**毒理学**

# 第一章 绪论

1. **毒理学是描述毒物的学科，也有人译为毒物学。**
2. 世界上没有绝对的有毒物质和无毒物质，关键在于摄入剂量

毒物之间并不存在绝对的界限，二者没有质的区别。药物和毒物间只有量的不同，只能以引起中毒剂量的大小将它们相对地加以区别。药物超过一定剂量对机体可产生毒害作用；在特定情况下，药物和毒物二者间可相互转化。

**4、所有物质都是毒物，没有任何非毒物质，唯有剂量使之区分为毒物还是药物。物质本身不是毒物，剂量使一个物质变成毒物。**

**5、食品毒理学！：是一门研究食品中外源性化学物的性质、来源与形成，它们的不良作用与可能的有益作用及机制，并确定这些物质的安全限量和评定食品安全性的一门学科。**

1. **外源化学物：是在人类生活的环境中存在、可能与机体接触并进入机体，在体内呈现一定的生物学作用的一些化学物质，又称为“外源生物活性物质”。**
2. 内源化学物：是指机体内原已存在的和代谢过程中所形成的产物或中间产物。

**8、毒理学研究主要有两类方法（优缺点）！**

**第一类：生物实验**

1. **体内试验（整体动物）**

一般毒性试验：急性毒性、亚慢性毒性、蓄积毒性、慢性毒性

特殊毒性试验：致癌、致畸、致突变、生殖和发育毒性

**2. 体外试验（游离器官、细胞、细胞器）**

**第二类：人群和现场调查**

**1、临床研究**

临床毒理学研究：中毒事故的处理或治疗

**2、群体流行病学调查**

描述流行病学研究：提出病因假说

分析流行病学研究：验证病因假说，明确因果关系

**1、体内试验**

**优点：**易于控制暴露条件，能测定多种效应，能评价宿主特征的作用.(如:性别、年龄。遗传特征等和其他调控因素饮食等)能评价机制

**缺点：**动物暴露与人暴露相关的不确定性

受控的饲养条件与人的实际情况不一致

暴露的浓度和时间的模式显著地不同于人群的暴露

**体外试验**

**2、体外实验**

**优点：**影响因素少，易于控制，可进行某些深入的研究(如:机制。代谢)。人力物力花费较少

**缺点：**不能全面反映毒作用

不能作为毒性评价和危险性评价的最后依据

难以观察慢性毒用

**利用游离器官、培养的细胞或细胞器进行研究，多用于外源化学物对机体急性毒作用的初步筛检、作用机制和代谢转化过程的深入观察研究。体外试验系统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毒作用。**

**3、临床观察：人体观察 –临床病例报告**

**优点：**规定的限定暴露条件，在人群中测定反应, .对某组人群(如哮喘)的研究是有力的，能测定效应的强度

**缺点：**耗资多，较低浓度和较短时间暴露，限于较少量的人群(一般<50)限于暂时、微小、可逆的效应

一般不适于研究最敏感的人群

**4、流行病学研究**

**优点：**真实的暴露条件。.在各化学物之间发生相互作用。.测定在人群的作用，表示全部的人敏感性。

**缺点：**耗资、耗时多。(多为回顾性)。无健康保护，难以确定暴露，有混杂暴露问题。可检测的危险性增加必需达到2倍以上。测定指标较粗(发病率,死亡率)。

10、食品毒理学研究任务：研究食品中外源化学物的分布、形态、进入人体的途径与代谢规律，阐明影响中毒发生、发展的各种条件；化学物在食品中的安全限量，评定食品的安全性，制定相关卫生标准；食品中化学物的急性和慢性毒性，特殊毒性（“三致”），提出早期诊断的方法及健康监护措施。

11、生物芯片技术、**微型化 自动化 样品量少**

12、循“4R”原则，更多地采用替代动物和替代试验。

**替代、减少**、**优化 、责任心**

# 第二章毒理学基础

1、毒物：

**在一定条件下，以较小的剂量进入机体，能对机体产生损害，干扰正常的生理功能或生化过程，引起暂时或永久性的病理改变，甚至危及生命的化学物质。**

1. 毒物与非毒物之间并没有绝对的界限，使二者之间发生互变的重要条件是剂量和途径。
2. LD50

**5、外源化学物：是在人类生活的环境中存在、可能与机体接触并进入机体，在体内呈现一定的生物学作用的一些化学物质，又称为“外源生物活性物质”。**

1. **内源化学物：是指机体内原已存在的和代谢过程中所形成的产物或中间产物。**

**7、外源性毒物来源及分类：**

**(1)工业化产品**

**(2)食品中的有毒物质-天然物质，衍生物，污染物，添加剂**

**(3)环境污染物 (4)日用化学品 (5)农用化学品**

**(6)医用化学品 (7)生物毒素 (8)军事毒物**

**8、中毒是生物体受到毒物作用而引起功能性（可逆）或器质性（不可逆）改变后出现的疾病状态。**

1. 毒性指化学物能够引起机体损害作用的固有的能力。

10、毒效应指毒物对生物体的有害作用。

**11、毒性评价：危险度与安全性**

**危险度和安全性都属于统计学概念。前者指化学毒物在一定条件下造成机体损害的概率；后者与其相反，指化学毒物在特定条件下不引起机体出现损害效应的概率。从理论上讲，安全性是指无危险度或危险度低至可以忽视的程度。可是人类在日常的生活与生产过程中从事的每一项活动都伴随一定的危险度，并不存在绝对安全或危险度为零的情况，故安全性只能是相对的。**

**12、可接受的危险度的概念。可接受的危险度是指公众和社会在精神、心理等各方面均能承受的危险度。**

13、**危险度评价是在综合分析人群流行病学调查、毒理学试验、环境监测和健康监护等多方面研究资料的基础上，对化学毒物损害人类健康的潜在能力进行定性和定量的评估，以判断损害可能发生的概率和严重程度。目的是确定可接受的危险度，为政府管理部门正确地作出卫生和环保决策、制订相应的卫生标准提供科学依据，从而最大限度地保障广大人民群众的身体健康。**

**14、危险度评价的流程**

1）**危害识别**

**危害性认定是危险度评价的第一阶段，为定性评价阶段。目的是确定待评化学毒物在一定条件下与机体接触后，能否产生损害效应；效应的性质和特点如何；化学毒物与损害效应之间有无因果关系。**

1. 待评化学毒物的资料
2. 人群流行病学调查资料（这类资料能直接反映特定化学毒物与机体接触后所造成的损害作用）

3.毒理学试验资料

**2）剂量-反应关系评价（重要）**

**剂量-反应关系评价是危险度评价的第二阶段，又是定量危险度评的第一步。其目的是：在认定待测物质具有危害性的基础上，依据人群流行病学调查资料和毒理学研究结果，阐明不同剂量水平的待测物质与接触群体中出现的关键的有害效应发生率之间的定量关系，确定特定接触剂量下评价人群危险度的基准值。**

1. **有阈值化学毒物剂量-反应关系评价常采用安全评级法。通过评价确定待评物质不引起机体出现任何有害效应的最高剂量或出现有害效应的最低剂量、来计算和推算出参考剂量。只有达到某一剂量水平时才能发生，且随着剂量增加而增加。**
2. **无阈值化学毒物剂量-反应关系的评价是回答致癌物剂量或浓度与人群患癌反应率之间的定量关系。在零以上的任何剂量均可发生，即具有零阈剂量-反应关系。**

3）**暴露评定**

**是危险度评价的第三个阶段，目的是确定危险人群接触待评化学毒物的总量，阐明暴露特征，为危险度评价提供可靠的接触数据或估测值。**

暴露分为外暴露剂量和内暴露剂量。外暴露剂量：可用相应环境介质中的测定浓度来估计；内暴露剂量可通过内暴露的生物标志来反应

**4）危险度表征**

**是危险度评价的最后总结阶段。通过对前三个阶段的评定结果进行综合、分析、判断，估算在暴露人群中，有害效应发生率(即危险度)的估计值及其可信或不确定程度，详细说明有害化学物质可能引起的公众健康问题，最终形成管理人员可利用和易懂的文件，为政府管理机构决策提供科学依据。**

**15、危险度管理。是以危险度评价的结果为依据，制订有效的法规条例和管理措施并予以实施，以达到保护人民群众身体健康的目的。包括3个要素：危险度评价、扩散和暴露控制、危险性监测。**

**16、毒性作用：指化学物本身或代谢产物在作用部位达到一定数量并与组织大分子互相作用，对机体产生不良或有害的生物学改变，毒性作用也就是毒效应，又可称为不良效应或有害效应。**

1. **毒性作用的具体表现包括：**
   * **各种功能障碍；**
   * **应激能力下降；**
   * **维持机体稳态能力降低；**
   * **对于环境中其它有害因素敏感性增高等。**
2. **反映毒性作用的两类指标：特异指标、死亡指标**
3. **不同阶段试验可观察化学物的不同毒性终点**

1）急性毒性试验：以受试物引起的机体死亡为毒性终点指标；

2）亚慢性和慢性毒性试验：以受试物造成的生理、生化和代谢等过程的异常改变为毒性终点指标；

3）遗传毒理学试验：以受试物导致的基因突变、染色体畸变、肿瘤形成、胚胎畸形等为毒性终点指标。

20、**化学物的毒性作用分类**

* **速发与迟发作用**

速发作用：指某些外源化学物在一次暴露后的短时间内引起的即刻毒作用，如氰化物引起的急性中毒。

迟发作用：指一次或多次暴露某种外源化学物后，经一定的时间间隔才出现的毒作用，如三邻甲苯磷酸酯为代表的有机磷类化合物引起的迟发性神经毒性。致癌物的致癌作用。

* **局部与全身作用**

局部作用：指某些外源化学物在机体暴露部位直接造成的损害作用，如酸碱对皮肤的腐蚀作用，吸入氢氰酸对呼吸道粘膜的刺激作用。

全身作用：指外源化学物被机体吸收并分布至靶器官或全身后所产生的损害作用，如CO引起的全身性缺氧，铅引起的血液、消化、神经、生殖等多系统病变。

* **可逆与不可逆作用**

可逆作用：指停止暴露于外源化学物后可逐渐消失的毒作用，常见于接触化学物的剂量较低、接触时间较短、损伤较轻时。

不可逆作用：指停止暴露于外源化学物后，其毒作用继续存在，甚至对机体造成的损害作用可进一步进展，如矽肺、肝硬化、神经系统损伤和恶性肿瘤。

化学物的毒性作用是否可逆，主要取决于受损组织的修复和再生能力。

* **超敏反应**

超敏反应：指机体对某些抗原初次应答后，再次接触相同抗原刺激时，发生的一种以生理功能紊乱或组织细胞损伤为主的特异性免疫应答。

* **特异质反应**

特异质反应：指机体对外源化学物的一种遗传性异常的反应性（过强或过弱），主要由于基因多态性造成，与超敏反应无关。

---例如某些人有先天性的遗传缺陷，因而对于某些化学物表现出异常的反应性。

1. **选择性毒性。指一种化学物只对某种生物、某个靶器官组织或者某些高危人群产生毒性作用，而对其它种类生物、其它器官组织或者其他人群无害。**
2. 靶器官

**是外源化学物发挥主要毒性效应的器官。**

**毒效应的强弱取决于毒物在靶器官的浓度，但毒物蓄积的器官未必是靶器官**（如铅，主要蓄积在骨中，但是骨并不是它的靶器官）

22、**化学物出现选择毒性的原因**

1）物种和细胞学差异

2）不同生物或组织器官生物转化过程的差异

3）不同组织器官对化学物亲和力的差异

4）不同组织器官对化学物所致损害的修复能力的差异

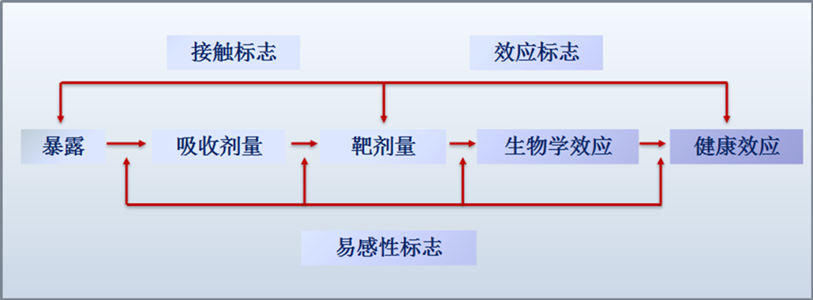
23、**毒效应谱**

指机体接触外源化学物后，取决于化学物的性质和作用强度，引起多种变化，随着剂量的增加可表现为：

* + **机体对外源化学物的负荷（化学物和或其代谢物在体内的量及分布）增加；**（非损害作用，对健康有潜在的影响）
  + **意义不明的生理和生化改变；**（非损害作用，对健康有潜在的影响）
  + **亚临床改变；**（损害作用，对健康有影响）（临床和亚临床条件可逆）
  + **临床中毒；**（损害作用，对健康有影响）
  + **甚至死亡；**（损害作用，对健康有影响）

