

第二章 食品中外源化学物的来源、转运与转化

第一节 食品中外源化学物的来源

食品中外源化学物根据其来源分为四大类：①天然物；②衍生物；③污染物；④添加剂。衍生物是食物在贮放和加工烹调过程中产生的。污染物和添加物都属于外来的。

一、天然物

(一) 植物性有害物质 植物性食品中的有害物质是植物生长过程代谢物，美国 Ames 教授认为它们与人类肿瘤关系更密切（与合成化合物比较而言）。

植物的有害代谢物大体上可以分为：①功能团，如植物酚类；②生理作用物质，如胆碱酯酶抑制剂或活化剂；③产生毒素的，如生氰甙；④致癌物，如苏铁素；⑤抗营养物，如黄豆中的外源凝集素（lectins）。

上述可知植物性有害物质分布广泛，有的研究较深入，但有的还不那么清楚。有的知道如何加工烹调去毒后可以安全食用，有的还不知道。当前时兴吃野菜，不少野菜还未经过系统毒理学试验和安全性评价；另外，野菜也受环境污染。在开发保健食品时，利用中草药也要谨慎，因为保健食品的对象往往是处于健康边缘或亚健康态的人。现行毒理学试验规定未必能检查出某些活性物质的特殊毒效应：如对免疫功能、内分泌、精神行为、对营养素的作用等。新食品 and 食品新资源的开发需要现代科学水平的安全性研究。

(二) 动物性有害物质 人类食入的动物性食品从毒理学角度可以分为三类：①本身无毒的；②有的时候有毒的（条件性有毒）；③本身有毒的，如河豚鱼。应该特别重视第二类，即有的时候有毒，使人捉摸不定。

二、衍生毒物（derived toxicants）

衍生毒物是食品在制造、加工（包括烹调）或贮放过程中化学反应或酶反应形成的（或潜在）有毒物质。有时用同义词有毒反应物（toxic reactive product）。

有毒物质可由食品的任何内在成分与外源成分（如污染物与添加剂）相互作用形成，或这些物质与外界物质（如氧）相互作用形成。由热、光、酶或其他物质引起食物化学降解也会产生有毒物质。衍生毒物可分为热解有机毒物、非热解毒物、油脂氧化物以及污染物反应产生的毒物等。

三、污染物——生物学污染物和化学污染物

食品可从多方面受污染——空气、水、土壤及其他的植物。长江每年接纳 200 亿吨废水，流域内每年施用 20 万吨农药，这些污染物后来都回到该流域所生产的食品原料中。1986 年白俄罗斯切尔诺贝利核电站事故，造成大半个欧洲环境和食品受污染。

土壤和水中的天然有毒无机物被植物、禽畜和水生动物吸收、积累，有的达到可引起人中毒的水平，如硝酸盐、汞、砷以及硒。

受污染的饲料喂禽畜后，可使其肉、蛋、奶含有污染物，这些都属于间接污染。

生长中的农作物或收获后贮放的农产品受微生物侵袭，在适宜条件下可产生致病内毒素或外毒素。例如粮食中的黄曲霉毒素，广泛存在于蔬菜和水果（尤以腐烂的）中的交替霉菌毒素（*Alternaria toxin*）。

现代农业生产中广泛使用的农药、生长刺激素等饲料添加剂和抗生素均会使食品含有残留。

食品贮存和包装用的容器和包装材料中含有的化学物质(如塑料增塑剂和印刷油墨中的苯)能迁移到食物上。食品加工、烹调用的炊具、器皿、用具都有可能受材料中的化学物质污染。瓷器碗碟上的彩釉含的铅能游离到盛装的食物中。

食品生产工艺过程污染物, 运输、住宅、家庭生活、娱乐活动、教育、医疗以及科研使用的有害化学物质都有可能直接或间接污染食品, 产生健康危害。

总的说来, 多数情况下, 污染量不大, 引起急性中毒的机会较小, 引起慢性危害则不能马上发生效应, 不易觉察。预防措施是加强检测与监督, 特别是涉及食品原料的工农业生产。

四、添加剂

食品添加剂最初是为防腐和改善食品品质(色、香、味、口感)而加入食品的, 后来扩大到食品加工工艺过程本身需要而加入的物质。

现代的食品添加剂随着食品门类的增加和工艺的发展, 其种类也不断增多, 已达数千个: 有天然成分的, 也有人工合成的。它们都是外源化学物质, 因此需要对它们进行安全性毒理学评价。添加剂对营养素的影响, 添加剂的联合作用, 添加剂与化学污染物的相互作用都很重要, 但是资料很少。

食品管理部门和食品企业需要(通过互联网)追踪这些添加剂的国内外信息, 以便及时采取相应对策, 避免损失, 特别是出口食品。

第二节 生物转运和生物转化

一、外源化学物的体内动态过程

外源化学物和机体之间的相互作用从机体接触外源化学物开始, 经过吸收(absorption)→分布(distribution)→生物转化即代谢(metabolism)→排泄(excretion)过程, 即是机体对化学物进行一系列处置(disposition)的过程。外源化学物在体内的动态变化过程(图2-1), 统称为毒物动力学(毒动力学, toxicokinetics), 主要发生变化的参数有质、量两方面。毒物动力学常被写成ADME过程, 就是使用了英语中吸收、分布、代谢和排泄四个词的字头。而毒物动力学中外源化学物的吸收、分布和排泄的过程称为生物转运(biotransportation), 即为外源化学物在体内量改变的过程。外源化学物经酶催化后化学结构发生改变的代谢过程也称为生物转化(biotransformation), 即为外源化学物在体内质改变的过程。

毒动力学和毒效学是在毒物与机体相互作用过程中发生的两个侧面, 毒动力学是研究机体对化学物的作用, 毒效学(toxicodynamics)是研究化学物对机体的作用。毒动力学是影响毒效的重要因素。通常, 毒效的发生和强弱取决于毒物本身或活性代谢产物在靶部位的浓度和持续时间。

另一方面, 毒动力学又受到化学物本身的理化性质、机体因素和环境因素的综合影响, 最终决定了毒性的表现。了解毒物动力学规律对于掌握化学物的毒性是极其重要的。在学习食品毒理学时, 不要将毒动力学和毒作用分割开来, 要将两者作为一个整体来认识和理解。

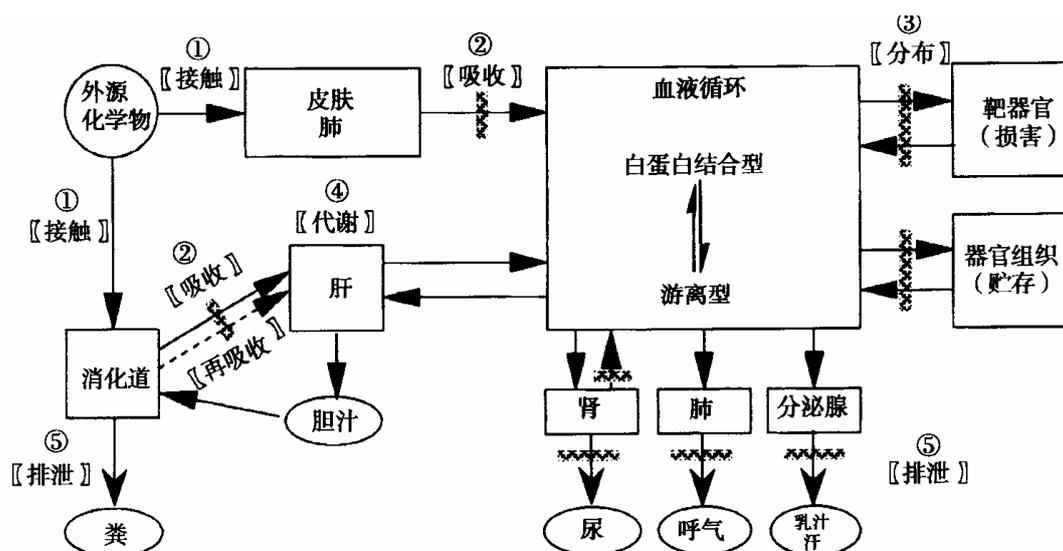


图2-1 外源化学物在体内的动态变化过程

二、生物膜和生物转运

外源化学物的吸收、分布和排泄过程是通过由生物膜构成的屏障的过程。生物膜(biomembrane)是包围着每个细胞的细胞膜(cell membrane, 也称质膜)和细胞器膜的总称。

生物膜主要由脂质和蛋白组成,生物膜表面也含有少量的糖。生物膜的基本结构是连续的脂质双分子层排列,流动镶嵌模式就是对生物膜结构的一般概括。膜蛋白可以是结构蛋白、受体、酶、载体和离子通道等。生物膜主要有三个功能:一是隔离功能,包绕和分隔内环境;二是进行很多重要生化反应和生命现象的场所;三是内外环境物质交换的屏障。当然,生物膜也可能是外源化学物毒作用的靶,如二氧化硅颗粒可以改变细胞膜蛋白的空间构象和脂质的流动性等。膜毒理学研究外源化学物对生物膜的毒作用及其机制。

化学物通过生物膜的转运方式主要有被动转运[包括单纯扩散(simple diffusion)、易化扩散(facilitated diffusion)和滤过(filtration)],主动转运(active transport)和膜动转运(cytosis)三大类。被动转运是顺浓度梯度进行,不消耗能量的;易化扩散和主动转运由载体介导,可饱和;而主动转运和膜动转运消耗能量,并可逆浓度梯度进行。主要影响转运的因素有外源化学物本身结构、分子量大小、脂/水分配系数大小、带电性、与内源性物质的相似性等等。膜动转运分为胞吞(endocytosis)和胞吐(exocytosis),胞吞对外源颗粒物称为吞噬(phagocytosis),对液滴称为胞饮(pinocytosis)。

外源化学物主要经单纯扩散的方式经生物膜转运。影响单纯扩散的主要因素有生物膜的浓度梯度、厚度和面积、脂/水分配系数、解离度等。一般情况下,脂/水分配系数大的化学物和非解离的化学物容易以单纯扩散方式通过生物膜。脂/水分配系数(lipid/water partition coefficient)是表示化学物脂溶性的一个参数(亲脂性/亲水性的比值),指化学物在含有脂和水的体系中,在分配达到平衡时在脂相和水相的浓度比值。

第三节 吸 收

外源化学物从接触部位通过生物膜屏障进入血液循环的过程称为吸收。主要的吸收部位是消化道、呼吸道和皮肤。药物治疗还有注射方式,包括皮下注射、肌肉注射和静脉注射等。

在毒理学实验中还有腹腔注射等染毒方式。吸收部位的组织可能对外源化学物有不同的屏障作用,也可能是外源化学物直接作用的靶。外源化学物在吸收部位的组织内代谢活化也可能是局部毒效应的机制之一。

一、经消化道吸收

1. 经消化道吸收的特点和影响因素 消化道是外源化学物的主要吸收部位,从口腔到直肠的各个部位都可吸收外源化学物。小肠是消化道中最长的部分(人类约2~3米),小肠粘膜的皱壁很多,在皱壁有指状突起的绒毛结构,在显微镜下绒毛上还有许多微绒毛。这些结构使小肠粘膜总面积比小肠作为单纯管道的内面积增加了约600倍,这也是经消化道吸收主要在小肠内进行的原因。

