催化乙醇氧化生成乙醛,仅在血液中乙醇浓度过高时才会被诱导而起作用。乙醇经 MEOS 氧化,不能产生 ATP,却可增加对合 NADPH 的消耗,最终产生羟乙基自由基。

5.偶氮还原酶和硝基还原酶

偶氮还原酶和硝基还原酶均为黄素蛋白酶类。偶氮还原酶(azoreductase)存在于肝细胞微粒体和肝细胞胞质中或源于人类小肠产气荚膜杆菌,由 NADPH 供,在有条件下进行反应。硝基还原酶(nitroreductase)存在于肝、肾、肺等细胞微粒体中,是 FAD 型还原酶由 NADH 供,在厌氧条件下进行反应。它们分别化偶氮苯和硝基苯还原成胺。

6.酯酶和酰胺酶

酯酶(esterase)在体内分布广泛,肝脏最丰富。酯酶分为三类:①水解有机磷酸酯的 A 类酯酶;②被有机磷酸酯抑制的 B 类酯酶;③既不降解有机磷酸酯,也不被有机磷酸酯抑制,但优先与酯酸酯作用的 C 类酯酶。酯酶水解酯类物质生成醇和酸。酰胺酶(amid 主要分布于肝微粒体,可水解酰胺类物质生成酸和胺。

7.微粒体环氧化物水解酶微粒体环氧化物水解酶(micrsomal epoxide hydrolase,mEH)是典型的生物转化酶,主要在肝、小肠、肾和肺表达,并将外源性化合物水解为更易溶于水的二氢二醇衍生物 mEH 对环氧化物的细胞毒性和基因毒性的保护效应有底物依赖的选择性。

8.其他微粒体酶

包括催化内源性和外源性醛糖还原的醛糖还原酶(aldosereductase)、对外源性酮具有底物专一性的酮还原酶(ketoreductase)和羰基还原酶(carbonylreductase)。NADPH 醌氧化还原酶 1(NADPH dehydrogenase quinonel oxido-reductase1, NQ01)是一种可诱导的还原酶主要存在于细胞的胞质内,但在微粒体、线粒体和高尔基体中也可检出。NQ01 在哺乳类各器官均有表达,以肝脏含量最为丰富,并呈现组织依赖性。大鼠、小鼠和人类的 NQ01 酶的基因和氨基酸序列均已鉴定。还原性脱卤素酶(reductivedehalogenase)是依赖于钴胺素的酶,催化环境中许多有机卤化合物(如多氯联苯)的生物脱卤。

二、非微粒体酶系

非微粒体酶系(non-microsomal enzyme system)又称 II 型酶,包括细胞质酶系(醇脱氢酶、醛脱氢酶、黄嘌呤氧化酶、硫氧化物和氨氧化物的还原酶等)、线粒体酶(单胺氧化酶脂环族芳香化酶等)、血浆酶系(单胺氧化酶、酰胺酶等)和肠道菌群酶系,其所化的反应可在肝脏、肠道、肾脏、胎盘和血浆等处进行。非微粒体酶系可催化除葡萄糖醛酸结合反应外的其他所有结合反应及某些化合物的氧

化、还原、水解等代谢反应。I 相反应相关的非微粒体酶有：

1. 醇脱氢酶和醛脱氢酶

醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase,ADH)是一种含锌酶,分布于肝脏、肾、肺和胃黏膜细胞的胞质。醇脱氢酶在催化醇类氧化成醛的反应中涉及辅酶 I-烟酰胺腺嘌呤核苷酸和辅酶 II -烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸。醛脱氢酶(aldehyde dehydrogenase, ALDH)分布于肝细胞的细胞质和线粒体中,以氧化型辅酶【(oxidized nicotinamide adenine dinucleotide, NAD)为辅酶催化醛类氧化生成相应的酸类。例如,摄人的乙醇经 ADH 催化形成的乙醛主要由线粒体中 ALDH 继续化形成酸。

2. 醛氧化酶

醛氧化酶(aldehyde oxidase,AOX)是一类高度保守的钼-黄素蛋白,该酶主要存在于哺乳动物细胞质中,肝脏表达量最高,肺、胃肠道、肾等器官也可检出。但是,醛氧化酶的种类及体内不同部位表达量存在种属及个体差异性。该催化醛类及含氮、含氧杂环类化合物的氧化反应。

3. 黄嘌呤氧化酶

黄嘌呤氧化酶(xanthineoxidase,XOD)是一种胞质酶,主要存在于哺乳动物的乳汁及肝脾中。它是黄嘌呤氧化还原酶(xanthineoxidasereductase,XOR)的一种存在形式。这种含铁钼的黄素蛋白的底物专一性较弱,能催化醛类的氧化反应,是嘌呤分解代谢过程中起重要作用的酶。在哺乳动物中,黄嘌呤氧化酶和黄嘌呤脱氢酶以互相转化形式存在。

4. 单胺氧化酶和双胺氧化酶

单胺氧化酶(monoamine oxidase,MAO)又称含黄素胺氧化酶,主要存在于肝、肾、肠和神经组织细胞的线粒体中,可催化胺类氧化脱氨基生成芳香基和烷基醛,并被其他酶进一步氧化成羧酸。MAO 分为两类:①分布在肝、肾等组织线粒体中的 MAO 以 FAD 为辅,对伯、仲、叔胺均能氧化,参与儿茶酚胺的分解代谢;②分布在结缔组织的 MAO,它是一种细胞外酶,无 FAD 但含有磷酸吡哆醛,仅对伯胺起作用。血清 MAO 性质类似结缔组织 MAO 人体内单胺氧化酶 A 和单胺氧化酶 B 可使单胺类神经递质失活。双胺氧化酶(diamineoxidase)存在于肝、肾、肠和神经组织的细胞质中,主要催化涉及体内生物胺类形成的氧化反应。

5. 肽酶

肽酶(peptidase)是一种肽链水解酶, 俗称蛋白水解酶(protease/proteinase)。该酶广泛分布于动植物和细菌中, 且种类繁多。在动物消化道和体内各种细胞溶酶体中肽酶含量尤为丰富。肽酶分为丝氨酸型、苏氨酸型、半胱氨酸型、天冬氨酸型、谷氨酸型和金属离子型肽酶等不同催化类型。

6. 其他酶

在非微粒体部位也可检测出某些【相代谢相关的微粒体酶。例如, 肠道菌群和细胞质中的偶氮还原酶或硝基还原酶、细胞质和血液中的羰基还原酶、细胞质中醌还原酶和可溶性环氧化物酶。酯酶和酰胺酶在微粒体、细胞质、溶酶体和血液中均可检出。

第三节 I 相反应

毒理学中的氧化反应(oxidation)是指内源性物质或外源性物质在体内生物氧化酶的催化下, 发生加氧或脱氢从而改变或增加新功能基团的反应。其中, 加单氧作用形成羟基的反应称为羟化反应, 它是外源化学物在生物转化酶作用下发生的氧化反应中最为常见的一类生物氧化酶一般分布于滑面内质网、胞质和线粒体等亚细胞部位。CYPs 有广泛的底物谱而大多数非微粒体氧化酶则与之相反, 只以特定功能的外源化学物为底物。外源化学物的体内氧化反应类型如下:

氧化反应

氧化反应指外源化学物在体内发生加氧或脱氢反应。在单加氧氧化反应(monooxygenation)过程中, 氧分子中的一个氧原子被加入到作为底物的外源化学物中, 另一个被还原为水。该类反应主要由微粒体中的 CYPs 和 FMO 等完成。其中单加氧作用形成羟基的反应即羟化反应, 是外源化学物在生物转化酶作用下发生的氧化反应中最常见的类型。

1. CYPs 催化的单加氧氧化反应

该反应催化过程是底物 RH 先结合在含有三价铁(Fe)血红素的 CYP 上, 然后 NADPH 通过 CYP 还原酶提供电子, 将三价铁(Fe)血红素还原为二价铁(Fe²⁺)血红素使之能结合氧(O), 最后将氧原子(O)转移到底物后释放 ROH。其反应总式如下:

第五章：外源化学物中毒的机理

授课章节	第五章：外源化学物中毒的机理				
课时安排	4	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容：</p> <p>一、概述</p> <p>二、毒性作用的一般机制</p> <p>三、外源化学物与器官(系统)及细胞亚细胞损害</p> <p>四、外源化学物与生物膜损害</p> <p>五、外源化学物与细胞钙稳态紊乱</p>					
<p>教学目的、要求：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、掌握毒性作用的一般机制。 2、掌握外源化学物与器官(系统)及细胞亚细胞损害。 3、了解外源化学物与生物膜损害。 4、了解外源化学物与细胞钙稳态紊乱。 					
<p>教学重点、难点：</p> <p>教学重点：毒性作用的一般机制</p> <p>教学难点：外源化学物与器官(系统)及细胞亚细胞损害</p>					
<p>教学方法及手段：多媒体讲授</p>					
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;">第一节 概述</p> <p>要评价化学毒物对机体是否具有毒性或毒性的大小就必须对化学毒物的毒性作用进行定性和定量的研究。从不同的角度如整体水平、器官水平、细胞水平和分子水平来看，毒性作用机制的研究内容包括以下四个方面的问题:①毒物如何进入机体?②怎样与靶分子相互作用?③怎样表现其有害作用?④机体对损害作用的反应。食品中外源化学物的毒理机制就是研究毒物经吸收以后在机体内引起的代谢功能和组织结构的变化规律。主要涉及的毒性作用机制有毒性作用的一般机制、外源化学物与器官(系统)及细胞亚细胞损害、外源化学物与生物膜损害、外源化学物与细胞钙稳态紊乱、自由基与生物大分子的氧化损伤。下面主要介绍毒理机制中的基础知识，主要包括终毒物、增毒和化学毒物产生毒性作用的可能</p>					

途径。

一、终毒物

1.终毒物的概念

终毒物:终毒物是指一种具有特别化学性质的物质,它可与内源性的靶分子(如受体酶、DNA、微纤维蛋白及脂质等)相互作用,严重改变细胞的生物学微环境,从而导致机体整体性结构和(或)功能改变而表现出毒性作用的物质。

靶分子:外源性物质进入生物体后进攻并与之结合的生物大分子(如蛋白质,脂质、核酸、大分子复合物)。

实际上所有的内源化合物都是毒物潜在的靶标,然而毒理学上相关的靶标多是大如核酸(特别是DNA)和蛋白质。在小分子中,膜脂质最为常见。内源性分子作为分导影须具有合适的反应性和(或)空间构型,以容许终毒物发生共价结合反应、非北合反应、责促反应、电子转移和去氢反应等。为了发生这些反应,靶分子必须接触是够牌度的终毒物、因此、处于反应活性化学物邻近或接近它们形成部位的内源性分子常常是(子、细胞的微环境是指能够影响细胞的周围结构和成分,主要包括细胞间质及其中的体分,微环境的稳定是保持细胞正常增殖、分化、代谢和功能活动的重要条件,微环境成分。异常变化可使细胞发生病变。终毒物在其作用位点的浓度及持续时间决定了毒效应的强毒(toxiciaion)或代谢活化(metabolic activation):外源化学物经生物转化后毒性增强1至可产生致畸、致癌效应的过程。

2.终毒物的来源

(1)外源化学物母体 即机体接触的原化学物,如腐蚀性酸碱、重金属离子、氰化物一氧化碳等。河豚毒素

(2)外源化学物的代谢产物 外源化学物在生物转化过程中可能会生成有害产物,如食用油提取剂正己烷的活性代谢产物2,5-己二酮、苦杏仁苷的代谢产物氢氰酸以及苯丙茈的代谢产物BP-7、8-二醇-9,10-环氧化物等。其中,2,5-己二酮能够抑制神经纤维糖酵解酶活性,造成能量代谢障碍,影响到轴突运输功能,导致神经纤维变性。

(3)内源化学物的代谢产物 如胆红素、尿酸、氧自由基和脂质过氧化物等。胆红素是体内铁卟啉化合物的主要代谢产物,有毒性,可对大脑和神经系统引起

不可逆的损害。尿酸是由体内的老旧细胞、富含嘌呤的食物在新陈代谢过程中，由核酸氧化分解形成的嘌呤在肝脏中氧化生成的 2,6, 8-三氧嘌呤(如图 5-1)。由此可见，嘌呤是核酸的氧化分解代谢产物，而尿酸是嘌呤的代谢最终产物。通常 2/3 的尿酸经肾脏随尿液排出体外，1/3 的尿酸则通过粪便和汗液排出。

正常情况下，体内的尿酸大约有 1200mg，每天新生成约 600mg，同时排泄掉 600mg，处于平衡的状态。但如果体内产生过多来不及排泄或者尿酸排泄机制退化，则体内尿酸滞留过多，当血液尿酸浓度大于 70mg/L，导致人体体液变酸，影响人体细胞的正常功能，长期置之不理将会引发痛风。另外过于疲劳或是休息不足也可导致代谢相对迟缓，最终导致痛风发病。

痛风是由单钠尿酸盐(MSU)(如图 5-2 所示)沉积所致的晶体相关性关节病，与嘌呤代谢紊乱和(或)尿酸排泄减少所致的高尿酸血症直接相关，特指急性特征性关节炎和慢性痛风石疾病，主要包括急性发作性关节炎、痛风石形成、痛风石性慢性关节炎、尿酸盐肾病和尿酸性尿路结石，重者可出现关节残疾和肾功能不全。痛风常伴腹型肥胖、高脂血症、高血压、2 型糖尿病及心血管病等表现。

二、增毒

增毒又称生物活化，是指外源化学物在机体内发生生物转化形成终毒物的过程。某些化学物质本身无毒或毒性较低，但在体内经过生物转化后，形成的代谢产物毒性比母体物质大，甚至产生致癌、致突变、致畸作用。最为多见的情况是增毒使外源化学物如氧和氧化氮(NO)转变为：亲电子、自由基、亲核物、氧化还原性反应物。增毒的途径如下：

(1)通过 I 相反应增毒如有机磷杀虫剂对硫磷，其在环境中易受空气、水的影响，分解为无毒物质；而在光照条件下，易进行光氧化反应，生成一种高活性的胆碱酯酶抑制剂对氧磷，对氧磷的毒性比原母体对硫磷毒性更大(图 5-3)。需要指出的是，I 相反应产生的活性代谢物也可以和富电子的 DNA 碱基、磷脂等基团发生反应，导致 DNA 的氧化、环化和缺失等一系列突变性损伤，其结果不仅导致癌的发生也导致人体衰老和其他一些疾病的发生。

(2)通过 II 相反应增毒苯胺的葡萄糖醛酸结合产物在酸性条件下分解，形成羟基苯胺--亲电子化合物，可导致膀胱癌。

第二节 毒性作用的一般机制

直接损伤作用毒物的直接损伤作用是指外源化学物质接触机体或进入机体的易感部位后产生的局部损伤作用，如腐蚀性化学物质(如强酸、强碱)对接触部位有强烈的刺激、腐蚀作用而引起灼伤;外源化学物通过影响组织对氧的利用或影响酶的活性而扰乱正常代谢;外源化学物对人体各系统和内脏的毒性作用损害机体的生理功能。

