



سم‌شناسی و پایش بیولوژیک (مفهوم و کاربرد ارتباط دوز - پاسخ)

دکتر نادر رحیمی

دانشکده بهداشت
دانشگاه علوم پزشکی ایلام

مواجهه

✓ منابع قرار گرفتن در معرض مواد شیمیایی



- محیطی
- شغلی
- درمانی
- غذایی
- تصادفی
- عمدی

مواجهه

✓ برای اینکه یک ماده شیمیایی اثر بیولوژیکی ایجاد کند، ابتدا باید به فرد مورد نظر برسد (مسیر قرار گرفتن در معرض).

✓ سپس ماده شیمیایی باید به محل مورد نظر در بدن برسد (توکسیکوکینتیک).

✓ سمیت تابعی از **دوز موثر** (چه مقدار) یک ماده شیمیایی (زنوبیوتیک) در **محل هدف** در طول **زمان کافی** (چه مدت) است.

"اثر سمی در یک سیستم بیولوژیک توسط یک ترکیب شیمیایی ایجاد نمی‌شود مگر آنکه عامل سمی یا متابولیت فعال آن به **جایگاه اثر خود** در بدن رسیده و **غلظت لازم** را برای یک **مدت زمان کافی** جهت تولید علائم سمی ایجاد کند."



Dose

The **Key** Concept in Toxicology



✓ پاراسلسوس: پدر علم سم‌شناسی نوین

"همه مواد سمی هستند، هیچ ماده‌ای وجود ندارد غیر سمی باشد، فقط دوز آن را غیر سمی می‌کند."

دوز به تنهایی سمیت را تعیین می‌کند.

همه مواد شیمیایی، مصنوعی یا طبیعی ظرفیت سمی بودن را دارند.

Dose

"تمام فعل و انفعالات بین مواد شیمیایی و سیستم های بیولوژیکی از یک رابطه **دوز-پاسخ** پیروی می کنند"



➤ ساکرامنتو، کالیفرنیا - دفتر پزشکی قانونی روز شنبه اعلام کرد:

یک شرکت کننده ۲۸ ساله به نام جنیفر استرنج ساعاتی پس از شرکت در مسابقه بر اثر مسمومیت با آب درگذشت.



Dose

	Beneficial Dose	Toxic Dose
Aspirin	300 – 1,000 mg	1,000 – 30,000 mg
Vitamin A	5000 units/day	50,000 units/day
Oxygen	20% (Air)	50 – 80% (Air)



رابطه دوز-پاسخ (Dose-Response Relationship)

✓ اساسی ترین و فراگیرترین مفهوم در سم شناسی که رابطه کمی بین غلظت یک زنبویوتیک در بدن و میزان تأثیر بیولوژیکی آن است.

✓ رابطه دوز-پاسخ بیانگر این مطلب است که تغییر در مقدار باعث تغییر متناسب و غیر تصادفی در پاسخ می شود.

✓ این تغییر هم شامل شدت پاسخ و هم شامل درصدی از افراد که به یک سطح خاص اثر، پاسخ می دهند می باشد.

➤ به عنوان مثال:

- تعداد حیوانات مورد آزمایشی که در اثر یک ترکیب سمی می میرند با افزایش مقدار ترکیب افزایش می یابد.
- همچنین شدت پاسخ مشاهده شده در هر حیوان با افزایش مقدار ترکیب، افزایش می یابد تا جایی که آستانه سمیت (مرگ) فرا برسد.

اجزای اصلی آزمایش‌های مولد اطلاعات دوز-پاسخ

۱. انتخاب موجود زنده مورد آزمایش: (سلول، گونه‌های باکتری، گیاهان، جانوران عالی)
۲. انتخاب پاسخ مورد اندازه‌گیری (و روش اندازه‌گیری آن): (تغییر ناچیز در فیزیولوژی یا رفتار موجود زنده تا مرگ)
۳. مدت زمان مواجهه: (چند ساعت تا چند سال)
۴. طول مدت آزمایش: (مدت مواجهه)
۵. سری مقادیر مورد آزمایش: (سطح‌بندی مقدار)

- هر پنج جزء یک آزمایش سمیت مواد شیمیایی ممکن است در منحنی دوز-پاسخ ایجاد شده دخیل باشند.

سمیت کلروفرم در مطالعات تنفسی

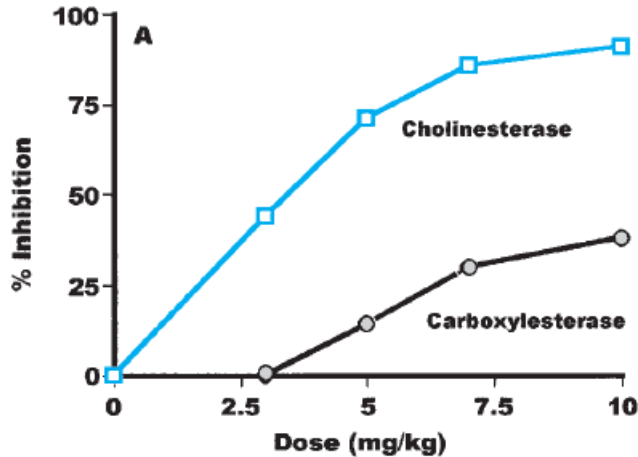
Species	Toxicity of Interest	Duration of Exposure	Exposure/Dose (ppm)
Mouse	No effect—liver	6 h/day for 7 days	3
Mouse	Mild liver damage	6 h/day for 7 days	10
Mouse	Severe liver damage	6 h/day for 7 days	100
Mouse	No effect—kidneys	6 h/day for 7 days	100
Mouse	Mild kidney injury	6 h/day for 7 days	300
Mouse	No effect—respiratory	6 h/day for 7 days	300
Rat	No effect—respiratory	6 h/day for 7 days	3
Rat	Nasal injury	6 h/day for 7 days	10
Rat	No effect—kidneys	6 h/day for 7 days	10
Rat	Mild kidney injury	6 h/day for 7 days	30
Rat	No effect—liver	6 h/day for 7 days	100
Rat	Mild liver damage	6 h/day for 7 days	300

✓ در این مثال: محقق با فرض اینکه هر دو گونه روابط دوز-پاسخ یکسانی دارند، ممکن است پس از شناسایی سمیت کبدی به عنوان حساس‌ترین اندام هدف در موش، تنها از آزمایش‌های بالینی سمیت کبدی به عنوان نشانگر زیستی برای غلظت‌های ایمن در موش استفاده کند.