24、**生物学标志（重要）**

**指针对通过生物学屏障进入组织或体液的化学物或其代谢产物、以及它们所引起的生物学效应而采用的检测指标。**



* + **暴露生物学标志**

对各种组织、体液或排泄物中存在的外源化学物及其代谢产物，或它们与内源化学物作用的反应产物的测定值，可提供关于化学物质暴露的信息。

**体内剂量标志：可以反映机体中特定外源化学物及其代谢产物的含量，即内剂量或靶剂量。**

**生物效应剂量标志：可以反映外源化学物及其代谢产物与某些靶细胞或靶分子相互作用所形成的反应产物的含量。**

* + **效应生物学标志**

是指集体可测出的生化、生理、行为或其他改变的指标。标志包括：

1）早期效应生物学标志

2）结构和功能改变效应生物学标志

3）疾病效应生物学标志

* + **易感生物学标志（很重要）**

反映机体对外源化学物毒作用敏感程度的指标，主要用于易感人群的筛检与监测，在此基础上可采取有效措施进行有针对性的预防。

由于易感性的不同，性质与剂量相同的化学物质在不同个体中引起的毒效应常有很大差异，这种差异的产生是多种因素综合作用的结果，其中遗传因素起到了十分重要的作用。

25、给予剂量：又称潜在剂量（potential dose），指机体实际摄入、吸入或应用于皮肤的外源化学物的量。

26、应用剂量：指直接与机体的生物屏障接触可供吸收的量。

27、吸收剂量：又称内剂量，指已被吸收进入体内的量。

28、送达剂量：指吸收剂量中可到达所关注的器官组织的部分

29、生物有效剂量：又称靶剂量（target dose），指送达剂量中到达毒作用部位的部分。

30、暴露条件：暴露途径、暴露期限、暴露频率

31、机体最常见的接触外源化合物的途径：进口、吸入、经皮肤吸收、各种注射途径

32、剂量反应关系：

剂量-量反应关系（效应），指外源化学物的剂量与个体中发生量反应强度的关系。

剂量-质反应关系（反应），指外源化学物的剂量与群体中质反应发生频率之间的关系。

**在一定的条件下，量反应可以转换为质反应**

33、剂量反应曲线常见类型（了解，U的可以重点看一下）

1）直线。

2）Ｓ形曲线 可见于剂量-反应（效应）关系中

◇对称S型曲线和非对称S型曲线（常见）

◇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。如敏感性差异呈偏态分布，则表现为非对称S形曲线。

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。常见于剂量-效应关系中。

4）U型曲线。通常被称为毒物兴奋性剂量-反应关系曲线，即在低剂量条件下表现为适当的刺激反应，而在高剂量条件下表现为抑制作用。

35、LD100（绝对致死剂量）

指化学物引起一组受试对象全部死亡所需要的最低剂量或浓度。如降低剂量或浓度，即有存活者。（由于受试物种常有少数耐受性或高敏感性的个体，所以波动很大，一般不将其作为评价指标）

36、最小致死剂量或浓度（MLD）

指化学物引起一组受试对象中的个别成员出现死亡的最低剂量或浓度。如低于此剂量或浓度，即不能引起死亡。

37、最大耐受剂量（MTD）

指一组受试实验动物中，不引起动物死亡的外源化学物的最大剂量

39、**半数致死剂量或浓度**

指化学物引起一组受试对象中半数成员出现死亡所需要的剂量或浓度，又称致死中量。

（LD50或LC50是评价化学物急性毒性大小最重要的参数，也是对不同化学物进行急性毒性分级的基础标准。）

40、**阈值TD或TC**

指化学物引起一组受试对象中的少数个体出现某种最轻微的异常改变所需要的最低剂量或浓度。低于此的剂量或浓度都不应产生任何损害作用，故又可称为最小有作用水平

（一般认为外源化学物的一般毒性和致畸作用的剂量-反应关系是有阈值的，而遗传毒性致癌物和致突变物的剂量-反应关系是否存在阈值尚没有定论。）

**所谓的阈值可用观察到有害作用的最低水平来表示**

阈限值（threshold limit value，TLV）：是美国政府工业卫生学家委员会 (ACGIH) 推荐的生产车间空气中有害物质的职业接触限值。为绝大多数工人每天反复接触不致引起损害作用的浓度。

41、**最大无作用剂量**

指化学物在一定的条件下与机体接触，用最先进的检测方法和最灵敏的观察指标不能发现任何损害作用的最高剂量或浓度。

42、**毒作用带**

指阈值剂量作用下线与致死毒作用上线之间的距离

43、**急性毒作用带**

为半数致死剂量与急性阈剂量的比值，表示为：Zac= LD50／Limac 。Zac值小，说明化学物从产生轻微损害到导致急性死亡的剂量范围窄，引起死亡的危险性大；反之，则说明引起急性中毒死亡的危险性小。

**44、慢性毒作用带**

为急性阈剂量与慢性阈剂量的比值，表示为：Zch＝Limac／Limch 。Zch值大，说明 Limac与 Limch之间的剂量范围大，由轻微的慢性毒效应到较为明显的急性中毒之间的剂量范围宽，发生发展过程较为隐匿，易被忽视，故发生慢性中毒的危险性大；反之，则说明发生慢性中毒的危险性小。

# 第三章生物转运和第四章生物转化

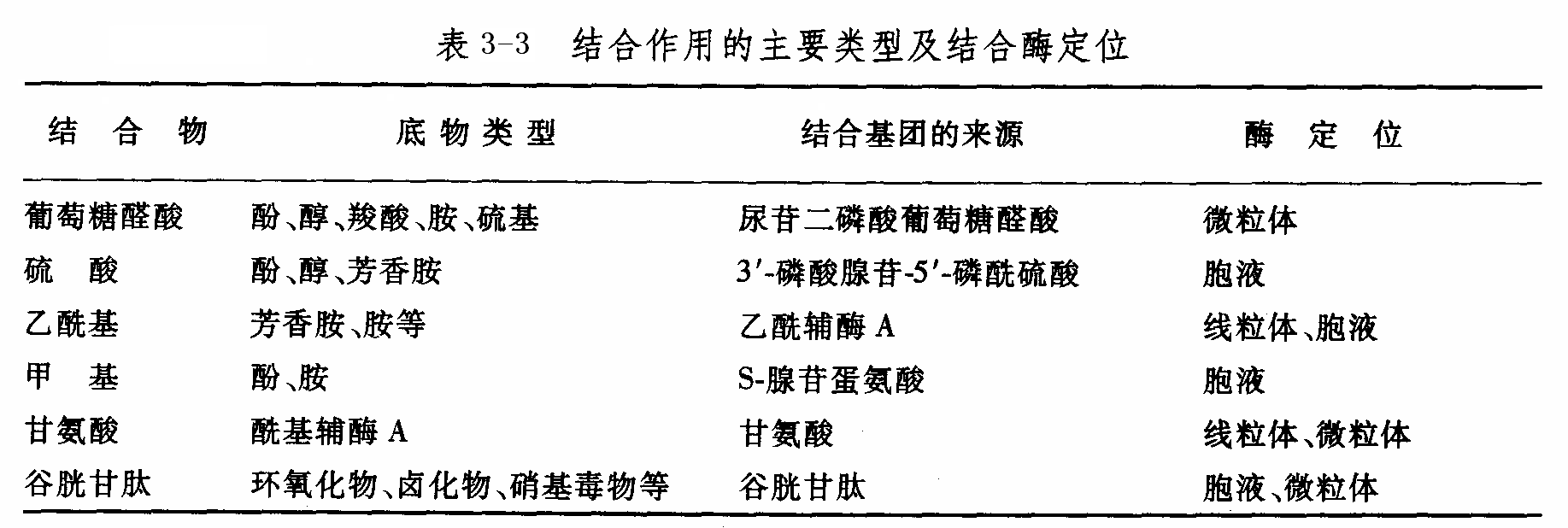
1. **参考计量RfD**指环境介质（空气、水、土壤、食品等）中化学物质的日平均接触剂量的估计值。
2. 生物转运吸收、分布和排泄过程中，以物理学过程为主，本身不发生化学结构改变，从接触部位吸收，转运进入血液、再转运至组织与脏器、最终转运到排泄器官离开机体过程。代谢过程称为**生物转化**指外源化学物的代谢变化过程，即外源化学物在组织细胞内经各类酶的催化作用，发生化学结构与性质改变的过程。
3. **吸收**是指外源化学物从接触部位，通常是机体的外表面或内表面（如皮肤，消化道粘膜和肺泡）的生物膜转运至血循环的过程。
4. **首过效应**：外源化学物在从吸收部位转运到体循环的过程中已开始被消除，此即在胃肠道粘膜、肝和肺的首过效应。
5. 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**
6. 外源化学物在体内某些组织蓄积，如对蓄积器官造成毒性损伤，称这些器官为**靶器官**；如未显示明显的毒性作用，则称这些器官为***贮存库***
7. **排泄**是外源化学物及其代谢产物向机体外转运的过程，是生物转运的最后一个环节。 毒物通过不同的途径排出机体，主要经肾脏（尿）、经胆汁和经肺（呼气）排出。 还可随各种分泌物，如汗、唾液、泪水和乳汁等排出。
8. **生物转化**，又称代谢转化，是指外源化学物进入机体后，经多种酶催化发生的一系列化学变化，并形成衍生物以及分解产物的过程。一般情况下，经过生物转化，毒物的极性增加，易于排出。

**第一阶段**反应包括氧化反应、还原反应和水解反应，这些反应涉及暴露或引入一个功能基团，如-OH、-NH、-SH或-COOH，通常仅导致水溶性的少量增加。

**第二阶段**反应包括葡萄糖醛酸化、硫酸化、乙酰化、甲基化，与谷胱甘肽结合以及与氨基酸结合，即形成结合物，极性显著增强。

**2相反应又称为结合作用**。

是进入机体的外来化合物经过I相反应后生成或暴露出的极性基团（羟基、氨基、羧基、环氧基等），或化合物本身具有的极性基团与某些亲水性基团发生的生物合成反应，生成的产物称为结合物。

除了甲基化和乙酰化结合反应外，其他第二阶段反应显著增加毒物的水溶性，促进其排泄。

1. **生殖毒性**是指外来化学物对雄性和雌性生殖功能或能力以及后代产生的不良效应生殖毒性既可发生于生殖细胞、受精卵、胚胎形成期、 妊娠期，也可发生于妊娠前期、分娩和哺乳期。
2. **胚胎毒性作用**：外源化学物对母体子宫内 发育的胚胎或胎儿产生的毒性作用
3. **致畸物**：能引起妊娠的人或实验动物产生畸胎的外源化学物
4. **繁殖试验**又称多代繁殖试验，是评价受试物对亲代生殖和后代的发育与生殖影响一系列环节。
5. **致突变作用**外源化学物及其他环境因素引起核内遗传物质发生变化，并且这种改变随细胞分裂过程而传递的过程
6. **细菌回复突变实验**是以营养缺陷型的突变体菌株为对象，观察受试物能否引起其发生回复突变的方法。该实验获得的信息已成为遗传毒理学的标准。