1.局部刺激和腐蚀作用局部炎症反应主要表现为口膜炎、胃肠炎、鼻炎、炎和结膜炎，引起的病理学变化有流涎、腹泻、羞明流泪、咳嗽、发痒、灼烧。常见毒物有硫化氢(刺激性、窒息性，神经毒物)、氯(强烈刺激呼吸道黏膜，引起呼吸道烧伤、急性肺水肿及心肺功能急性衰竭)和西青(皮类、咽炎、胸闷、恶心)等。各国意品意司成服射、部分路面融度量商可达 70-80℃、在此温度下路面上的沥青受热交器理融优获悉，并可以产生部分挥发性有害物质。沥青和粉尘可经呼吸道和污染皮肤子瑞器，发生皮类、规力模物、服结膜炎、胸、腹痛、心悸、头痛等症状。沥青和流烟中所含的 3、4-萘并芘是引起皮肤癌、肺癌、胃癌和食道癌的主要原因之一。中日景生活中大家选用的清洁剂一般分三种，第一种是中性的清洁剂、洗涤剂，对人伤害不大，如洗碗剂和果蔬剂;第二种是含氯或者次氯的清洁剂，消毒液、漂白粉就是公类;第三种就是酸性清洁剂，如浴室清洁剂、洁灵。如果将含清洁剂和性清洁剂混使用就会产生氯气。氯气比空气密度低，不是很浓的氯气短时间内会刺激、损害我们的眼睛黏膜和口腔黏膜。如果气体很浓，比如当瓶盖是敞开的，氯气浓度达到一定程度就直接损害我们的呼吸道，抑制呼吸中枢，造成人窒息死亡。

2.扰乱机体的正常代谢

(1)影响组织对氧的利用血红蛋白是血红素和蛋白质的结合体，其载氧的基本功能单位是血红素。每个血红素由 4 个吡咯环组成，在环中央有一个铁原子。在血红蛋白中，铁原子以 II 价状态与氧分子进行可逆的结合，形成合血红蛋白。如果铁氧化为三价状态，血红蛋白则转变为高铁血红蛋白。在正常的生理 pH 范围内，大部分高铁血红蛋白的第六个配位体是 OH⁻，由于 OH⁻ 是较弱的配位场，此时中心离子 Fe²⁺ 处于高自旋态，它所形成的螯合物必然比 Fe²⁺ 所形成的螯合物的热力学稳定性要强;同时由于 Fe²⁺ 使整个血红素基团带上一个单位的正电荷，其第六个配位体就容易与带一个单位负电荷的离子如 NH₃、CN⁻ 等相结合,这样高

铁血红素就不可能与氧结合而失去了载氧能力，造成机体缺。

甲硫氨酸是构成人体的必需氨基酸之一，参与蛋白质合成，在肌酸、蛋白质合成中作为甲基化的供体来源。外源化学物乙硫氨酸与甲硫氨酸结构相似，乙硫氨酸与之竞争，取代甲基而提供乙基可引起 ATP 缺乏和蛋白质合成抑制，导致 RNA 和其他细胞成分甲基化障碍并由乙基化取代。极低密度脂蛋白是肝脏转运三酰甘油的载脂蛋白，这种蛋白质的合成不足会抑制甘油三酯从肝细胞中排出，导致肝组织脂肪变性，使之在肝中堆积导致脂肪肝。

(2)影响酶的活性

①外源化学物与酶活性中心的金属离子结合，如 CN 与细胞色素氧化酶中铁离子结合使细胞色素氧化酶的活性被抑制而导致生物功能丧失，结果造成组织缺氧。如存在于某些豆类、核果和仁果种仁、木薯的块根中的生氰糖苷，在 B-葡萄糖苷酶的作用下可分解成氰醇和糖，氰醇不稳定，自然分解成相应的酮、醛化合物和氢氰酸。氢氰酸被吸收后，随血液循环进入细胞中，通过细胞膜进入线粒体。化物通过与线粒体中的细胞色素氧化酶的铁离子结合，导致细胞的呼吸链断裂，造成组织缺氧，体内的二氧化碳和乳酸增高，使机体陷入内窒息状态。氢氰酸还能作用于呼吸中枢和运动中枢，使之麻痹，严重者可导致死亡。

2 外源化学物与酶激活剂相作用，如 M 与 F 结合，磷酸葡萄糖变位酶无法激活。外源化学物与酶的辅酶结合，如铅中毒时消耗大量烟酸致使辅酶合成减少，抑制脱氢酶活性

④抑制酶的活性，如有些毒物进入人体内后，能直接与酶结合，抑制或减弱酶的活性。根据作用特点可分为特异性抑制和非特异性抑制。特异性抑制指毒物进入人体内后，与酶活性中心上的必需基团结合，使酶失活。如有机磷农药敌百虫、敌敌畏等，能特异性地与体内的胆碱酯酶活性中心的丝氨酸残基的羟基结合，使胆碱酯酶失去活性，体内的乙酰胆碱不能及时分解而堆积，引起人和动物中毒。非特异性抑制指毒物进入人体后与酶分子中的基等基因结合，这些巯基不限于酶活性中心的必需基团，低浓度的 Hg²⁺、Ag⁺、As³⁺ 等金属离子可与酶

分子中的巯基结合，通过影响酶的空间结构使酶失活。许多植物的种子和荚果中存在动物消化酶抑制剂，如豆类及蔬菜的种子中含有的胰蛋白酶抑制剂可以和胰腺分泌的丝氨酸蛋白酶系发生互补性结合作用，两者反应时，抑制剂暴露在

外的活性中心与靶酶的活动中心通过氢键相连接，形成稳定的共价型复合物，从而导致酶活动中心闭锁，使靶酶的活性丧失。用含有胰蛋白酶抑制剂的大豆脱脂粉饲喂动物可造成其明显的生长停滞，并导致胰腺肥大、增生及胰腺瘤的发生。20 世纪 70 年代以来已发现有 100 多种来自于微生物(主要存在于链霉菌属)和植物(主要存在于大麦、小麦、玉米、高粱等禾本科作物种子中)的 α -淀粉酶抑制剂，该抑制剂是属于糖(苷)水解酶抑制剂中的一种它能有效地抑制肠道内唾液及胰淀粉酶的活性，阻碍食物中碳水化合物的水解和消化，减少糖分的摄入，降低血糖和血脂含量水平，餐后不产生高血糖症，从而胰岛素分泌减少，脂肪合成降低。

例如，汞离子易与蛋白质的巯基结合，使与基有关的细胞色素氧化酶、丙酮酸激酶琥珀酸脱氢酶等的活性受到影响;此外，汞也可以与酶分子中的氨基、羧基、磷酸基等基团结合形成稳定的硫醇盐，使细胞表面的酶系统抑制而影响酶的活性。由于这些酶和功能基团的活性受影响，阻碍了细胞正常的代谢活动和生理功能，造成细胞呼吸障碍，最终导致细胞变性和坏死。汞中毒的主要表现为神经系统的损害。因此，慢性有机汞中毒开始时感觉疲乏、头晕、失眠、肢体末端、唇舌和齿龈等麻木，然后有刺痛，随后发展为运动失调、言语不清、耳聋、视力模糊、记忆力衰退，严重者可出现精神紊乱、痉挛致死。

受体-配体的相互作用与立体选择性作用上、受体是位于细胞膜上或细胞内的特殊蛋白质，能特异性识别胞外生物活性分子或信号分子并与之结合，它能将识别和接收的信号正确无误地放大并传递到细胞内部，进而激活胞内一系列生理生化反应，使细胞对外界刺激产生相应的效应。受体为大分子物质，多为糖蛋白，一般至少包括两个功能区域，即与配体结合的区域和产生效应的区域。当受体与配体结合后，因构象改变而产生活性，启动一系列过程，从而引起细胞生物学反应，如介导细胞间信号转导、细胞间黏合、细胞胞吞等细胞过程。

1.受体类型

(1)膜受体(membranereceptor)大多为生物膜上的一类跨膜糖蛋白，也有糖脂或糖脂蛋白复合物。这类受体最多，如各种蛋白质激素受体及乙酰胆碱，肾上腺素的受体主要与难进入细胞的配体发生相互作用，如存在于可兴奋细胞的离子通道型受体，存在于大多数细胞的 G 蛋白偶联受体和酪氨酸激酶偶联受体，如图 5-4(1)所示。

(2)胞内受体(intracellularreceptor) 位于胞浆或细胞核基质中的受体。具有脂溶性能自由通过脂质细胞膜,前者又称胞浆受体,如孕酮、雌二醇、肾上腺皮质激素等类固醇激素的受体;后者也称为核受体,如甲状腺激素的受体,如图 5-4(2)所示。

近年来,过氧化物酶体增殖剂激活受体是受到研究者关注较多的受体之一。PPAR γ 是核激素受体家族中的配体激活受体控制许多细胞内的代谢过程,具有促进脂肪细胞分化和脂肪生成、增强机体胰岛素敏感性调节体内糖平衡、保护心血管等多种生物学效应。过氧化物酶体(peroxisome)是一种单层膜的细胞器,存在于各种真核细胞中。过氧化物酶体含有丰富的酶类,主要是氧化酶、过氧化氢酶和过氧化物酶。氧化酶可作用于不同的底物,其共同特征是氧化底物的同时,将氧气还原成过氧化氢;过氧化氢酶利用过氧化氢氧化各种底物,如、甲酸、甲醛和乙醇等,其结果是使这些有毒性的物质变成无毒性的物质,同时也使日,0,进一步转变成无毒的 H₂O。过氧化物酶体增殖剂(peroxisomeproliferator, PP)是指能引起动物机体细胞的过氧化物酶体数量增加的化学物质,包括脂肪酸衍生物、邻苯二甲酸酯、某些除草剂、药物及其相关激素,过氧化物酶体增殖剂激活受体啮齿动物实验研究表明,PP 的致癌活性与其促进过氧化物酶体增殖的作用明显相关,其主要的靶器官是肝脏,对睾丸、甲状腺、肾、肠、肾上腺、心脏也有同样作用,可引起形态结构和生化功能的改变。不过,目前还难以确定 PP 对齿类的这些有害效应是否也存在于人类。

2.配体

配体是细胞外的信号分子,又称第一信使,是由细胞分泌的调节特定的靶细胞生理活动的化学信号物质。除了与受体结合外,其本身并无其他功能,它不能参加代谢产生有用产物,也不直接诱导任何细胞活性,更无酶的特点,它唯一的功能就是通知细胞在环境中存在一种特殊信号或刺激因素。配体根据其溶解性分为亲脂性配体和亲水性配体,亲脂性配体可直接穿过细胞膜进入胞内,与胞内受体结合,调节基因表达如类固醇激素、甲状腺素等。亲水性配体则不能穿过细胞膜进入胞内,只能与膜受体结合,进行信号转换如神经递质、肽类激素、细胞因子等。

配体与受体的结合是一种分子识别过程,它依靠氢键、离子键与范德华力的

作用，随着两种分子空间结构互补程度增加，相互作用基团之间距离就会缩短，作用力就会大大增加)因此分子空间结构的互补性是特异结合的主要因素。

3.外源化学物与受体作用后产生最终毒作用的机制

外源化学物可模拟天然配体(内源性配体)的激动剂作用，或者占据受体结合部位而阻断天然配体与受体的结合，或者作用于不直接参与配体结合的受体上、对配体与受体的相互作用进行干扰。如阿托品是乙酰胆碱的竞争性抑制物，能与 M 胆碱受体可逆的结合，但无活性，能阻断节后胆碱能神经支配的效应器细胞上的 M 胆碱受体，抑制神经兴奋(尤其是副交感神经)，从而抑制神经兴奋。双酚 A(Bisphenol A, BPA)为系衍生物，结构与雌激素相似，为一典型雌激素样内分泌干扰物，可以对机体产生多种毒性效应。高剂量 BPA 主要通过拮抗雌激素受体而发挥其内分泌干扰效应;环境相关低剂量 BPA 由于不能与雌激素竞争结合雌激素受体，主要通过膜受体介导的信号通路以非基因组方式诱导细胞生物学功能改变。

三、与生物大分子结合生物大分子(Biological macromolecule)指的是作为生物体内主要活性成分的各种分子量达到上万或更多的有机分子，通常是指核酸和蛋白质。毒物与生物大分子相互作用主要方式有两种，一种是可逆的，另一种是不可逆的，如底物与酶的作用是可逆的，共价结合形成的加成物是不可逆的。共价结合是指化学毒物或其具有活性的代谢产物与机体的一些重要大分子发生共价结合，从而改变核酸、蛋白质、酶、膜脂质等生物大分子的化学结构与其生物学功能。加合物是指活性化学物与细胞内生物大分子之间通过共价键形成的稳定复合物，为重要的生物标志物之一，常见于亲电子毒物与大分子的亲核基团作用，通过共价键形成的稳定复合物。这种共价结合方式可使外源化学物或其代谢产物进入大分子内而成为其中的组成成分，一般用生化或化学手段处理不能使其解离。因此共价结合可以永久性、不可逆地改变内源性物质的结构。

1.与蛋白质的共价结合蛋白质分子中可与外源化学物共价结合的功能基团包括氨基、羧基、丝氨酸和苏氨酸的羟基、半胱氨酸的巯基、精氨酸的胍基、组氨酸的咪唑基、酪氨酸的酚羟基和色氨酸的吲哚基等。(1)与血清白蛋白的共价结合白蛋白是血液和组织间质中的主要蛋白质，也是血液中重要的运输载体。血清白蛋白由肝细胞合成，而肝脏正是外源化学物活化代谢的主要场所因而白蛋白

更易受到由肝细胞活化形成的亲电子剂的攻击。研究表明,动物的暴露量与所形成的白蛋白加合物之间呈现剂量-反应关系,如使用含黄曲霉毒素 B₁污染的食品的人体内白蛋白加合物水平显著提高。(2)与血红蛋白的共价结合外源化学物进入血液后,先与红细胞膜结合,继而进入细胞与血红蛋白共价结合。血红蛋白中参与结合的基团主要有氨基、巯基和芳香胺基团。血红蛋白加合物可用于人群接触外源化学物的监测,具有样品容易获得,寿命长的优点,方便

(3)与组织细胞蛋白质的共价结合与膜蛋白或胞浆蛋白共价结合,将影响到细胞的正常检测。常代谢或信号传递过程。其中,外源化学物或毒物与核蛋白(nuclearprotein)的共价结合将对细胞生长、增殖和分化等的调控产生影响,因为核蛋白是在细胞质内合成,然后运输到核内起重要作用的一类蛋白质。

外源化学物或毒物与核酸的共价结合与毒物的类型有关,通常以亲电性代谢产物为主,但亲核性代谢产物和自由基也可以。结合部位可以是碱基、磷酸、核糖或脱氧核糖,但以碱基损伤的毒理学意义最大。两者形成加合物的方式有:①母体化合物直接与核酸发生共价结合;②母体化合物的活性代谢产物与核酸发生共价结合,绝大多数的化学毒物以此种方式与核酸发生共价结合,如多环芳烃、黄曲霉毒素和芳香胺等。当外源化学物或物与核酸结合后,会引发细胞突变、癌变及其他的细胞损伤。一般来说,DNA加合物一旦形成,致癌过程即已启动。因此,DNA加合物是一类重要的生物标志物,可用于化学物致癌的早期检测。

第三节 外源化学物与器官(系统)及细胞亚细胞损害

毒物吸收后最初的反应都发生在分子水平,然后进展到细胞水平。反应必须发展到组织和器官水平上,引起器官明显的生理功能紊乱,才能出现临床症状。虽然组织、器官的结构损伤是功能紊乱的基础,但有时组织和器官的功能虽已出现明显的紊乱(临床出现症状)但在细胞水平上还没有发生结构性损伤,结构性损伤是稍后才出现的。有时也会功能和器质性损伤同时出现,当功能性紊乱和器质性损伤相互促进时,会导致中毒的迅速发展。

一、外源化学物对器官(系统)的损害

1.化学毒物对消化系统的毒性作用

胃肠道是消化系统的主要组成部分。除了贮存食物和消化食物,胃还可以分泌前列腺素、黏液和碳酸氢盐保护胃黏膜,储存、分泌5-羟色胺、组胺和促胃酸

激素。外源化学物对胃的毒性作用主要表现在以下几个方面。

(1)影响胃黏膜细胞生长 胃黏膜细胞代谢较为旺盛，所有影响 DNA 合成和抑制有丝分裂的外源化学物都可能影响其生长，如幽门螺旋杆菌分泌产生细胞毒素，引起胃上皮细胞的变性和坏死而造成胃黏膜的损伤而形成溃疡；