✓ با پیروی از این منطق و با استفاده از مطالعه روی رت محقق ممکن است به اشتباه به این نتیجه برسد که غلظت کلروفرم 100 ppm کاملاً برای این دو گونه بی‌خطر است (زیرا سمیت کبدی ندارد)، در حالی که این سطح می‌تواند باعث آسیب بینی و کلیه شود.

منحنی دوز-پاسخ

اثر سم ارگانوفسفره بر مهار آنزیم در یک فرد



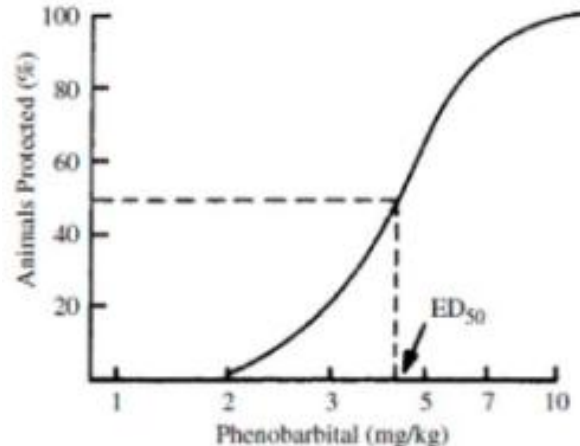
✓ از منظر عملی، دو نوع رابطه دوز-پاسخ وجود دارد:

۱- رابطه دوز-پاسخ فردی (Individual dose-response relationship)، که پاسخ یک ارگانسیم فردی به دوزهای مختلف یک ماده شیمیایی را توصیف می‌کند، که اغلب به عنوان پاسخ "درجه‌بندی شده" شناخته می‌شود، زیرا اثر اندازه‌گیری شده در طیف وسیعی از دوزها پیوسته است.

۲- رابطه کمی دوز-پاسخ (Quantal dose-response relationship)، که توزیع پاسخ‌های فردی به دوزهای مختلف را در جمعیتی از ارگانسیم‌های منفرد مشخص می‌کند.

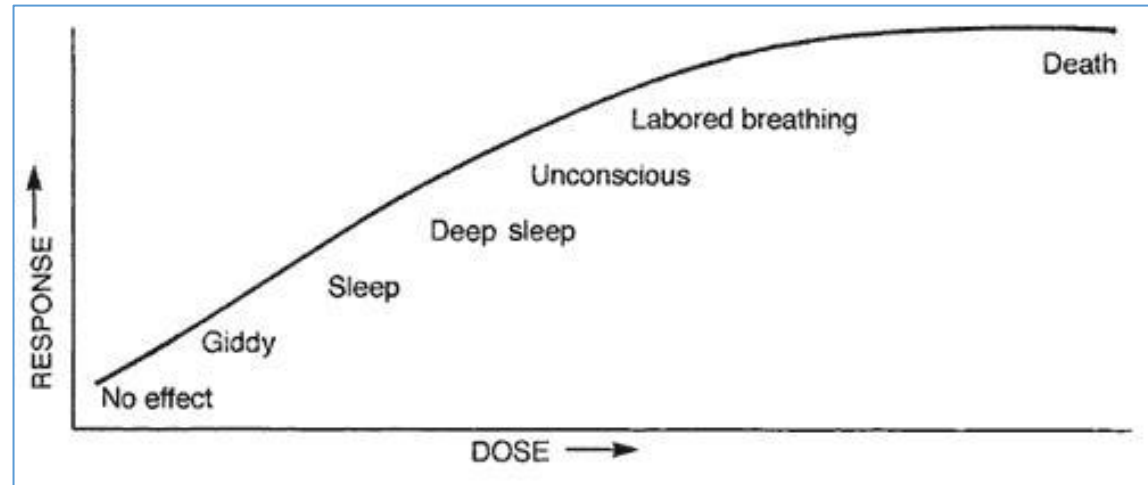
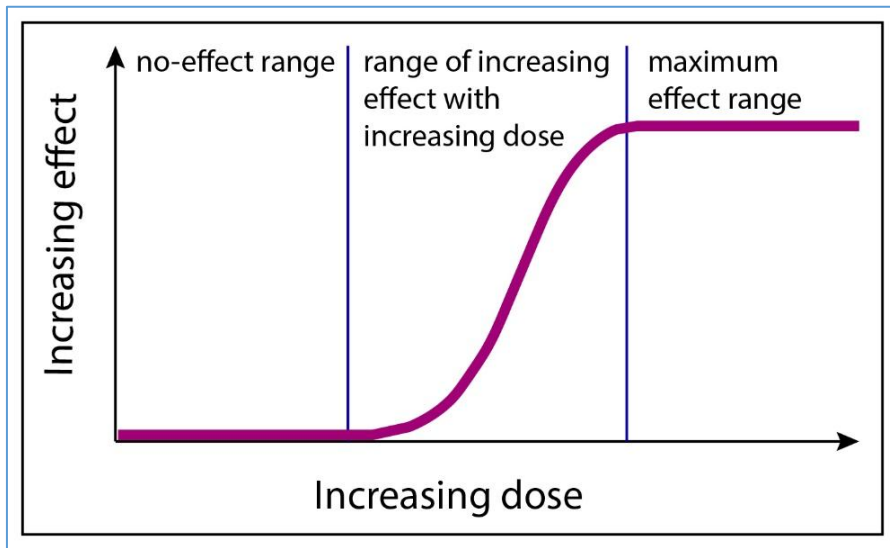
- روابط دوز-پاسخ در یک جمعیت طبق تعریف کمی - یا «همه یا هیچ» - ماهیت دارند. یعنی در هر دوز معین، یک فرد در جمعیت به عنوان "پاسخ دهنده" یا "بدون پاسخ" طبقه‌بندی می‌شود.