常用菌株: 组氨酸营养缺陷型鼠伤寒沙门氏菌和色氨酸营养缺陷型大肠杆菌。

野生型 ：生物群体中观察到的最高频率的表型，或具有这种表型的系统、生物和基 因 (即正常型)。

正向突变：改变野生型性状的突变。

回复突变：突变体经过第二次突变又完全地或部分地恢复为原来的基因型和表型。

1. **微核实验微核是染色体的无着丝粒片段或整条染色体在细胞分裂后期，不能进入子代细胞核中，而在子代细胞的间期胞浆内形成的游离团块物质，它与细胞核着色一致但体积小**
2. 程序性DNA合成”：正常细胞一般仅在间期的S期进行DNA的 复制合成，当DNA受损后，DNA的修复合成可发生在S期以 外的其他时期，称为**“程序外DNA合成”**

**小鼠骨髓多染红细胞微核试验原理：**

**当成红细胞发展为红细胞时，主核排出，成为多染红细胞，然后成为正染红细胞进入外周血中。在主核排出时，微核可留在胞浆中，并维持一定时间。观察并计数多染红细胞中的微核，可反映染色体断裂剂和纺锤体的损伤情况**

1. **癌基因**能引起细胞恶性转化及癌变的基因，通常以原癌基因形式存在正常动物细胞的基因组中（如Ras家族）。
2. **原癌基因**在正常细胞中的表达并不引起恶性病变，必须经过激活突变、重组或甲基化等）才能导致细胞的恶性转化**。**
3. **肿瘤抑制基因**即抗癌基因，可能是编码抑制生殖、促进分化的基因，也可能是某些基因的负控制调节基因，并是维持基因组定性的某些基因（如P53基因）。
4. **食品毒理学安全性评价**：通过毒理学实验和对人群的观察，阐明食品中的某种物质的毒性及潜在的危害，对该物质能否投入市场做出安全性方面的评估或提出人类安全接触的条件的研究过程。
5. **急性毒性作用**是指机体（实验动物或人）一次或24h内多次经口给予实验动物受试物后，动物在短期内（24 h-14 d）出现的毒性效应，通常用LD50来表示，包括 一般中毒体征和死亡
6. **蓄积毒性作用**：当受试物连续地、反复地进入机体，而且吸收速度或总量超过代谢转化排出的速度或总量时，化学物质就有可能在体内逐渐增加并储留，这种现象称为化学物质的**蓄积毒性作用**
7. **物质蓄积**指机体反复多次接触外源化学物一定时间后，可以用分析方法检测出体内该物质的原型或其代谢产物
8. **功能蓄积**指机体反复多次接触化学外源化学物一定时间后，用最先进和最灵敏的分析方法也不能检测出这种化学物在体内存在形式，但却出现了慢性毒性现象
9. **亚慢性毒性作用（90天经口毒性作用）**是指实验 动物或人连续较长时间接触较大剂量的外来化学 物所产生的中毒效应。

**第三章大题**

**一、生物转运**

**1. 吸收**

**经胃肠道吸收**

a一般外来化合物在胃肠道中的吸收过程，主要是通过简单扩散，还可以通过膜孔过滤、吞噬或胞饮和主动转运系统。

b水和食物中的有害物质主要是通过消化道吸收。毒物的吸收可发生于整个胃肠道，甚至是在口腔和直肠中，但主要是在小肠，因肠绒毛，可增加的小肠吸收面积。

c外源化学物经胃肠道被动扩散主要取决于外源化学物的脂溶性和酸离解常数（pKa）、胃肠道内pH。有机酸和有机碱一般是以分子态吸收，其解离态不容易吸收，因此胃肠道内的PH值通过影响其pKa，而影响其吸收。

d一些颗粒物质如偶氮染料和聚苯乙烯乳胶可通过吞噬或胞饮作用进入小肠上皮细胞。

e某些外源化学物受胃肠道中的消化酶或菌群的作用后，可形成新的外源化学物而影响其吸收或改变其毒性

**消化道吸收**

a空气中的化学毒物主要从呼吸道侵入机体，未经肝脏的生物转化过程，直接进入体循环。b气体、易挥发液体和气溶胶在呼吸道中的吸收主要是通过简单扩散。

c影响经呼吸道吸收的因素是肺泡气与血浆中的浓度差。血气分配系数。越大，溶解度越高，表示该气体越易被吸收。

d气溶胶的部位取决颗粒物大小

直径在5µm以上颗粒物在鼻咽部沉积

直径在2～5µm的颗粒物沉积在气管支气管区域。

直径在1µm及以内的颗粒物可到达肺泡，它们可被吸收入血或通过肺泡巨噬细胞吞噬移动到粘液纤毛远端的提升装置被清除，或通过淋巴系统清除。

e可溶性有毒颗粒物很快被吸收入血引起中毒，不溶性颗粒物则可引起肺尘埃沉着病。

**毒物经皮吸收**

a必须通过表皮或附属物（汗腺、皮脂腺和毛囊）。 汗腺和毛囊占皮肤总面积的0.1％～1.0

％，但吸收毒物的速度很快。 化学物质主要还是通过占皮肤表面积较大比例的表皮吸收。

b化学物质经皮吸收必须通过多层细胞才能进入真皮小血管和毛细淋巴管。

c经皮吸收的限速屏障是表皮的角质层。

d非极性毒物的扩散速度与其脂溶性成正比，与其分子量成反比

**2. 分布**

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

a**与血浆蛋白结合作为贮存库**血浆中各种蛋白均有结合其他化学物质的功能，尤其是白蛋白的结合量最高。 结合型外源化学物由于分子量增大，不能跨膜转运，暂无生物效应，不被代谢排泄，可延缓消除过程和延长外源化学物的毒作用

b**肝和肾作为贮存库**肝和肾具有与许多外源化学物结合的能力。

肝、肾既是一些外来外源化学物贮存的场所，又是体内有毒物质转化和排泄的重要器官。

c**脂肪组织作为贮藏库**脂溶性有机物易于分布和蓄积在体内脂肪内

**d骨骼组织作为贮藏库**由于骨骼组织中某些成分与某些外源化学物有特殊亲和力，因此这些物质在骨骼中的浓度很高。骨是氟、铅、铬和锶等的贮藏部位，也是氟、铬和锶毒物侵害部位，即靶器官。

**e血-脑屏障，胎盘屏障和血-眼屏障等**，

血-脑屏障并非是对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。 由于血-脑脊液屏障的存在，许多毒物不易进入中枢神经系统

胎盘是由在母体与胎体血液循环之间的多层细胞构成，人有3层，称为血绒膜胎盘。大部分毒物是通过单纯扩散穿过胎盘。

3**排泄**是外源化学物及其代谢产物向机体外转运的过程，是生物转运的最后一个环节。

毒物通过不同的途径排出机体，主**要经肾脏（尿）、经胆汁和经肺（呼气）排出。 还可随各种分泌物，如汗、唾液、泪水和乳汁等排出。**

**a肾脏**是排泄外来外源化学物最重要的器官，涉及**肾小球的被动滤过、肾小管的重吸收和主动分泌。**由于原尿中水被重吸收，脂溶性外源化学物的浓度增高，可经被动扩散从肾小管回到血液中。肾小管通过分泌H+、NH3、重吸收HCO3-在调节机体酸碱平衡方面起着重要作用。

外源化学物 主动分泌

肾小管 有机阴离子转运体

有机阳离子转运体

b**胆汁排泄**经过肝脏代谢转化，再随同**胆汁排泄出**体外可看作为经尿排泄的补充途径，小分子经肾排泄，较大分子经胆汁排泄。 胆汁是很多结合产物（如谷胱甘肽和葡萄糖醛酸结合物）的主要排泄途径

c**肝胆循环**外源化学物及其代谢物由胆汁进入肠道。一部分可随粪便排出，一部分由于肠液或细菌的酶催化，增加其脂溶性而被肠道重吸收，重新返回肝脏，形成肝肠循环。

肝肠循环的结果引起生物半减期延长，毒作用持续时间延长。

**d经肺排泄**

在体温下主要以气相存在的物质通过肺排出。 挥发性液体与其气相在肺泡处于动态平衡，也可通过肺排泄。 液体通过肺排泄的量与其气体分压成正比。 肺排泄是通过单纯扩散进行的，排出速度大致与其吸收速度成反比。

e**经乳汁等途径排出。**

抗生素、环境污染物等外源化学物可经乳汁由母体转运给婴儿，也可由牛乳转运至人。

f**通过汗腺和毛发排泄**

有些外源化学物可通过汗腺和毛发排泄，因而毛发中重金属等含量可作为生物监测的指标。

二、化学致癌的癌基因学说 

调控细胞增殖和分化的基因发生异常，可导致细胞持续增殖，不能及时分化和凋亡，形

成肿瘤。与细胞恶性转化有关的基因主要有癌基因和肿瘤抑制基因。

# 第五章 外源性化合物的毒作用机制

1、终毒物：是最终产生毒性作用的物质。终毒物可以是母体化合物或其代谢产物，也可以是内源性分子。终毒物与靶分子（DNA，蛋白质，脂质等）相互作用，改变其结构和功能，并改变细胞生物学微环境，从而导致毒性作用。

2、终毒物的来源：

①外源性化学物的原形：如CO，重金属等；

②外源性化学物的代谢物，即代谢活化：如正已烷、四氯化碳的活性代谢产物；

③活性氧与活性氮；

④内源性物质的产物：如脂质过氧化

3、终毒物的类型：

外源性化学物经代谢活化后，最常见的是转化为以下四种产物。

①亲电物； ②亲核物； ③自由基； ④氧化还原性反应物。

★毒物引起的毒效应强度主要取决于终毒物在靶位点的浓度和持续时间。

4、毒物对生物膜的损害作用

许多毒性物质可以作用于细胞膜，引起细胞膜结构和功能的改变

①膜成分的改变：四氯化碳导致大鼠肝细胞膜磷脂和胆固醇含量下降；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）破坏

②膜脂流动性的改变：DDT、对硫磷引起红细胞膜脂流动性降低；乙醇引起肝细胞线粒体膜脂流动性增高

③膜上酶的活性：有机磷化合物与红细胞膜上的乙酰胆碱酯酶共价结合；苯并芘、铅离子、镉离子等。

④膜通透性的改变：主要是膜蛋白的改变，如重金属与膜蛋白上的巯基、羰基、氨基、磷酸基等的作用

5、生物膜的生物物理性质

主要表现在生物膜的通透性、流动性、膜电荷和膜电位等四个方面

★膜的通透性指膜两侧物质交换的能力。膜的通透性具有选择性，是膜两侧物质转运的基础，也是维持细胞内PH值和物质组成稳定的基础，生物膜通透性的改变主要是膜蛋白质的改变。但通透性的改变不是细胞损伤的唯一原因

★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、细胞分裂、胞吞胞吐、细胞融合、细胞识别、细胞表面受体功能的调节等。

★膜流动性的改变包括量变（程度变化）和质变（如液晶态变晶态）。 化学毒物可通过改变膜的流动性而影响其功能。

★膜流动性可以通过荧光偏振、核磁共振、激光拉曼光谱、激光漂白荧光恢复法和电镜冷冻蚀刻技术等生物物理实验技术来研究。

★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度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。

6、钙稳态失调学说：

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。Ca2+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

7、引起细胞内钙浓度升高的原因：

①毒物可诱导配体或电压门控的钙通道开放，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

8、细胞内钙持续升高的后果：

①能量储备的耗竭(ATP的合成减少)