(2)导致胃黏膜细胞坏死外源化学物通过干扰黏膜上皮细胞正常分泌黏液和碳酸氢盐，或者影响前列腺素的黏膜保护机制造成黏膜细胞坏死，如吸烟能减少内源性前列腺素 E 的产生，从而削弱黏膜的完整性，降低黏膜抵抗力；(3)扰乱胃酸和胃蛋白酶的分泌幽门螺旋杆菌持续感染不仅可以使胃黏膜结构遭到破坏，阻碍了胃酸对胃泌素细胞分泌的负反馈作用，造成胃内 pH 发生改变；

(4)胃蠕动紊乱如乙醇刺激胃黏膜时会刺激胃蠕动，使肌肉收缩挤压血管，造成局部缺血，使胃黏膜血流量减少，从而影响胃黏膜的正常微循环，损伤其防御屏障的形成，导致胃黏膜损伤。

外源化学物导致胃急性中毒的症状有唾液分泌过多、恶心、腹部肌肉紧缩、呕吐、腹痛和腹胀，如蓖麻、巴豆、砷、铅、有机磷可引起腹痛、腹泻、消化不良等急性胃肠炎症状其中，外源化学物引起腹泻的机理包括：胃肠道强烈或持久的蠕动和分泌活动破坏了机体对内环境稳定的控制作用，导致腹泻、脱水或酸、碱中毒；毒物可通过肠腔或血液循环系统到达肠道上皮。黏膜损伤使黏膜对不同电解质的渗透特性发生紊乱并引起前列腺素 2(PGE₂)的释放；PGE₂ 激活肥大细胞释放组胺，组胺刺激平滑肌运动加强，同时，PGE₂ 还能诱导黏液和电解质的分泌，电解质产生的渗透力使水进入肠腔，大量液体的分泌和肠道蠕动的增加导致了腹泻。

2.化学毒物对血液系统的毒性作用

外源化学物对血液系统的影响主要表现在影响红细胞携氧能力，以及影响红细胞、白细胞及血小板生成功能。

如铅可引起血红蛋白合成障碍，导致贫血；氯霉素可抑制骨髓造血机能，血细胞减少不可逆再生障碍性贫血。

亚硝酸钠是食品加工中最常用的发色剂，GB2760-2014《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》规定：亚硝酸钠可用于腌制畜禽肉类罐头、肉制品和腌制盐水火腿，最大使用量为 0.15g/kg。当人体大量摄取亚硝酸盐时，其进入血液后，

可使正常的血红蛋白(Fe^{2+})变成高铁血红蛋白(Fe^{3+}),使血红蛋白失去携氧能力,导致组织缺氧。从而产生头晕、呕吐、全身乏力、心悸、皮肤发紫,严重时呼吸困难、血压下降甚至昏迷、抽搐、衰竭死亡。

3.化学毒物对免疫系统的毒性作用外源化学物可以直接损伤免疫细胞的结构和功能,影响免疫分子的合成、释放和生物活性,或干扰神经内分泌,使免疫系统对抗原产生不适应的应答或对自身抗原的应答,都会导致免疫病理过程,发展为免疫性疾病。由外源化学物导致的免疫应答过低,增加宿主对病原体或肿瘤的易感性称之为免疫抑制。免疫抑制剂均能降低机体对细菌、病毒等的抵抗能力。常见的与食品相关的免疫抑制因子有嗜好品(乙醇、香烟),如妊娠期饮酒对新生儿免疫系统的损伤很大,可引起新生儿酒精综合征,不仅影响固有免疫,还能造成新生儿适应性免疫缺陷,使其更容易受到各种病菌感染。反之,免疫应答过高会导致超敏反应或自身免疫,前者主要表现为组织损伤和/或生理功能紊乱。自身免疫是机体对自身组织成分或细胞抗原性失去免疫耐受性,导致自身免疫效应细胞和自身抗体产生。如乳泻(celiac sprue, CD)又称脂泻病、麦胶敏感性肠病、非热带口炎性腹泻等,是一种非IE介导的过敏反应,主要由个体遗传因素和环境因素引起的复杂的自身性免疫系统疾病,是一种在遗传易感个体摄入麸质后不耐受引起的慢性小肠吸收不良综合征。发病机制主要与醇溶蛋白不易于被完全消化有关,醇溶蛋白中含有丰富的谷氨酰胺和脯氨酸,脯氨酸在乳糜泻免疫反应起激活剂的作用。并且醇溶蛋白经肠内的肽酶消化后,不被完全降解,生成一些较大的肽段,可通过固有免疫和适应性免疫系统导致小肠上皮和固有层损伤。常见的免疫抑制剂见表5-1。

4.化学毒物对肝脏的毒性作用

肝脏是外源化学物生物转化的主要场所,也是外源化学物作用的重要靶器官。在机体内肝脏具有特殊的解剖位置、组织结构和生理生化特性。肝脏最易作为外来化学物的毒作用靶器官(表5-2)。肝脏是一个被血液充盈的器官,与血液循环密切相关,由于肝脏在两套人肝血管、分别接受来自胃肠道血液与体循环的动脉血液,化学物质无论从何种径进入机体,均可通过血液循环达到肝脏,尤其从消化道吸收的毒物,在进入血液循环前毒物首先与肝脏接触。肝脏作为化学毒物的生物转化器官,在一定条件下,化学毒物极易对肝脏造成损害作用,特别

是经体内代谢增毒的外源化学物质在肝脏代谢转化后其有代谢产物可首先损害肝脏;由胆汁排泄的有毒化学物质或代谢产物,可通过肝肠循环系再次进入肝脏发挥毒作用。因此,凡由消化道摄入机体的外源化学物,都首先经过肝脏进入人体循环,所以肝脏是外源化学物发挥毒性作用最主要部位之一。

人类环境中有许多化学毒物在一定条件下,可对肝脏造成损害。根据肝脏毒物的毒作用机制可以将肝毒物分为体质依赖性肝毒物和真性肝毒物两种。前者主要是指其取决于个体的某种遗传特异性、特殊的生理过程或病理状态,常由药物引起,不易通过动物模型复制。后者常见于接触人群,潜伏期短,肝损害程度存在剂量-效应关系,可以通过动物模型复制根据毒作用机制真性肝毒物分为直接肝毒物和间接肝毒物两大类:

能够直接作用于肝细胞、细胞器或生物大分子,引起膜脂质过氧化、膜蛋白变性,使结构破坏,导致肝细胞死亡的称为直接肝毒物。例如,四氯化碳(CCl₄)、三氯甲烷、四溴化碳、碘仿等,CCl₄进入肝细胞后,经过细胞色素 P450 酶代谢激活,产生三氯甲基自由基(CCl₃·)和过氧化三氯甲基自由基(OOCCl₃),这些自由基与肝细胞膜、内质网和线粒体上的磷脂分子发生共价结合,导致生物膜上的脂质过氧化,破坏膜的磷脂,损害细胞膜正常的结构和功能。

有些外源化学物能够进入肝细胞内,干扰细胞酶活力,导致细胞内物质代谢紊乱,称为间接肝毒物。如在培养基中添加 DL-乙硫氨酸培养大鼠肝细胞,发现细胞内的甘油三(TG)含量增加,符合脂肪化肝细胞特点,表明 DL-乙硫氨酸作用于肝细胞,能够使肝细胞脂质代谢紊乱。例如乙醇通过诱导甘油三酯合成酶的增加,使甘油三酯合成增多,从而导致肝组织脂肪变性;乙醛可与肝细胞蛋白质发生共价结合,形成乙醛-蛋白质复合物,作为种新的抗原引发肝细胞免疫毒性反应。

黄曲霉毒素与人类肝癌发生有密切的关系。黄曲霉毒素可以抑制肝细胞 DNA、RNA 的合成,也可以抑制肝脏蛋白质的合成。一次大量经口摄入后,可出现肝实质细胞坏死、胆上皮细胞增生、肝脂肪浸润以及肝出血等急性病变。少量持续经口摄入后则引起肝脏纤维组织增生、肝硬化等慢性损伤。实验证明,用含有黄曲霉毒素 B₁15ug/kg 的饲料饲喂大鼠,6 周后 12 只雄性大鼠全部出现肝癌;80 周后, 13 只雌性大鼠全部出现肝癌。

我国应用历史悠久的香料如肉豆蔻、桂皮、茴香中含有黄樟素。现已确定黄樟素对肝有损害作用。用含有 0.1~5g/kg 黄樟素的饲料饲喂大鼠 2 年，出现不同程度的生长抑制、肿大和脂肪变性，并有不规则的小结节，出现单个或多个肝癌细胞。含 5~20mg/kg 黄樟素饲料饲喂犬 6 年后，出现肝肿大和病灶性坏死，胆管增生、脂肪变性、肝细胞萎缩和白浸润。

第四节 外源化学物与生物膜损害

外源化学物对生物膜的损害主要包括化学毒物对生物膜的组成成分、生物物理功能、信息物质的转运以及代谢和信息传递过程的影响和损伤。

一、外源化学物对生物膜的组成成分的影响

1. 对膜脂质的影响

膜脂质由磷脂与胆固醇及其他脂类组成。磷脂等组成双层的脂质。膜磷脂的组成及含量变化可反映膜的结构和功能的改变。某些外源化学物可破坏或改变膜脂质，影响脂质代谢合成的过程。

(1)膜脂质组成改变由于不同的细胞及细胞器的功能不同，其所含磷脂种类与比例也不尽相同。如成熟红细胞的脂类主要包含在膜内，脂类约占膜干重的 40%，其中 50%为磷脂。在磷脂中，磷脂酰胆碱(PC)和磷脂酰乙醇胺(PE)为主要组分。四氯化碳曾广泛用作香料的浸出剂、粮食的蒸煮剂，它可作用于肝细胞膜，使其磷脂总含量减少 60%。香烟烟雾提取物(cigarettesmoke extract, CSE)作用于红细胞后，红细胞膜中 PE 和 PC 含量均降低，同时，膜磷脂分子中不饱和脂肪酸(亚油酸、花生四烯酸)含量降低。

(2)膜脂质与化学毒物结合，改变膜结构的性质二氧化硅与巨细胞一起培养，巨噬细胞负电性增加，经清洗变化不大，说明二氧化硅与膜固有结构的某基团发生结合。食品工业用二氧化硅作为抗结剂、消泡剂等。GB2760-2014《食品安全国家标准食品添加剂使用标准》规定可用于蛋粉、糖粉、奶粉等，最大使用量为 15g/kg。

(3)膜脂质过氧化自由基作用于膜脂质，引起膜脂质中多不饱和脂肪酸的过氧化反应。研究表明，SiO₂粉尘能引起膜的脂质过氧化，且呈现明显的剂量-效应关系和时间-效应关系。镉能引起机体的氧化应激反应，诱导机体产生活性氧自由基(ROS)，后者会攻击细胞膜上的脂肪酸发生脂质过氧化反应，进而产生丙二

醛(MDA)，引起氧化损伤反应。

2.对膜蛋白质结构和酶活力的影响

膜蛋白根据分离的难易及其在膜脂双分子层上的定位分为外周膜蛋白和内在膜蛋白(图 5-5)。外周膜蛋白又称外在蛋白，为水溶性蛋白，分布于脂双层的表面，通过静电引力或非共价键与其他膜蛋白相互作用连接在膜上。外周膜蛋白占膜蛋白的 20%~30%，是受体位点/细胞的标志，如人类白细胞上组织相容性抗原(HLA)，B 淋巴细胞表面的免疫球蛋白受体。内在膜蛋白多为跨膜蛋白露出膜外的部分含有较多的极性氨基酸，与磷脂分子的亲水头部邻近，嵌入双层的膜蛋白由一些非极性的氨基酸组成，与脂质分子的疏水尾部相互结合，主要靠疏水作用力与膜脂紧结合，占膜蛋白的 70%~80%，包括细胞色素 b5 和跨膜蛋白。人类基因中，1/4~1/3 基因编码的蛋白质为内在膜蛋白。

膜上的蛋白质或者酶结构如果发生异常，会严重影响生物膜对信息的选择和传递，从而改变基因的表达，引起特殊毒性作用。外源化学物作用的膜酶并不相同，而且作用机制也不尽相同。例如，二氧化硅可与人红细胞膜的蛋白结合，使其蛋白的 α -螺旋(二级结构)坏。有机磷化合物对红细胞膜乙酰胆碱酯酶(AchE)的抑制作用，是直接作用于酶，磷原子与酶催化活性中心丝氨酸分子的一 OH 发生不可逆的结合，从而抑制 AchE 的催化活性 Cd*对肾脏损伤，表现为丙氨酸氨基转移酶活力下降，而碱性磷酸酶和 γ -谷氨酰转移酶活性明显上升。

3.对膜糖的影响

膜糖不是单独存在，往往与脂质和蛋白质组成糖脂和糖蛋白，分布于质膜的外表面(5-6)。外来刺激如激素、生物因子或其他细胞等通过跨膜蛋白传入细胞，引起细胞的应答反应，即细胞的识别过程。膜糖参与细胞识别、受精、细胞分化、器官发生及宿主与寄生物之间的相互作用等生理和病理过程。如动物的精子是一类结构和功能都十分特化的细胞，其膜表面存在多种糖蛋白或糖复合物，它们与精卵识别、结合以及质膜融合等受精活动密切相关。

外源化学物作用于生物膜可能会引起膜糖中的脂肪酸组成的改变。在油酸和棕榈酸复合培养基中，莱氏衣原体 AH089 菌株、莱氏衣原体 A 菌株和 B 菌株三者膜上脂肪酸组成相似而在油酸单独培养基中，不同菌的膜上脂肪酸组成则不同，在莱氏衣原体 AH089 和 B 菌膜上，不仅含有油酸，而且还有一定量的棕榈

酸，莱氏衣原体 A 菌株则只含有油酸。

二、化学毒物对膜生物物理性质的影响

生物膜的生物物理性质主要包括膜的通透性、流动性和膜表面电荷

1.对膜通透性的影响

细胞为了进行正常的生命活动，必须从周围环境摄取营养物质，并将代谢产物或废物排出细胞。细胞与周围环境进行物质交换，必须通过细胞膜。细胞膜在不断变化的环境中必须保持自身的稳定状态才能生存。生物膜的通透性指生物膜与周围环境极性物质交换能力。细胞膜允许一些物质通透，又能降低甚至阻止另一些物质的通透，所以细胞膜具有选择通透性。膜的选择通透性与细胞的功能有密切的联系。许多可以改变细胞膜或细胞器膜通透性的物质往往具有一定的毒性作用。但通透性的改变不是细胞损伤的唯一原因。

影响膜通透性的因素:①脂/水分配系数是膜通透性的决定因素;②通过调节膜上原有通透途径而改变通透性。如汞、铅等重金属可抑制肾脏有机酸转运系统;③通过在原来膜上建造新的通透途径而改变通透性。DDT 通过与膜脂结合，使膜流动性降低，故影响 $\text{NaK}^{\text{+}}\text{-ATPase}$ ，表现为神经细胞膜 $\text{Na}^{\text{+}}$ 、 $\text{K}^{\text{+}}$ 离子通透性改变。在离体的神经纤维上，可观察到 DDT 使其动作电位持续时间延长和重复;在整体动物上，则可观察到动物兴奋性增高、震颤和痉挛。因此，DDT 中毒的症状与神经细胞膜离子通透性改变有关。重金属(Pb、Hg、Cd)可与膜蛋白上的某些集团如巯基、羰基、磷酸基等发生作用改变其结构和性质，从而影响其通透性。