اثر فنوباربیتال در مهار تشنج در یک جمعیت

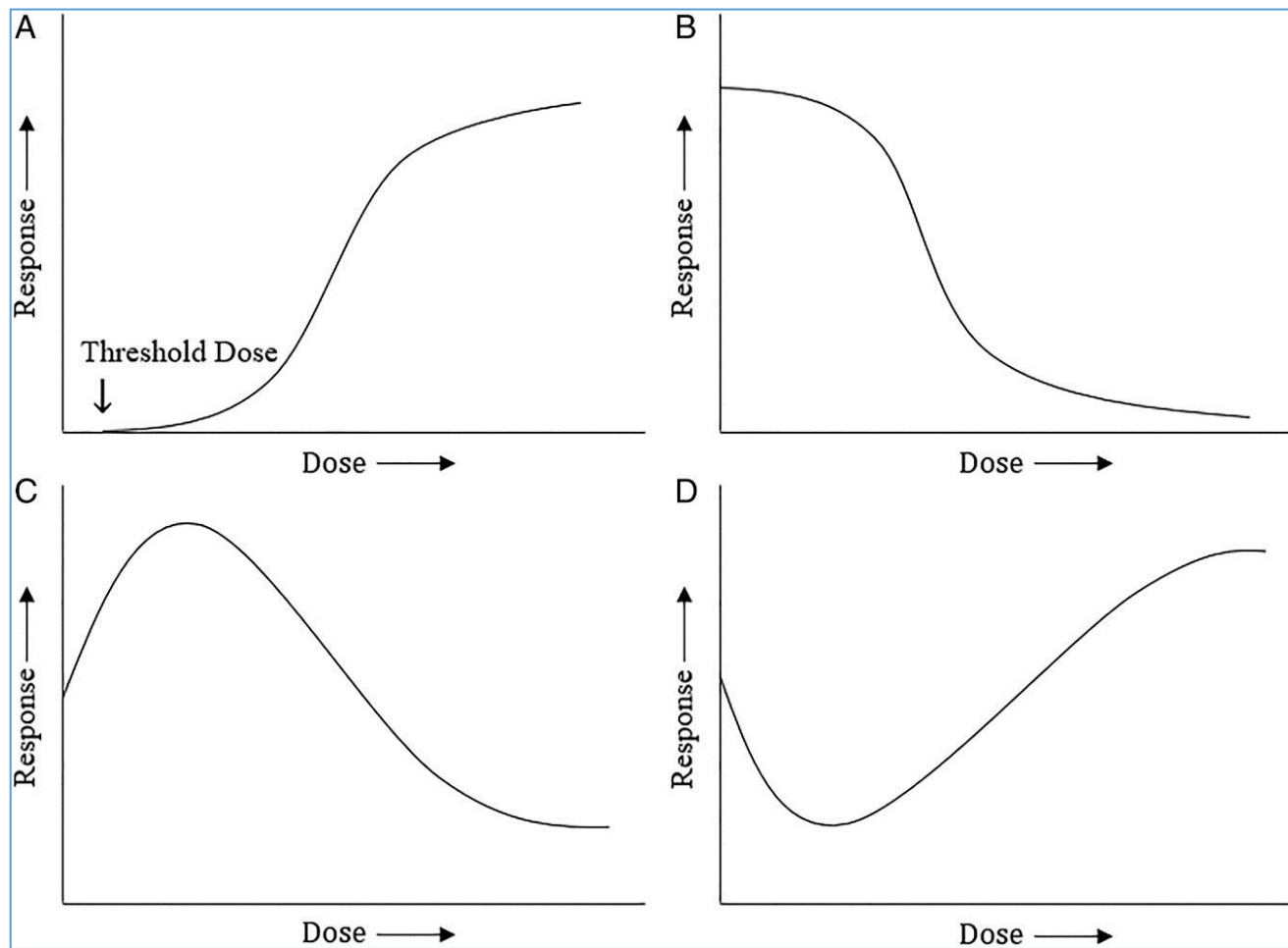


منحنی دوز-پاسخ (Dose-Response Curves)

✓ **منحنی دوز-پاسخ**، نمایش گرافیکی رابطه بین دوز دارو (سم) در مقابل اثراتی است که دارو (سم) بر روی سیستم آزمایش شده اعمال می‌کند و بزرگی پاسخ، اعم از درمانی یا سمی را نشان می‌دهد.



منحنی دوز-پاسخ



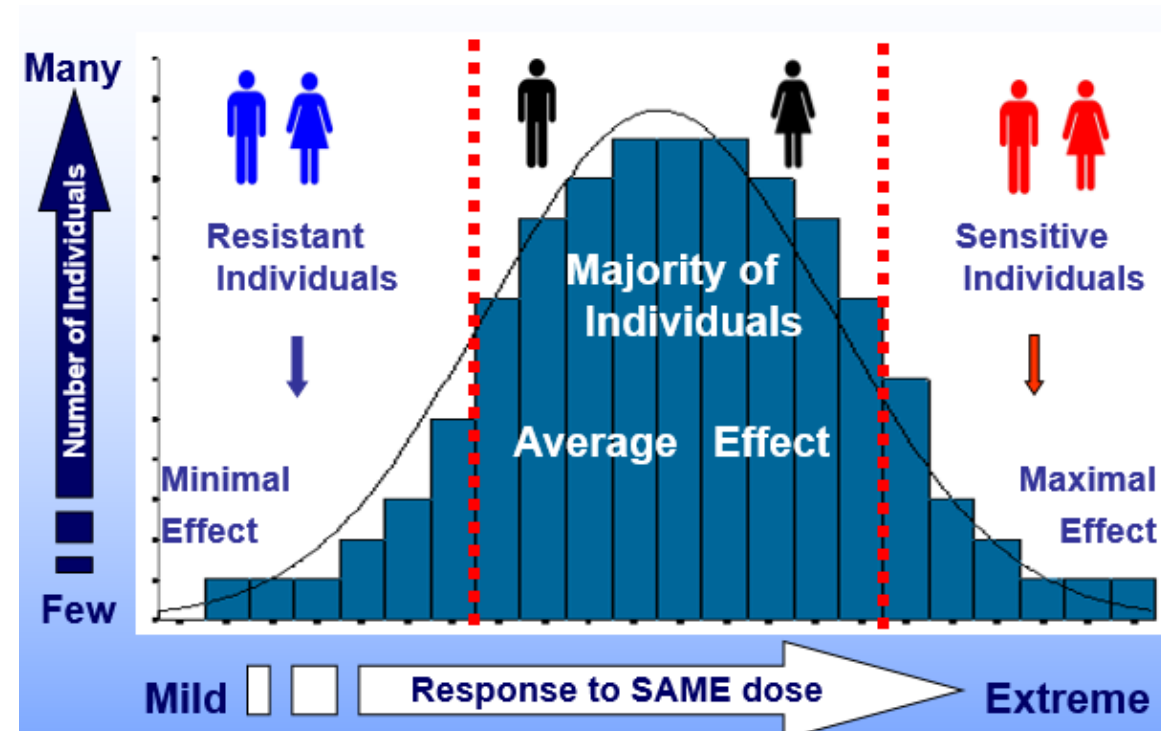
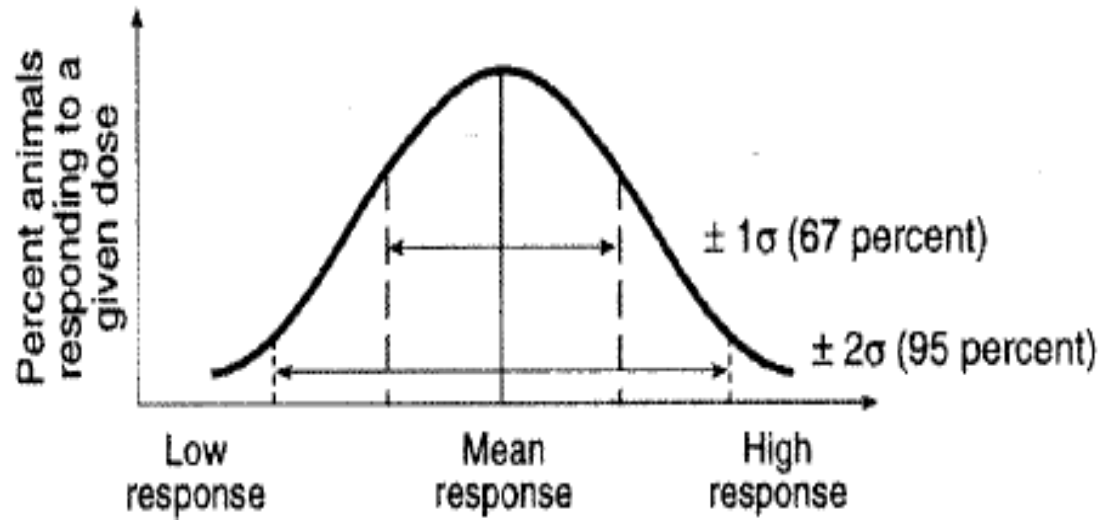
منحنی دوز-پاسخ