②引起细胞内微丝的解离，使质膜易于破裂。

③可激活降解蛋白质、磷脂和核酸的水解酶，引起蛋白、磷脂和DNA损伤；

能够导致ROS和NOS的过度产生

9、自由基与生物大分子的氧化损伤：

（1）自由基的概念、产生和特点

①概念：自由基是具有不成对电子的原子、分子或离子。

②产生：主要因为化合物的共价键的耗能均裂而产生，也可以通过俘获电子而产生。（自由基的形成与脂质过氧化的关系，分为启动阶段、发展阶段、终止阶段）

③特性：抢夺其他自由基或非自由基的电子；自由基可以带正电荷，也可以带负电荷，也可以不带任何电荷而成中性

（2）活性氧：

①常见的自由基多为活性氧:‧O2**-** 超氧阴离子自由基、‧OH 羟基自由基 、‧NO 一氧化氮、‧LOO 脂质过氧化自由基、单线态氧

②活性氧对生物大分子的损害作用：

A对多不饱和脂肪酸（PUFA）的攻击

B对蛋白质分子的攻击

C对核酸和其他大分子的影响

（3）自由基对生物大分子的损害作用

（一）脂质过氧化损害：

①细胞器和细胞膜结构的改变和功能障碍。

②脂质过氧化物的分解产物具有细胞毒性，其中特别有害的是一些不饱和醛类。

③对DNA影响：一是脂质过氧化自由基（LOO·）和烷基自由基（L·）可引起DNA碱基，特别是鸟嘌呤碱基的氧化； 二是脂质过氧化物的分解产物，丙二醛可以共价结合方式导致DNA链断裂和交联。

④对低密度脂蛋白(LDL)的作用

（二）蛋白质的氧化损伤

①破坏脂肪族氨基酸的结构。在α-位置上将一个氢原子除去，形成C-中心自由基，再加氧其上，生成过氧基衍生物分解成NH3及α-酮酸，或生成NH3、CO2与醛类或羧酸。

②芳香氨基酸多出现羟基衍生物，可将苯环打开或在酪氨酸处交联成二聚体

③由过渡金属介导出现氧化损伤，主要通过Fenton反应。其损伤特点为部位特异性

④脂质过氧化的自由基中间产物，如烷氧自由基(LO·)和过氧自由基(LOO·)，可与过氧化脂质紧密联系的蛋白质反应。

氧化的后果是凝集与交联，或是蛋白质的降解与断裂，这主要取决于蛋白质成分的特征及自由基的种类。

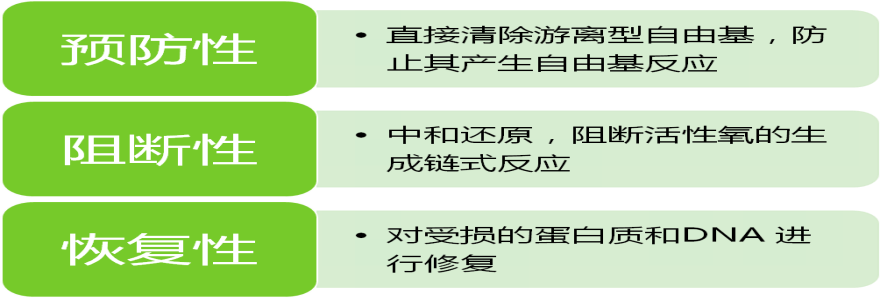
（三）核酸的氧化损伤

①碱基损伤：活性氧攻击DNA的靶位点是腺嘌呤与鸟嘌呤的C8，嘧啶的C5与C6双键，出现无嘌呤或无嘧啶部位

②DNA链断裂，造成部分碱基的缺失

（4）氧化损伤的防御系统





初级抗氧化系统和二级抗氧化系统组成人体抗氧化系统。

初级抗氧化系统分为酶类和非酶类抗氧化系统。

酶类抗氧化系统 ：主要由超氧化物歧化酶（SOD）、 过氧化氢酶（CAT）、 硒谷胱甘肽过氧化物酶（SeGPx）、不含硒谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽硫转移酶（GPx、GST）和醛酮还原酶（AR）等体内自生的抗氧化酶（简称抗氧化酶）组成，它们在体内组成抗氧化的第一道防线。

非酶类抗氧化系统：主要由以下各种非酶类抗氧化剂（以下简称抗氧化剂） 组成：

（1）脂溶性抗氧化剂，如维生素E 、类胡萝卜素（CAR）、辅酶（CoQ）等。（2）水溶性小分子抗氧化剂，如维生素C、谷胱甘肽（GSH）等。（3）蛋白性抗氧化剂，如铜蓝蛋白、清蛋白和清蛋白组合的胆红素、转铁蛋白和乳铁蛋白、金属硫蛋白等。（4）硒、铜、锌、锰等微量元素。（5）低分子量化合物，如尿酸盐等。（6）内源性褪黑激素（MT）。（7）植物化学物质，如植物纤维、植物多糖、植物甾醇、酚类化合物、有机硫化合物、萜类化合物、天然色素和部分中草药成分等。它们在体内筑成了第二道防线。

二级抗氧化系统等于抗氧化修复系统

抗氧化修复系统：这一系统主要对因氧化而受损的蛋白质和DNA 进行修复。蛋白质的修复分修复和降解2 种途径，但蛋白质的修复作用是有限的，主要靠特殊的蛋白质和水解酶对氧化修饰蛋白进行分解代谢。对于受损的DNA 的修复是比较理想的，主要修复方式有回复修复、切复修复和复制后重组修复。对氧化的脂质不能被修复，只能将其氧化产物代谢成无毒性产物。另外，该系统还包含机体的解毒系统、膜修复和再生系统。

人体抗氧化防御系统是一个有机整体，系统内部各子系统和不同层次系统之间是相互协作、相互依存、共同促进，发挥系统整体功能的。

★初级抗氧化防御系统内部酶类抗氧化系统功能的正常发挥更有赖于非酶类氧化系统的支撑和材料供应；充足的抗氧化剂是体内生成抗氧化酶的基础

★二级抗氧化防御系统功能的正常发挥则有赖于初级抗氧化防御系统的功能正常（同时也有赖于免疫系统的功能正常）

10、毒物与细胞大分子的共价结合：

①共价结合指毒物或其活性代谢产物与机体内重要的大分子物质（蛋白质、核酸、膜脂质）以共价键结合成稳定的复合物-加合物。

②共价结合的特点：改变了内源性分子的结构，从而损伤内源性大分子的功能。外源毒物可与蛋白质分子中氨基酸的氨基、羟基、巯基、胍基、咪唑基、吲哚基发生共价结合，从而影响蛋白质的结构和功能。

A白蛋白容易与终致癌物质结合形成共价加合物；

B血红蛋白氨基酸中的氨基、巯基和芳香胺基团易与外源化合物发生共价结合；

C与核酸共价结合：结合部位：碱基、核糖或脱氧核糖、磷酸均可，但以碱基损伤的毒理学意义最大。结合后果是基因突变导致个体细胞突变、组织癌变及其他一些细胞损伤（线粒体基因突变）

D与脂质共价结合：外源化学物或其活性代谢产物与脂质发生共价结合的部位主要有丝氨酸、胆碱及乙醇胺等，脂质的化学损伤使膜结构和功能改变

③应用：作为毒物内暴露的标志物，也有助于中毒的早期诊断和防治。血红蛋白共价结合物常作为外源毒物接触人群的生物监测；DNA加合物也是判断遗传毒性致癌物的生物标志之一（效应标志）

11、影响基因表达的遗传变异因素

①基因突变（错义突变）-碱基改变

②基因缺失/倍增

③染色体结构及数目变异

12、表观遗传学：

（一）概念：

指基因的DNA序列不发生改变的情况下，由于基因的修饰如DNA甲基化、组蛋白乙酰化等导致基因的表达水平与功能发生改变，并产生可遗传表型的遗传学分支学科。

（二）特点：

①可遗传的，即这类改变通过有丝分裂或减数分裂，能在细胞或个体世代间遗传；

②可逆性的基因表达调节，也有较少的学者描述为基因活性或功能的改变；

③没有DNA序列的改变或不能用DNA序列变化来解释。

（三）研究内容：

基因选择性转录表达的调控

DNA甲基化

组蛋白修饰

染色质重塑

基因印记等

基因转录后的调控

RNA干扰（RNAi）

基因组中非编码RNA

微小RNA（miRNA）

核糖开关等

①DNA甲基化：

主要是基因组 DNA上的胞嘧啶第5位碳原子和甲基间的共价结合，胞嘧啶由此被修饰为5-甲基胞嘧啶，DNA甲基化发生的主要区域- CpG岛

DNA甲基化抑制基因转录机制：

全基因组低甲基化，维持甲基化模式酶的调节失控和正常非甲基化 CpG岛的高甲基化是人类肿瘤中普遍存在的现象；启动子区的高甲基化导致抑癌基因失活是人类肿瘤所具有的共同特征之一。

②组蛋白修饰：

组蛋白是存在于染色体内上与DNA结合的碱性蛋白质，赖氨酸和精氨酸含量丰富；

A:染色质中的组蛋白与DNA的含量之比为1:1；

B:几乎所有真核细胞染色体的组蛋白均可分成5种主要的组分：H1，H2A，H2B，H3，H4；核小体组成的核心蛋白；

C:是脱氧核糖核酸（DNA）折叠时所依赖的线轴；

D:组蛋白的基因非常保守，亲缘关系较远的种属中，四种组蛋白（除H1外）氨基酸序列都非常相似；

组蛋白中被修饰氨基酸的种类、位置和修饰类型被称为组蛋白密码;

★被组蛋白覆盖的基因如果要表达，首先要改变组蛋白的修饰状态，使其与DNA的结合由紧变松，这样靶基因才能与转录复合物相互作用。因此，组蛋白是重要的染色体结构维持单元和基因表达的负控制因子。

组蛋白修饰种类:

甲基化：发生在H3、H4的 Lys 和 Arg残基上

乙酰化：大多发生在H3、H4的 Lys 残基上，一般与活化的染色质构型、活化状态相关联

磷酸化：发生于 Ser （丝氨酸）残基，一般与基因活化相关。

泛素化：一般是C端Lys（色氨酸）修饰，启动基因表达。

③染色质重塑：组成核小体的组蛋白可以被多种化学加合物所修饰，如磷酸化、乙酰化和甲基化等，组蛋白的这类结构修饰可使染色质的构型发生改变，称为染色质重塑。

④RNA干扰：是指一种分子生物学上由双链RNA诱发的基因沉默现象，其机制是通过阻碍特定基因的翻译或转录来抑制基因表达。当细胞中导入与内源性mRNA编码区同源的双链RNA时，该mRNA发生降解而导致基因表达沉默。

（四）表观遗传学研究意义

①在多细胞真核生物的生长、发育中非常重要；

②表观遗传在生物学、医学上有巨大潜在应用；

③表观遗传的改变可影响进化，长期或短暂更好适应当前环境；、

（五）表观遗传研究的应用

表观遗传与肿瘤

①DNA甲基化整体与局部的悖论

②肿瘤的抗甲基化治疗

# 第六章 影响食品中外源化合物毒性作用的因素（可能考简答）

14、高敏感性：是指对一般人不引起毒作用的剂量，对某些人却发生极为严重的毒性反应 。

15、耐受性：是指机体反复接触某一化学物或结构类似物，诱导解毒酶活性升高或抑制活化酶，从而到达靶部位的化学物或其活性代谢物量减少，即长期接触某一化学物的个体（群体）对其毒作用的敏感性逐渐降低的现象。