2. 对膜流动性的影响生物膜的流动性是膜组分包括膜脂、膜酶、膜蛋白等的分子运动和分子间相互作用的综合效应。膜流动性的变化直接反映了膜的结构与功能的改变。膜的流动性包括膜脂质分子的旋转、伸缩和振荡、侧向扩散和翻转运动，膜蛋白分子的侧向扩散和旋转运动，膜整体结构的运动。膜流动性的生理意义包括:物质运输、细胞融合、细胞识别，细胞表面受体功能的调节等(图 5-7)。

现已发现不少化学毒物可以影响膜脂的流动性。化学毒物可通过改变膜的流动性而影其功能，如 DDT、对硫磷、可使红细胞膜脂质的流动性降低，乙醇可引起肝细胞微粒体脂质的流动性增高。大鼠每日灌胃苦参碱(20mg/kg，0.5ml/100mg)6 周后，实验组大鼠精:膜脂质流动性降低。澳氰菊酯(Deamethrn，DM)对人工膜流动性影响研究发现，DM 可人工膜的脂质流动性升高。不过，人

工膜与生物膜流动性表现有一定差异，所以体外研究统果的外推应十分慎重。现有研究表明，DM可以降低大鼠脑组织线粒体膜流动性。

3.对膜表面电荷的影响

膜表面的糖脂和糖蛋白形成膜表面极性基团，组成表面电荷。膜表面电荷的性质和密摩影响膜表面的结构和功能。化学毒物可通过改变膜的表面电荷而影响其结构和功能。

二氧化硅在膜表面形成硅醇基，与膜上含胆碱基的磷脂结合，正电荷减少。同时，可显降低细胞膜水化度。表现为细胞电泳速度明显加快，zeta 电位增加，这就可解释 SiO₂致脂流动性增加，以及膜通透性增加的原因。二价金属离子在细胞周围浓度变化可以影响膜表面电荷密度，使 zeta 电位减少，细胞电泳迁移率逐渐减慢。大鼠经溴氰菊酯处理后，5,24,48, 72h 组的线粒体膜电位下降。

第五节 外源化学物与细胞钙稳态紊乱

正常成人体内含钙约为 1200g，其中 99%存在于骨骼和牙齿中，1.0%的钙存在于血液细胞外液及软组织中。钙在血浆中以三种形式存在，即钙离子(47%)、蛋白结合钙(46%)及有机阴离子结合钙(6%)，其中离子钙是生理活性的钙。在细胞间信息传递过程中，作为第一信使的细胞外的水溶性信号分子如神经递质，不能穿过靶细胞膜，只能经膜上的信号转换机制实现信号传递。第一信使作用于靶细胞后在胞浆内产生信息分子，第二信使将获得的信息增强、分化、整合并传递给效应器才能发挥特定的生理功能或药理效应。钙离子是主要的第二信使，起到信号转换和信号放大的作用。

细胞内钙的功能主要体现在两个方面:一是外来刺激引起细胞 Ca²⁺ 动员，可调节细胞的多种生物功能，包括肌肉收缩、神经转导、细胞分泌、细胞分化和增殖。二是 C “在细胞功能的调节中起了一种信使作用，负责将激动剂的刺激信号传给细胞内各种酶反应系统或功能性蛋白。

一、细胞内钙稳态

1.细胞内钙稳态概念

2.细胞内、外 Ca²⁺的转运体系

3.与钙稳态相关的器官、系统

二、细胞内钙稳态的失调

1.细胞内钙稳态的失调概念细胞

Ca²⁺ 信号的改变在各种病理及毒理学过程中起重要的作用。在细胞受损时可导致 Ca²⁺ 内流增加, 或 Ca²⁺ 从细胞内贮存部位释放增加, 或抑制细胞膜向外逐出 Ca²⁺, 表现为细胞内 Ca²⁺ 浓度不可控制的持续增加, 即打破细胞内钙稳态, 称为细胞内钙稳态的失调。

2.引起细胞内钙浓度升高的原因

促进 Ca²⁺ 内流或抑制其从胞质外流的因素都可引起细胞内钙水平的升高, 具体包括以下三个方面:①毒物可诱导受体操纵性钙通道或电压依赖性钙通道开放, 或损伤质膜, 引起细胞外液中的钙内流;②毒物诱导钙从线粒体和内质网漏出, 而增加胞浆中的钙浓度;③毒物通过抑制钙转运蛋白或耗竭其动力, 减少钙外流。例如重金属镉, 镉离子占据钙离子通道并通过钙离子通道进入细胞内。Cd²⁺与 Ca²⁺ 携带的电荷数相同, 而且离子半径相近(分别为 0.097nm 和 0.099nm), 而 Cd²⁺ 与钙通道内结合位点的亲和力比 Ca²⁺ 还要高。镉对硫也具有较高亲和力, 可以抑制胞内 Ca²⁺-ATP 酶活性。Cd²⁺ 进入胞内后, 与 Ca²⁺ 竞争结合 Ca²⁺-ATP 酶进而抑制酶的活性, 阻止了 Ca²⁺ 的外流, 引起胞内 Ca²⁺ 增加。此外, 镉可通过蛋白与甲醇磷脂酶偶联, 催化质膜上 4, 5-二磷酸磷脂酰肌醇(PIP₂)水解, 使胞内 Ca²⁺ 增加。

3. 钙稳态失调学说细胞内钙浓度的持续升高或 Ca²⁺ 的这种失调或紊乱, 将完全破坏正常生命活动所必需的由激素和生长因子刺激而产生的短暂的 Ca²⁺ 瞬变, 危及细胞器的功能和细胞骨架结构, 最终激活不可逆的细胞成分的分解代谢过程。

三、细胞钙稳态失调与细胞毒性

四、细胞钙稳态失调与细胞凋亡

细胞凋亡是由内外源因素触发细胞内预存的死亡程序而导致的细胞死亡过程。细胞凋亡是主动的、高度有序的、由基因决定的, 并由一系列酶参与、自动结束细胞生命的过程。当细胞钙稳态失调时往往会引发细胞凋亡。

1.钙稳态失调对能量代谢的影响

(1)ATP 合成障碍, 破坏线粒体结构细胞损伤时, 不仅钙通道、NCX 和钙泵的功能受到影响, 而且也影响膜性细胞器主要是线粒体和内质网对钙的贮存以及

蛋白和磷脂等与的结合作用,造成细胞内 Ca^{2+} 超载。线粒体基质中钙离子的积累(钙超载)使膜两侧的势能降低,ATP 合成酶驱动力降低,ATP 合成受到抑制;氧化磷酸化过程受到损害,ADP 堆积 ATP 耗竭。同时, Ca^{2+} 的大量聚集超过了线粒体的缓冲能力,线粒体膜上就会形成一种通道.即 MPTP。MPTP 使线粒体膜的通透性发生改变,造成线粒体膜电位降低、ATP 衰竭、氧化磷酸化去偶联、线粒体肿胀、嵴的破坏、外膜破裂、内外膜间促凋亡因子的释放等等,从而使细胞发生凋亡或坏死。

(2)线粒体呼吸链受到抑制会使自由基产生增多,使线粒体膜脂质过氧化,加重线粒功能障碍。其中,CoQ(醌型结构)很容易接受电子和质子,还原成 CQH₂(还原型),氧自由基产生的主要部位(图 5-9)。外源化学物可直接生成 ROS 与 RNS,如氧化还原循环物质和过渡金属。此外可继发于胞内高钙。 Ca^{2+} 活化柠檬酸循环中的脱氢酶加速氢产出,然后电子沿电子传递链流动,这过程与 ATP 合酶活性抑制共同增加由电子传递链形成的 O₂。C*激活的蛋白酶可将黄 SOCC 通道蛋白分子 STIM1 和 Ori 的表达,促进 STIM1 移位至细胞膜并与膜上的 Ori1 相作用、导致 SOCC 通道开放、细胞外“流入细胞内,使细胞内钙离子浓度增高--钙稳失调,最终不仅使肝细胞增殖能力降低,而且促使肝细胞凋亡。

第六节 自由基与生物大分子的氧化损伤

一、自由基

1.概念

自由基:是一类瞬时形成的外层轨道上带有非配对电子的原子、离子、分子或原子团自由基的表示方法是在含未成对电子的分子或原子符号的旁注一个圆点“·”,“·”代表不成对的电子。

2.特点

(1)化学性质十分活泼;

(2)化学反应性极强;

(3)具有顺磁性电子自旋产生磁场,分子中有不成对电子时,各单电子平行自旋,场加强,这时物质呈顺磁性。磁性是物质响应磁场作用的属性。顺磁性物质会趋向于朝着场较强的区域移动,即被磁场吸引;顺磁性是一种弱磁性;

(4)生物半衰期极短(自由基的存活时间仅仅为 10s);

(5)作用半径小。

3.自由基的类型(1)以氧为中心的自由基每个原子有六个外层电子,其中两个单独的电子与另一个原子中相应的单独的电子结合组成两个新的共用的电子对,由此达到电子饱和的状态。这是氧最稳定的状态,又称基态氧(图 5-10)。

二、自由基对生物大分子的损害作用

体内适量的自由基在人体正常生理活动中起着非常重要的作用,如白血球利用自由北(超氧阴离子、一氧化氮)来杀死外来的微生物;体内一些分解代谢的反应须要自由基来化,如血管的舒张;消化系统讯号的传导要借助于自由基(一氧化氮)等。但是,当自由期的产生超过机体抗氧化防御能力时,即可产生自由基损伤,从而引发疾病或中毒。自由基对体内生物大分子的损害作用主要包括自由基对脂质、蛋白质和 DNA 的氧化损伤。

三、自由基致衰老的作用及机制

1.脂褐素的形成

过量的 $\cdot O_2$ 和 $\cdot OH$ 氧化细胞膜中不饱和脂肪酸引起脂质过氧化、交联、聚合成脂褐素(一种难以消除的惰性废物),它堆积在细胞内毒害细胞,阻止细胞内物质和信息的传递。脂褐素在皮肤细胞中堆积,形成老年斑;在脑细胞中堆积,则会引起记忆减退或智力障碍,甚至导致老年性痴呆症;在心肌细胞中堆积,心脏功能减退。胶原蛋白聚合则引起皮肤失去张力和弹性,皱纹增多以及老年性骨质增生。这些都是衰老的基本特征。

2.线粒体 DNA 突变

人类线粒体 DNA(mtDNA)为一环状双链超螺旋 DNA,存在于线粒体基质中。mtDNA 具有极其经济的基因排列,没有内含子,却有部分区域基因重复使用,因此任何突变都可能造成重要功能的病理性变化。生殖细胞系 DNA 突变,可引起遗传性氧化磷酸化(OXPHOS)能力缺陷而导致过早发生退行性疾病。mDNA 片缺失或点突变,可导致机体老化、心肌缺血、老年心衰等老年性心脏疾病的发生;衰老心肌中片段缺失和 OXPHOS 中酶活力下降可导致自由基介导的脂类过氧化反应加速,形成动脉粥样硬化斑块。

3.诱导细胞凋亡

细胞的衰老性死亡就是细胞凋亡。体内的自由基特别是 $\cdot O_2$ 和 $\cdot OH$ 主要产

生于具有重要功能、高度活动性、耗氧量高的组织细胞(如脑细胞、神经细胞、心肌及内分泌细胞).造成过度堆积，它们通过氧化作用攻击生命大分子物质，导致这些组织细胞内 DNA、蛋白质、脂膜的损伤，诱导细胞凋亡，加速机体老化。

4. 蛋白质合成减少自由基通过其强氧化作用对核酸进行氧化和交联，使发生断裂、突变，从而严重影响蛋白质遗传信息的正常转录和翻译，使蛋白质表达量降低甚至消失，或者产生突变蛋白质，而蛋白质合成减少正是老年性记忆减退、智力障碍及肌肉萎缩的重要原因。

布置思考题：

- 1.简述化学毒物产生毒性最为复杂的途径，
- 2.简述多不饱和脂肪酸发生过氧化作用的基本过程。
- 3.简述细胞内钙离子升高导致细胞凋亡原因。
- 4.简述自由基对生物大分子的氧化损伤。

第六章 外源化学物毒性作用的影响因素

授课章节	第六章 外源化学物毒性作用的影响因素				
课时安排	4	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容：</p> <p>一、外源化学物自身因素</p> <p>二、环境因素</p> <p>三、机体因素</p> <p>四、联合毒性效应对外源化学物毒性的影响</p>					
<p>教学目的、要求：</p> <p>了解外源化学物自身因素、环境因素、机体因素、联合毒性效应对外源化学物毒性的影响。</p>					
<p>教学重点、难点：</p> <p>教学重点：外源化学物自身因素</p> <p>教学难点：联合毒性效应对外源化学物毒性的影响</p>					
<p>教学过程：</p> <p>第六章 外源化学物毒性作用的影响因素</p>					

课程导入

在毒理学实际研究和生产生活中发现：同一种外源化学物，在不同条件下、作用于不同个体时，产生的毒性强度、中毒速度、损伤部位、预后效果存在显著差异。例如：同等剂量酒精，不同人群醉酒程度、肝损伤程度不同；同种农药，不同温湿度环境下杀虫毒性与人畜中毒风险不同；多种污染物共存时，中毒危害远大于单一毒物作用。

由此说明：外源化学物的毒性不是固定值，而是受多重内外因素共同调控。本章主要从化学物自身因素、环境因素、机体因素、联合毒性效应四个维度，系统讲解毒性作用的影响规律。

第一节 外源化学物自身因素

外源化学物自身理化特性与染毒特征，是决定毒性大小、作用方式、起效快慢的根本因素，是所有影响因素中最核心、最关键的部分，主要包括化学结构、理化性质、纯度剂型、暴露剂量与途径、暴露时长与频率等。

一、化学结构

化学结构决定化合物的生物活性、与机体大分子结合能力、代谢转化方式，是毒性差异的本质来源。

1. 同系物规律：脂肪族化合物随碳原子数目增加，脂溶性升高，毒性逐渐增强；碳链过长时水溶性急剧下降，难以被机体吸收，毒性反而降低。
2. 取代基效应：苯环、烷烃等母体结构引入硝基、氨基、卤素等取代基后，毒性显著增强；引入羟基、羧基可增加水溶性，利于代谢排出，毒性相对降低。
3. 异构体差异：同分异构体空间构型不同，毒性差异极大。多数对位异构体毒性强于邻位、间位异构体。

二、理化性质

理化性质直接决定毒物跨膜吸收、体内分布、代谢排泄能力，是毒性表达的基础条件。

1. 脂水分配系数：系数适中的物质最易穿透生物膜，易被机体吸收，毒性最强；脂溶性过强易蓄积在脂肪组织，造成慢性蓄积毒性；水溶性过强难以穿透细胞膜，吸收率低、急性毒性弱。
2. 解离度：机体体液具有固定 pH，非解离型毒物脂溶性高、易吸收、毒性强；