✓ کاربرد منحنی‌های دوز - پاسخ در سم‌شناسی:

- تعیین سطوح ایمنی تماس با مواد شیمیایی
- کسب اطلاعات در زمینه سمیت نسبی آنها
- برای تعیین شاخص‌هایی مانند: **دوز آستانه، LOEL، NOAEL، LD50، LC50**، سطح ایمنی مواجهه و...
- رسم میزان مرگ میر ناشی از یک ترکیب سمی در مقابل دوز آن
- سمیت نسبی ترکیبات‌های شیمیایی
- هدف اصلی مطالعات سم‌شناختی برقراری رابطه علت و معلول بین مواجهه با ترکیب سمی و اثر مشاهده شده می‌باشد.

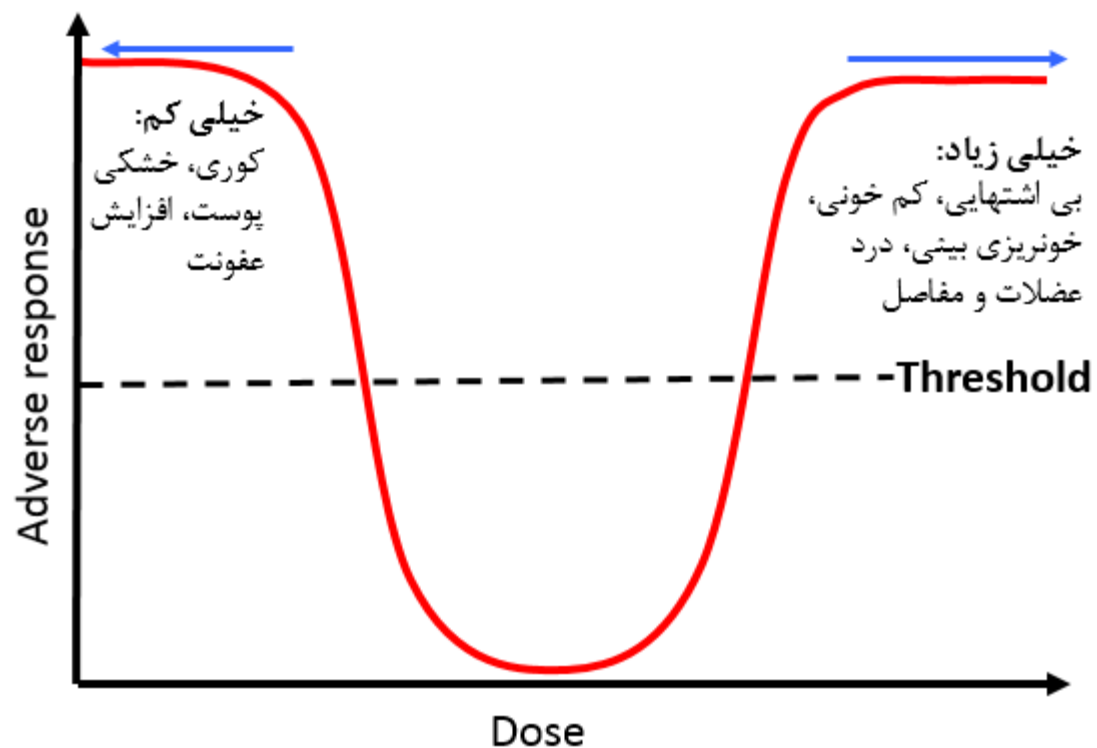
Population Dose-Response

✓ نه تنها پاسخ به یک ماده شیمیایی در گونه‌های مختلف متفاوت است، بلکه پاسخ در گروهی از افراد مورد آزمایش از یک گونه نسبت به یک دوز معین هم متفاوت است.



اثر هورمزیس (Hormesis)

✓ برخی از مواد شیمیایی هم اثرات درمانی و هم سمی دارند مانند ویتامین A



LD50 و LC50

- ✓ **LD50 (دوز کشنده ۵۰٪):** دوزی است که در آن انتظار می‌رود ۵۰٪ از حیوانات مورد آزمایش بمیرند.
- ✓ برای سمیت استنشاقی، از غلظت هوا برای مقادیر قرار گرفتن در معرض استفاده می‌شود. بنابراین، از **LC50 (غلظت کشنده ۵۰٪)** استفاده می‌شود.
- ✓ LD50 و LC50 معمولاً از مطالعات سمیت حاد به دست می‌آیند.

✓ واحدهای LD50 و LC50:

- **LD50:** mg/kg (میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) - mg/kg/d (میلی گرم ماده به ازای هر کیلوگرم وزن بدن است که در روز تجویز می‌شود).
- **LC50:** mg/L (میلی گرم در لیتر): غلظت تخمینی یک ماده در هوا است که از طریق مسیر استنشاقی تجویز می‌شود. گاهی اوقات از ppm استفاده می‌شود.

▪ مقدار کمتر LD50 و LC50 نشان دهنده سمیت حاد بالاتر است.

NOEL and NOAEL

✓:No Observed Effect Level (NOEL)

- سطح بدون اثر قابل مشاهده

✓:No Observed Adverse Effect Level (NOAEL)

- سطح بدون اثر نامطلوب قابل مشاهده

- بالاترین سطح مواجهه است که در آن هیچ افزایش بیولوژیکی قابل توجهی در فراوانی یا شدت اثر نامطلوب بین جمعیت در معرض و کنترل مناسب آن وجود ندارد. برخی از اثرات ممکن است در این سطح ایجاد شود، اما آنها اثرات نامطلوب در نظر گرفته نمی‌شوند.