16、影响外源化学物毒性作用的因素

**化学物因素**：化学结构、理化特性、不纯物含量、化学物的稳定性对毒物的生物学活性影响

化学物进入机体的途径、吸收速度、毒性大小等

接触化合物吸收速度和毒性大小的顺序是：静脉注射最快，呼吸道吸入次之，其次为腹腔注射、肌肉注射、皮下注射、口服和直肠灌注与皮肤吸收

**机体因素**：毒物种间遗传的差异；个体遗传学的差异；机体的其他因素物；机体的健康状况、免疫状态、年龄、性别、营养状况、生活方式等因素对于毒作用的敏感性可以产生不同程度的影响。

**环境因素**：温度、气压、气湿、噪声、震动及紫外线

**化学物的联合作用**：

同时或先后接触两种或两种以上外源化学物对机体产生的综合毒性效应（交互作用）被称为联合作用。

类型：

①协同作用：化学物对机体所产生的总毒性效应大于各个化学物单独对机体的毒性效应总和，即毒性增强，称为协同作用，如马拉硫磷与苯硫磷联合染毒；四氯化碳与乙醇对肝脏

②拮抗作用：化学物对机体所产生的联合毒性效应低于各个化学物单独毒性效应的总和，即为拮抗作用，如治疗有机磷农药中毒的阿托品，就是有机磷化合物毒性的拮抗剂

③相加作用：相加作用是一个非交互的过程。这种联合作用中每个化合物都按照他们的相对毒性和剂量比例对总毒性作贡献。

④独立作用：两种或以上化学物由于对机体的作用的部位不同、靶器官不同、受体不同、酶不同等

# 第八章 一般毒性作用及其试验与评价方法

17、一般毒性作用：外来化学物在一定剂量 、一定接触时间和接触方式下对受试对象产生的综合毒效应称为一般毒性作用。

根据接触毒物的时间长短分类：急性毒性、亚慢性毒性和慢性毒性。相应进行的实验可分为急性毒性实验、亚慢性实验和慢性毒性实验。

18、急性毒性（毒性大小和特征）概念

是指机体（实验动物或人） 一次或 或24h 内多次经口给予实验动物受试物后，动物在短期内（24 h- - 14d）出现的 毒性效应 ，通常用 LD 50 来表示，包括

一般中毒体征和死亡。

19、半数致死量（LD 50 ）：

经口一次或24h内多次给予受试物后，能够引起动物死亡率为50%的受试物剂量，该剂量为经过统计得出的计算值。其单位是每千克体重所摄入受试物质的毫克数或克数，即mg/kg体重或g/kg体重

20、急性毒性试验的目的：

①可提供在短期内经口接触受试物所产生的健康危害信息；

②确定化学物的LD50、作为急性毒性分级的依据；

③为进一步毒性试验提供剂量选择和观察指标的依据;

④初步评估靶器官和可能的毒作用机制

21、急性毒性试验的设计

①实验动物的选择和要求

②动物检疫与环境要求

③各组动物数及实验动物分组

④受试物及处理

⑤染毒剂量的确定

⑥实验动物的染毒方法

⑦毒性观察周期

⑧毒性评价和分级

（一）实验动物的选择

1）、品种和品系选择基本要求：

①动物对化学物的毒性反应与人近似；

②操作方便、易于饲养管理、易于获得且价格较低；

③应选用纯品系的初成年动物；

④至少选用两种哺乳动物作为实验动物，一种为啮齿类，另一种为非啮齿类。

啮齿类：大鼠、小鼠、兔子；

非啮齿类：猫、狗、猪、猴

2）、实验动物的性别、年龄和体重

①性别：通常雌雄各半；

②性别差异：应单独分别试验并求出雌性和雄性动物各自的LD50值（致畸或精子实验）

③通常要求刚成年的动物，且为健康未受孕

（二）动物检疫与环境要求

①检疫期：鼠、兔为1周，犬、猴等为2-3周；

②温度：22±3℃；湿度：30%~70%；

③笼养数（单笼）适宜；常规饲料、自由饮水。

（三）实验动物分组与数量

①不同的LD50计算方法对动物组数的要求有所不同，一般为5~7组；

②每组动物数：大小鼠等小动物≥10只，家兔≥ 8只，犬等大动物≥6只；

③每组动物一般雌雄各半；

④采用随机方法将动物分配于各组。

（四）受试物及处理

①总量一次备齐，同一批号为宜；

②溶解或悬浮于适宜的介质（不能有明显毒性）中，水和油作为介质；

③受试物的接收、分样、保管、称量、配制以及在此过程中严格的质量保证是急性毒性试验成功与否的重要环节

（五）染毒剂量设计

1、查阅文献：找出与受试物化学结构与理化性质近似化合物的毒性资料，并以近似物的LD50(LC50)值作为该受试物的参考毒性中值。

2、预实验：多采用0.1、1.0、10.0[g/(kgbw)]或简单一个剂量215[mg/(kgbw)]

3、正式试验：以LD50为中值，取倍差，设3－4个梯度，找出大致的100%死亡和0%死亡的范围。

★对未知毒性的化学物，一般来说，化学物LD50如大于5 g/kg已表明毒性不大。以最大容积最高浓度给予动物后未见死亡，方可不进一步试验求出LD50

（六）染毒方法

最常用的染毒途径为经口、经呼吸道、经皮及注射途径

1）经口常用：

①经口(胃肠道) 具体的染毒方式有：灌胃、喂饲和吞咽胶囊等方法

优点：剂量准确

缺点：工作量大；可能损伤食道或误入气管；与人的接触方式差异很大

②喂饲：将化合物拌入饲料和水中，需计算每日进食量和饮水量，折算摄入剂量。

优点：符合人接触化合物的方式

缺点：可能拒食；挥发性化合物可使摄入量下降，且有经过呼吸道吸入的可能；化合物易水解或与食物中的化学成分起反应。

③吞咽胶囊：将一定剂量受试化合物装入药用胶囊内，强制放到动物的后咽部迫使动物咽下。家兔及猫、狗等大动物可用此法。

2）经呼吸道染毒

以气体、蒸气、粉尘、烟、雾等形式存在于车间空气中的化学毒物和评价环境空气污染物时，常采用经呼吸道染毒的途径。呼吸道染毒方式分为两种：静式吸入和动式吸入

静式吸入：优点：设备简单；操作方便；消耗化合物少

缺点：柜内空气组成、环境条件不稳定；化合物浓度难以恒定

动式吸入：优点：剂量准确

缺点：装置复杂；消耗大；可能造成污染

3）经皮肤染毒

液态、气态甚至粉尘状态的化学毒物均可能通过皮肤接触而吸收，尤以职业接触为多见

动物：家兔和豚鼠，大鼠。

局部作用实验：皮肤斑帖法或兔耳法。

4）经注射途径染毒：采用注射途径进行外来化合物的急性毒性试验，主要用于比较毒性研究，以及化合物的代谢、毒物动力学和急救药物筛选等研究。

注射途径可分为静脉注射或滴注、腹腔注射(ip)、肌内注射(im)、皮下注射(sc)、皮内注射(id)、椎管内注射等。静脉注射方式包括大鼠和小鼠尾静脉、兔耳静脉

吸收速率依次排列，一般是静脉注射＞吸入＞肌内注射＞腹腔注射＞皮下注射＞经口＞皮内注射＞经皮；

（七）毒性作用观察

①死亡情况和时间分布：LD50

②中毒体征：发生、过程、规律

③体重：毒性持续时间

④病理形态学变化：大小、外观、病理变化（大体解剖，观察脏器）

⑤急性毒性试验观察周期一般为14天

（八）急性毒性分级和评价

**毒性大小于LD50值成反比，LD50越小，毒性越大，反之，毒性越小。**

食品：极毒、剧毒、中等毒、低等毒、实际无毒

极毒 < 1大鼠经口LD50/（mg · kg-1） 0.05 g/人

实际无毒 >5 000 500

如：烟碱：剧毒

22、蓄积毒性作用（在体内的蓄积和耐受特性）

1）概念：

当受试物连续地、反复地进入机体，而且吸收速度或总量超过代谢转化排出的速度或总量时，化学物质就有可能在体内逐渐增加并储留，这种现象称为化学物质的蓄积毒性作用。

物质蓄积：指机体反复多次接触外源化学物一定时间后，可以用分析方法检测出体内该物质的原型或其代谢产物

功能蓄积：指机体反复多次接触化学外源化学物一定时间后，用最先进和最灵敏的分析方法也不能检测出这种化学物在体内存在形式，但出现了慢性毒性现象。

2）与蓄积毒性作用有关的因素

①与接触剂量大小和时间间隔有关

②与毒物本身的性质有关：脂溶性物质；水溶性物质；贮存库：如血浆蛋白、脂肪组织、肝脏、肾脏、骨骼等是某些毒物的常见贮存库。

③与动物种属的代谢特点有关

3）蓄积作用的研究方法

蓄积毒性作用的研究方法有蓄积系数法和生物半减期法。

蓄积系数K=ED50（n）/ED50 （1）或LD50 （n）/LD50 （1）

n ——多次接触受试物时产生预期效应的染毒剂量之总和；

1 ——一次接触受试物产生相同效应的剂量；

K<1,高度蓄积，K值越小，表示化学毒物的蓄积性越大

一般来说，在试验第21天也可结束试验，因为这之前如果动物没有死亡或死亡数不足一半，说明其累积量已达5.26 LD50，即K＞5。

蓄积系数法类型：

固定剂量法：

①两组实验动物：对照组和染毒组，每组至少20只，雌雄各半；

②测定LD50；

③试验组每日定时、“定量”对动物染毒（剂量：在1/20～1/5 LD50选择）；

④出现半数死亡或染毒剂量累计达到5 LD50时，终止试验；

⑤计算K 值，并进行评价。

定期递增剂量法：测定LD50、染毒：分五个时间段，剂量依次为1/10LD50、1.5/10LD50……出现半数死亡或20天后（最长28天）终止试验；计算K 值，进行评价

20d试验法：分组染毒，每组动物10只，雌雄各半，每日染毒一次，连续染毒20天。

分组染毒：

**①Ⅰ**组，剂量：**1/20 LD50**

**Ⅱ**组，剂量：**1/10 LD50**

**Ⅲ**组，剂量：**1/5 LD50**

**Ⅳ**组剂量：**1/2 LD50**

对照组

**②Ⅰ**组，剂量：**1 LD50**

**Ⅱ**组，剂量：**2 LD50**

**Ⅲ**组，剂量：**4LD50**

**Ⅳ**组，剂量：**10 LD50**

对照组

4）标准评定：

①各剂量组均无死亡，即为蓄积性不明显；

②如仅1/2 LD50组有死亡，其他组均无死亡，则为弱蓄积性。

③1/20LD50组无死亡，其它各组死亡数呈剂量-反应关系时，则为中等蓄积；

④1/20 LD50组有死亡，且各组呈剂量-反应关系，则为强蓄积性

**23、亚慢性毒性作用（90天经口毒性作用）（毒作用的靶点和敏感指标）**

1）概念：

是指实验动物或人连续较长时间接触较大剂量的外来化学物所产生的中毒效应。

试验染毒期限应为1～6个月，或一般不超过实验动物生命期10%。

2）试验目的

①初步估计不出现毒性作用的最大耐受剂量和出现毒性的最小有作用剂量；

②进一步探索受试物的毒性效应谱、毒作用特点和靶器官；

③观察受试物亚慢性作用的可逆性；

④为慢性毒性试验的剂量设计和观察指标提供依据；

⑤为受试物的毒理机制和外推到人提供依据。

3）亚慢性毒性试验设计

（一）实验动物的选择：

两种实验动物：啮齿类，非啮齿类；

性别：一般每组雌雄各半；

年龄：刚断乳不久的动物，大鼠6～8周龄（体重80～100g）

动物数：较急性毒性试验多；

阴性对照：必须设置，以排除其他因素和自然死亡的干扰；

（二）微生物学寄生虫学等级和饲养环境

实验动物分四级：普通级、清洁级、无特定病原体级（SPF级）、无菌级。

犬和猴分为普通级和SPF两级。

亚慢性毒性试验，应使用清洁级及以上等级大小鼠，并饲养在屏障环境内进行试验

（三）染毒方式

一般以经口、经呼吸道和经皮染毒为多；

染毒频率通常每日一次，连续给予，如试验期为3个月或超过3个月时，也可每周6次

（四）染毒途径

（1）经口染毒：灌胃法、喂饲法、胶囊法。

（2）经呼吸道染毒：静式吸入和动式吸入。

（3）注射：静脉注射或滴注、腹腔注射(ip)、肌内注射(im)、皮下注射(sc)、皮内注射(id)、椎管内注射；

（4）在进行亚慢性毒性试验时，最好结合进行毒代动力学血药浓度的监测。

（五）剂量选择和分组

实验原则：尽量控制在受试动物在整个试验期既不发生死亡，又有明显毒性反应。

1）高剂量组剂量设计的依据：

①以急性毒性受试物LD50的5%～15%作为最高剂量；

②或以28天经口毒性试验的NOAEL或LOAEL作为90天经口毒性试验的最高剂量组

2）分组：

一般至少应设3个剂量组和1个阴性（溶剂）对照组。

低剂量组：不宜出现任何观察到毒性效应（NOAEL），且高于人的实际接触水平；

中剂量组: 介于高低剂量组间，可出现轻度的毒性效应，以得出NOAEL或LOAEL。

高剂量组：LD50的5%-15%，原则上应使部分动物出现比较明显的毒性反应，但不引起死亡。

阴性对照组:

组距：2~4倍，最低不小于2倍

（六）中毒观察指标

①一般临床指标（中毒体征、程度和持续时间及死亡情况）

②体重、摄食及饮水消耗量

包括每日采食量、体重变化（定期称量）等。

食物利用率：记录每日饲料消耗量，计算食物利用率（每摄入100 g饲料所增长的体重克数）。

体重减少是影响了食欲、消化和吸收

③血液生化指标

血液学检查：血细胞、白细胞和血小板数量；血液生化检查

尿液检查: 包括外观、pH值、蛋白、糖、潜血和沉淀物镜检等

系统剖检和组织病理学检查：

A系统解剖：包括肉眼观察

B大体解剖：脏器重量和脏器系数

C组织病理学检查

（七）亚慢性毒作用评价

NOAEL：

≤100倍，放弃使用；

100~300倍，进行慢性试验；

≥300倍，可考虑用于食品。

**24、慢性毒性试验设计（确定阈剂量和阈下剂量）**

（一）慢性毒性的概念

是指实验动物或人长期（甚至终生）反复接触外源化学物所产生的毒性效应；所谓“长期”，一般是指2年；对大鼠相当于终生染毒

（二）慢性毒性试验的目的

①研究慢性毒性剂量-反应（效应）关系，确定长期接触造成有害作用的最低剂量（LOAEL)或阈剂量和未造成有害作用的剂量（NOAEL)；

②为制定外来化学物质在食品中的安全限量，以及为危险度评价与管理提供毒理学依据；

③观察长期接触受试物毒性作用的可逆性；

④观察慢性毒性效应谱、毒作用特点和靶器官；

⑤确定健康指导值外推到人提供依据

（三）慢性毒性试验方法要点

1）实验动物的选择

实际工作中大多用大鼠、犬和猴。

年龄：刚断乳的动物

小白鼠：3周龄，大白鼠：6~8周龄，犬：4~6周龄；

动物数量：明显多于亚慢性试验，每组大鼠40～60只，犬8～12只，雌雄各半。

试验结束时，每一性别啮齿类动物数不少于10只，非啮齿类不少于4只。

2）染毒途径和时限

染毒途径：一般采用经口染毒(饲喂法);

染毒时限：要求1年以上或2年。

3）剂量分组

至少3个剂量组及1个相应的对照组：

高剂量组有轻微或较明显毒性反应，个别动物可能死亡；

中剂量组应为可能产生较轻微的毒性效应；

低剂量组不应引起任何毒性反应（NOAEL）。

4）剂量设计

一般认为以亚慢性毒性试验的阈剂量来确定:

高剂量组为1/5～1/2阈剂量；

中剂量组为1/50～1/10阈剂量；

低剂量组为1/100阈剂量。

5）观察指标

一般性指标、实验室检查、病理学检查及其它特异性指标的检查四方面，重点观察在亚慢性毒性试验中已经显现的阳性指标

6）慢性毒作用评价

若存在致癌性，放弃使用；

无致癌性：判断NOAEL：

≤50倍，放弃使用；

50~100倍，专家评议；

≥100倍，食品安全标准

7）慢性毒性试验的注意事项

①实验动物环境的要求实验动物的饲养和试验环境规范化十分重要；

②检测条件的控制：长期稳定可比；

③重视试验前和对照组的检测，动态地、密切地观察检测试验全过程各项指标的变化（生物学标志）。

# 第九章 食品中外源化学物的生殖毒性

1、生殖毒性是指外来化学物对**雄性和雌性生殖功能或能力以及后代**产生的不良效应。生殖毒性既可发生于生殖细胞、受精卵、胚胎形成期、妊娠期，也可发生于妊娠前期、分娩和哺乳期。

2、常见的雄性生殖毒物

①棉酚：作用部位：睾丸（精子、精细胞、精母细胞）；

最终表现：精子减少、不育。

②二硫化碳（CS2）

作用部位：睾丸（萎缩、精细胞的致突变和染色体畸变）；

主要表现：精子生产障碍，精母细胞染色体异常。

③重金属（铅、镉、汞、锰等）

血液：睾酮、GnRH、FSH和LH降低；

主要表现：精子畸形、数量减少。

④农药

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | 对硫磷 |  | 致畸，精子数减少 |  |
|  | **DDT** |  | 精子数减少，致畸 |  |
|  | 六六六 |  | 睾丸萎缩、精原细胞变性 |  |
|  | 二溴氯丙烷 |  | 睾丸萎缩变性 |  |

3、雄性生殖毒性的检测方法

（一）精子生成分析

1） 精子计数

优点：直接；

缺点：不能确定毒性作用发生在精子哪个周期

2）精子形态观察

优点：易操作；

缺点：不够灵敏。

3）精子状态分析

内容：精子pH、液化时间、精子运动能力、蛋白含量等；了解微环境及精子运动是否与外源化学物有关。

（二）精子穿透试验

检测精子在体外能否成功穿透去透明带的金黄地鼠卵子而受精的试验

（三）睾丸中标志酶活性的测定

指标：乳酸脱氢酶x、山梨醇脱氢酶、6-磷酸葡萄糖脱氢酶；

意义：是外源化学物对睾丸损伤的早期指标。

（四）体外试验

测定内容：

①支持细胞中乳酸含量和乳酸脱氢酶活性的变化；

②间质细胞分泌的雄激素含量；

③支持细胞和间质细胞的数目和形态学变化

（五）**雄性激素**检测

指标：FSH、LH、雄激素（睾酮）含量。

（六）显性致死试验

方法：给予雄性动物某种受试物，然后将其与未经染毒的雌性动物交配，观察胚胎早期死亡情况，以评价受试物是否对雄性动物的生殖功能有损伤的试验

（七）雄性生殖细胞的遗传毒性试验（DNA受损实验）

单细胞凝胶电泳试验（彗星试验）

（八）病理学检查

1）大体检查：睾丸、附睾、前列腺及精囊的重量和形态；

2）病理组织学检查：某种意义上而言，从解剖、病理学观察等形态学角度评价外来外源化学物对雄性生殖系统的毒性作用。

4、雌性生殖毒性

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | 化学物质 |  | 生殖毒性 |
|  | **镉** |  | **卵母细胞DNA合成聚合酶** |
|  | **二硫化碳** |  | **卵母细胞染色体畸变** |
|  | **多氯联苯** |  | **胚的着床率** |
|  | **环磷酰胺（抗癌药）** |  | **染色体畸变** |
|  | **胺草灵（农药）** |  | **染色体畸变** |
|  | **克菌灵** |  | **染色体畸变** |

5、雌性生殖毒性的检测方法分为动物试验、体外试验、其他辅助试验

动物试验分为：一代或多代繁殖试验和致畸试验及三段生殖试验

三段生殖试验分为：妊娠前期及初期、器官形成期、围产期及母乳期

**整体动物实验仍为主要评价方法。**

6、致畸试验

1)胚胎毒性作用：外源化学物对母体子宫内发育的胚胎或胎儿产生的毒性作用。

2)胚胎毒性的表现：

①胚胎死亡；

②生长发育迟缓；

③胎儿先天缺陷和畸形；

④功能发育不全。

**7、动物致畸试验设计**

1） 动物选择

遵循动物选择的一般原则；妊娠期短而且一致；产仔数多；胎盘结构与人类接近；自发畸形率低;选用啮齿类和非啮齿类两种实验动物

2）动物交配处理

将雌雄动物同笼交配（雌雄比例1:1或2:1），然后将怀孕的母体按随机分配原则分组。

3）剂量分组

高剂量组（LD50的1/5或1/3，母体轻度中毒）；中间剂量组（与高低剂量成等比关系，允许母体较轻中毒）；低剂量组（LD50的1/30-1/50，母体无中毒症状）；阳性对照（维生素A、乙酰水杨酸、敌枯双、五氯酚钠）；阴性对照（溶剂对照）