解离型毒物水溶性高、难以跨膜，毒性作用弱。因此体液 pH 可间接改变毒物毒性。

3. 挥发性与分散状态：挥发性强的毒物易经呼吸道吸入，暴露风险高、起效快；气溶胶、粉尘、烟雾态毒物颗粒细小，可直达肺泡，吸收效率远高于固态、液态毒物，毒性更强。

三、纯度与杂质

工业化学品、农药、兽药等多为混合物，杂质往往是主要毒性来源。高纯试剂毒性较低，工业粗制品因含有中间体、残留溶剂、重金属杂质，毒性、刺激性、致癌性会显著升高。

四、剂型

同一化学物不同剂型，溶解速度、吸收速度不同，毒性差异明显：水溶液吸收最快、急性毒性最强；油剂、混悬液吸收缓慢，起效慢但作用持久；固体制剂吸收最慢，急性毒性最弱。

五、暴露剂量与暴露途径

1. 剂量：毒理学核心原则“无剂量即无毒性”。剂量越高，体内负荷越大，中毒概率与损伤程度越高。

2. 途径：吸收效率直接决定毒性强弱，总体规律：静脉注射 > 腹腔注射 > 肌肉注射 > 经口 > 经皮吸收。同一毒物不同染毒途径，毒性可相差数倍甚至数十倍。

六、暴露持续时间与频率

单次大剂量暴露引发急性毒性；低剂量、高频率反复暴露，毒物来不及代谢排出，易在体内蓄积，引发亚慢性、慢性毒性。同等总剂量下，分次频繁暴露的毒性损伤远高于单次暴露。

第二节 环境因素

环境因素不改变毒物本身结构，但可改变毒物稳定性、环境浓度，同时改变机体生理状态，间接调控毒性强弱，主要包括温度、湿度、气压、光照、环境共存物等。

一、温度

高温环境：机体呼吸、血液循环加快，皮肤血管扩张，毒物吸收速率提升；代谢酶活性升高，毒物快速活化为有毒代谢产物，中毒风险升高。同时机体脱水、血

液浓缩，体内毒物相对浓度升高，毒性增强。

低温环境：机体代谢速率降低，毒物代谢排泄减慢，易在体内蓄积，易出现延迟性慢性损伤。

二、湿度

高湿度：皮肤角质层含水量增加，通透性增强，经皮吸收量大幅提升；同时粉尘、气溶胶沉降变慢，环境暴露时间延长，毒性增强。

低湿度：呼吸道黏膜干燥、屏障功能下降，吸入性毒物更易损伤呼吸道，诱发炎症与中毒。

三、气压

高压：气体毒物在体液中溶解度升高，体内蓄积量增加，毒性增强。

低气压（高原环境）：机体缺氧、脏器功能下降，解毒排泄能力降低，对毒物耐受性显著降低。

四、光照与空气条件

紫外线、自然光可诱发部分毒物发生光化学反应，生成毒性更强的次生代谢物，如多环芳烃、部分农药经光照后毒性倍增。空气氧含量、二氧化碳浓度异常，可改变机体代谢水平，间接影响毒物毒性。

五、环境共存物质

环境中多种污染物、助剂、杂质共存时，可相互影响溶解度、稳定性和吸收效率，为后续联合毒性效应奠定基础。

第三节 机体因素

同种毒物、同等环境条件下，个体中毒差异主要由机体自身因素决定，是毒性个体差异的核心原因，主要包括年龄、性别、遗传、生理状态、健康状况等。

一、年龄

1. 婴幼儿：肝脏代谢酶系统发育不完善、肾脏排泄功能弱、屏障功能差，毒物极易蓄积，对各类毒物敏感性极高。

2. 青壮年：代谢旺盛、解毒排泄功能完善、机体修复能力强，毒物耐受度最高。

3. 老年人群：脏器功能衰退、代谢酶活性下降、修复能力差，毒物清除缓慢，损伤不可逆，毒性反应更重、预后更差。

二、性别与激素水平

雌雄个体代谢酶活性、脂肪分布存在差异。多数外源化学物雌性代谢解毒能力弱于雄性，同等剂量下毒性更强。孕期、哺乳期机体代谢紊乱、脏器负荷加重，毒物敏感性大幅升高，且可通过胎盘、乳汁造成子代损伤。

三、遗传多态性

人群代谢酶、受体、转运蛋白存在基因多态性，导致个体毒物代谢速率、敏感性差异极大。例如乙醛脱氢酶缺陷人群，饮酒后乙醛蓄积，极易出现中毒和肝损伤；部分人群对重金属、致癌物高度敏感。

四、生理状态

饥饿、疲劳、熬夜、剧烈运动、营养不良、维生素缺乏等状态，会降低机体代谢酶活性、减弱抗氧化与解毒能力，增强毒物毒性作用。

五、健康状况

肝、肾、心肺疾病患者解毒、排泄、循环功能受损，毒物耐受度显著下降；免疫低下人群更易出现过敏、炎症及全身性中毒损伤，慢性病会加重靶器官毒性损伤。

第四节 联合毒性效应

自然环境、职业暴露、日常生活中，机体几乎不会单一接触某种毒物，多为两种及以上外源化学物同时或先后接触。多种毒物共同作用机体时，产生的总毒性与单一毒物单独作用不同，这种现象称为联合毒性效应。

根据多种毒物相互作用结果，分为相加作用、协同作用、拮抗作用、独立作用四类。

一、相加作用（ $1+1=2$ ）

定义：多种毒物作用机制、作用靶点相同，联合毒性等于各毒物单独毒性之和。常见于结构相似、毒作用机理一致的同系物。例如多种有机磷农药混合暴露，胆碱酯酶抑制效果叠加；多种苯系物混合接触，肝肾毒性相加。

二、协同作用（ $1+1>2$ ）

定义：多种毒物联合作用的总毒性远大于各自单独毒性之和，是危害性最大的联合效应。

机制：一种毒物抑制机体对另一种毒物的代谢解毒，或促进其活化、吸收、蓄积，大幅增强毒性。

经典实例：乙醇+四氯化碳，乙醇抑制肝脏解毒，极大增强四氯化碳肝毒性；吸

烟+石棉粉尘，肺癌风险呈极强协同效应。

三、拮抗作用（ $1+1<2$ ）

定义：多种毒物共存时，总毒性低于单一毒物毒性，毒物之间相互抵消、减弱毒效应。

机制：竞争作用靶点、促进毒物排泄、中和毒性、抗氧化修复、抑制毒物活化。是临床中毒急救、解毒治疗的核心原理。

实例：阿托品拮抗有机磷农药中毒；维生素 C 拮抗重金属氧化损伤。

四、独立作用

定义：多种毒物作用靶点、中毒机制完全不同，彼此互不干扰，各自发挥自身毒性效应，无增强、无减弱。总损伤为各自独立损伤叠加。

例如：神经毒性毒物与皮肤刺激性毒物同时暴露，分别损伤神经系统和皮肤，互不影响。

五、联合毒性的实际意义

1. 环境污染物混合暴露，协同作用是主要高危风险；
2. 拮抗作用为解毒药物研发、中毒救治提供理论依据；
3. 化学品安全评价必须考虑联合暴露风险，不能仅依据单一毒物毒性判定安全阈值。

课堂小结

1. 外源化学物自身因素是毒性强弱的决定性因素，核心包含结构、理化性质、剂量途径、剂型纯度等。
2. 环境因素通过改变毒物状态与机体状态，间接调控毒性大小。
3. 机体因素是个体中毒差异的主要原因，年龄、遗传、健康状态影响显著。
4. 联合毒性效应分为四类，其中协同作用风险最大，拮抗作用具备临床应用价值。

课后思考题

1. 为什么相同剂量的同种毒物，不同人群中中毒表现差异较大？
2. 简述四种联合毒性效应的区别，并各举一例说明。
3. 结合自身因素，分析婴幼儿、老年人毒物敏感性更高的原因。

第七章：一般毒性及其评价方法

授课章节	第七章：一般毒性及其评价方法				
课时安排	4	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容：</p> <p>一、一般毒性评价的试验设计</p> <p>二、急性毒性试验</p> <p>三、蓄积试验</p> <p>四、亚慢性毒性试验设计</p>					
<p>教学目的、要求：</p> <p style="padding-left: 20px;">1、掌握一般毒性评价的试验设计。</p> <p style="padding-left: 20px;">2、掌握急性毒性试验。</p> <p style="padding-left: 20px;">3、了解蓄积试验。</p> <p style="padding-left: 20px;">4、了解亚慢性毒性试验设计。</p>					
<p>教学重点、难点：</p> <p style="padding-left: 20px;">教学重点：一般毒性评价的试验设计</p> <p style="padding-left: 20px;">教学难点：急性毒性试验</p>					
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;">第七章：一般毒性及其评价方法</p> <p>一般毒性作用，又称基础毒性，是指在一定剂量、一定接触时间和接触方式下对试验动物产生的综合效应。</p> <p>根据接触毒物的时间长短，可将一般毒性作用分为急性毒性、亚慢性毒性和慢性毒性。</p> <p>第一节 急性毒性作用及其评价</p> <p>对于新的外源化学物，必须首先阐明其急性毒性的强度和急性毒作用特征。如果一种外来化学物的毒性很强，即使不会引起机体的遗传损害或其它迟发性损害，也应该放弃或严格控制，减少其进入环境，保障人体健康。</p> <p>一、概念</p> <p>急性毒性是指机体（人或动物）一次接触或在 24h 内多次接触外来化学物之后所引起的快速剧烈的中毒效应，包括一般行为、外观改变及形态改变，甚至死亡效</p>					

应。

二、急性毒性试验的目的

急性毒作用实验也称急性试验，是指机体（人或动物）一次接触或在 24h 内多次给予受试物之后，短时间内动物所产生的毒性反应，包括致死或非致死的指标参数。

通过急性毒性试验可确定受试物的致死剂量、有效剂量和某种效应的急性阈剂量等表示剂量-效应关系的参数。具体试验目的如下：

1. 确定受试物使一种或几种实验动物死亡的剂量水平，即定出 LD₅₀，以初步估计该化学物对人类毒害的危险性。
2. 阐明一种化学物的相对毒性、作用方式和特殊毒性表现，找出其剂量-效应和剂量-反应关系，以便对一种化学物的毒性有初步的了解。
3. 确定机体在环境中接触的受试物侵入机体的途径，研究受试物在机体内的生物转化过程及动力学变化。
4. 研究受试物急性中毒的预防和急救治疗措施。

三、急性毒性试验设计

急性毒性试验设计包括选择动物、受试物剂量、观察指标及计算方法等内容。

（一）实验动物的选择

动物种属选择：选择对化学物毒性反应与人近似、实验操作方便、易饲养管理、价格低廉的实验动物。

动物品系、性别及年龄选择：优先选择“纯种”动物，基因型稳定；性别根据试验目的、要求确定；选用年轻健康动物。

实验动物试验前需进行 1-2 周检疫观察，挑选体重相差 10% 以内的健康动物；试验前后禁止动物交配及受孕；试验前禁食 16 小时，全程饮水不限。

（二）各剂量组动物数及实验动物分组

小鼠每组不小于 10 只，大鼠 6-8 只，家兔 4-6 只；所有动物采用随机分组原则。

（三）实验动物饲养环境

环境温度：22±3℃；光照时间：每日 6-18 点光照，保持规律光照环境。

（四）剂量选择及分组

正式试验前需开展预实验：查阅文献确定预期剂量范围，选取中值，再向上、向

下各设置一个 4 倍间距的剂量，完成预实验，确定正式试验剂量梯度。

（五）试验周期及观察指标

试验周期：统一观察 2 周。

观察指标：LD₅₀ 测定、动物中毒症状观察、死亡情况及死亡时间记录、体重动态监测、常规病理学检查及其他相关指标检测。

四、急性毒性评价（P94）

（一）LD₅₀ 核心评价标准

LD₅₀ 即半数致死剂量，是评价化学物急性毒性的核心指标，具备明确的毒性分级标准。

（二）LD₅₀ 的局限性

1. 仅以动物死亡作为单一观察指标，无法全面反映非致死性中毒损伤；
2. 属于统计学估计数值，存在一定误差范围。

对比不同化学物 LD₅₀ 值时，必须保证实验条件统一、剂量概念等效，同时结合完整的剂量-反应关系资料综合判定，LD₅₀ 数值相近的化学物，实际毒性差异可能较大。

完整的剂量-反应关系资料包含：LD₅₀ 值的 95%可信限、剂量-反应曲线斜率、动物急性致死时间。曲线斜率越小，低于 LD₅₀ 剂量下的毒物致死风险越高；毒物致死效应发作时间越短，整体危害越大。

（三）其他评价指标

LD₁₆ 与 LD₈₄：剂量-死亡率曲线为 S 形曲线，LD₁₆、LD₈₄ 对应死亡率 16%、84%，处于曲线直线区间，对应概率单位 4.0 和 6.0，为 LD₅₀±16 的临界值，可辅助反映剂量反应规律。

急性毒作用带（Zac）：毒作用带越宽，化学物急性中毒的危险性越小。

第二节 蓄积毒性作用及其评价

一、基本概念

蓄积作用：一种外来化学物反复多次进入机体，前次摄入剂量或其造成的机体损害未完全消除、修复时，该化学物在体内的总量或损伤作用持续累积、不断增加的现象。

（一）毒物贮存库

易蓄积化学物的机体部位称为贮存库，常见贮存库包括：血浆蛋白、脂肪组织、肝脏、肾脏、骨骼。

化学物在体内的贮存形式分为三种：母体形式、结合态、转化态。

（二）蓄积作用的两层含义

1. 物质蓄积：外源化学物进入机体的量大于机体消除的量，导致化学物或其代谢产物在体内储量持续增加。

2. 功能蓄积：化学物反复作用，造成机体功能、形态结构发生不可逆损伤，或损伤未修复时再次接触毒物，导致损伤持续累积，是慢性中毒发生的重要原因。蓄积作用是发生亚慢性、慢性毒性作用的物质基础。小剂量、短时间反复接触毒物，蓄积总量超过中毒阈值，即可引发蓄积性中毒。

蓄积性大小取决于：化学物进入机体的速度与机体消除该化学物速度的差值。所有外源化学物均存在一定的蓄积毒性。

二、蓄积毒性试验方法及其评价

常用蓄积毒性试验方法：蓄积系数法、生物半减期法、蓄积率测定法。

（一）蓄积系数法

属于生物效应试验方法，原理为：在一定期限内，以低于致死剂量（小于 LD50）分次给予试验动物受试物，直至出现预设毒性效应或动物死亡。

蓄积系数 K：多次接触产生预期效应的总蓄积剂量与单次接触产生相同效应的剂量的比值，用于判定化学物蓄积性强弱。

计算公式：

特异性损害指标： $K = ED50(n) / ED50(1)$

死亡效应指标： $K = LD50(n) / LD50(1)$

注：n 为多次接触蓄积总剂量，1 为单次接触有效剂量。

蓄积性分级标准：

- $K < 1$ ：高度蓄积（理论 $K \geq 1$ ，仅动物出现过敏反应时可小于 1）
- $1 \leq K < 3$ ：明显蓄积
- $3 \leq K < 5$ ：中等蓄积
- $K \geq 5$ ：轻度蓄积

根据分次染毒方式不同，分为三种试验方法：

1. 固定剂量法

先测定受试物常规 LD₅₀；另取健康动物分 2-4 组，每组 10-20 只、雌雄各半；定时定量给予 1/20~1/5 LD₅₀ 剂量受试物，持续染毒，直至半数动物死亡（排除意外死亡），记录总蓄积剂量并计算 K 值。若试验 100 天（1/20LD₅₀ 剂量）或 25 天（1/5LD₅₀ 剂量）时 K>5 且动物死亡未过半，可终止试验，判定 K>5。试验期间根据动物体重变化动态调整染毒剂量。

2. 定期递增剂量法

先测定 LD₅₀，选取合格动物随机分组；以 4 天为一个试验周期，同周期内每日染毒剂量一致，初始剂量为 1/10 LD₅₀，后续每期剂量按 1.5 倍等比级数递增；连续染毒 20 天，期间若半数动物死亡可提前终止试验，计算蓄积系数评价蓄积性。

3. 20d 试验法

选用 200g 左右成年大鼠（或小鼠），每组雌雄各 10 只，设置 1/20、1/10、1/5、1/2 LD₅₀ 剂量组及空白对照组；每日染毒 1 次，连续 20 天，各组累计剂量可达 1、2、4、10 倍 LD₅₀，染毒结束后继续观察 7 天。