进入消化道内的脂溶性的非解离型的有机化学物分子以单纯扩散方式通过消化道粘膜上皮层到达粘膜的血液中。单纯扩散被认为是最基本最重要的吸收方式。单纯扩散主要取决于胃肠道腔内pH、外源化学物的pKa和脂溶性。弱电解质物质在不同pH的溶液中的解离程度可以根据Henderson-Hasselbalch公式进行推算。外源化学物经膜孔(直径为0.4nm)滤过主要是较小(分子量小于200)的水溶性分子。某些金属类可以经特异的转运载体机制吸收,如铬和锰可以通过铁转运机制吸收,铅可以利用钙转运机制吸收等。甲基汞(methyl mercury, MM)在肠道主要和半胱氨酸(CySH)形成结合体(CySMM)通过氨基酸的转运载体吸收。此外,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。

除了外源化学物本身的理化性质外,外源化学物的经消化道吸收主要受胃肠液的pH值(胃液和胆汁分泌)、胃肠蠕动(滞留时间)、胃肠道内食物的量和质、肠内菌丛的影响等。

2. 首过效应 由于消化道血液循环的特点,除口腔和直肠外,从胃和肠吸收到局部血管的物质都要汇入肝门静脉到达肝脏之后再进入体循环。由于肝脏具有代谢外源化学物的功能,未被代谢的原型和代谢产物离开肝脏随体循环分布到全身。这种未到体循环就被肝脏代谢和排泄的现象称为首过效应(first-pass effect)。首过效应阶段的存在就好像第一道关口,一般会使进入体循环中的化学物原型的量低于入肝之前,但增加了部分代谢产物,另一部分代谢产物不进入体循环而排入胆汁。如果肝脏是非靶器官,并且经首过效应的化学物活性下降,则首过效应具有积极的保护作用。其他接触部位(如肺、口腔和皮肤)的吸收,由于解剖学的原因就不经过肝的首过效应而进入体循环。肝脏的首过效应和肠道吸收处发生的外源化学物代谢现象都是进入体循环前的代谢和排泄。现在,将在吸收部位发生代谢后再进入体循环的现象都理解为首过效应。

3. 肠内菌丛的影响 据认为,肠内菌丛具有相当强的代谢酶活性。例如菌丛代谢酶可使芳香族硝基化学物转化成致癌性芳香胺、使苏铁苷(cycasin, 甲基氧化偶氮甲醇的葡萄糖醛苷)分解转化成致癌物甲基氧化偶氮甲醇。而且,肠内微生物特别影响着外源化学物的再吸收。例如从胆汁排入小肠内的葡萄糖醛酸结合型外源化学物代谢产物,由于脂/水分配系数低,在小肠上段基本不被吸收,但被微生物解离后就被再吸收入血液。

二、经呼吸道吸收

存在于空气中的外源化学物经呼吸道吸收是重要的途径。从呼吸道上端到下端的管径不断缩小,起到过滤作用而防止大颗粒气溶胶到呼吸道最末端的肺泡。气态物质水溶性影响其吸收部位,易溶于水的气体如二氧化硫、氯气等在上呼吸道吸收,水溶性较差的气体如二氧化氮、光气等则可深入肺泡,并主要通过肺泡吸收。气态物质到达肺泡后,主要经简单扩散透过呼吸膜而进入血液,其吸收速度受多种因素影响,主要是肺泡和血液中物质的浓度(分压)差和血/气分配系数。血/气分配系数(blood / gas partition coefficient)是气体在呼吸膜两侧的分压达到动态平衡时,在血液内的浓度与在肺泡空气中的浓度之比。此系数愈大,气体愈易被吸收入血液。例如乙醇的血/气分配系数为1300,乙醚为15,二硫化碳为5,乙烯为0.4,说明乙醇远比乙醚、二硫化碳和乙烯易被吸收。肺通气量和肺血流量大小也是影响吸

收的因素。结晶二氧化硅和石棉等气溶胶颗粒物，由于呼吸道的过滤作用的阻挡，一般只有直径 $<2\mu\text{m}$ 才能到达肺泡。阻留在呼吸道表面粘液上颗粒物，经纤毛运动使其逆向移动，最后由痰咳出或咽入胃肠道。呼吸纤毛运动的速度，随不同部位而异，一般达 $1\text{mm}\sim 1\text{cm}/\text{min}$ ，在1h内可清除粘膜上的沉积物达90%以上。肺泡内的巨噬细胞可吞噬颗粒物，一部分随粘液排出，一部分随巨噬细胞进入淋巴系统。

三、经皮肤吸收

皮肤是对外源化学物的天然屏障，吸收比较困难，但是对于像四氯化碳和一些杀虫剂等高脂溶性物质可以吸收，吸收量可以引起全身中毒。此外，一些多环芳烃和重金属也可经皮肤吸收。外源化学物要经过皮肤的多层上皮细胞和结缔组织才能到达体液循环系统。一般说来，外源化学物从皮肤的吸收量与其脂溶性成正比，与分子量成反比。皮肤的构造和通透性随体表部位有所不同，人体不同部位皮肤对毒物的通透性不同，阴囊 $>$ 腹部 $>$ 额部 $>$ 手掌 $>$ 足底。不同物种动物皮肤通透性不同，大鼠及兔的皮肤较猫的皮肤更易通透，而豚鼠、猪和猴子的皮肤通透性则与人相似。

在角质层受损时通透性就会提高。影响经皮肤吸收的因素还有接触面积和皮肤的血流量。在高温高湿的气象条件下，皮肤的血流量增加会提高吸收速率。在酸、碱和皮肤刺激物对皮肤产生损伤后通透性也会明显提高。

四、注射

作为特殊吸收途径，皮下注射、肌肉注射和静脉注射等是临床常用的给药方式。静脉注射使药物直接进入体循环。皮下注射和肌肉注射要经过局部的吸收过程。在毒理学实验中对啮齿类动物还有腹腔内注射染毒。在自然环境中和注射方式类似的情况如毒蛇咬伤，毒蛇毒素经伤口吸收。

五、吸收途径的毒理意义

不同的吸收途径会影响化学物进入血中的速度和浓度以及毒效应。由于肺泡呼吸膜比皮肤和消化道粘膜薄，所以吸收效率最高。消化道粘膜的吸收效率大于皮肤。在日本和欧洲等地曾发生的SMON事件，就是由服药途径变动而引起的一起大范围药物中毒事件。碘氯羟喹(chinofom)是在1900年人工合成的一种抗菌药，最初只是外用来防治皮肤伤口化脓。1929年后使用范围扩大到口服治疗阿米巴痢疾。在1955年开始又作为治疗非细菌性腹泻的药物广泛口服使用。在1954年左右开始，在使用的国家陆续发现服用碘氯羟喹的病人出现腹部症状、四肢麻木、感觉迟钝、无力和视觉障碍的特异性神经症状。1965年医学界将其命名为亚急性脊髓视神经炎(subacute myelo-optico-neuropathy, SMON)。1970年确认了口服碘氯羟喹是引起此病的原因，同年9月此药在日本停止出售。到1976年为止，在日本确诊的碘氯羟喹中毒患者总计有11127人。

第四节 分 布

分布指外源化学物吸收进入血液或淋巴液后，随体循环分散到全身组织器官的过程。血液循环中的外源化学物按浓度梯度从血液向组织液分布。分布情况受组织局部的血流量、游离型化学物的浓度梯度、从毛细血管向实质细胞的转运速度、外源化学物与组织的结合点和亲合程度的影响。外源化学物在血液中的浓度依赖于接触量、消除速度和表观分布容积(V_d ，指假定体内达到动态平衡时外源化学物在血液中的浓度计算应占有的体液容积)等。表观分布容积越大，血浓度越低，组织分布越广泛。

一、血流量和速度

到达血液循环的外源化学物随动脉运到各组织，向各组织流入的动脉血的流量和动脉中的浓度就成为向组织转运的决定因素。肾脏、肝脏和脑的单位血流量大于皮肤、肌肉和脂肪

组织，由此外源化学物向后面这些组织的分布就较迟缓。

二、毛细血管的构造和血-器官屏障

不同器官内的毛细血管构造有所不同，其管壁内皮的排列可分为连续型、有孔型和不连续型三类。各种毛细血管构造上的差别使其通透性不同，血-器官屏障就是以特异化的毛细血管壁为主的一种限制化学物分布的结构，以保护体内重要器官。

1. 血脑屏障(blood-brain barrier, BBB) 形成BBB的重要性在于保障血液和脑之间正常的物质交换和阻挡非脑营养物质进入脑组织。BBB是由毛细血管内皮细胞和星状胶质细胞组成的。BBB的内皮细胞与别处的不同，无孔，并且细胞接合非常牢固。内皮细胞胞质中的单胺氧化酶等代谢酶活性较高，也担负着酶屏障的机能。在BBB上存在的载体P-糖蛋白能将一些外源化学物主动转运出大脑，也成为BBB的功能性组成部分。外源化学物经BBB的转运主要是以单纯扩散的方式，所以外源化学物的脂溶性和带电性以及分子量是影响转运的主要因素。小分子物质容易通过BBB。甲基汞以CySMM通过BBB的氨基酸运送载体进入脑内，是造成中枢神经系统中毒的重要原因。在新生儿阶段BBB还没有完成形成，所以新生儿的脑组织容易受到外源化学物的影响。

2. 胎盘屏障(placental barrier) 由胎盘形成的屏障调控妊娠母体和胎儿之间的物质交流，是保护胎儿免受外源化学损害的重要关口。非离子型、脂溶性高和分子量小的物质容易通过胎盘屏障。虽有“胎盘屏障”的概念，但至今还没有肯定胎盘在防止毒物从母体进入胚胎的特殊作用。进入母体的毒物可经胎盘转运引起胎儿危害，如药物反应停引起的海豹畸形胎儿事件和由环境甲基汞污染引起的胎儿性水俣病。另外，经胎盘屏障有些致癌物如多环芳烃类和雌激素等也可能引起胎儿远期危害如出生后致癌等问题。

3. 其他屏障 血-睾丸屏障和血-眼屏障分别在雄性生殖毒理学和眼毒理学中有重要意义。

三、血浆蛋白结合

外源化学物在血中存在的形式有血浆白蛋白结合型和未结合的游离型，两者之间处在平衡状态。一般只有游离的外源化学物可依单纯扩散方式通过生物膜到达靶部位。但是在肝脏和肾脏由于存在主动转运系统，所以结合型外源化学物也可分布进入这些器官。外源化学物和血浆白蛋白之间的结合能力与外源化学物的物理化学性质有关，如安替比林不和白蛋白结合，而保泰松几乎全部和白蛋白结合。白蛋白结合型可以认为是暂时性贮存外源化学物的一种保护机制，使游离型外源化学物浓度降低。但与白蛋白的结合是可逆的结合，由各种原因可再次游离，就会提高其在血液中的浓度。老年人的血浆白蛋白的量会有所减少，也会影响游离型外源化学物的血中浓度。多种化学物与白蛋白结合的竞争就会使它们游离型的浓度改变。