- NOAELها بسیار مهم هستند. آنها برای بدست آوردن دوز آستانه مواجهه ایمن برای انسان مانند سطح بدون اثر مشتق شده (DNEL)، حد مواجهه شغلی (Occupational Exposure Limit, OEL) و مقدار دریافتی روزانه قابل قبول (مجاز) (Acceptable Daily Intake, ADI) استفاده می‌شوند.

- NOAEL بالاتر نشان دهنده سمیت سیستمیک کمتر یا سمیت مزمن کمتر است.

LOEL and LOAEL

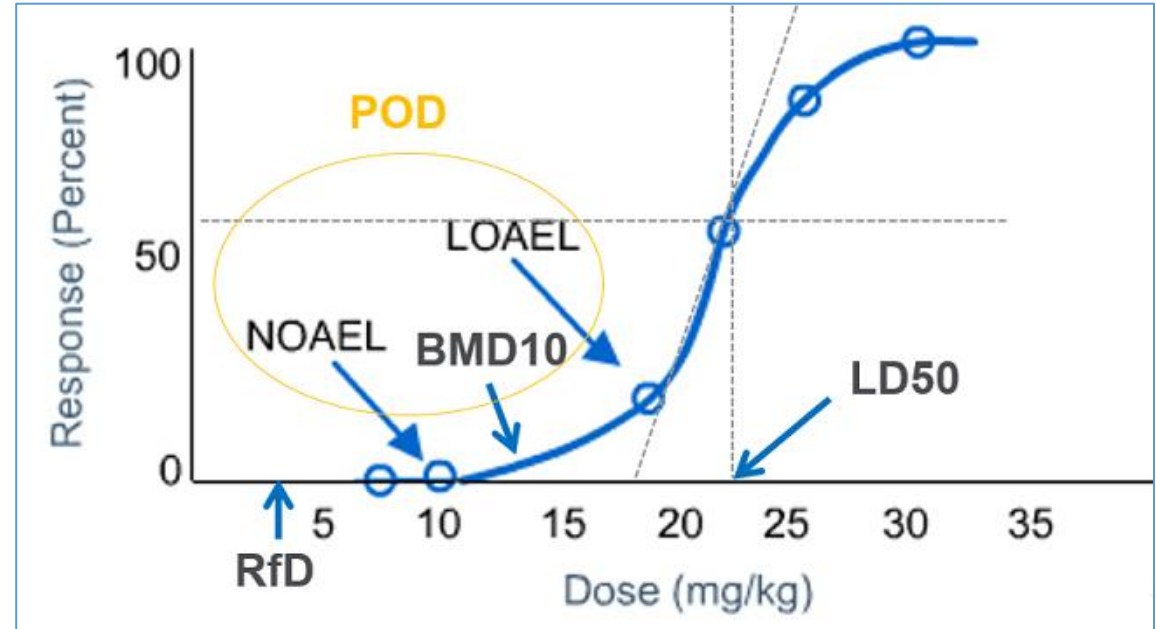
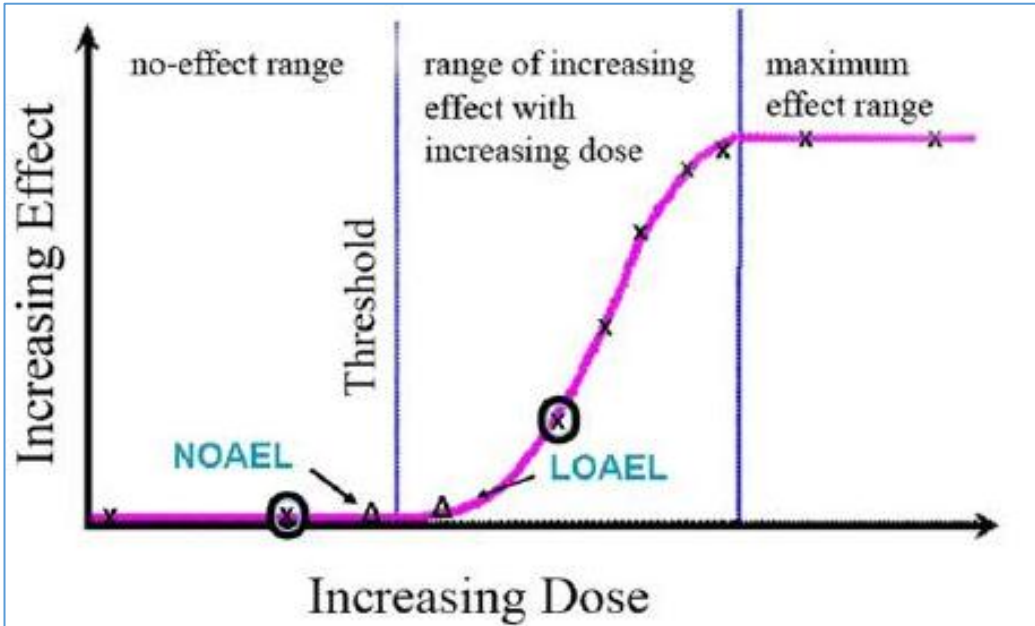
✓:Lowest Observed Effect Level (LOEL)

پایین ترین سطح برای مشاهده اثر

✓:Lowest Observed Adverse Effect Level (LOAEL)

- پایین ترین سطح برای مشاهده اثر نامطلوب
- کمترین سطح مواجهه است که در آن افزایش بیولوژیکی قابل توجهی در فراوانی یا شدت **اثرات نامطلوب** بین جمعیت در معرض و گروه کنترل مناسب وجود دارد.
- NOAEL و LOAEL معمولاً از مطالعات سمیت با دوز مکرر (مطالعه مسمومیت با دوز مکرر ۲۸ روزه (تحت حاد)، مطالعه مسمومیت با دوز مکرر ۹۰ روز (تحت مزمن) یا سمیت مزمن (سه ماه تا چند سال)) و مطالعات سمیت باروری به دست می آیند.