结果评价：1/20 LD₅₀ 组出现动物死亡且存在剂量-反应关系，判定为强蓄积性；仅 1/2 LD₅₀ 组出现死亡，判定为弱蓄积性。

（二）生物半减期法

生物半减期（t_{1/2}）：外源化学物进入机体后，体内药量消除一半所需的时间，单位为 min 或 h，是衡量毒物体内清除速度、判定蓄积性的核心指标。

蓄积规律：毒物摄入速度大于排泄速度则蓄积，反之则清除；接触间隔时间 t>t_{1/2}，蓄积量减少；t≤t_{1/2}，毒物持续蓄积。无论 t_{1/2} 长短，规律间隔接触毒物，经 6 个 t_{1/2} 后，机体蓄积极限达到最大值，蓄积与清除达到动态平衡。

蓄积极限值计算公式： $L(\text{mg})=1.44 \times \text{化学物日吸收量}(\text{mg/d}) \times t_{1/2}(\text{d})$

t_{1/2} 测定方法：静脉注射受试物，按固定时间间隔检测动物血浆药物浓度；以时间为横坐标、血浆浓度对数值为纵坐标绘图，计算速率常数 ke，最终得 $t_{1/2}=0.693/ke$ 。

特性：生物半减期越短，达到蓄积极限的时间越短，停止接触后毒物清除速度越快；反之则蓄积持久、难以清除。

（三）蓄积率及其测定

蓄积率：一定时间内，外源化学物在体内的蓄积量占同期进入机体总药量的百分比。

测定原理：设置条件一致的试验组与对照组，试验组每日低剂量染毒（无动物死亡），一定周期后，两组同时测定受试物 LD50。若毒物存在蓄积性，试验组体内残留毒物会降低 LD50 数值，两组 LD50 差值即为试验期间体内蓄积量。

计算公式：蓄积率（%）= [（对照组 LD50-蓄积试验组 LD50）/蓄积期间给药总量] × 100%

注意：常规蓄积试验多以动物死亡为评价指标，易低估无致死效应的弱蓄积毒性；可选用靶器官损伤等特异性指标，结合 ED50 计算蓄积系数，提升准确性。

三、关于机体耐受性

机体耐受性：外源化学物反复低剂量作用于机体后，机体对该毒物的敏感性降低，原有可产生中毒效应的剂量不再引发反应，需加大剂量才能出现预期毒效应。

试验判定方法：蓄积试验结束后，对存活动物给予单次 LD50 冲击剂量，统计死亡率，与空白对照组对比，判定机体是否产生耐受性。

耐受性是蓄积性的特殊表现形式，蓄积、耐受性与慢性中毒的关联机制仍需进一步研究。

第三节 亚慢性、慢性毒性作用及其评价

一、概念

1. 亚慢性毒性作用

指试验动物连续多日接触较大剂量（不超过 LD50）外源化学物引发的中毒效应。接触时长为动物寿命的 1/30~1/10，食品毒理学标准接触时间为 3~6 个月。

试验目的：

1. 探索长期接触毒物的有害效应剂量，为慢性毒性试验确定剂量范围；
2. 明确亚慢性毒性阈剂量、毒作用性质、效应类型及靶器官，确定慢性试验观察指标；
3. 根据阈剂量、最大无作用剂量，判定是否需要开展慢性毒性试验；
4. 初步筛查化学物致畸性。

2. 慢性毒性作用

指以低剂量外源化学物，长期（动物生命大部分时间或终生）持续接触，对机体产生的持续性慢性毒性效应。

试验目的：评价长期低剂量接触毒物的潜在毒性，测定化学物最大无作用剂量，判定致癌性等远期毒性。

二、亚慢性毒性试验设计

（一）实验动物及喂饲环境

选择代谢机制与人类相近、刚断乳、生长快、寿命长、易出现阳性反应的动物，雌雄各半；饲养环境稳定，规避外界环境干扰引发的动物应激损伤。

（二）剂量选择与分组

剂量设计是试验核心，原则：动物全程无死亡或仅个别死亡，且出现明显中毒效应。

最高剂量：急性阈剂量或 $1/20 \sim 1/5$ LD₅₀；在 $1/100 \sim 1/20$ LD₅₀ 区间设置 3~4 个梯度剂量组，同步设置空白对照组、溶剂对照组；各组动物体重、年龄、数量保持一致。

（三）染毒途径

常用经口、呼吸道、皮肤染毒；经口染毒优先采用饲料/饮水掺入法，慎用灌胃法。

（四）试验周期

试验时长为实验动物寿命的 $1/10$ 。

（五）观察指标

1. 一般性指标：体重变化、食物利用率、临床中毒症状；
2. 病理学指标：大体解剖、组织病理切片检查；
3. 特异性指标：结合中毒机理、靶器官损伤特征的针对性检测指标。

三、慢性毒作用试验设计

在动物生命周期关键阶段长期低剂量染毒，观察毒物蓄积毒性、远期毒性及致癌性，补充验证亚慢性试验未明确的毒效应，设计原则与亚慢性试验基本一致。

（一）实验动物

优先选用生命周期较短的大鼠、小鼠。

（二）剂量设计与分组

常规设置五个剂量组：对照组、预期无作用剂量组、阈剂量组、轻微毒效应剂量组、亚致死水平剂量组。

剂量设计参考依据：

1. 以亚慢性试验结果为依据：最高剂量为亚慢性阈剂量的 1/5~1/2，轻微毒效应剂量为 1/20~1/10 阈剂量，预计阈剂量为 1/50~1/20 阈剂量，最大无作用剂量参考人群摄入量 10~50 倍；
2. 以急性 LD50 为依据：最高剂量 1/10 LD50，慢性阈剂量 1/100 LD50，最大无作用剂量 1/1000 LD50；
3. 美国环保局标准：以最大耐受量（MTD）为基准，设置 0.125MTD、0.25MTD 两个染毒组+对照组。

最大耐受量（MTD）：该剂量下动物体重下降不超过对照组 10%，无死亡、无临床中毒症状及病理损伤。

（三）接触途径

同亚慢性毒性试验（经口、呼吸道、皮肤）。

（四）试验期限

覆盖动物生命大部分时间或终生染毒；大鼠常规试验周期 90 天。试验结束后留存部分动物继续观察 1~2 个月，追踪远期毒性效应。

（五）观察指标

以亚慢性试验指标为基础，增加远期毒性、致癌性、蓄积损伤相关监测指标。

四、亚慢性、慢性毒性作用评价

（一）核心评价指标

1. LOAEL（最低有害作用水平/最小作用剂量 MED）：可观察到机体出现有害效应的最低剂量；
2. NOEL/NOAEL（无明显作用水平/无明显有害作用水平）：未观察到机体出现有害效应的最高剂量。

（二）应用价值

1. 依据试验数据制定化学物环境、食品接触安全限值标准；
2. 明确毒物毒作用特点、靶器官及敏感评价指标；
3. 通过阈剂量、最大无作用剂量计算基准剂量（BMD）。

（三）食品安全性判定标准

- 最大无作用剂量 < 50 倍：禁止使用；
- 50 倍 ≤ 最大无作用剂量 ≤ 100 倍：需专家评议评估；
- 最大无作用剂量 > 100 倍：可用于食品相关场景。

（四）慢性毒作用带（Zch）

计算公式： $Zch = \text{Limac} / \text{Limch}$ 。毒作用带越宽，化学物慢性中毒的发生风险越高；慢性阈剂量、最大无作用剂量越小，对应的卫生安全标准越严格。

章节核心总结

1. 第一节 急性毒作用及其评价：核心掌握急性毒性概念、试验目的、LD50 评价指标及局限性；
2. 第二节 蓄积毒性作用及其评价：核心掌握蓄积双重概念、蓄积系数法三种试验、生物半减期及蓄积率测定；
3. 第三节 亚慢性、慢性毒性作用及其评价：核心掌握两类毒性的定义、试验剂量设计、观察指标及安全评价标准。

易错知识点：急性毒性不能仅凭 LD50 完全判定；LD50 数值相同，化学物毒性不一定完全一致。

布置课后练习题

1. 什么叫蓄积作用？蓄积作用包括_____和_____两种。
2. 所有的外源化学物都有蓄积性，是否正确？
3. 简述蓄积系数法的原理。
4. 判断： $1 \leq K < 3$ 表示中等蓄积（ ）
5. 什么叫生物半减期？如何测定生物半减期？
6. 假设每天摄入某种色素 0.1mg，该色素 $t_{1/2} = 5d$ ，计算其蓄积极限值 L。
7. 什么叫蓄积率？它的测定原理如何？
8. 判断：亚慢性试验的时间是受试动物的生命大部分时间（ ）
9. 慢性毒性试验测定卫生安全标准时，一般设置五个剂量组，分别为：____、____、____、____、____。
10. 如何评价亚慢性、慢性毒作用

第八章：外源化学物的特殊毒性

授课章节	第八章：外源化学物的特殊毒性				
课时安排	4	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容：</p> <p>一、外源化学物的生殖毒性及评价</p> <p>二、外源化学物的致突变作用及评价方法</p> <p>三、外源化学物的致癌作用及评价方法</p>					
<p>教学目的、要求：</p> <p>1、掌握外源化学物的生殖毒性及评价。</p> <p>2、了解外源化学物的致突变作用及评价方法。</p> <p>3、了解外源化学物的致癌作用及评价方法。</p>					
<p>教学重点、难点：</p> <p>教学重点：外源化学物的生殖毒性及评价</p> <p>教学难点：外源化学物的致突变作用及评价方法</p>					
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;">第八章 外源化学物的特殊毒性</p> <p>外源化学物对机体产生的毒性作用可分为一般毒性与特殊毒性。一般毒性多表现为急性、亚慢性、慢性的全身性损伤，而特殊毒性是外源化学物作用于机体后，引发的生殖损伤、遗传物质损伤、癌变等特异性、迟发性、不可逆的严重毒性效应。特殊毒性具有潜伏期长、危害隐蔽、可遗传、危害子代等特点，是化学品安全性评价、食品、药品、环境污染物风险评估的核心内容。本章主要从生殖毒性、致突变作用、致癌作用三个方面系统讲解外源化学物的特殊毒性及其评价方法。</p> <p>第一节 外源化学物的生殖毒性及评价</p> <p>生殖毒性是指外源化学物作用于亲代机体，造成生殖系统结构损伤、生殖功能异常，并可进一步影响配子生成、受精、胚胎发育、胎儿生长及子代发育的一类特殊毒性作用。生殖毒性可造成不孕、流产、畸形、生长迟缓、子代功能缺陷等不良生殖结局。根据作用对象可分为雄性生殖毒性、雌性生殖毒性，配套评价试验主要包括致畸试验、繁殖试验及胚胎毒性专项研究。</p> <p>一、雄性生殖毒性</p>					

外源化学物可通过损伤雄性生殖器官、干扰内分泌水平、破坏精子生成与成熟过程，引发雄性生殖功能损伤。雄性生殖系统对毒物高度敏感，轻微毒物暴露即可造成可逆或不可逆损伤。

主要损伤靶器官为睾丸、附睾、前列腺及附属生殖腺体。毒物可干扰睾丸生精上皮细胞增殖与分化，阻碍精原细胞、精母细胞发育，导致精子数量减少、精子畸形率升高、精子活力下降。同时可损伤睾丸间质细胞，抑制睾酮分泌，造成性激素紊乱，引发性欲减退、生殖功能衰退。

常见外源化学物如重金属、有机溶剂、农药、环境内分泌干扰物，均可引发雄性生殖毒性，最终导致雄性不育、生殖能力下降、子代发育异常等问题。

二、雌性生殖毒性

外源化学物对雌性生殖系统的损伤主要作用于卵巢、子宫、输卵管及内分泌调节系统，干扰卵泡发育、排卵、受精及妊娠过程。

毒物可破坏卵巢卵泡储备，造成卵泡闭锁、排卵障碍，引发月经紊乱、卵巢早衰；可干扰雌激素、孕激素分泌，破坏内分泌平衡，导致受孕困难。在妊娠阶段暴露，可损伤子宫内膜容受性，影响胚胎着床，引发早期流产、胎停育。

雌性生殖毒性具有明显的阶段特异性，不同生理周期（卵泡期、排卵期、妊娠期、哺乳期）对毒物敏感性不同，妊娠期雌性机体对毒物耐受度最低，轻微暴露即可造成严重妊娠不良结局。

三、致畸试验

致畸试验是评价外源化学物胚胎毒性、致畸性的核心试验，主要用于检测受试物是否具有导致胚胎畸形、胎儿发育异常的能力，是化学品生殖安全性评价的必做试验。

试验常用动物为大鼠、小鼠、家兔，选择健康育龄雌性动物，成功交配确认妊娠后，在器官形成期持续给予不同剂量受试物，设置空白对照组与溶剂对照组。染毒结束后解剖孕鼠，观察黄体数、着床数、活胎数、死胎数、吸收胎数，检查胎儿外观畸形、内脏畸形及骨骼畸形情况。

致畸试验可判定受试物是否具有致畸效应、致畸剂量范围、主要致畸靶器官，明确化学物的致畸风险，为孕期暴露安全限值制定提供依据。

四、繁殖试验

繁殖试验是评价外源化学物对动物完整生殖周期影响的长期试验,可全面反映毒物对亲代生殖功能、胚胎发育、子代生长发育、繁育能力的综合毒性,弥补致畸试验短期观察的局限性。

常规采用两代繁殖试验,试验动物雌雄配对,持续染毒,观察亲代动物的交配率、受孕率、产仔数、妊娠期、分娩情况、哺乳期幼仔存活率、生长发育状况。对子代动物持续观察至性成熟,记录子代生殖能力、生长发育、行为功能是否存在异常。

繁殖试验可检测外源化学物的蓄积性生殖损伤、迟发性生殖毒性以及跨代遗传损伤,全面评价化学物长期低剂量暴露的生殖安全风险。

五、胚胎毒性-胎儿动脉管畸形的研究方法

胚胎毒性是外源化学物作用于胚胎发育阶段,引发胚胎生长迟缓、功能缺陷、结构异常、死亡的毒性效应。胎儿动脉管畸形是胚胎心血管发育异常中最常见、最典型的畸形类型,是评价胚胎心血管毒性的重要特异性指标。

胎儿动脉管畸形研究主要采用动物胚胎体外培养、宫内染毒模型,在胚胎心血管发育关键期进行受试物暴露。试验结束后通过解剖观察胎儿主动脉、肺动脉、动脉导管的形态结构,检测血管管径、走行、连接关系,统计动脉导管未闭、血管狭窄、血管错位等畸形发生率。

同时结合组织切片、病理染色、分子检测技术,分析血管发育相关基因表达变化,明确外源化学物诱发胎儿动脉管畸形的作用机制,为化学物胚胎心血管毒性评价提供特异性依据。

第二节 外源化学物的致突变作用及评价方法

致突变作用是外源化学物作用于机体遗传物质,造成染色体、DNA、基因结构发生不可逆改变的特殊毒性效应。突变可发生在体细胞或生殖细胞,体细胞突变可引发细胞异常增殖、癌变,生殖细胞突变可造成遗传缺陷、子代畸形、遗传性疾病,是化学物远期危害的核心类型。

一、致突变作用

致突变作用是指外源化学物或环境因素引起生物细胞遗传物质发生可遗传的、永久性的结构改变的过程。能够诱发突变的化学物质称为化学致突变物。

与一般毒性不同,致突变作用不存在严格的剂量阈值,低剂量长期暴露即可诱发

遗传物质损伤，损伤具有不可逆性、可遗传性和累积性，是致畸、致癌、致突变“三致”毒性的基础。

二、致突变作用的类型

根据遗传物质损伤范围和结构变化，可将突变分为三大类。

第一，基因突变。又称点突变，是 DNA 分子中单个或少数碱基对的替换、插入、缺失，仅改变局部基因序列，不改变染色体整体结构。可分为错义突变、无义突变、移码突变，导致基因编码蛋白结构和功能异常。