因此，在临床上同时使用两种以上药物时要慎重。例如，血栓病人服用抗凝血药华法令，同时又需要服用解热消炎药时，如果服用的是安替比林，由于安替比林不和白蛋白结合，不会影响血液中游离型华法令的浓度。但如服用与白蛋白结合力强的保泰松，就会使血液中游离型华法令浓度增加，引起出血。

四、贮存

进入机体内的外源化学物常出现在特定器官蓄积的现象。靶器官常有蓄积现象，但靶器官以外的蓄积现象也不少见，统称为贮存库(storage depot)。外源化学物在贮存库和血液的游离型之间存在着平衡，当体内的一部分被排除后，就会从贮存库再游离出来进入血液循环，使生物学半衰期延长。贮存库有脂肪组织、骨、血浆蛋白、肝脏和肾脏等。

1. 脂肪组织 脂溶性高的外源化学物，如多氯联苯类(PCB)和有机氯农药如滴滴涕(DDT)和林丹(HCH)等，又由于不易被机体代谢，所以进入体内后容易储存在脂肪组织。由于普通人的脂肪约占体重的20%，胖人可高达50%，所以对脂溶性外源化学物是非常大的贮存库。当机体大量接触这些化学物时会引起急性的中枢神经系统损伤，此时向脂肪组织的蓄

积有一定的缓和作用。但是, DDT、HCH和PCB等在禁止使用多年以后, 依然可在体内脂肪中检测出微量存在, 说明它们一旦进入体内, 再从体内消除就需要很长的时间。这些化学物从脂肪组织向血液中释放的再分布情况不容忽视。

2. 骨、铅、氟、锶和镉等可在骨蓄积 氟蓄积量大时可能妨碍骨组织对钙等元素的摄取, 造成骨的明显损害(氟骨症)。但是, 铅在体内90%以上蓄积于骨, 骨不是铅的靶器官。

3. 肝脏和肾脏 虽然肝脏和肾脏可消除外源化学物, 但也有一定的蓄积作用。如肝脏存在配体蛋白类(ligandin)物质谷胱甘肽-S-转移酶、与有机化学物亲和性较高的Y蛋白(Y-Protein)还有可与重金属结合的金属硫蛋白(metallothionein)等。肾脏中也含有较高浓度的金属硫蛋白。镉重金属与金属硫蛋白结合, 在肝脏或肾脏中的含量较高, 体内的生物半衰期可达十几年以上。

4. 其他 具有特殊重要性的器官如大脑、内分泌器官和生殖器官在反复接触外源化学物后, 有时也会发生化学物原型或代谢产物在这些器官的蓄积现象。

第五节 外源化学物的生物转化

外源化学物在机体内经酶催化发生的化学结构变化称为生物转化, 也狭义地称为外源化学物代谢(xenobiotic metabolism), 生物转化的产物称为代谢产物(metabolites)。主要担负生物转化的器官是肝脏。其他器官如肾脏、小肠、肺脏和皮肤等的生物转化能力明显低于肝脏。

外源化学物代谢酶系担负催化外源化学物生物转化, 这些酶位于细胞器如内质网膜上(微粒体)或胞液中。这些酶中许多是参与正常机体物质合成和代谢的, 可能是随着生物的进化而逐渐分化为催化外源化学物代谢的酶。代谢酶的多态性是非常突出的特点, 表现在同功酶的种类繁多。

亲脂性外源化学物如果不转化成水溶性代谢产物, 就不易从体内排出, 在体内蓄积并可达到引起毒效应的浓度, 如多氯联苯类化学物就是典型的例子。总体上, 生物转化的意义是使外源化学物的水溶性增加, 不易通过生物膜进入细胞, 容易排泄到尿和胆汁中。这也是将生物转化视为外源化学物消除过程之一的理由。

由于外源化学物的毒性取决于它本身的化学结构, 在经过了生物转化之后, 化学结构发生了变化, 改变它和靶生物大分子之间的反应活性, 自然会影响到外源化学物毒性。大部分外源化学物的代谢产物, 毒性降低, 易于排出体外, 此为解毒反应, 称为代谢解毒(metabolic detoxication)。但是有的外源化学物会生成反应活性高于原型的代谢物, 这样的代谢物与细胞内的DNA、RNA、蛋白质和脂质反应, 就会造成细胞毒性、致癌、致突变和致畸等影响。经生物转化其毒性被增强的现象称为代谢活化(metabolic activation, metabolic toxication)。生物转化反应的结局具有代谢灭活和代谢活化的正(有利)负(有害)两面性, 掌握其正负两面性, 特别是负面作用对了解中毒机制是十分重要的。

代谢解毒: 化学物(毒性)——→中间产物(低毒性或无毒性)——→产物(无毒性)

代谢活化: 化学物(无毒性)——→活性中间产物(毒性)——→产物(无毒性)

一、I相反应和II相反应

外源化学物生物转化的模式按反应的先后顺序分为I相反应和II相反应。

I相反应(phase I biotransformation)指经过氧化、还原和水解等反应使外源化学物暴露或产生极性基团, 如-OH、-NH₂、-SH、-COOH等, 水溶性增高并成为适合于II相反应的底物。I相反应的主要代谢酶及催化反应类型见表2-1。

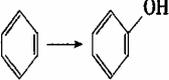
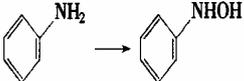
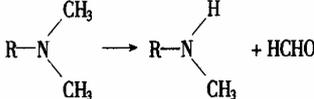
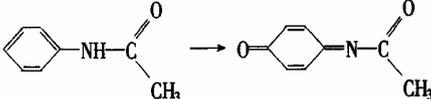
II相反应(phase II biotransformation)指具有一定极性的外源化学物与内源性辅因子(结合基团)进行化学结合的反应(conjugation)(表2-2)。内源性辅因子需要经生物合成来提供。除乙酰基和甲基结合反应外, 其他II相反应都使外源化学物的水溶性显著增加, 促进其排泄。

葡糖醛酸结合、硫酸结合、乙酰化作用、甲基化作用涉及活化的(“高能”)辅因子,而与谷胱甘肽(GSH)结合和与氨基酸结合则是与活化的外源化学物反应。大多数Ⅱ相生物转化酶存在于脑浆,但UDP-葡糖醛酸转移酶是微粒体酶。一般可以将内源性辅因子作为体内的防御性因子,但有例外。有些具有极性基团的外源化学物可以不经Ⅰ相反应而直接参与Ⅱ相反应。结合作用主要类型及结合酶定位小结见表2-2。

二、终毒物和代谢活化

伴随代谢所发生的外源化学物的活性变化是毒理学研究中最关键的问题之一。生物转化过程不仅影响到外源化学物的体内动力学,而且也影响着外源化学物的活性。终毒物(ultimate toxicant)是指外源化学物可直接与内源性靶分子反应并造成机体损害时的化学形态。终毒物是外源化学物引起毒作用的关键。终毒物大致有三种情况,一是外源化学物本身就是终毒物,如强酸,强碱,尼古丁,氨基糖苷类,环氧乙烷,异氰酸甲酯,重金属离子,氰化氢,一氧化碳和蛇毒等。二是外源化学物本身相对无毒性,经体内的代谢活化后,毒性增强,转为终毒物。三是外源化学物经某种代谢过程激发了内源性毒物的产生,如氧自由基爆发,脂质过氧化物大量蓄积等。

表2-1 生物转化Ⅰ相反应简表

反应类型	简式举例
一、氧化作用	
1. P450 催化氧化	
(1) 脂肪族和芳香族羟化	$RCH_3 \rightarrow RCH_2OH$; 
(2) 双键的环氧化	$R_1-CH=CH-R_2 \rightarrow R_1-\overset{\text{O}}{\text{C}}-CH-CH-R_2$
(3) 杂原子 (S-, N-, I-) 氧化和 N-羟化	$R_1-S-R_2 \rightarrow R_1-\overset{\text{O}}{\text{S}}-R_2 \rightarrow R_1-\overset{\text{O}}{\text{S}}(O)-R_2$ 
(4) 杂原子 (O-, S-, N-) 脱烷基	 + HCHO
(5) 氧化基团转移 (氧化脱氨、脱硫、脱卤素)	$R-\underset{\text{CH}_3}{\text{CH}}-\text{NH}_2 \rightarrow R-\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}=\text{O} + \text{NH}_3$
(6) 酯裂解 (羧酸酯、磷酸酯)	$R_1\text{COOCH}_2\text{R}_2 \rightarrow R_1\text{COOH} + R_2\text{CHO}$
(7) 脱氢	
2. 微粒体含黄素加单氧酶 (氧化亲核性 N-, S-, P-)	$\text{CH}_3-\text{CO}-\text{NH}-\text{NH}_2 \rightarrow \text{CH}_3-\text{CO}-\text{NH}-\text{NHOH}$
3. 醇、醛、酮氧化和胺类氧化	$R-\text{CH}_2\text{OH} \rightarrow R-\text{CHO} \rightarrow R-\text{COOH}$ $R-\text{CH}_2-\text{NH}_2 \xrightarrow{\text{MAO}} R-\text{CH}=\text{NH} \xrightarrow{\text{MAO}} R\text{CHO} + \text{NH}_3$
4. 过氧化物酶依赖性共氧化	花生四烯酸 $\xrightarrow{\text{R}}$ PGG2 $\xrightarrow{\text{ROH}}$ PGH2
二、还原作用	
1. 硝基和偶氮还原	$R-\text{NO}_2 \rightarrow R-\text{NO} \rightarrow R-\text{NHOH} \rightarrow R-\text{NH}_2$
2. 羰基还原	$R-\text{CHO} \rightarrow R\text{CH}_2\text{OH}$
3. 含硫基团还原	$\text{XSSX} + 2\text{GSH} \rightarrow 2\text{XSH} + \text{GSSG}$

续表

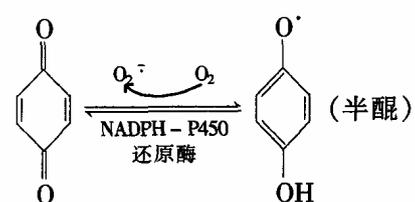
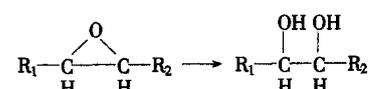
反应类型	简式举例
4. 醌还原	
5. 脱卤反应	$\text{CCl}_4 \xrightarrow{\text{P450}} \text{Cl}_3\text{C}\cdot + \text{HCl}$
三、水解作用	
1. 酯酶	$\text{R}_1-\text{COO}-\text{R}_2 \longrightarrow \text{R}_1-\text{COOH} + \text{R}_2\text{OH}$
2. 酰胺酶	$\text{R}_1-\text{CO}-\text{NH}-\text{R}_2 \longrightarrow \text{R}_1-\text{COOH} + \text{R}_2\text{NH}_2$
3. 环氧化物水化酶	