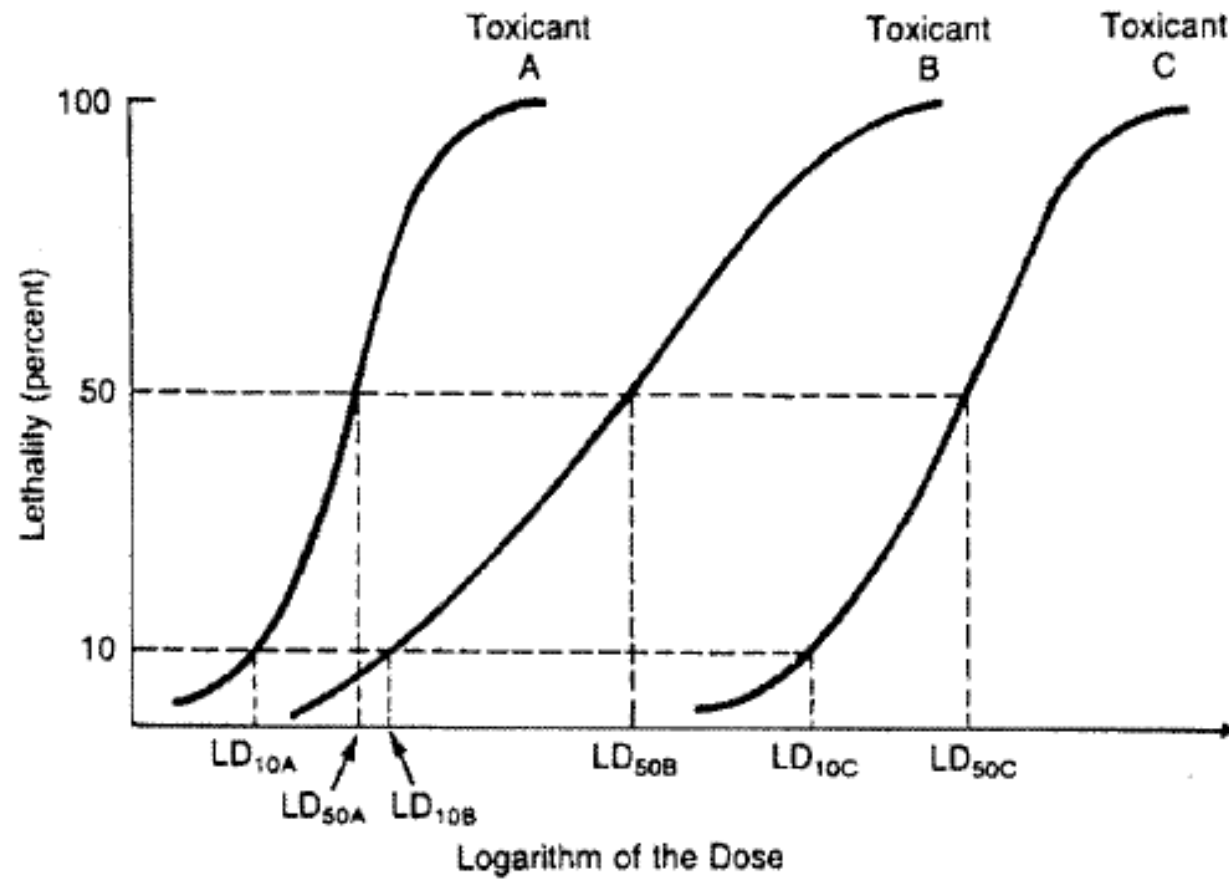
منحنی دوز-پاسخ



❑ **دوز آستانه (Threshold dose):** دوزی که زیر مقدار آن هیچ اثر زیان‌آوری در جمعیت مواجهه یافته قابل مشاهده نمی‌باشد. دوز آستانه به وسیله NOAEL قابل تخمین هست.

❑ سم‌شناسی به دنبال مقدار آستانه و منطقه بدون اثر در منحنی دوز-پاسخ می‌گردد.

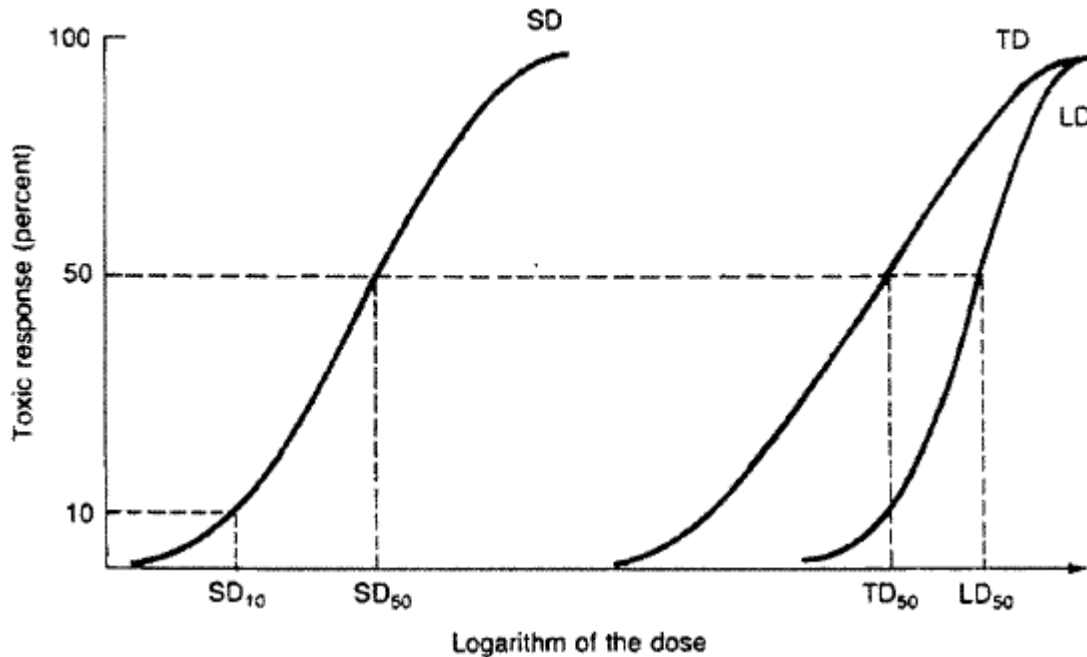
مقایسه سمیت ترکیبات از روی منحنی دوز-پاسخ



طبقه‌بندی سموم بر اساس میزان سمیت

میزان سمیت	دوز کشنده خوراکی احتمالی در انسان
عملاً غیر سمی	بیشتر از $15 \frac{\text{gr}}{\text{kg}}$
به ندرت سمی	$5 - 15 \frac{\text{gr}}{\text{kg}}$
سمیت متوسط	$0.5 - 5 \frac{\text{gr}}{\text{kg}}$
خیلی سمی	$50 - 500 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$
بی نهایت سمی	$5 - 50 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$
فوق سمی	کمتر از $5 \frac{\text{mg}}{\text{kg}}$

بدست آوردن حاشیه ایمنی از روی منحنی دوز-پاسخ



✓ پاسخ نگهبان (منحنی SD (Sentinel Dose)) ممکن است یک سمیت حاد نسبتاً ایمن، مانند بو یا تحریک جزئی در چشم یا بینی را نشان دهد.