4）动物染毒

雌鼠妊娠的第7~15天染毒，常用灌胃方式。

5）动物剖解

应在预期分娩前1~2天处死母鼠，暴露子宫和卵巢，进行胎仔检查。

6） 胎仔检查

外观畸形、内脏畸形、骨骼畸形

7）致畸结果分析

致畸指数=母体LD50/最小致畸量

评价：致畸指数<10, 为不致畸；

致畸指数10～100，为致畸物；

致畸指数>100, 为强致畸物。

**8、繁殖试验**

概念：繁殖试验又称多代繁殖试验，是评价受试物对亲代生殖和后代的发育与生殖影响一系列环节。

试验依据：生殖细胞、孕体以及幼年动物对化学毒物往往比较敏感。

目的：多代繁殖试验用于检测那些人类长期或多世代与之接触的化学毒物，包括可能在体内累积的，例如农药、有毒重金属和饮水污染物，获得更大的安全系数。

9、繁殖试验设计：

1）实验动物

动物：断奶大鼠；

数量：每组20只雌鼠和10只雄鼠；

2）染毒剂量

高剂量：90天或慢性毒性试验的最大无作用剂量；

中剂量：

低剂量：1/30最大无作用剂量或人可能摄入剂量100倍；

对照组:阴性对照

一代繁殖实验仅能观察外源化学物对生殖过程的影响，而二、三等多代繁殖试验可以弥补一代繁殖试验中未能观察生殖毒性在子代变现的不足。

3）观察指标

正常分娩率（%）=正常分娩的雌鼠数/妊娠的雌鼠数×100%

哺乳存活率（%）=21d断奶时的仔鼠存活数/胎仔总数×100%

# 第十章化学毒物的致突变作用

1、遗传：是生物保持其种族特性的根本；

2、变异：是生物物种推陈出新的来源。

3、突变：遗传物质发生的可改变生殖细胞或体细胞

中的遗传信息，并产生新的表型效应的改变。

4、突变类型：自发突变和诱发突变。

5、致突变作用：外源化学物及其他环境因素引起核内遗传物质发生变化，并且这种改变随细胞分裂过程而传递的过程。

6、化学毒物的致突变类型：基因突变、染色体畸变、染色体数目改变

一、基因突变

基因突变：组成一个染色体的一个或几个基因中 DNA序列发生的变化，又称点突变。

突变类型：碱基置换、移码和大段损伤。

1. 碱基置换

碱基置换：某一碱基配对性能改变或脱落所致的突变。

突变类型：

转换（一个嘌呤取代另一个嘌呤，或一个嘧啶取代另一个嘧啶）

颠换（一个嘧啶取代一个嘌呤）。

突变的后果：同义密码、错义密码或终止密码

（在蛋白质合成过程中的错义密码和终止密码越多，对生物损害产生的后果越严重）

1. 移码

DNA中增加或减少了一对或不等于3的倍数的几个碱基对所造成的突变。

1. 大段损伤

大段损伤：DNA链大段缺失或插入，这种损伤有时可跨越两个甚至数个基因。

二、染色体结构畸变

突变原因：染色体或染色单体断裂，当断端不发生重接或错误重接。

检查方法：光镜检查相应细胞有丝分裂中期的染色体。

染色体结构异常类型：断裂、倒位、缺失、重复、易位等。

三、染色体数目异常

染色体数目的改变也称基因组突变，以动物正常染色 体数目2n为标准，则染色体数目的改变可分为整倍体改变和非整倍体改变。

整倍性畸变：以染色体组为单位的增减（例如三倍体和多倍体）；

非整倍体畸变：指丢失或增加一条或几条染色体（例如单体或三体）。

1. **常用的致突变试验（重要）**
2. 细菌回复突变试验（又称Ames试验）

Ames名词解释：细菌回复突变试验是以营养缺陷型的突变体菌株为对象，观察受试物能否引起其发生回复突变的方法。

常用菌株: 组氨酸营养缺陷型鼠伤寒沙门氏菌和色氨酸营养缺陷型大肠杆菌。

正向突变：改变野生型性状的突变。

回复突变：突变体经过第二次突变又完全 地或部分地恢复为原来的基因型和表型。

组氨酸缺陷型菌株具有独特的回复突变“靶点”顺序，可以有不同类型的碱基置换和移码诱变剂诱发回复突变。 无外源组氨酸培养基中无法存活

回变菌落数等于或大于未处理对照组的2倍，并有剂量-反应或某一 测试点有可重复的阳性结果，可判定所测物质为阳性结果。

1. 哺乳动物细胞基因突变实验

原理：哺乳动物基因突变试验主要采用啮齿类动物或 人的培养细胞进行正向突变试验。

受试物在一个以上剂量组的总突变频率显著高于阴性对照组并有剂 量趋势，则可判断为阳性。

在相对存活率低于20%的情况下未见突变频率的增加，可判定判断 为阴性。

1. 微核试验

**微核**是染色体的断片或者整条染色体在细胞分裂过程中未正常程序进入细胞核而滞留在细胞质中的染色质小体。

微核试验用于检测染色体断裂剂及非整倍体诱变剂

小鼠骨髓多染红细胞微核试验原理：

当成红细胞发展为红细胞时，主核排出，成为多染红细胞，然后成为正染红细胞进入外周血中。

在主核排出时，微核可留在胞浆中，并维持一定时间。观察并计数多染红细胞中的微核，可反映染色体断裂剂和纺锤体的损伤情况。

受试物组和对照组比较，受试物组的微核率明显升高并有明显的剂量-反应关系，结果可判断为阳性。

1. 染色体畸变试验

染色体畸变试验可进行体内试验，也可进行体外试验；可进行体细胞的分析，也可进行生殖细胞的分析。

1. 程序外DNA合成试验

原理：正常细胞一般仅在间期的S期进行DNA的 复制合成，称为“程序性DNA合成”。

当DNA受损后，DNA的修复合成可发生在S期以外的其他时期，称为“程序外DNA合成”。

1. 果蝇伴性隐性致死试验

原理：利用果蝇的眼色性状是由X染色体上的基因决定，并与X染色体的遗传相关联的特征来观察X染色体上基因的突变情况。

主要用于雄性生殖细胞遗传损伤的分析

7、化学毒物致突变作用的机理及后果

一、以DNA为靶的损伤机理

1. DNA加合物及交联分子的形成

许多化学诱变剂或其活性产物是亲电子剂，极易与核酸或蛋白质等大分子的亲核位点发生共价结合，形成加合物或交联分子。

1. 碱基类似物的替代

原理：一些碱基类似物可在DNA复制时掺入并与互补链上的碱基配对，这些类似物掺入后常常发生酮式和烯醇式的互变异构，在复制子代DNA时引起配对性质的改变，从而造成碱基替代突变。

1. 嵌入剂的诱变作用

一些平面分子能以静电吸附形式嵌入DNA单链碱基之间或DNA双螺旋结构的相邻核苷酸之间，称为嵌入剂。

1. 碱基的损伤

一些诱变剂可以通过修饰碱基的化学结构，改变其配对性质而引发突变。

二、不以DNA为靶的损伤机理

对DNA合成或修复酶系统的作用

三、突变（遗传毒性作用）的后果

体细胞突变：不影响下一代（不影响下一代（不遗传），产生肿瘤、畸形、动脉粥样硬化、糖尿病、衰老等后果。）

生殖细胞突变：

基因突变（遗传易感性改变、遗传性疾病、致死性突变）

染色体畸变（染色体病、死胎、自发流产等）

# 第十一章食品中的外源化学物的致癌作用

名词解释

1.

**癌：在毒理学中，“癌”的含义应包括上皮的恶性变（癌），间质的恶性变（肉瘤）及良性肿瘤**。

1. **化学致癌：是指化学物质引起正常细胞发生恶性转化并发展成肿瘤的过程。**

**3.化学致癌物： 具有这种致癌作用的化学物质。**

**4.DNA靶子：这种类型的致癌物都可与DNA直接作用，产生碱基损伤、链断裂、链交联等不同形式的损伤，而且这些损伤与肿瘤的发生直接相关。**

**5.非DNA靶子：并不直接作用于DNA，作用于纺锤丝系统，另外一个是作用于DNA修复或基因表达调控有关的酶系统。**

**6.遗传毒性致癌物（多数）指进入细胞后与DNA共价结合，引起机体遗传物质改变，导致癌变的化学物质。**

**7.非遗传毒性致癌物 指不直接作用于机体遗传物的化学致癌物。**

**8.直接致癌物：不需体内活化代谢，其原型就可以与遗传物质作用而诱发细胞癌变。例如，烷基和芳香基环氧化物、内酯、硫酸酯、亚硝酰胺等。**

**9.间接致癌物：进入机体需代谢活化生成亲电子的活性产物，然后作用于细胞大分子发挥致癌作用。例如，多环芳烃、芳香胺类、偶氮化合物、黄曲霉毒素B1等，包括95%以上的化学致癌物。**

**10.无机致癌物：有些可能是亲电子剂，有些是通过选择性改变DNA复制保真性，导致DNA的改变。放射性元素（铀、镭、氡）和重金属（镍、钛、镉和二氧化硅）。**

**11.癌基因:能引起细胞恶性转化及癌变的基因，通常以原癌基因形式存在正常动物细胞的基因组中**

**12.原癌基因;在正常细胞中的表达并不引起恶性病变，必须经过激活（突变、重组或甲基化等）才能导致细胞的恶性转化。**

**13.肿瘤抑制基因:即抗癌基因，可能是编码抑制生殖、促进分化的基因，也可能是某些基因的负控制调节基因，并是维持基因组定性的某些基因（如P53基因）。**

**14.引发阶段：化学致癌的第一阶段，是致癌物或其活性产物作用于DNA，诱发体细胞突变的过程。**

**15引发剂：具有引发作用的化学物。**

**16.**促长阶段:引发细胞在促长剂的作用下增殖成为癌前病变或良性肿瘤的过程。  
促长剂:具有促进作用的化学物。  
进展阶段:是从促长阶段的癌前病变或良性肿瘤转变成恶性肿瘤的过程。  
进展剂:为使细胞由促长阶段进入进展阶段的化学物。​  
简答题:​  
1、化学致癌物质的分类:  
（一）​根据致癌作用机制分类  
1）.遗传毒性致癌物（多数）：