表2-2 结合作用的主要类型及结台酶定位

结合酶	底物功能基团	结合基团的来源	酶定位
UDP-葡萄糖醛基转移酶	OH, COOH, NH ₂ , SH, C-C	尿苷二磷酸葡萄糖醛酸(UDP GA)	微粒体
磺基转移酶	NH ₂ , OH	3'-磷酸腺苷-5'-磷酸硫酸(PAPS)	胞液
乙酰基转移酶	NH ₂ , SO ₂ NH ₂ , OH	乙酰辅酶A(乙酰CoA)	线粒体、胞液
甲基转移酶	OH, NH ₂ , SH	S-腺苷蛋氨酸	胞液
酰基转移酶	COOH	甘氨酸	线粒体、微粒体
谷胱甘肽-S-转移酶	环氧化物、有机卤化物、有机硝基化合物、不饱和化合物	谷胱甘肽	胞液、微粒体

外源化学物经代谢活化后,生成终毒物,有以下几种类型:①亲电子剂;②自由基;③亲核剂;④氧化还原反应物。

1. 亲电子剂的形成 亲电子剂是含有一个缺电子原子的分子。该缺电子原子中的部分或全部阳电荷使其很容易通过共享电子对的方式与亲核剂中富含电子的原子反应。

许多化学物在代谢活化时形成非离子亲电子剂。亲电子剂经常是在外源化合物被细胞色素P450或其他酶氧化成酮类、环氧化物及芳烃氧化物、 α , β -不饱和酮及醛类、醌类或醌亚胺类以及酰基卤等过程中形成的。如苯并(a)芘[benzo(a)pyrene, BaP]是一种多环芳烃致癌物(图2-2)。多环芳烃类致癌物的化学结构特点是含有一个由菲结构形成的湾区(也称凹区)。首先,经I相酶P-450催化发生芳香环上的环氧化,形成多种环氧苯并(a)芘,其中7,8-环氧苯并(a)芘在环氧化物水解酶的作用下水解成7,8-二羟基-BaP,再经P-450催化发生环氧化反应,形成致癌物亲电子剂7,8-二羟基-9,10-环氧BaP。7,8-二羟基-9,10-环氧BaP有4种立体异构体,由于空间障碍等原因,(+)anti-7,8-二羟基-9,10-环氧BaP化学反应活性最高。此亲电子性强的终致癌物和DNA的亲核基团直接发生不可逆的共价结合,这是引起靶细胞基因突变的分子基础。卤代烃在谷胱甘肽S-转移酶、 γ -谷氨酰基转移酶、二肽酶以及半胱氨酸结合物 β -裂解酶等催化的连续反应过程后可形成硫碳酰卤化物和硫酮类亲电子剂。

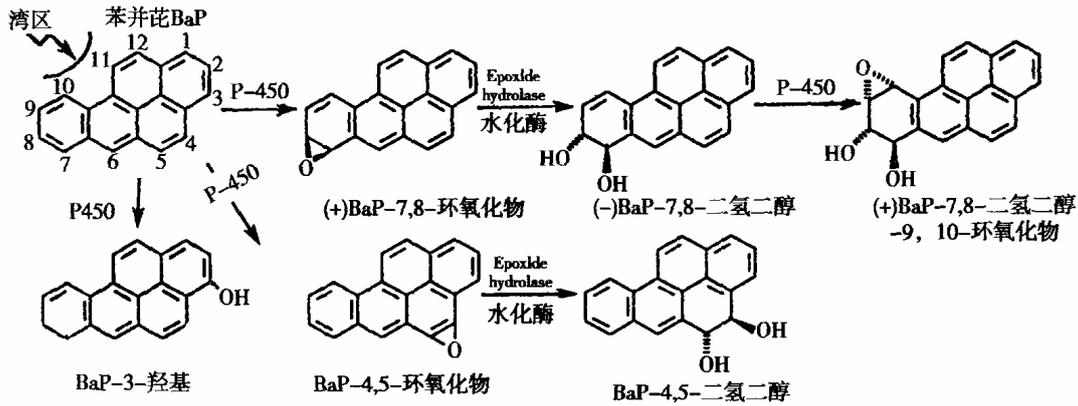


图2-2 苯并(a)芘 (BaP) 的代谢活化和解毒

化学键异裂可以产生阳离子亲电子剂。例如芳香胺致癌物2-乙酰氨基芴(2-AAF, 2-acetylaminofluorene)在形成终致癌物之前也经历了两次活化(图2-3), 即首先发生N-羟化的I相反应形成中间产物N-羟基胺, 再经II相反应, 即硫酸、乙酰基或葡萄糖醛酸结合。这些结合产物在酸性pH尿中可水解或由小肠菌丛的β-葡糖苷酸酶催化水解, 生成N-羟基芳香胺, 后者可自发性生成亲电子性芳基氮鎓离子, 攻击DNA, 引起膀胱癌和结肠癌。致癌物甲基取代的芳香烃类化合物(如7, 12-二甲基苯并(a)蒽), 经羟化可形成苯基醇, 后者可以经磺基转移酶等催化, 所形成的酯类衍生物中的C-O键异裂后可形成硫酸氢根阴离子和亲电子剂苯碳鎓离子。由无机化合物形成亲电子剂的例子如: 金属汞氧化成 Hg^{2+} , CrO_4^{2-} 还原成 Cr^{3+} 以及 AsO_4^{3-} 还原成 AsO_3^{2-} / As^{3+} 。

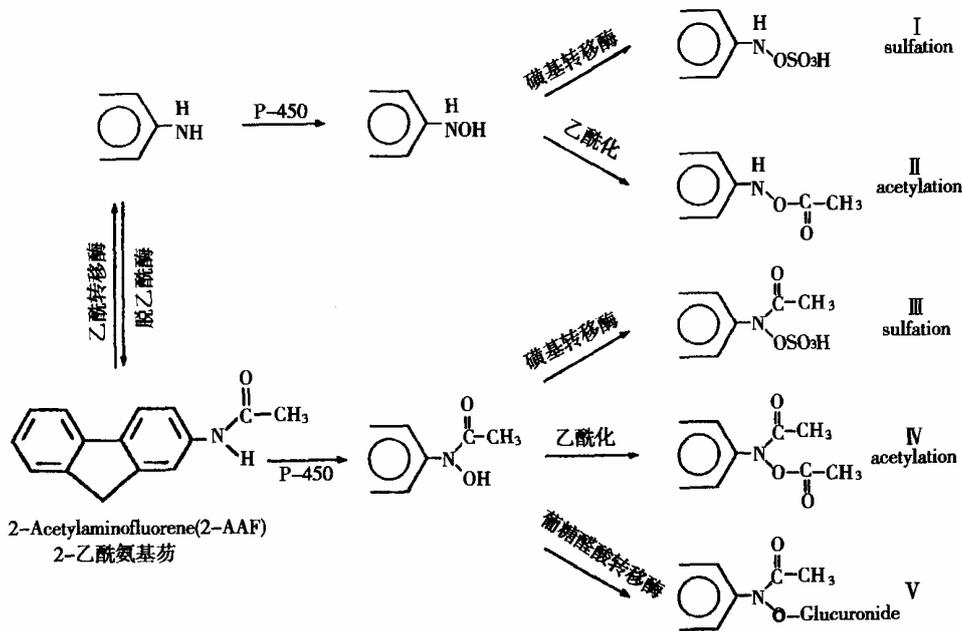


图2-3 2-乙酰氨基芴的代谢活化

2. 自由基形成 自由基是原子外轨道含有一个或多个不成对电子的分子或分子片段。自由基可由分子(或分子片段)接受或失去一个电子形成, 或者通过共价键的均裂形成。

百草枯(PQ^{+})、阿霉素(DR)和硝化呋喃托英(NF)可从还原酶接受一个电子形成自由基。这些自由基可将多余的电子转移给氧分子, 使其形成超氧阴离子自由基(O_2^-)后, 重新形成原型化合物(图 2-6), 这些原型化合物又可接受一个新的电子。通过这种氧化还原循环, 作

为电子受体的化学物可以生成许多 O_2^- 。另外，含有剩余电子的外源化合物基团可还原铁蛋白并释放铁离子，产生游离的、有毒性的 Fe^{2+} 。

与以上这些化合物相反，亲核外源化学物如酚类、氢醌类、氨基酚类、胺类、胍类、吩噻嗪类以及硫醇类由过氧化物酶催化失去一个电子而形成自由基。有些化合物如醌由NAD(P)H-醌氧化还原酶催化二电子还原成氢醌，此酶是黄素蛋白，又称为DT-黄递酶。醌可由碳基还原酶催化。醌的二电子还原是无毒性的。但醌经NADPH-P-450还原酶催化一电子还原，生成半醌自由基。半醌自由基易于自氧化，伴有氧化应激，生成具有细胞毒性的超氧阴离子、过氢氧自由基、过氧化氢、羟基自由基(图2-4)。氧化应激是某些含醌或可转变为醌的外源化学物毒作用的重要机制。苯并(a)芘以及7, 12-二甲基苯并蒽等具有低电离电位的多环芳烃类，可经过氧化物酶或细胞色素P450催化单电子氧化，形成阳离子自由基，可能是这些致癌物的终毒物。和过氧化物酶类似，氧合血红蛋白($Hb-Fe^{2+}-O_2$)可催化氨基苯酚类氧化成半醌自由基及醌亚胺，这是另一种代谢活化，因为这些产物反过来可使血红蛋白($Hb-Fe^{2+}$)氧化成不能携带氧的高铁血红蛋白($Hb-Fe^{3+}$)。

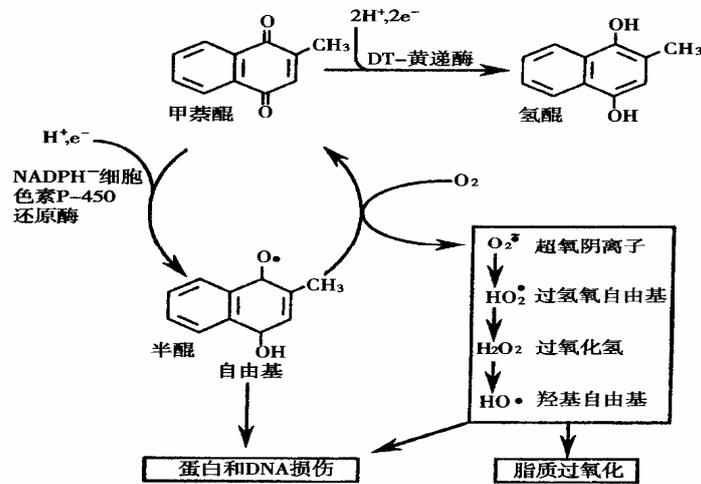


图2-4 甲萘醌二电子还原成氢醌和一电子还原成半醌时生成活性氧自由基

自由基的形成也可因为分子得到电子引起的还原性键均裂。如四氯化碳就是从P450或线粒体电子传递链中获得一个电子，经还原脱卤作用形成三氯化碳自由基($Cl_3C\cdot$)。 $Cl_3C\cdot$ 与 O_2 反应可形成活性更高的氯甲过氧自由基($Cl_3COO\cdot$) (图2-5)。 $Cl_3C\cdot$ 和 $Cl_3COO\cdot$ 可以攻击蛋白质如P-450，抑制其活性，也可引起脂质过氧化，破坏生物膜的结构和功能，最终导致细胞死亡。过氧化氢(HO_2H)均裂可形成毒性很强的羟自由基($OH\cdot$)。由过渡金属离子，如 Fe^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Cr^{5+} 、 Ni^{2+} 或 Mn^{2+} 催化的fenton反应，是 HO_2H 及其前体 O_2^- 以及过渡金属的一个主要活化机制。此外，次氨基三乙酸、博莱霉素等可与过渡金属整合的化合物的毒性也是由Fenton化学反应引起的，因为整合作用可以提高某些过渡金属离子对Fenton反应的催化效力。吸入性矿物颗粒如石棉、二氧化硅等的肺毒性至少部分是由颗粒表面的铁离子催化形成 $HO\cdot$ 导致的。过氧化氢是多种酶反应的直接或间接副产物，这些反应可由单胺氧化酶、黄嘌呤氧化酶以及乙酰辅酶A氧化酶催化。氧化还原型或活化的巨噬细胞和粒细胞发生呼吸爆发时由NAD(P)H氧化酶可生成 O_2^- ， O_2^- 进行自发歧化反应或由超氧化物歧化酶催化时，可产生大量 HO_2H 。