✓ پاسخ سمی (منحنی TD) ممکن است یک سمیت جدی مانند آسیب اندام یا کما را نشان دهد.

✓ پاسخ کشنده (منحنی LD)، نشان دهنده دوزهای مرگ است.

- بنابراین، یافتن علائم سمیت جزئی در تعداد کمی از افراد در پاسخ نگهبان (SD10) هشدار کافی برای جلوگیری از مواجهه جدی یا خطرناک خواهد بود.

$$\text{Margin of safety} = \frac{TD_{50}}{SD_{50}}$$

$$\text{Or} = \frac{TD_{01}}{SD_{100}}$$

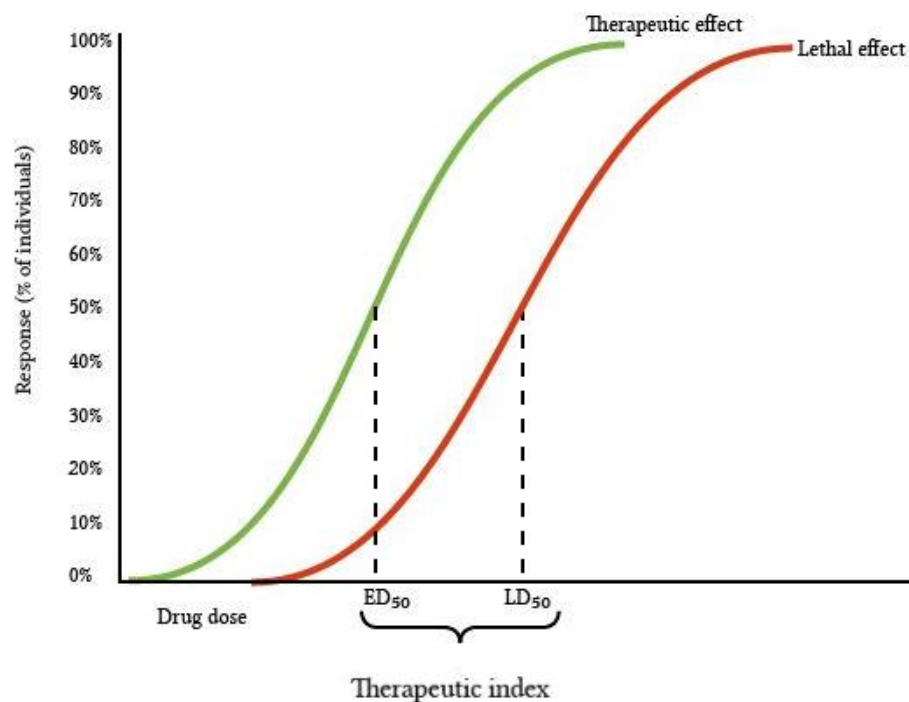
حاشیه ایمنی و پنجره درمانی در ترکیبات دارویی

✓ شاخص درمانی (*Therapeutic Index*):

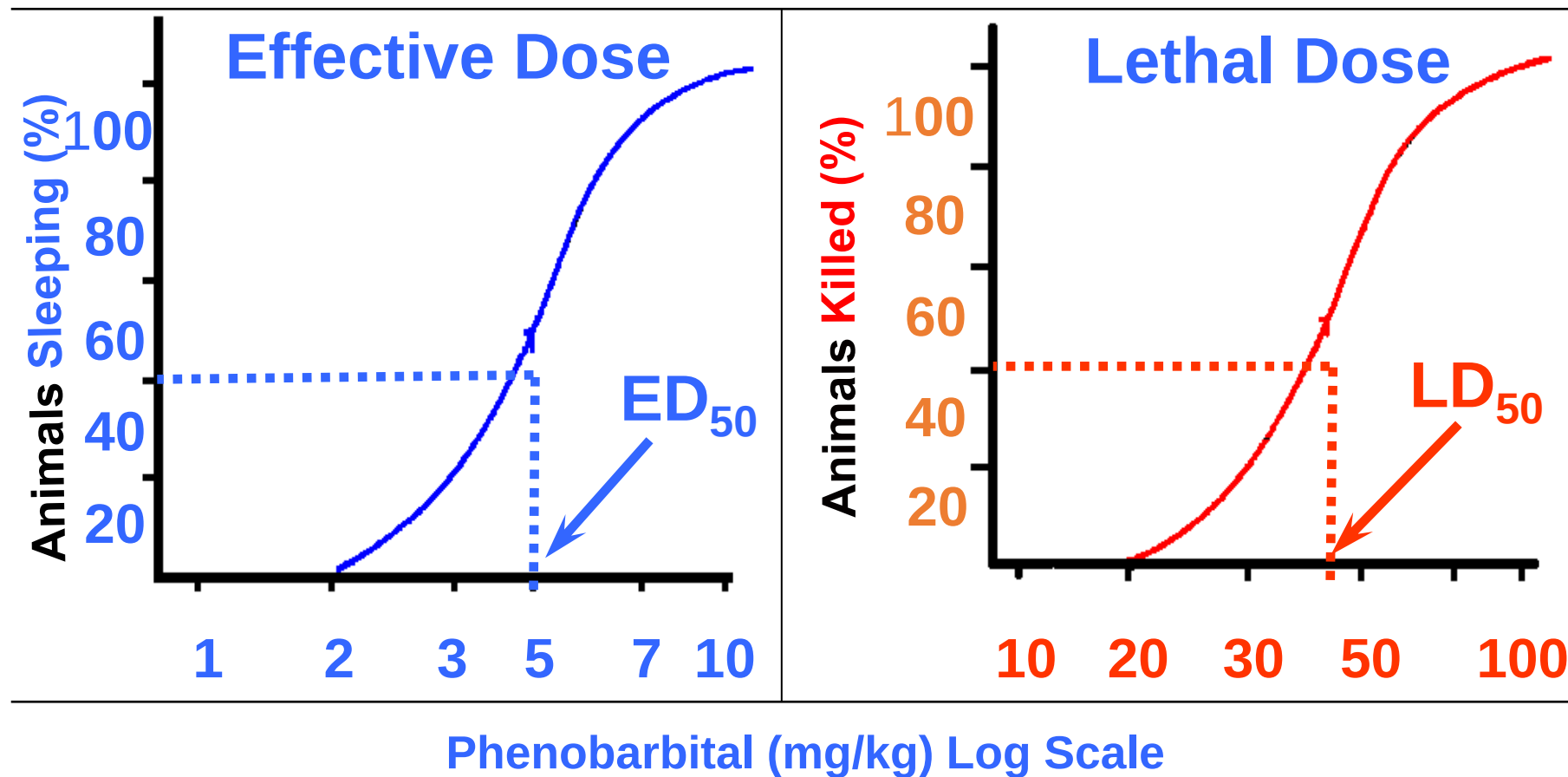
- نشان دهنده میزان سمیت دارو یا نشان دهنده میزان سالم بودن و Safety دارو است.
- هر چه TI از یک بزرگتر باشد سمیت دارو کمتر و ایمن تر است و هر چه به یک نزدیکتر باشد سمی تر است.