第二，染色体畸变。指染色体结构发生大片段损伤，包括断裂、缺失、重复、倒位、易位等，造成染色体结构异常，影响大量基因的正常表达，引发严重细胞功能异常。

第三，基因组突变。又称数目畸变，指染色体总数发生增减，出现非整倍体、多倍体，导致细胞遗传物质总量异常，引发细胞分裂紊乱、发育异常。

三、致突变作用的机制

外源化学物主要通过多种途径损伤遗传物质，诱发突变。部分化学物可直接与 DNA 分子结合，造成碱基损伤、DNA 链断裂、交联损伤，直接破坏遗传物质结构。

部分化学物进入机体后经代谢活化，生成亲电性活性代谢产物，与 DNA 碱基、磷酸基团发生共价结合，形成 DNA 加合物，干扰 DNA 复制与转录，诱发碱基错配和序列突变。

同时，外源化学物可诱发机体氧化应激，产生大量氧自由基，攻击 DNA 分子，造成氧化损伤；还可干扰细胞纺锤体形成、影响细胞分裂周期，导致染色体分离异常，诱发染色体数目畸变。

四、DNA 损伤的修复

机体存在完善的 DNA 损伤修复系统，可识别并修复大部分遗传物质损伤，维持基因组稳定，是机体抵御致突变损伤的重要防御机制。

常见修复方式包括碱基切除修复、核苷酸切除修复、错配修复、双链断裂修复等。轻微 DNA 损伤可通过机体修复系统完全恢复，不产生突变；当毒物损伤强度过大、损伤数量过多、修复系统功能不足时，损伤无法完全修复，残留的 DNA 损伤会固定为永久性突变。

修复能力存在个体差异，代谢能力弱、免疫低下、修复基因缺陷人群，对致突变物的抵抗能力更低，更易发生遗传损伤。

五、致突变作用的后果

致突变损伤根据发生细胞类型不同，产生不同的危害后果。

体细胞突变可导致细胞功能异常、增殖失控、凋亡抑制，是肿瘤发生、组织退行性病变、衰老的重要诱因。

生殖细胞突变可随配子遗传给子代，造成胚胎死亡、胎儿畸形、遗传性疾病、子代生长发育异常，严重影响后代健康。

此外，大量 DNA 损伤累积可导致细胞凋亡、组织损伤、器官功能衰退，引发多种慢性疾病。

六、致突变作用的评价方法

致突变评价采用组合试验体系，涵盖体外快速筛选试验与体内验证试验，全面评价化学物的致突变风险。

常用体外试验包括艾姆斯试验（Ames 试验），用于检测基因突变；染色体畸变试验、微核试验，用于检测染色体结构与数目损伤；DNA 损伤试验用于检测初级 DNA 链损伤。

常用体内试验包括小鼠骨髓微核试验、小鼠精子畸形试验、体内染色体畸变试验，可反映动物整体暴露后的体内遗传损伤情况。

通过多项试验组合，可综合判定受试物是否具有致突变性，为化学品安全评价、风险管控提供依据。

第三节 外源化学物的致癌作用及评价方法

致癌作用是外源化学物诱发机体正常细胞发生恶性转化，导致细胞无限增殖、形成肿瘤的特殊毒性作用，是化学物最严重的远期特殊毒性。化学致癌具有潜伏期长、过程复杂、多阶段进展、不可逆的特点，严重威胁机体生命健康。

一、化学致癌物的分类

根据致癌能力、作用特点及代谢特征，可将化学致癌物分为不同类型。

按照代谢方式可分为直接致癌物和间接致癌物。直接致癌物进入机体后无需代谢活化，可直接损伤 DNA、诱发细胞癌变；间接致癌物本身无致癌活性，需经体内代谢活化生成致癌性代谢产物，发挥致癌作用。

按照致癌证据强度可分为确认人类致癌物、疑似人类致癌物、潜在致癌物。确认致癌物具有充分的人群流行病学证据和动物试验证据；疑似致癌物具备充足动物试验证据但人群证据不足；潜在致癌物仅有部分试验提示致癌风险。

此外，还存在促癌物，其本身无致癌性，但可促进肿瘤发生、加速肿瘤进展、增强致癌物的致癌效应。

二、化学致癌物致癌的分子机制

化学致癌的核心本质是外源化学物诱发机体基因组不稳定、细胞增殖调控紊乱。

主要机制包括基因突变、基因表达异常、信号通路紊乱。

外源化学物可诱发原癌基因激活、抑癌基因失活，导致细胞增殖失控、凋亡受阻。

同时可损伤 DNA 修复基因，降低机体遗传损伤修复能力，使突变不断累积。

此外，化学致癌物可诱发氧化应激、慢性炎症、细胞周期紊乱，干扰细胞正常增殖、分化、凋亡平衡，促使正常细胞向恶性细胞转化，最终形成肿瘤。

三、化学致癌过程

化学致癌是一个多阶段、连续性、渐进性的病理过程，主要分为引发阶段、促长阶段和进展阶段。

第一，引发阶段。致癌物作用于正常细胞，造成 DNA 不可逆损伤，形成突变细胞，即肿瘤启动细胞。该阶段发生速度快、损伤不可逆，是肿瘤发生的起始基础。

第二，促长阶段。在促癌因素持续作用下，突变细胞不断增殖、克隆扩增，形成良性增生病灶。该阶段具有可逆性，去除促癌因素可延缓或终止病变发展。

第三，进展阶段。增生细胞进一步发生基因突变、基因组不稳定，细胞恶性程度升高，出现侵袭、转移、血管新生等恶性特征，最终形成恶性肿瘤。

第九章：体外实验与新技术在毒理学中的应用

授课章节	第九章：体外实验与新技术在毒理学中的应用				
课时安排	4	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
教学主要内容： 一、食品毒理学体外实验概述 二、离体器官灌流及其在毒理学中的应用					

<p>三、 细胞培养及其在毒理学中的应用</p>
<p>教学目的、要求：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1、掌握食品毒理学体外实验的基本概念。 2、了解离体器官灌流及其在毒理学中的应用。 3、了解细胞培养及其在毒理学中的应用。
<p>教学重点、难点：</p> <p>教学重点：食品毒理学体外实验</p> <p>教学难点：离体器官灌流及其在毒理学中的应用</p>
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;">第九章：体外实验与新技术在毒理学中的应用</p> <p>第九章 体外实验与新技术在毒理学中的应用</p> <p>传统毒理学评价多以整体动物实验为主要手段，能够真实反映机体整体毒性效应，但存在实验周期长、成本高、个体差异大、难以阐明分子机制、存在动物伦理限制等诸多不足。随着毒理学、细胞生物学、分子生物学及生物信息技术的发展，体外实验技术与新型检测技术逐步成为现代毒理学研究的重要手段。</p> <p>体外实验主要指脱离整体动物，采用离体器官、组织、细胞、亚细胞组分开展的毒性试验，具有操作简便、周期短、重复性好、可控性强、机制明确、成本低廉等优势。结合分子生物学技术与组学新技术，可实现从宏观毒性表型到微观基因、蛋白、代谢层面的全方位毒理机制解析，广泛应用于外源化学物毒性筛选、机制研究、安全评价与风险预测。本章系统介绍毒理学常用体外实验体系及各类新技术的原理与应用。</p> <p>第一节 食品毒理学体外实验概述</p> <p>食品毒理学体外实验是指在体外模拟机体生理环境，利用离体生物材料开展食品中外源化学物毒性检测、效应观察与机制探究的实验技术体系，是食品安全性毒理学评价的重要组成部分。</p> <p>体外实验的核心特点是脱离整体动物循环与神经内分泌调节，单一可控地观察受试物对生物靶结构的直接损伤作用，有效排除体内复杂干扰因素，精准阐明毒物作用靶点与作用机制。同时可大批量快速筛选化合物毒性，适用于新型食品原料、食品添加剂、食品污染物的初步毒性筛查。</p>

体外实验的主要优势包括：实验条件精准可控、结果重复性高、实验周期短、经济高效、规避动物伦理问题、便于开展微观机制研究。局限性在于缺乏机体整体调节、无法模拟体内吸收、分布、代谢、排泄全过程，不能完全替代整体动物实验，一般作为体内实验的补充与机制验证手段。

食品毒理学常用体外实验体系主要包含：离体器官灌流实验、组织与细胞培养实验、亚细胞组分毒理实验、分子生物学检测技术及组学技术等。

第二节 离体器官灌流及其在毒理学中的应用

离体器官灌流技术是指将实验动物重要脏器完整剥离，在体外模拟体内生理温度、渗透压、氧气供应及灌注条件，通过灌流液持续灌注器官血管通路，维持离体器官短期活性与生理功能，用于观察外源化学物对完整器官结构与功能毒性的实验技术。

该技术保留了器官完整的组织结构、血管分布与细胞连接，相较于细胞实验更接近体内真实状态，可弥补细胞模型结构单一、缺乏器官整体性的缺陷，是介于整体动物实验与细胞实验之间的重要体外研究模型。毒理学中最常用的离体器官为肝脏、肾脏、心脏、肺脏等代谢与解毒核心器官。

离体器官灌流的主要应用包括：第一，观察外源化学物对靶器官的急性损伤效应，检测灌流液中酶、代谢物、电解质变化，评价器官功能损伤程度；第二，研究毒物在靶器官中的代谢转化规律，明确器官对毒物的活化与解毒能力；第三，探究化学物致器官损伤的早期作用机制，观察组织病理、氧化应激、炎症反应等变化；第四，用于药物、食品污染物、环境毒物的器官毒性快速筛选。

离体器官灌流技术稳定性高、干扰少、可动态实时监测器官功能变化，但其局限性为器官体外存活时间有限、实验操作难度大、对设备要求高，难以开展长期毒性研究。

第三节 细胞培养及其在毒理学中的应用

细胞培养技术是将动物或人体原代细胞、永生化细胞系在体外适宜培养基、温度、气体环境中离体培养，维持细胞增殖与生理活性，用于毒理学研究的核心体外技术，是目前毒理学应用最广泛、最基础的体外实验模型。

根据细胞来源可分为原代细胞与细胞系。原代细胞直接来源于动物组织，生物学特性与体内细胞高度一致，更贴合真实生理状态，但传代能力有限、培养难度大。

细胞系经过永生化处理，可无限传代、培养简便、成本低、重复性好，适用于大批量毒性筛选与机制研究。常用毒理学细胞模型包括肝细胞、肾细胞、神经细胞、淋巴细胞、肿瘤细胞等。

细胞培养在毒理学中的应用十分广泛：可通过 MTT、CCK-8 等方法检测外源化学物对细胞增殖、存活率的影响，评价细胞毒性；可检测细胞凋亡、坏死、周期阻滞情况；可观察细胞形态、结构、黏附能力的毒性损伤变化；可检测氧化应激、炎症因子、细胞因子表达水平，揭示毒物致细胞损伤的分子机制；可用于外源化学物遗传毒性、细胞屏障损伤、代谢毒性的初步筛查。

细胞培养实验操作简单、通量高、成本低、实验周期短，适合大规模化合物毒性初筛，是现代毒理学机制研究的基础平台。

第四节 亚细胞组分制备及其在毒理学中的应用

亚细胞组分制备技术是通过差速离心、密度梯度离心等方法，破碎细胞并分离纯化线粒体、微粒体、细胞核、细胞质、细胞膜等亚细胞结构，用于研究外源化学物对细胞器结构与功能损伤的体外技术。亚细胞水平研究能够精准定位毒物作用靶点，阐明毒物损伤的微观机制。其中线粒体与微粒体是毒理学研究最核心的两类亚细胞组分。

一、基于线粒体的毒理检测技术

线粒体是细胞能量代谢核心细胞器，参与细胞能量合成、氧化应激调控、细胞凋亡、钙稳态调节，是外源化学物最主要的损伤靶点之一。线粒体极易受毒物攻击发生结构破坏与功能紊乱。

基于离体线粒体的毒理检测技术，通过提取纯化动物组织或细胞线粒体，体外给予受试物干预，检测线粒体呼吸功能、ATP 合成能力、膜电位、通透性转换孔开放、ROS 水平、钙超载及线粒体肿胀度等指标，评价外源化学物的线粒体毒性。该技术主要用于研究毒物致能量代谢障碍、氧化损伤、细胞凋亡的起始机制，常用于重金属、有机溶剂、食品添加剂、药物毒性机制研究，能够精准揭示毒物能量代谢毒性与氧化毒性。

二、基于微粒体的毒理检测技术

微粒体主要由细胞内质网膜碎片形成，富含细胞色素 P450 等一系列代谢酶系，是体外研究外源化学物代谢活化、生物转化的经典亚细胞模型。肝脏微粒体是毒

理学研究最常用的微粒体组分。

基于微粒体的毒理检测技术可在体外模拟机体毒物代谢过程，研究外源化学物的代谢转化途径、代谢产物类型、代谢速率；检测毒物对 P450 代谢酶活性的诱导或抑制作用；判断化学物是否经过代谢活化产生毒性产物，阐明毒物代谢依赖性毒性机制。

该技术广泛应用于外源化学物代谢动力学研究、联合毒性机制探究、毒物致毒活化机制分析，是连接体外毒性与体内代谢研究的重要桥梁。

第五节 分子生物学技术在毒理学中的应用

随着分子毒理学的发展，各类分子生物学技术被广泛应用于外源化学物毒性机制研究，可从基因、DNA、细胞水平精准揭示毒物引发的遗传损伤、基因表达紊乱、细胞周期异常、染色体损伤等微观变化，是阐释特殊毒性（致突变、致癌、生殖毒性）的核心技术手段。

一、PCR 与 DDRT-PCR 技术

PCR 即聚合酶链式反应，是体外快速扩增特异性基因片段的技术，在毒理学中主要用于检测毒性相关基因、凋亡基因、氧化应激基因、代谢酶基因的表达水平变化，定量分析外源化学物对基因转录水平的调控作用。

DDRT-PCR 即差异显示反转录 PCR，主要用于筛选毒物干预前后细胞差异表达基因。通过对比正常组与染毒组基因表达谱差异，筛选出毒性响应关键基因，发现新的毒性标志物，为阐明未知毒物作用机制、识别毒性通路提供技术支撑。

二、单细胞凝胶电泳技术

单细胞凝胶电泳又称为彗星试验，是检测单细胞水平 DNA 链断裂损伤的高灵敏度技术，主要用于评价外源化学物的遗传毒性。

其原理为将单个细胞包埋于凝胶中，经裂解、解旋、电泳后，受损 DNA 片段向阳极迁移形成彗星拖尾，通过观察彗星尾长、尾矩、拖尾率，定量评价 DNA 单链、双链断裂损伤程度。该技术灵敏度高、样本用量少，可检测极低剂量毒物造成的轻微 DNA 损伤，广泛用于食品污染物、环境毒物的遗传毒性筛查。

三、流式细胞术

流式细胞术是一种快速、高通量的单细胞多参数检测技术，可对单个细胞的多种指标进行定量分析。在毒理学中主要用于检测细胞周期分布、细胞凋亡率、细胞

内 ROS 水平、线粒体膜电位、细胞钙离子浓度、细胞膜损伤等指标。

该技术能够精准分析外源化学物导致的细胞周期阻滞、凋亡激活、氧化应激损伤，实现细胞毒性的定量分析，是细胞水平毒性机制研究的核心高通量技术。

四、荧光原位杂交

荧光原位杂交技术（FISH）利用特异性荧光标记核酸探针，与细胞内染色体或特定基因位点特异性结合，通过荧光显微镜观察信号位置与数量，主要用于检测染色体数目异常、结构畸变、基因缺失、基因扩增等遗传损伤。