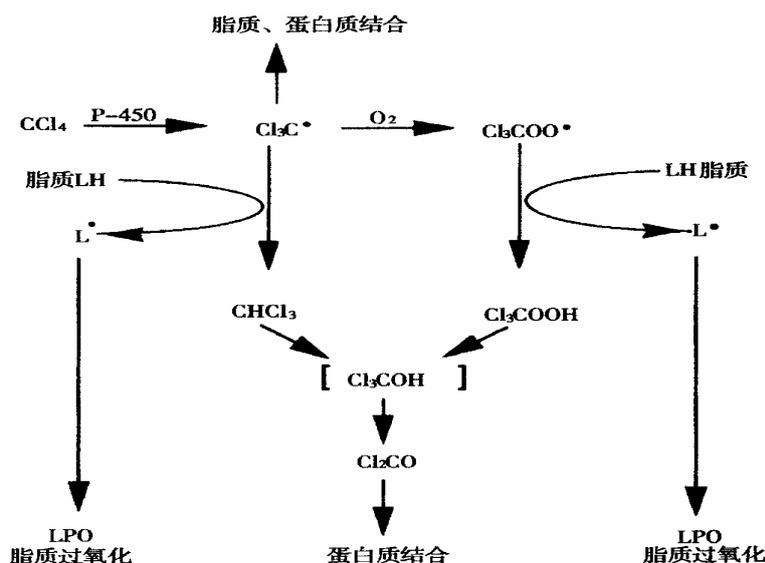


图2-5 四氯化碳的代谢活化

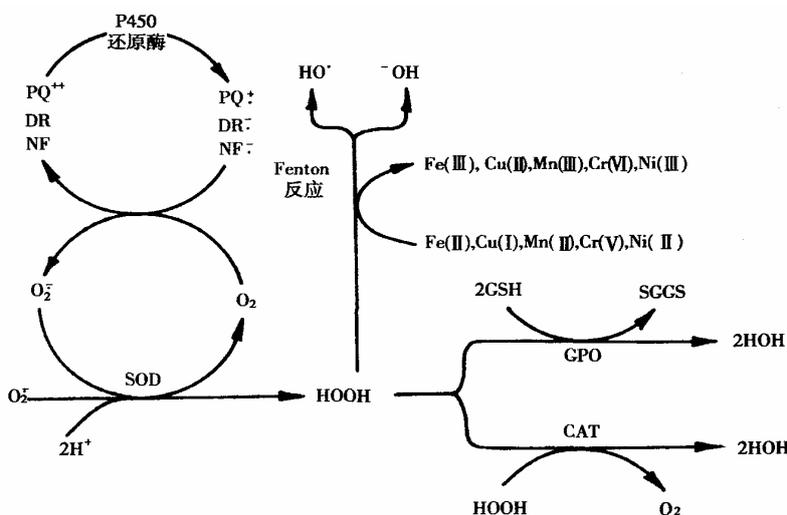


图2-6 超氧阴离子自由基(O₂⁻)和羟基自由基(HO•)的生成，氧自由基经抗氧化酶催化解毒

3. 亲核剂的形成 在毒物活化中，亲核剂的生成是一个较为罕见的机制。如氰化物的生成有几种途径，由肠道中苦杏仁苷经细菌β-葡萄糖苷酶催化生成，由丙烯腈经环氧化及随后的谷胱甘肽结合生成，还可由经硫醇催化的硝普钠的分解产生。一氧化碳是二卤代甲烷经过氧化脱卤作用形成的毒性代谢产物。在肝脏中经羟化产生的某些亲核代谢物，如氨苯砒羟胺和5-羟基普茶马奎，可通过共氧化作用导致高铁血红蛋白生成。

4. 氧化还原反应物的生成 与上述已经讨论过的机制不同，氧化还原反应物的形成有其特殊的机制。例如，能引起高铁血红蛋白的亚硝酸盐，既可在小肠中由硝酸盐经细菌还原生成，也可由亚硝酸酯或硝酸酯与谷胱甘肽反应而生成。还原性化合物如抗坏血酸等以及NADPH依赖性黄素酶等还原酶可使Cr⁶⁺还原为Cr⁵⁺。Cr⁵⁺反过来又可催化HO•生成。

总之，多数具有反应活性的代谢产物是缺电子的分子或分子碎片，如亲电子剂、中性自由基和阳离子自由基。虽然一些亲核剂具有反应活性(如HCN，CO)，但多数亲核剂是转变

成亲电子剂,才被活化。与此相似,含一个多余电子的自由基引起的损伤,是由形成 HOOH ,并均裂成为中性 $\text{HO}\cdot$ 引起的。

还有一些较少见的活化机制。有些外源化合物的活化可改变机体生物学过程的微环境或结构,产生有害作用。例如:由1,2-亚乙基二醇形成的草酸可导致酸中毒及低钙血症,并因草酸钙的沉淀而使肾小管受损。有时,外来化学物需经过生物转化改变其结构及反应活性,以便更有效地与相应的受体或酶相互作用。例如:有机磷农药对硫磷通过生物转化形成对氧磷,对氧磷是一种更强的胆碱酯酶抑制剂。又如,一些外源化学物也可以是内源性代谢途径酶的底物,常伴有毒性效应,如丙基戊酸、氟代乙酸和半乳糖胺。杀鼠剂氟代乙酸通过三羧酸循环形成氟代柠檬酸,作为拟底物抑制顺乌头酸酶活性,称为“致死性合成”。

三、代谢解毒

消除终毒物或预防其生成的生物转化过程称为解毒。对某些化学物来说,解毒代谢可与活化代谢竞争。解毒可通过多种途径进行,依赖于毒物的化学性质。

(1) 无功能基团毒物的解毒 一般情况下,苯和甲苯等不含功能基团化学物的解毒分两相。首先,通常由细胞色素P-450将羧基和羟基等功能基团引入分子中。随后,通过转移酶将内源性酸如葡糖醛酸、硫酸或氨基酸结合到这些功能基团上。除了某些例外,多数化合物的最终产物无反应活性,是易于排泄的高度亲水的有机酸。

(2) 亲电子剂的解毒 亲电性毒物较为普遍的解毒方式是亲核剂谷胱甘肽结合。该结合反应可以是自发的,也可由谷胱甘肽S-转移酶催化。 Ag^+ 、 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 和 CH_3Hg^+ 等金属离子易与谷胱甘肽结合而解毒。亲电子剂较为特殊的解毒机制是环氧化物和芳烃环氧化物被环氧化物水化酶催化分别生成二醇类及二氢二醇类化合物。其他的解毒方式还有,由DL-黄递酶催化氢醌的双电子还原反应;醇脱氢酶催化 α 、 β -不饱和醛还原成醇,或醛脱氢酶催化 α 、 β -不饱和醛氧化成酸;金属硫蛋白与有巯基反应活性的金属离子形成复合物;具有氧化-还原活性的亚铁离子可为铁蛋白(ferritin)结合解毒。

(3) 自由基的解毒 氧化还原循环产生的最终毒物是 $\text{HO}\cdot$ 。没有酶能消除 $\text{HO}\cdot$,但一些较为稳定的自由基,如过氧化自由基,很容易从谷胱甘肽、 α -生育酚(维生素E)或抗坏血酸(维生素C)获得一个氢原子而成为非自由基。这些抗氧化剂对 $\text{HO}\cdot$ 不起作用,主要原因是 $\text{HO}\cdot$ 的半衰期非常短(10^{-9} s),使 $\text{HO}\cdot$ 很难到达抗氧化剂部位并与其反应。因此,对抗 $\text{HO}\cdot$ 毒性最有效的途径是防止 $\text{HO}\cdot$ 的生成,主要途径是将 O_2^- 转化成 HOOH 以及 HOOH 转化成水的反应偶联起来。第一个反应是由位于脑浆(Cu, Zn-SOD)和线粒体(Mn-SOD)的超氧化物歧化酶(SODs)催化。第二个反应可由位于胞浆的含硒酶(GSH过氧化物酶)催化,或者由过氧化物酶体中的过氧化氢酶催化。由过氧化物酶催化生成的自由基可从谷胱甘肽获得电子而被消除。氧化型谷胱甘肽再由依赖NADPH的谷胱甘肽还原酶还原。因此,谷胱甘肽在亲电子剂以及自由基的解毒过程中起着非常重要的作用。

(4) 亲核剂的解毒 亲核剂一般通过亲核性功能基团的结合反应进行解毒。如羟基化合物与硫酸或葡糖醛酸结合,硫醇类与葡糖醛酸结合,胺类和胍类化合物被乙酰化。这些结合反应可防止过氧化物酶催化亲核剂生成自由基,也可防止酚类、氨基酚类、儿茶酚类以及氢醌类化合物经生物转化形成亲电性醌类及醌亚胺类化合物。消除硫醇类、胺类及胍类化合物的另一机制是含黄素单加氧酶催化的氧化反应。乙醇等醇类化合物可通过醇脱氢酶或醛脱氢酶催化的反应氧化成羧酸而被解毒。硫氰酸酶催化的氰化物生成硫氰酸是较特殊的亲核剂解毒机制。

(5) 蛋白毒素的解毒 胞内或胞外的蛋白酶可能在毒性多肽的解毒中起作用。在蛇毒中发现的几种毒素(如 α 、 β -环蛇毒素,永良部海蛇毒素(erabutoxin),磷酸酯酶)中含有分子内二硫键,这些二硫键是其保持活性必不可少的。硫氧化还原蛋白(thioredoxin)可使上述几种蛋白失活。硫氧化还原蛋白是一种可还原必需二硫键的内源性二巯基蛋白。