指进入细胞后与DNA共价结合，引起机体遗传物质改变，导致癌变的化学物质。​  
2）.非遗传毒性致癌物：

指不直接作用于机体遗传物的化学致癌物。

非遗传毒性致癌物

① 促长剂：佛波酯

② 激素调控剂：雌二醇

③ 免疫抑制剂：嘌呤同型物

④ 细胞毒剂：氯仿

⑤ 过氧化物酶体增殖剂：三氯乙烯

（二）​根据致癌证据权重的分类

1）.致癌性证据充分 2）.致癌性证据有限3）. 致癌性证据不足 4）.致癌性证据缺乏​

**2、**癌症物质分级

一级 ：对人体有明确致癌性的物质或混合物

如酒精饮料、槟榔、中国式咸鱼、加工肉制品、黄曲霉毒素、烟草、苯并

芘等。

二级A 对人类很可能的致癌性的物质或混合物

如丙烯酰胺、红肉等

二级B ：对人类可能的致癌性的物质或混合物

如蕨类植物、腌制蔬菜等。

三级 ：对人类致癌性尚未归类的物质或混合物

四级 ：对人类可能没有致癌性的物质

**3、肿瘤的发生过程是正常细胞经过一个长期的、多阶段、多基因改变累积的过程，具有多基因控制和多因素调节的复杂性。**

**4、化学致癌的癌基因学说**

 **调控细胞增殖和分化的基因发生异常，可导致细胞持续增殖，不能及时分化和凋亡，形 成肿瘤。与细胞恶性转化有关的基因主要有癌基因和肿瘤抑制基因**

**5、引发剂特征：**

 **遗传改变的不可逆性；**

 **启动细胞的表型可能正常，不具有自主生长性；**

 **本身有致癌性，大多数是致突变物；**

 **作用的靶子主要是前癌基因和肿瘤抑制基因；**

 **比如：多环芳烃**

**6、促长剂特征：**

 **不具致癌性，必须在引发剂后使用才发挥促长作用；历时较长；**

 **有阈剂量，早期有可逆性，较易受干扰；**

 **例如:佛波醇酯、酚类化合物和苯巴比妥**

**7、化学致癌的多阶段学说：**

**进展阶段：是从促长阶段的癌前病变或良性肿瘤转变成恶性肿瘤的过程。**

**在此阶段肿瘤获得恶性化的特征，如生长加快、侵袭、转移、抗药性等，细胞表现出不可逆的遗传学改变。**

**进展剂 (progressor)：为使细胞由促长阶段进入进展阶段的化学物。**

**进展剂可引起染色体畸变，但不一定具有引发活性。引发、促长及进展都可自发发生。**

**有些化学致癌物可同时具有引发、促长及进展的作用，称为完全致癌物（如：多环芳烃）。8、化学致癌作用的评价方法**

9、一、短期试验

二、哺乳动物长期致癌试验

三、人群癌症流行病学分析

**短期试验**

1.**致突变试验程序**

 一 **致突变试验主要是对致癌物的筛选，其依据是化学物的致突变性与致癌性相联系，即大多数化学致癌物具有致突变性，而大多数非致癌物无致突变性。**

**二 利用致突变试验进行致癌物的筛查的毒理学意义是可检出基因遗传毒性的致癌物。**

**➢局限性：无法检出非遗传毒物的致癌性（假阴性）和具有遗传毒性的非致癌物（假阳性）。**

2.**哺乳动物细胞恶性转化试验**

**原理：利用一些特定离体培养的细胞与受试物接触，观察此细胞是否变为癌细胞，进而预测其致癌性。常用细胞：① 叙利亚仓鼠胚胎细胞（SHE细胞）和人纤维细胞等**

**原代或早代细胞。②BALB/c-3T3、C3H/10T1/2和BHK-21细胞系。**

**癌细胞特征：**

 **单个癌细胞呈现核畸形，核膜增厚，核染色变深，出现巨大核仁，核浆比例失常，细胞分裂相增多。**

**体外培养，正常细胞群呈均匀单层排列，癌细胞群则互相交叉重叠、呈不规则排列。**

 **阳性结果只代表受试物具有致癌可能性，属于辅助性试验。**

3.**哺乳动物短期致癌试验**

**一小鼠皮肤肿瘤诱发试验**

二**小鼠肺肿瘤诱发试验**

三**大鼠肝脏转化灶诱发试验**

四**雌性大鼠乳腺癌诱发试验**

**1.小鼠皮肤肿瘤诱发试验：**

 **一般采用SENCAR小鼠（致癌因子敏感鼠），在局部皮肤一次或多次涂抹或皮下注射受试物；**

 **期限：20周；**

 **根据皮肤乳头状瘤和其他肿瘤的发生率判断结果；**

 **典型的引发剂为致癌性多环芳烃，促长剂为佛波醇酯(TPA)。**

**2. 小鼠肺肿瘤诱发试验：**

**采用对肺肿瘤诱发敏感的SER或A系小鼠；**

 **期限：30~35周；**

 **结果判断：出现肺泡源性腺瘤；**

**典型的引发剂为乌拉坦（抗肿瘤药物），促长剂为二丁基经基甲苯(BHT)。**

1. **大鼠肝脏转化灶诱发试验：**

**采用敏感大鼠；**

 **期限：8-16周； 结果判断：形成肝转化灶和肿瘤结节；**

**肝转化灶特征：**

 **①*γ*-谷氨酰转肽酶活性升高；**

 **② 葡萄糖-6-磷酸酶和ATPase活性降低；**

 **③ 铁摄取能力降低等。**

 **典型的引发剂为二乙基亚硝胺，促长剂为苯巴比妥**

**4. 雌性大鼠乳腺癌诱发试验：**

**采用Wistar大鼠或SD大鼠；**

**期限：6个月；**

**优点：肿瘤位于体表，能较准确判断结果；**

**多环烃芳香胺、氯烷、亚硝基脲等能在9个月以内诱发乳腺癌。**

**10、.哺乳动物短期致癌试验特点：**

**① 周期较短，观察指标少，节省人力、物力，试验**

**效率较高；**

**② 受试物与动物直接接触，优于其他短期试验；**

**③ 能验证受试物的启动活性和促癌作用等机制；**

**④ 阳性结果价值大，阴性结果不太可靠。**

**优、缺点：**

**短期试验不能取代动物长期致癌试验和人类流行病学研究， 在排除致癌活性明显的化学物、提高试验效率方面具有重要价值。**

**11、一，哺乳动物长期致癌试验：**

**1. 实验动物：**

**① 与人类代谢特点相近；**

**② 活性不明的受试物，应选用啮齿和非啮齿类两种**

**动物；**

**③ 选择较敏感、肿瘤自发率低及生命力强的品系；**

**④ 啮齿类，每组至少雌雄各50只；非啮齿类，每组**

**至少各4只。**

**二、哺乳动物长期致癌试验：**

**1.试验期限：**

 **动物断乳后开始染毒（断乳年龄：大鼠为4-6周， 小鼠为3周）。**

**期限：小鼠18个月，大鼠24个月。**

**2.剂量及分组：**

 **试验组（3~5组）；**

 **空白对照和介质对照。**

**3.受试物的配制及给予**

 **水溶性受试物用蒸馏水作溶剂；不溶性受试物可用食用植物油、医用淀粉、羧甲基纤维素等配成乳化液或悬浮液。掺入饲料时要混匀； 受试物的含量不能大于饲料的5%。**

1. **饲养管理**

**5.试验结果评价指标**

**（1）一般观察指标**

 **健康状况每天观察并记录1次，对已病、濒死或死**

**亡的动物须及时检测各项指标并记录。**

 **定期检查并记录体重和饲料食用量。**

**（２）病理检查**

**①大体检查**

**凡是可疑病变和肿瘤部位均应取样镜检； 测定重要脏器的绝对重量和脏体比值。**

**②病理组织学检查**

**组织块一般在10%福尔马林液中固定，然后制片（石蜡包埋组织、切片、H.E.染色），显微镜下检测，并作出病理诊断。**

**6.结果与分析**

**肿瘤发生率（%） = 试验结束时患肿瘤动物总数 /有效动物数 ×100%**

**1.各器官或组织肿瘤发生率、恶性肿瘤发生率等。**

2.**肿瘤潜伏期：从摄入受试物起到发现肿瘤的时间。**

**阳性结果判定方法：**

**a. 肿瘤只发生在试验组动物，对照组中无肿瘤发生；**

**b. 试验组与对照组均发生肿瘤，但试验组发生率更高；**

**c. 试验组动物中多发性肿瘤明显，对照组中无多发性**

**肿瘤，或只是少数动物有多发性肿瘤；**

**d. 试验组与对照组动物肿瘤发生率虽无明显差异，但反应组中发生时间较早**

**试若存在剂量-反应关系，则判断为阳性更可靠。**

**12、人群癌症流行病学分析**

**癌症流行病学：根据地区、时间、年龄、性别等**

**各种人口学指标与癌症相关性的统计学描述性资料为基础，进行人类环境中某特异成分及其致癌危险性的推理性分析，再结合临床研究，最终制定防治对策与措施。**

**特点：**

**致癌性判断，流行病学资料具有决定意义；** **但完整、可信的流行病学资料来之不易。**

**13、癌症流行病学调查方法**

1. **准备工作**
2. **明确调查目的和指标**
3. **确定研究对象**
4. **确定调查项目和编制调查表格**
5. **准备经费，物质，对调查人员进行专业知识的培训**
6. **搜索背景资料**
7. **正式调查**
8. **调查方式 直接观察，采访，填表和通信方式**
9. **研究方法 描述性研究，采用定期健康体检（普查），分析性研究，实验性调查**
10. **总结调查工作**

**对调查资料进行汇总和统计分析，撰写调查报告**

# 第十四章 评价程序和方法

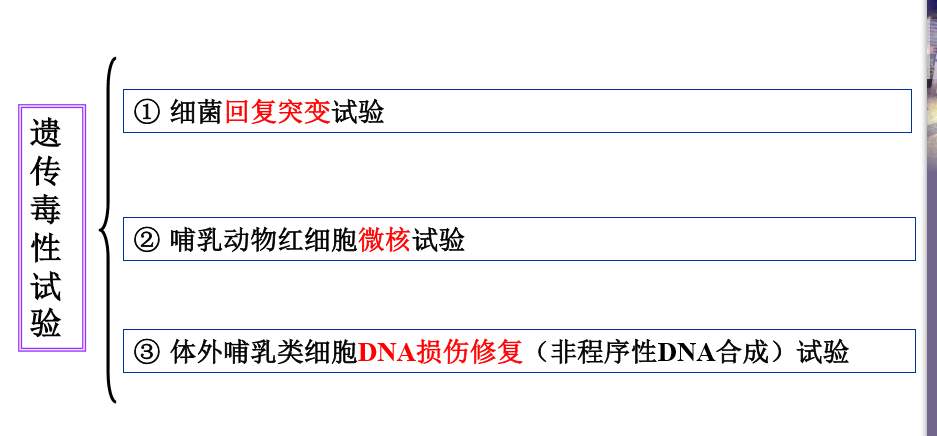
**食品毒理学安全性评价**：通过毒理学实验和对人群的观察，阐明食品中的某种物质的毒性及潜在的危害，对该物质能否投入市场做出安全性方面的评估或提出人类安全接触的条件的研究过程。

⚫ 评价流程：一般先进行动物试验，获得未观察到有害作用 的最大剂量（NOVEL）或观察到的最小有害作用剂量 （LOAEL），在此基础上，根据待评物质的毒作用性质、 特点、剂量-反应关系及人群实际接触情况，进行综合分析，确定安全系数，然后外推到人，作出安全性评价。

1. **适用范围**： 本标准适用于评价食品生产、加工、保藏、运输和销售 过程中所涉及的可能对健康造成危害的化学、生物和物 理因素的安全性。
2. **➢ 检验对象包括：**

食品及其原料 ② 食品添加剂 ③ 新食品原料 ④ 辐照食品 ⑤ 食品相关产品（用于食品的包装材料、容器、洗涤剂、消毒剂和用于食品生产经营的工具、设备） ⑥ 食品污染物



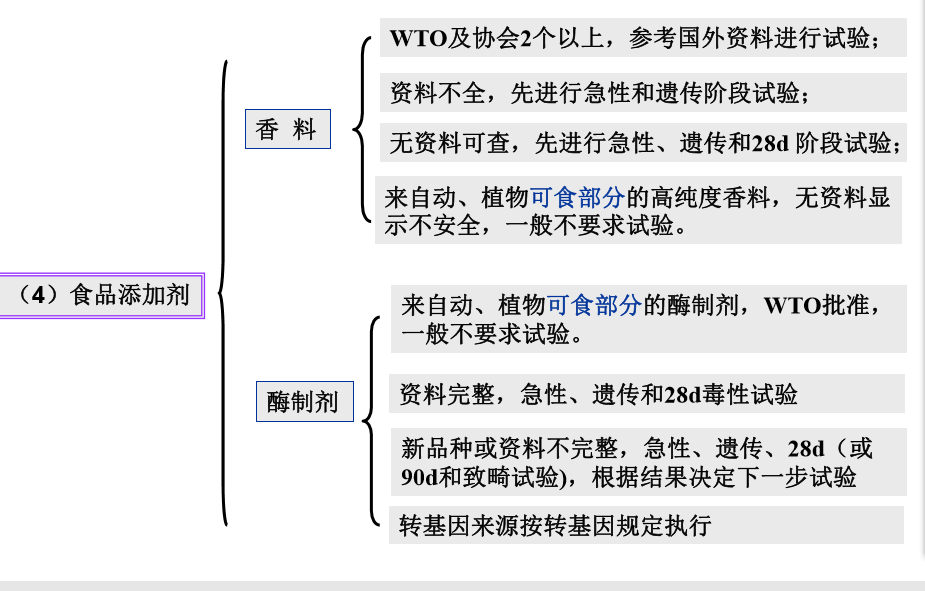


**试验的选择原则（普遍性和特异性）**

（1）凡属我国首创的物质，一般要求进行所有阶段的试验项目，特别是有潜在提示的。

（2）凡属与已知物质（经过安全性评价并允许使用者）的化学结构基本相同的衍生物或类似物，或在部分国家和地区有安全食用历史的物质，则可先进 行急性、遗传、90急性和致畸试验，根据试验结果判断是否需进行后面的试验

（3）凡属已知的或在多个国家有食用历史的物质，申请单位又有资料证明我国产品的质量规格与国外产品一致，可先进行急性经口毒性试验、遗传毒性试验和28天经口毒性试验，根据结果判断是否进行进一步的毒性试验。



（5）新食品原料

⚫ 按照《新食品原料申报与受理规定》（国卫食品发

[2013]23号）进行评价；

（6）食品相关产品

⚫ 按照《食品相关产品新品种申报与受理规定》（卫监督发

[2011]49号）进行评价；

（7）农药残留：按GB 15670进行；

（8）兽药残留：按照《兽药临床前毒理学评价试验指导原

则》（中华人民共和共农业部公告1247号）进行评价。

**5、食品安全性毒理学评价实验的目的**

① 急性毒性试验：了解受试物的急性毒性强度、性质和可 能的靶器官,测定LD50进一步进行毒性试验的剂量和毒性 观察指标的选择提供依据，并根据LD50进行急性毒性剂 量分级。

1. 遗传毒性实验：了解受试物的遗传毒性以及筛查受试物 的潜在致癌作用和细胞致突变性。
2. 28天经口毒性试验：在急性毒性试验的基础上，进一步 了解受试物毒作用性质、剂量反应关系和可能的靶器官 ，得到28天经口未观察到有害作用剂量，初步评价受试 物的安全性，并为下一步较长期毒性和慢性毒性试验、 观察指标、毒性终点的选择提供依据。
3. 90天经口毒性试验：观察受试物以不同剂量水平经较长期 喂养后对实验动物的毒作用性质、剂量反应关系和靶器官， 得到90天经口未观察到有害作用剂量，为慢性毒性试验剂 量选择和初步制定人群安全接触限量标准提供科学依据。
4. 致畸试验：了解受试物是否具有致畸作用和发育毒性，并可 得到致畸作用和发育毒性的未观察到有害作用剂量 。
5. 生殖毒性试验和生殖发育毒性试验：了解受试物对实验动物 繁殖及对子代的发育毒性，如性腺功能、发情周期、交配行 为、娃振、分娩、哺乳和断乳以及子代的生长发育等。得到 受试物的未观察到有害作用剂量水平，为初步制定人群安全 接触限量标准提供科学依据。
6. 毒物动力学试验：了解受试物在体内的吸收、分布和排 泄速度等相关信息；为选择慢性毒性试验的合适实验动 物种（specie）、系（strain）提供依据；了解代谢产 物的形成情况。
7. 慢性毒性试验和致癌试验：了解经长期接触受试物后出 现的毒性作用以及致癌作用；确定未观察到有害作用剂 量，为受试物能否应用于食品的最终评价和制定健康指 导值提供依据。

**6. 试验结果的判定：**