相较于传统染色体观察技术，FISH 技术特异性强、灵敏度高，可精准识别微小染色体异常，广泛应用于化学物致染色体畸变、生殖细胞遗传损伤、肿瘤相关基因异常研究。

五、转基因动物

转基因动物是通过基因工程技术对动物基因组进行定向修饰，获得携带特定目的基因或敲除特定基因的模式动物。在毒理学中主要用于毒性机制验证、致癌性评价、基因功能验证、毒性通路研究。

常用转基因毒理模型包括致癌敏感性转基因小鼠、基因敲除代谢模型、报告基因毒性示踪模型等。转基因动物可以精准明确特定基因在毒物致毒、解毒、损伤过程中的作用，解决普通动物实验机制模糊的问题，是连接体外机制与体内整体效应的重要高级模型。

第六节 组学技术在毒理学中的应用

组学技术是基于高通量测序与生物信息学分析的系统性研究技术，能够从整体层面解析基因、转录本、蛋白、代谢物的整体变化，实现从“单一指标研究”向“整体网络机制研究”的转变，是现代系统毒理学的核心技术。主要包括基因组学、转录组学、蛋白质组学、代谢组学。

一、基因组学和转录组学

基因组学主要研究生物全部基因序列、基因结构及基因多态性，在毒理学中用于筛选毒物易感基因、识别遗传多态性导致的毒性个体差异、检测毒物诱发的基因突变与基因组不稳定。

转录组学聚焦细胞全部 mRNA 转录水平的整体表达变化，通过对比染毒组与对照组转录谱差异，筛选毒性响应差异基因，富集毒性相关信号通路，系统阐明外

源化学物致细胞损伤、氧化应激、凋亡、炎症、癌变的分子机制，是毒理学机制筛选的高通量核心手段。

二、蛋白质组学

蛋白质组学研究机体全部蛋白质的表达水平、修饰方式、蛋白互作的整体变化。基因与转录水平的变化最终通过蛋白质实现功能表达，蛋白质组学能够直接反映毒物作用后细胞功能蛋白的真实改变。

在毒理学中可用于筛选毒性标志性差异蛋白、阐明毒物对细胞信号通路、代谢通路、结构蛋白的调控作用，精准定位毒性效应的功能执行分子，弥补转录组学仅反映基因转录、不代表蛋白功能的不足。

三、代谢组学

代谢组学针对机体小分子代谢物进行高通量定量检测，反映细胞、组织、机体的整体代谢表型变化。代谢改变是毒性损伤最直接、最灵敏的终端表型。

代谢组学可用于筛选外源化学物毒性早期代谢标志物、揭示能量代谢紊乱、脂质代谢紊乱、氨基酸代谢异常等毒性效应，评价毒物靶器官损伤程度，实现毒性早期预警与机制解析，特别适用于亚慢性、低剂量长期暴露的隐性毒性研究。

四、组学技术在毒理学应用的局限性

组学技术虽具备高通量、系统性优势，但仍存在明显局限性。第一，检测成本高、数据分析复杂，依赖专业生物信息学平台，普及难度较大；第二，高通量筛选获得的差异分子数量庞大，存在大量假阳性结果，需要大量实验验证；第三，多为相关性分析，难以直接判定因果关系，无法单独阐明具体致毒机制；第四，不同实验平台、实验条件的数据重复性较差，标准化体系尚未完全统一；第五，组学结果多为静态瞬时检测，难以反映毒性动态演变过程。

因此，组学技术需结合传统体外实验、分子验证实验与动物实验联合使用，才能实现从高通量筛选到精准机制验证的完整毒理研究体系。

本章小结

体外实验与新型技术是现代毒理学发展的重要方向。离体器官、细胞、亚细胞模型构成了分层级的体外毒理研究体系，能够精准、高效、低成本开展毒性筛查与机制研究。分子生物学技术实现了遗传毒性、细胞毒性的精准定量，组学技术实现了毒性机制的系统性、全局性解析。各类新技术相互补充，极大完善了外源化

学物毒性评价体系，推动毒理学从整体表型观察走向微观分子机制、从单一指标研究走向系统网络研究。

第十章：食品安全性毒理学评价

授课章节	第十章：食品安全性毒理学评价				
课时安排	2	授课方式	讲授+自学	授课类型	理论课
<p>教学主要内容：</p> <p>一、食品安全性毒理学评价的发展概况</p> <p>二、食品安全性毒理学评价的基本内容</p> <p>三、食品安全性毒理学评价程序和方法</p> <p>四、食品安全性毒理学评价需考虑的问题</p>					
<p>教学目的、要求：</p> <p>了解食品安全性毒理学评价的发展概况</p> <p>熟悉食品安全性毒理学评价的基本内容</p> <p>掌握食品安全性毒理学评价程序和方法</p> <p>了解食品安全性毒理学评价需考虑的问题。</p>					
<p>教学重点、难点：</p> <p>教学重点：食品安全性毒理学评价程序和方法</p> <p>教学难点：食品安全性毒理学评价的基本内容</p>					
<p>教学过程：</p> <p style="text-align: center;">第十章 食品安全性毒理学评价</p> <p>食品安全性毒理学评价是食品毒理学的核心应用内容，是依据毒理学原理与标准化试验程序，对食品原料、食品添加剂、食品污染物、新型食品、保健食品、转基因食品等外源化学物的毒性特征、危害程度、安全暴露水平进行科学判定的过程。其核心目的是识别食品中有害物质的潜在风险，制定安全限量标准，保障居民饮食安全，为食品监管、食品生产与新型食品审批提供科学依据。</p> <p>第一节 食品安全性毒理学评价发展概况</p> <p>食品安全性毒理学评价是伴随食品工业发展、食品安全事件防控与公共卫生体系完善逐步建立和成熟的技术评价体系。早期食品风险管控主要依靠感官判断、经</p>					

验筛查，缺乏科学、系统的毒性评价依据，无法识别低剂量、长期、隐性的食品毒性危害。

20 世纪中后期，随着食品添加剂广泛使用、新型食品原料不断涌现、食品污染问题日益突出，多国逐步建立标准化食品毒理学评价体系。世界卫生组织、联合国粮农组织联合成立食品添加剂联合专家委员会，统一了国际食品安全性毒理学评价的基本框架、试验项目与评价原则，形成了国际通用的食品风险评价体系。我国食品安全性毒理学评价体系起步较晚，经过多年修订与完善，逐步形成了贴合我国食品行业特点、与国际接轨的标准化评价程序。从传统单一动物毒性试验，逐步发展为结合体外试验、分子毒理、组学技术、风险评估的现代化、系统化评价体系，实现了从“毒性筛查”向“机制解析+风险定量评估”的转变，极大提升了我国食品安全风险防控的科学性与严谨性。

第二节 食品安全性毒理学评价的基本内容

食品安全性毒理学评价拥有固定、规范的评价体系，主要包含适用范围界定、受试物资料审核、标准化毒理学试验三大核心内容，是开展食品毒性评价的基础依据。

一、适用范围

食品安全性毒理学评价适用于所有可能进入人体膳食体系、存在潜在毒性风险的食品相关物质。主要包括人工合成与天然食品添加剂、新型食品原料、食品包装迁移物、食品加工过程产生的有害物质、环境食品污染物、农药兽药残留、转基因食品原料、保健食品原料及功效成分等。

凡未经过系统安全性验证、新投入食品生产使用、生产工艺更新、使用范围和剂量扩大的食品相关物质，均必须开展食品安全性毒理学评价，确认其食用安全性后方可投入市场使用。

二、对受试物的资料要求

开展毒理学评价前，必须完整收集受试物基础资料，保证试验设计科学、评价结果准确可靠。受试物资料主要包括基础信息、理化资料、生产工艺资料、使用资料 and 污染杂质资料。

一是基础信息，包含受试物化学名称、结构式、分子式、纯度、理化性质、溶解性、稳定性、挥发性等；二是生产工艺资料，明确生产原料、合成工艺、加工流

程、提纯方式，判断生产过程是否产生有毒中间体、杂质；三是使用资料，包括使用范围、使用剂量、使用方式、人群暴露水平；四是杂质资料，明确受试物所含杂质种类、含量及杂质毒性，排除杂质干扰毒性评价结果。

完整的受试物资料是合理设计试验、判定毒性来源、精准开展安全评价的前提。

三、食品安全性毒理学评价试验

食品安全性毒理学评价试验是判定受试物毒性大小、毒性类型、安全阈值的核心手段，分为阶段性试验体系，由基础毒性试验、特殊毒性试验、蓄积毒性试验及补充验证试验构成。

基础毒性试验包含急性毒性试验、亚慢性毒性试验、慢性毒性试验、蓄积毒性试验，用于评价受试物短期、长期、反复暴露的一般毒性损伤，确定半数致死剂量、无作用剂量、有害作用剂量等核心安全参数。

特殊毒性试验包含致突变试验、生殖毒性试验、致畸试验、致癌试验，用于筛查食品物质的远期、不可逆、可遗传的特殊毒性风险，是新型食品审批的关键依据。根据受试物使用剂量、暴露人群、使用周期差异，可选择性开展体外毒性试验、代谢试验、靶器官毒性验证试验，补充完善毒性评价结果。

第三节 食品安全性毒理学评价程序和方法

我国食品安全性毒理学评价严格按照分级、分阶段程序开展，遵循循序渐进、由简到繁、由短期到长期、由一般毒性到特殊毒性的评价原则，避免资源浪费，同时保证评价全面、严谨。整体分为四个评价阶段。

第一阶段为急性毒性与蓄积毒性评价。主要开展急性经口毒性试验，测定 LD₅₀，初步判定受试物急性毒性等级；同时开展蓄积毒性试验，判断受试物体内蓄积能力，明确是否存在蓄积损伤风险，为后续试验剂量设计提供依据。

第二阶段为遗传毒性评价。开展全套致突变试验组合，包括基因突变试验、染色体畸变试验、微核试验、DNA 损伤试验，筛查受试物致突变风险。若遗传毒性结果为阳性，需进一步开展致癌风险评估，严格限制其食品应用。

第三阶段为亚慢性毒性与生殖发育毒性评价。开展 90 天亚慢性喂养试验，观察长期低剂量暴露的靶器官损伤、生长发育影响；同时开展致畸试验、繁殖试验，评价受试物对妊娠、胚胎发育、子代生长发育的生殖毒性风险，确定亚慢性无作用剂量。

第四阶段为慢性毒性与致癌性评价。针对长期大量食用、人群普遍暴露、存在潜在风险的食品物质，开展终生慢性毒性试验与致癌试验，观察终身暴露的慢性损伤与肿瘤发生风险，最终确定食品最大无作用剂量，制定食品允许使用剂量与安全限值。

评价过程中根据每阶段试验结果判定是否需要开展下一阶段试验，若前期试验已证实存在严重毒性、致癌、致畸风险，可直接终止试验并判定该物质禁止用于食品生产。

第四节 食品安全性毒理学评价需考虑的问题

食品安全性毒理学评价不能单纯依靠动物试验数据直接判定，需结合人群暴露特征、毒物代谢特点、个体差异、实际膳食场景综合分析，主要考虑以下核心问题。

第一，人群实际暴露剂量。动物试验剂量多为高剂量诱导毒性，需结合居民日常膳食摄入量、暴露频率，将动物试验数据外推至人群，判断实际食用剂量是否存在风险，避免高剂量试验结果过度判定食品风险。

第二，人群敏感性差异。不同年龄、性别、体质、生理状态人群对食品毒物敏感性不同，婴幼儿、孕妇、老年人、免疫力低下人群属于敏感人群，评价时需设置更高安全系数，保护特殊人群饮食安全。

第三，毒物体内代谢转化特点。部分食品物质本身无毒，但经体内代谢活化可产生有毒产物；部分物质可快速代谢排出、无蓄积风险，评价需结合代谢规律区分原型毒性与代谢毒性。

第四，联合暴露风险。日常膳食中多种食品添加剂、污染物共存，可产生相加、协同毒性效应，单一物质安全并不代表混合食用安全，评价需兼顾联合毒性风险。

第五，试验数据的外推局限性。动物与人存在种属差异，动物试验阳性结果不一定在人体发生，需结合流行病学数据、体外机制试验综合校正评价结论。

第五节 国外食品安全性毒理学评价原则

一、国外食品毒理学安全性评价概述

国际食品安全性毒理学评价体系以 FAO/WHO 联合专家委员会评价体系为核心，同时以美国、欧盟、日本评价体系为典型代表，形成了统一化、标准化、国际化的食品风险评价框架。国外评价体系起步早、体系完善，更加注重风险定量评估、人群暴露评估与机制验证，强调安全性与实用性平衡。

国际评价体系坚持分层评价、证据权重、风险预防原则，针对不同类型食品物质制定差异化评价方案，尤其对新型食品、转基因食品、保健食品建立了专项评价规范，成为各国食品立法与监管的重要参考。

二、国外食品毒理学安全性评价原则

第一，分层分级评价原则。根据食品物质暴露水平、使用范围、风险等级设置不同评价强度，高暴露、高风险物质开展全套毒理学试验，低风险物质简化试验流程。

第二，证据权重原则。综合动物试验、体外试验、分子机制研究、人群流行病学数据、临床研究等全部证据，客观判定安全性，不依靠单一试验结果下定论。

第三，风险预防原则。在证据尚不充分、存在潜在不确定性风险时，采取保守安全限值，优先保障人群健康。

第四，种属外推与安全系数原则。统一采用安全系数法，将动物试验无作用剂量外推至人体，常规安全系数为 100 倍，针对敏感人群可进一步提高安全系数。

第五，动态更新原则。随着新技术、新研究数据更新，持续修订食品物质安全标准，实现食品安全评价动态化、科学化。

三、转基因食品毒理学食品安全性评价

转基因食品属于新型特殊食品，国外针对转基因食品建立了独立、严格的毒理学评价体系，核心遵循“实质等同性原则”。即将转基因食品与传统同源食品进行对比，若二者成分、营养、毒性特征基本一致，可判定其安全性等同于传统食品。专项评价内容包括外源基因稳定性、表达蛋白毒性、致敏性、基因转移风险、非预期效应毒性、长期喂养毒性等。重点筛查转基因食品是否产生新的有毒物质、致敏成分，是否引发机体代谢紊乱、免疫损伤与远期健康风险。国外对转基因食品实行严格的上市前审批与长期风险监测制度。

四、保健食品毒理学食品安全性评价

国外保健食品安全性评价区别于普通食品与药品，坚持“安全优先、功能辅助”的评价原则。保健食品具有长期食用、人群自愿补充、受众广泛的特点，因此对急性、慢性毒性、蓄积毒性、特殊毒性要求更为严格。

评价重点包括保健食品原料毒性、功效成分剂量依赖性毒性、长期服用蓄积风险、特殊人群适用性、与药物联合服用的相互作用风险。保健食品不得存在致畸、致

癌、致突变风险，不得产生明显脏器损伤，在推荐食用剂量范围内必须保证绝对安全。同时需排除虚假功能、过量中毒、长期依赖等附加风险。

本章小结

食品安全性毒理学评价是食品安全风险防控的核心技术支撑，拥有完整的发展体系、规范的评价内容、标准化的分级程序。在评价过程中，需结合受试物资料、试验数据、人群暴露特征、个体差异综合判定风险。同时借鉴国外成熟评价原则，针对转基因食品、保健食品等特殊食品建立专项评价体系，实现科学、严谨、全面的食品安全性评价，为食品安全生产、监管与风险防控提供理论与技术依据。