前面讨论了外源化学物的代谢活化和代谢解毒过程,外源化学物的多样性决定了其代谢方式的多样性。化学毒物经过代谢转化,大部分是毒性减低,但代谢转化对有的化学毒物却为代谢活化。对机体来说,代谢解毒是消除过程的一部分,使毒物的量减少;而代谢活化则使无毒或低毒的化学毒物转变成高毒性的活性代谢物,可直接与生物大分子反应,引起毒作用。因此,毒理学更重视代谢活化的研究。限于篇幅不能列举所有的代谢途径,但有必要提出一些要点:

(1) 外源化学物的代谢可能涉及连续的步骤。I相反应之后可接着进行一种或几种II相反应。而且,外源化学物可能经历几种I相反应,也可以发生循环的代谢方式或可逆的代谢方式,在进一步的代谢转化中,可能将解毒产物转变成毒性产物。

(2) 很多外源化学物可有多种可能的代谢途径,产生多种生物学活性不同的代谢产物。在这些途径之间、代谢解毒和代谢活化之间的平衡和竞争对于外源化学物的毒性有重要的意义。活性中间代谢产物不稳定,所以在其产生部位附近的生物大分子就成了活性中间代谢产物毒作用的靶。由于肝细胞是体内主要的代谢器官,所以肝脏成为许多外源化学物的靶器官。外源化学物被代谢活化速度与代谢解毒速度之间的平衡就左右着受损害的组织部位和强度。

(3) 外源化学物的代谢可能是解毒,也可能是活化。代谢活化可涉及几个不同的生物转化酶,可涉及I相反应或II相反应,并可需要几个组织的配合或转运到特定部位再进行代谢,甚至包含肠道菌群的生物转化。如肠道菌群催化的硝基还原对某些硝基芳香化学物的毒性起重要的作用。

(4) 某些外来化学物的代谢过程中自身并不转变成活性代谢产物,但伴有氧化应激,生成具有细胞毒性的超氧阴离子、过氧自由基、过氧化氢、羟自由基,如醌的一电子还原等。氧化应激是某些外来化学物毒作用的重要机制。

(5) 机体对外来化学物的代谢能力是有限度的。并且,其代谢反应的速率也可以改变,这可能由于涉及辅因子(如NADPH)和辅底物(如GSH, PAPS, O₂)的供应、在特定组织中酶的浓度、与其他底物(可能为内源性底物)的竞争等。当外源化学物的一种代谢途径的饱和及代谢速率的改变可影响代谢产物在组织中的浓度及化学物原型和代谢产物的半衰期,也可引起中间代谢产物的蓄积,并影响其毒性作用。例如,对乙酰氨基酚(acetaminophen, 扑热息痛)的过氧化物酶依赖性共氧化反应和经P-450催化脱氢的活化代谢产物的解毒是依赖GST催化的GSH结合反应。

大时,可引起谷胱甘肽的耗竭,导致明显毒性反应。对乙酰氨基酚与肝蛋白共价结合的保护作用,对乙酰氨基酚与肝蛋白共价结合与谷胱甘肽的耗竭关系如图2-7。

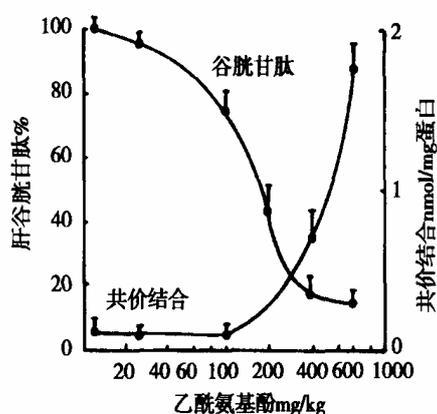


图 2-7 谷胱甘肽在对乙酰氨基酚与肝蛋白共价结合的保护作用

四、重要代谢酶的特征: 举例

1. P-450 P-450是细胞色素P-450的简称(也简称为CYP), 是位于微粒体膜(滑面内质网)上的一组酶。它的名字来源于与CO结合后在450nm处有吸收峰。P-450在动物界的分布非常广泛,种类非常多。曾将肝微粒体诱导型P-450分为苯巴比妥(PB)型和3-甲基胆蒎(3-MC)型(又称P-448)。现在知道P-450是一个蛋白质超家族,其每一种对底物专一性都有特征性谱,其中某些是P-450结构型的,其它的是诱导型的。很多P-450的cDNA和基因结构已经阐明。从对150多种以上的P-450进行的DNA水平和蛋白质一级结构的比较上分析,从细菌到哺乳动物存在一定的同源性。根据Nelson等(1995),P-450基因族有27个,并进一步分为亚族。在哺乳动物存在10个族,除了6个族和甾体合成有关外,4个族与外源化学物代谢有关(表2-3)。人

肝脏主要含15种以上不同的生物转化外源化学物和 / 或内源性底物的P-450(CYP1A2, 2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C18, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4, 3A5, 3A7, 4A9, 和4A11)。涉及外源化学物生物转化的人肝主要P-450的底物、抑制剂和诱导剂举例见表2-3。

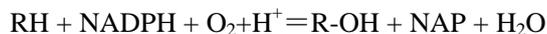
表2-3 人肝主要P-450底物、抑制剂和诱导剂举例

P-450	底物	抑制剂	诱导剂
CYP1A2	乙酰苯胺, 咖啡因	a 茶黄酮	焦牛肉, 吸烟
CYP2A6	香豆素, 丁二烯	二乙二硫氨甲酯	苯巴比妥(PB)
CYP2B6	环磷酸胺	邻甲基苯海拉明	未知
CYP2C8	酰胺咪嗪	槲皮素	未知
CYP2C9	双氯高灭酸, 苯妥英	苯磺唑酮	利福平
CYP2C19	安定, 环己烯巴比妥	反苯环丙胺	利福平
CYP2D6	异喹呱	氟西汀, 洛贝林, 奎尼丁	未知
CYP2E1	乙醇, 亚硝酸胺	氨基三唑, 二甲亚砷	乙醇, 异烟肼
CYP3A4	尼非地平, 二氢吡啶	乙炔雌二醇	地塞米松, PB, 利福平

注: 人肝不表达CYP1A1

P-450是分子量在5000左右, 含铁卟啉环的血红素蛋白。P-450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硫基(S-)。P-450作为I相反应中的主角在完成催化功能时, 本身也需要活化。它需要其他辅助因子, NADPH-细胞色素P-450-还原酶和细胞色素b5向其各提供一个电子, 合计两个电子。

由于P-450催化反应是向外源化学物上加入一个单氧原子, 所以也被称为微粒体单加氧酶(monooxygenase), 也称微粒体混合功能氧化酶(mixed function oxidase)。P-450催化的氧化反应的化学方程简式如下:



此反应的特点是利用NADH将氧分子还原活化后, 使底物(RH)氧化。反应的过程大致如图2-8, 可分为六步: ①静止状态的氧化型P-450中的铁为3价, 和底物结合后, 铁的自由状态发生改变, 极易还原; ②第一个电子加入, 由NADPH-细胞色素P-450还原酶转递来自NADPH中的电子, 使铁变为2价; ③加入分子氧形成氧化型的三重络合物, 氧被还原; ④第二个电子由细胞色素b5供给; ⑤伴随质子的导入, 生成一分子水, O-O键的解离产生了极强的活性氧; ⑥底物和活性氧结合生成羟化的产物ROH, P-450返回静止状态。在此一连串的反应中P-450进行了一次循环。但在关键的步骤中如O-O键如何开裂等还没有完全阐明(图2-8)。P-450的催化机制还有些附加反应, 如果催化循环在不同的步骤中断(解偶联), 则可分别产生一电子还原、生成超氧阴离子、生成过氧化氢和过氧化物旁路。

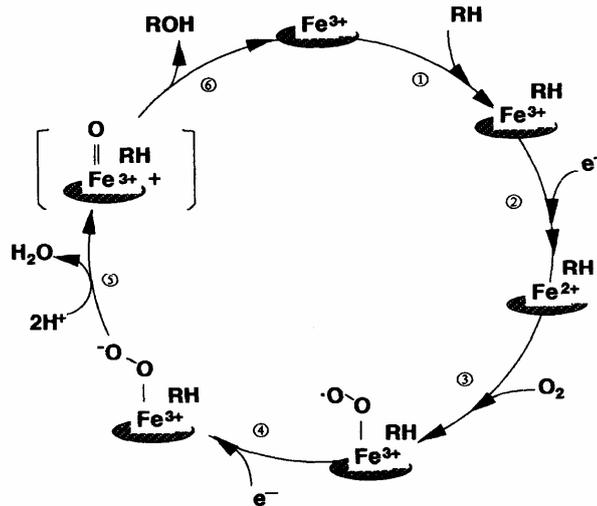


图 2-8 细胞色素 P-450 代谢循环示意图

P-450的诱导和抑制现象是影响外源化学物毒性表现的重要因素，也是多种外源化学物相互作用的机制之一。

2. 谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione-S-transferase, GST)

谷胱甘肽(glutathione, GSH)是体内广泛存在的含巯基(-SH)物质，细胞内的浓度为0.5~10mmol/L。由于-SH基具有亲核性，能与外源化学物的亲电子性中心进行反应，称为谷胱甘肽结合(glutathione conjugation)。谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione-S-transferase, GST)催化GSH与含有亲电子C、N、S、O的外源化学物反应，生成结合物。此结合物比原化学物分子量大大(分子量约增加307)，GSH结合物具有极性和水溶性，可经胆汁排泄，并可经体循环转运至肾。在肾内GSH结合物经一系列酶催化反应转变为硫醚氨酸(mercapturic acid)衍生物，由尿排泄。

GST的底物的共同点为：有一定疏水性，含有亲电子原子，并可与GSH发生非酶反应。与含亲电子性C、N、S和O原子外源化学物的结合反应如图2-9。GST与亲电子性C的反应有3种：①取代反应，从饱和碳原子或杂原子取代裂解的基团，如卤素、硫酸酯、磺酸酯、磷酸酯和硝基；②开环反应，如环氧化物和4元内酯；③加合至活化的双键。

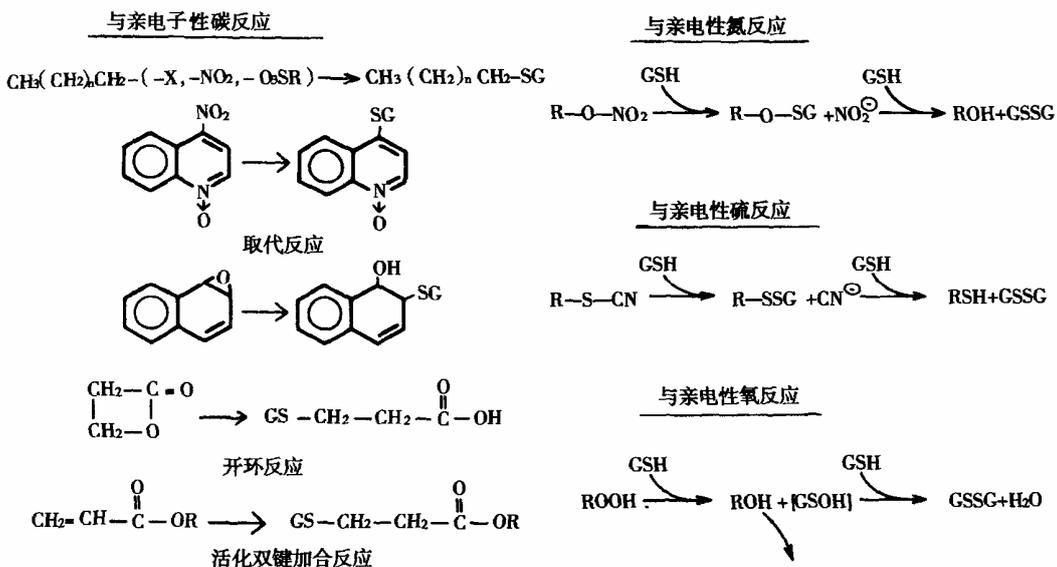


图2-9 谷胱甘肽-S-转移酶(GST)催化的反应

GST主要分布在肝脏、肾脏等器官，GST在细胞内含量很高，可高达细胞总蛋白的10%，主要存在于胞液中，少数种类结合在微粒体和线粒体膜上，GST是可诱导酶。脊椎动物GST种类分为 α 、 μ 、 π 、 θ 和MIC(微粒体)等五群，有的群中还含有几种酶。GST的主要功能是催化GSH和外源化学物结合反应。GST催化的GSH结合反应是亲电子剂解毒的一般机制，并在自由基解毒中也起重要作用。但也有少数外源化学物经GSH结合而活化，如二氯甲烷、二溴乙烷等。另外，GST也作为致癌物、激素和血红素等的结合性蛋白(ligandin)，起暂时的贮存作用。GST的其他生理功能还有待阐明。

五、影响生物转化的因素

代谢是化学物毒作用的决定因素。很多因素可影响外源化学物生物转化，包括机体的遗传生理因素和环境因素两大类。代谢酶的研究是药物遗传学(Pharmacogenetics)中非常活跃的领域。

遗传生理因素有动物的物种、性别、年龄等，常体现在代谢酶的种类、数量和活性的差异上，代谢酶的多态性也是影响毒性反应个体差异的重要因素。各种环境因素主要通过影响代谢酶和辅酶的合成过程以及催化过程来干扰外源化学物的生物转化，如代谢酶的诱导和抑制。另外，其他影响因素还有营养状态、疾病等。

1. 代谢酶多态性 外源化学物代谢酶的遗传差异是不同个体间和种族间对外源化学物的毒性和肿瘤易感性差异的原因之一。生物转化的I相酶和II相酶均存在多态性，已成为毒理学研究的热点。

人类CYPIA1基因位于15号染色体15q22~24，CYPIA1基因含7个外显子，全长6311碱基对，而mRNA长2592碱基对，编码含512个氨基酸的蛋白(分子量58151)，基因结构见图2-10。CYPIA1存在着3种多态性，其等位基因遗传型与3'端限制性内切酶MspI位点的存在或缺失有关。基因型A为占优势的纯合体，其3'端MSPI位点缺失，限制性片段长度多态性(RFLP)特点为2.7、2.3和0.8kb；基因型C是少见的纯合体等位基因，其MSpi位点胸腺嘧啶核苷被胞嘧啶核苷取代，RFLP特点为2.7、1.9和0.8kb；基因型B是基因型A和C的杂合体，RFLP特点为2.7、2.3、1.9和0.8kb。CYPIA1基因组在两处可发生突变：m1，即第7外显子下游1.194kb位置的胸腺嘧啶核苷被胞嘧啶核苷取代；m2，即第7外显子4.889kb位置腺嘌呤核苷被鸟嘌呤核苷取代，由此导致靠近血色素结合区异亮氨酸被缬氨酸取代。

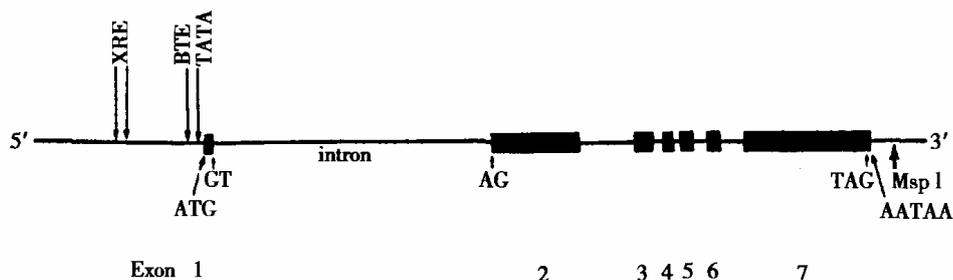


图2-10 人CYPIA1的基因结构

注：黑块为外显子，外显子之间是内含子。调节产物结合部位包括BTE(基本转录单元)和XREW(外源化学物质反应单元)，ATG和TAG是编码区开始和终止标志，GT和AG是内含子的边界，儿AANTAA是polyA尾的信号。MspI为正文所述的多态部位。

CYPIA1基因非编码区MSPi限制性内切酶酶切位点多态和第7外显子点突变引起的异亮氨酸(Ile)-缬氨酸(Val)多态与肺癌易感性有关，有关的报告很多。例如，日本正常人群中CYPIA1基因型A所占的比例为44%、B为45%、C为11%，而肺癌患者基因型C的比例为22%，高于正常对照组2倍；基因型C肺癌易感性的相对危险度比基因型A和B大7.31倍。国内，皮静波等报告，Val / Val型患肺癌的危险度是非Val / Val型的2.2倍。胡毅玲等报告，MspIC型

患肺癌的危险度是其他基因型的2.43~2.91倍，MspIC型可能是非吸烟者肺癌易感性的遗传标志。

谷胱甘肽S转移酶(GST)的基因型多态性也与肿瘤易感性差异有关。dErrico等(1996)根据已发表的11篇报道进行统计学分析，发现GSTMI基因完全缺失与肺癌危险度相关的比数为1.6。而且，CYPIA1和GST基因的协同作用可增加肺癌的危险度。Kihara报告日本人CYPIA1(m2 / m2)和GSTM1(+)基因型患肺癌的危险度是3.2，而CYPIA1(m2 / m2)和GSTM1(-)患肺癌的危险度高达21.9。目前，与肿瘤的易感性有关的基因多态性研究结果见表2-4。

很早就知道在降压药胍嗪啉的4位羟化反应存在着个体差异。从尿中的代谢产物分析发现有些人此羟化反应能力低，称为弱代谢者。后来发现，弱代谢者位于第22条染色体上的P-4502D6基因发生了突变或丢失，使其产生缺乏正常功能的酶。

2. 外源化学物代谢酶的诱导 诱导(induction)指有些外源化学物可使某些代谢过程催化酶系的酶蛋白的合成量增加，伴有活力增强。能引起酶诱导的物质称为诱导剂(inducer)。虽然酶诱导是机体应激反应的一个侧面，但其机制还不十分清楚。

表2-4 肿瘤的遗传易感性研究结果

基因多态性 (易感表型)	底物	暴露因素	相对危险度 OR	肿瘤类型
CYPIA1(高诱导性)	多环芳烃(PAHs)	吸烟	7.3	肺癌
CYPIA2(高诱导性)	芳香胺, PAHs、黄曲霉毒素、 亚硝酸	吸烟	>2	直肠癌
CYP2D6(高活性型)	亚硝酸	吸烟, 石棉	2.8~18	肺癌
N—乙酰转移酶 (慢乙酰化型)	芳香胺	芳香胺	2	膀胱癌 直肠癌
GST—μ (缺失)	PAHs 黄曲霉毒素	吸烟	1.7~3 1.7~6	肺癌 膀胱癌

P-450系的诱导剂有5类，即：①巴比妥类，如苯巴比妥(phenobarbitl, PB)诱导2B 1 / 2、2C、3A1 / 2；②多环芳烃类，如3-甲基胆蒎(3-methylcholarene、3MC)、TCDD、(2, 3, 7, 8-四氯二苯二噁烷，二噁英)等，诱导1A 1 / 2；③醇 / 酮，如乙醇、异烟肼，诱导2E1；④甾类，如孕烯醇酮16α-甾、地塞米松，诱导3A 1 / 2；⑤氯贝特(安妥明)类过氧化物酶体诱导剂，诱导4A 1 / 2。此外，多氯联苯(PCB，如Arochlor 1254)兼有PB和3MC样诱导作用。

有关酶诱导机制目前尚未完全清楚，不同诱导剂的诱导机制不同。PB类化学物诱导的伴有内质网的增生和酶蛋白合成的增加，同时也可能刺激mRNA的合成并降低酶的分解速度。而3MC类则不能使内质网增生、也不能降低酶的分解速度。P-450诱导一般都是增加转录水平活性。如外源化学物(TCDD)和3MC在对P-450 CYPIA1 / 1A2的诱导过程中，这些化学物首先和存在于脑浆中从受体结合形成复合体，复合体转运到细胞核内作用于P-450IA1基因上游的转录活化因子，增强CYPIA1 / 1A2基因的转录。PB诱导CYP2B1 / 2B2也是在转录水平上进行。除P-450系外，其他一些生物转化酶也可被诱导，见表2-5。

表2-5 P-450系以外的其他生物转化酶的诱导剂

生物转化酶	诱导剂
葡萄糖醛酸基转移酶	PB, 3MC, TCDD, PCB
NADPH-P-450 还原酶	PB, PCB, 异黄樟素
环氧化物水化酶	PB, 3MC, PCB, 异黄樟素
谷胱甘肽转移酶	PB, 3MC, TCDD
细胞色素 b5	2—乙酰氨基苄, 二丁基羟基甲苯(BHT)

肉碱乙酰转移酶
过氧化氢酶

氯贝特
氯贝特, 邻苯二甲酸盐

诱导剂对外源化学物代谢和毒作用的影响可有以下几种:

(1) 如果化学物仅经一个途径代谢, 诱导可增加其代谢速率。如该化学物经此途径代谢解毒, 诱导可降低毒性。例如, 用苯巴比妥(PB)诱导肝P-450系, 可以促进甲苯的代谢解毒。相反, 如该化学物经此途径代谢活化, 酶诱导则可以促进和加强该化学物的毒作用。例如, 3MC诱导能促进BaP的致癌作用。

(2) 如果化学物经几个途径代谢, 而仅有一个途径被诱导, 诱导可改变这些代谢途径间的平衡, 增强或降低毒性。

(3) 如被诱导的同工酶不涉及某化学物的代谢, 则诱导不影响该化学物的代谢。

(4) 诱导还可能改变酶促反应的立体化学特异性。

3. 外源化学物代谢酶的抑制

许多化学物对代谢酶产生抑制作用。抑制作用可以分为几种类型。

(1) 抑制物与酶的活性中心发生可逆或不可逆性结合。如 α , β -二乙基氨基苯丙基乙酯(SKF-525A)和胡椒基丁醚与P-450的结合而抑制其活性。对氧磷能抑制羧酸酐酶, 以致马拉硫磷水解速度减慢, 加强马拉硫磷的生物学作用, 表现为对昆虫杀虫效果增强, 对人畜毒性增高。一氧化碳可与P-450结合, 引起变构作用, 阻碍其与氧结合。

(2) 两种不同的化学物在同一个酶的活性中心发生竞争性抑制。如1, 2-亚乙基二醇和甲醇中毒, 此两种化学物经醇脱氢酶催化代谢而导致毒性, 临床上给予乙醇治疗, 因乙醇与此酶有更大的亲和力, 故可降低1, 2-亚乙基二醇和甲醇的代谢和毒性。

(3) 减少酶的合成, 如氯化钴抑制涉及血红素合成的 δ -氨基酮戊酸合成酶, 并增加血红素氧化酶活性, 故可抑制P-450系统活性。

(4) 破坏酶。如, 四氯化碳、氯乙烯、胂等的代谢产物可与P-450共价结合, 破坏其结构和功能。

(5) 缺乏辅因子, 马来酸二乙酯可耗尽GSH, 抑制其他化学物经GSH结合代谢。

第六节 排 泄

排泄指外源化学物被排出机体外的过程。外源化学物的排泄途径主要有从肾脏排到尿和肝脏经胆汁排到粪便中的途径, 其他还有肺脏(呼气)、皮肤(汗、皮脂)、乳汁、唾液和泪液等。机体的排泄能力是影响毒性表现的重要因素之一, 因为排泄是决定体内外源化学物浓度变化速度的因素之一。外源化学物在体内的量减少到二分之一时所需的时间称为生物半衰期(biological half time, $t_{1/2}$)。实际上, $t_{1/2}$ 多用于表示化学物血浓度的半衰期, 是衡量外源化学物在体内消除速度的尺度。值得提出的是肾脏、肝脏、肺、乳房、皮肤等都有各自的代谢和排泄特点, 排泄器官也可能是外源化学物的靶器官。

一、肾脏排泄

肾脏是水溶性化学物或其代谢产物的主要排泄器官。肾脏排泄机制主要有三种, 即肾小球过滤、肾小管分泌和肾小管再吸收。随血液循环到达肾脏的外源化学物在肾小球过滤, 或者被近曲小管主动分泌到肾小管中, 再运到远曲小管。如果在远曲小管没有被再吸收, 就可经尿排泄。尿排泄是以上三种过程的总和, 可用下式简单表示。

尿排泄: 肾小球过滤+肾小管分泌-肾小管再吸收

1. 肾小球过滤 肾小球的毛细血管壁不同于一般细胞膜, 具有7~8nm大小的微孔。血液成分中分子量在50 000以下的物质都可以过滤。大分子物质如血浆白蛋白(分子量约56 000)基本上不能通过。从分子量上推论一般外源化学物是可以过滤的, 但与血浆蛋白结合以及生

理体液酸碱度时的荷电状态可影响滤过率。由于与血浆蛋白结合后很难过滤，所以外源化学物的血浆蛋白结合率变动会引起肾脏排泄的变动。带负电荷的外源化学物不易滤过，而带正电荷的物质容易过滤到原尿中。

2. 肾小管分泌 肾小管具有主动转运功能，包括有机阴离子和有机阳离子的两套系统，可以逆浓度梯度将外源化学物从近曲小管的毛细血管中主动转运到小管液中，称为肾小管分泌。经有机阴离子主动转运载体分泌的有对氨基马尿酸、青霉素和水杨酸等。经有机阳离子主动转运载体分泌的有四乙胺和N-甲基烟酰胺。近曲小管的刷状缘膜上的P-糖蛋白也被认为是外源化学物的主动分泌机制之一。如主动转运载体被抑制，会使相应化学物的血中浓度上升。

3. 肾小管再吸收 经肾小球过滤后的滤液中含有许多机体必需物质，肾小管重新吸收这些物质送回到血液中。例如，葡萄糖几乎完全再吸收，钠离子等也大部分再吸收。而原尿中外源化学物的浓度增加，脂溶性的外源化学物也会以被动扩散等方式再吸收。这种再吸收的机制和胃肠道的吸收机制相似，受外源化学物的脂溶性和尿的pH值的影响。一般，外源化学物在生物转化后成为极性更大的高水溶性代谢产物，再吸收比较困难。

影响外源化学物的肾脏排泄因素除了外源化学物及代谢产物的脂溶性、解离常数外，还包括肾脏的血流量、血浆蛋白结合程度、尿量和尿的pH值等。

二、肝胆排泄

肝脏除了作为外源化学物代谢的主要器官外，也是外源化学物排泄的器官之一。进入肝脏实质细胞的外源化学物以及代谢后的结合产物，会被主动地转运到胆汁中，随胆汁排入十二指肠。对外源化学物向胆汁中排泄的机制还不十分清楚。肝胆排泄是具有一定分子量、水溶性强和一定程度的脂溶性外源化学物的主要途径。一般葡萄糖醛酸、谷胱甘肽和甘氨酸结合的分子量较大的外源化学物容易经肝胆排泄。大鼠肝胆排泄的化学物分子量在300以上，人类为500以上。而分子量较小的外源化学物主要由肾脏排泄。中等分子量的物质在两种器官都有排泄。肝脏的代谢和排泄可阻挡经胃肠道吸收的化学物进入全身循环的作用(首过效应)。从其他吸收途径进入血液循环的外源化学物也要分布到肝脏被代谢和排泄。

经肝胆排泄到肠腔内的葡萄糖醛酸等结合物由于水溶性高，不易被肠道重吸收，会从粪中最终排出。但是在下段肠道中，经粘膜和肠内菌丛的水解酶如葡糖苷酶的作用下，结合物会被分解，外源化学物再次游离，被肠道吸收经肝门静脉重新进入肝脏。这种现象被称为肠肝循环(enterohepatic circulation)。肠肝循环的存在会使外源化学物在血液中持续的时间延长，同时也经历更多的代谢变化。如甲基汞的GSH结合体可在胆道被 γ -谷氨酰转肽酶分解成为CySMM，在肠道再吸收。

由肠内菌丛的水解酶将由II相反应后的结合物水解的反应也称为III相反应。一般，这是第II相反应的逆反应，使外源化学物再次游离成非极性物质。当然，菌丛也会催化其他的生物转化反应，如大鼠肝致癌物2,6-二硝基甲苯的代谢和肠肝循环见图2-11。二硝基甲苯的生物转化从肝开始，经P-450氧化后与葡萄糖醛酸结合成葡糖苷排入胆汁，由肠道菌群进行生物转化，一个或两个硝基被硝基还原酶还原成胺，葡糖苷为 β -葡糖苷酶水解。水解后的代谢物被重吸收转运至肝，新生成的氨基由P-450催化N-羟化，并可乙酰化或与硫酸结合。这些结合物可裂解生成高度反应性的氮翁离子，攻击DNA，引起突变和肝肿瘤。

三、肺排泄

经呼吸道吸入的，在体内不能被代谢的气态外源化学物和经其他途径吸收的挥发性外源化学物(如四氯化碳)都会经肺排到肺泡腔内随呼气排泄。肺排泄的机制主要是单纯扩散方式，肺排泄的速度取决于肺泡壁两侧的气体分压差的大小，血/气分配系数小的外源化学物经肺排出速度快。血液中溶解度低的乙醚和氯乙烯经肺排泄较快，而溶解度高的氯仿排泄较慢。

粘附到气管、支气管和细支气管壁的气溶胶颗粒可随粘膜上的纤毛运动向上排出，此为呼吸系统的一种防御功能。但是，如粘液被吞咽，又会从消化道再吸收。

四、乳汁排泄

外源化学物主要以单纯扩散的方式“排泄”到乳汁中。由于乳汁富含脂肪并通常偏酸性 (pH 6.5~7.0), 所以脂溶性物质及弱碱性化学物容易在乳汁中浓集。已知有数十种以上的外源化学物可随乳汁排泄。通过哺乳可能使乳儿接触外源化学物及其代谢产物, 特别是毒性极大的二噁英类物质向乳汁中的排泄在毒理学上有重要意义。通过牛奶等乳制品也会使人接触污染在乳汁中的外源化学物。

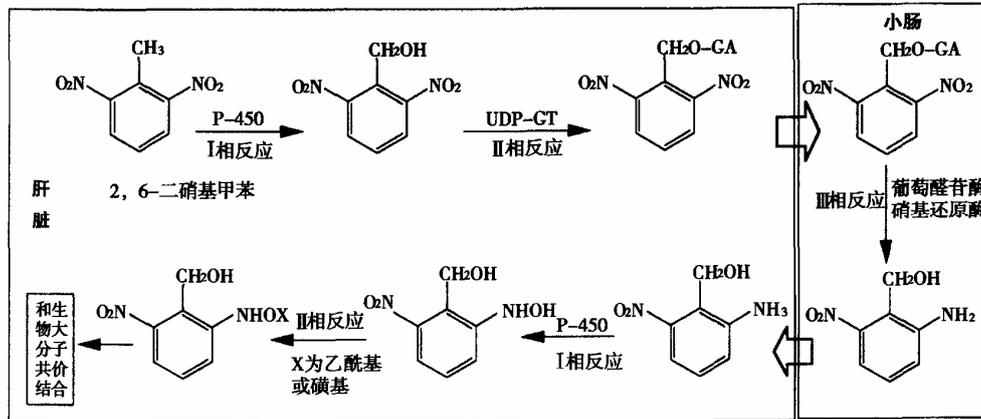


图2-11 二硝基甲苯经肝和肠道菌群代谢活化

五、其他排泄途径

外源化学物向汗液和唾液的排泄量较少。随汗液分泌排泄时可能引起皮肤的炎症。随唾液排泄时, 会被吞咽到消化道重吸收。虽然汗液、唾液和毛发不是主要的排泄途径, 但是可以利用这些途径对外源化学物和代谢产物进行检测, 而且是无创性采样。例如, 唾液中的外源化学物可以反映血浆中游离型外源化学物的浓度。唾液也偏酸性 (pH 6.5~6.9), 所以弱碱性外源化学物如尼古丁和咖啡因在唾液可浓集。头发是处在不断向体外生长的皮肤附属器官之一。由于头发的特殊组成使其能够和一些外源化学物(如重金属、砷等)结合。利用头发生长速度较恒定的特点, 可以推测机体过去接触外源化学物的时间和剂量, 是最常用于检测的生物材料之一。

机体对外源化学物的处置过程为毒动学, 毒动学和毒效学反映外源化学物与机体的相互作用。毒动学是影响毒效应的重要因素, 在外源化学物与机体相互作用的整个过程都有机体的抗损伤现象。如外源化学物在吸收过程中有生物膜的屏障和首过效应的抵抗、在分布到靶器官的过程中有血浆蛋白的暂时结合和血-器官屏障; 机体有代谢解毒过程等。但是, 在生物转化过程中的代谢活化, 在排泄过程中有肠肝循环的再吸收等对机体不利因素。外源化学物的体内动力学过程是决定外源化学物靶器官的重要因素, 在很大程度上调控着终毒物的体内浓度和靶器官内浓度。除外源化学物自身的理化特性外, 机体对外源化学物的处置能力和细胞组织的修复及代偿能力综合地影响着毒效应的程度和严重性。

(史永亮 王枫)