$$Therapeutic Index = \frac{LD_{50}}{ED_{50}} -$$

$$Margin\ of\ Safety = \frac{LD_{01}}{ED_{99}} \checkmark$$

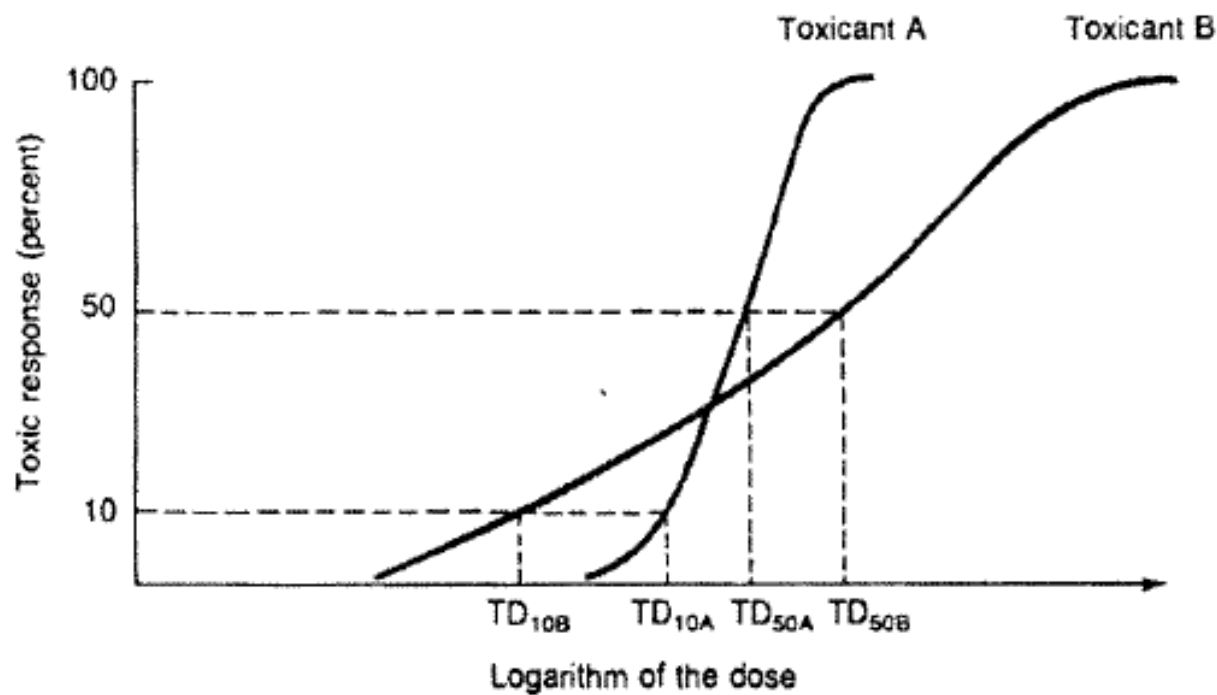


اثر درمانی در مقابل اثر سمی



محدودیت‌های استفاده از اطلاعات دوز-پاسخ

۱- اگر فقط یک عدد از منحنی‌های دوز-پاسخ موجود باشد، باید در نظر داشت که این مقادیر هیچ اطلاعاتی در مورد شکل منحنی ارائه نمی‌دهند.



محدودیت‌های استفاده از اطلاعات دوز-پاسخ

۲- سمیت حاد، که اغلب در آزمایش‌ها به دلیل صرفه‌جویی در زمان و هزینه ایجاد می‌شود، ممکن است به طور دقیق روابط دوز-پاسخ سمیت مزمن را منعکس نکند.

-تولوئن و بنزن هر دو باعث سرکوب سیستم عصبی مرکزی می‌شوند و برای این اثر حاد، تولوئن سمی‌تر از بنزن است. با این حال، بنزن برای کسانی که در معرض مزمن و طولانی مدت قرار دارند نگرانی بیشتری دارد، زیرا سرطان‌زا است در حالی که تولوئن سرطان‌زا نیست.

محدودیت‌های استفاده از اطلاعات دوز-پاسخ

۳- معمولاً اطلاعات کمی برای راهنمایی در تصمیم‌گیری در مورد اینکه کدام داده‌های حیوانی به بهترین وجه پاسخ انسان را تقلید می‌کند، وجود دارد.

Species	LD ₅₀ (mg/kg/day)
Rabbit (Dutch Belted)	100 ^a
Mouse (CD-1)	250
Human	602
Rat (Sprague-Dawley)	908
Mouse (Swiss)	1100
Mouse (ICR-Swiss)	1400 ^b
Rat (Wistar)	2180

Source: Adapted from ATSDR (1996), *Toxicant Profile for Chloroform*.

^aBased on 13 days of dosing.

^bFemale mice.

عوامل موثر بر منحنی‌های دوز-پاسخ

۱- عوامل مربوط به موجود زنده:

- راه مواجهه
- جنس
- سن
- اثر تداخلات شیمیایی
- ساختار ژنتیکی
- وضعیت سلامتی

۲- عوامل مربوط به ماده شیمیایی:

- ترکیب شیمیایی
- شرایط مواجهه

اثر راه مواجهه بر پاسخ

Effect of Route of Administration on Response (LD₅₀)^a

Route of Administration	Methadone ^b	Strychnine ^b	DDT ^b	DFP ^c
Oral	90	16.2	420	4
Subcutaneous	48	3	1500	1
Intramuscular	—	4	—	0.75
Intraperitoneal	33	1.4	100	1
Intravenous	10	1.1	40	0.3
Intraocular	—	—	—	1.15
Dermal	—	—	3000	117

Source: Adapted from *Handbook of Toxicology*, 1956, Vol. I.

^aAll doses are in units of mg/kg.

^bRat.

^cRabbit.

✓ اثر گذر اول کبدی (First-pass effect):

- ماده‌ای که به صورت خوراکی یا صفاقی وارد بدن می‌شود قبل از توزیع در بافت‌های دیگر از کبد عبور می‌کند. اگر ظرفیت کبد برای متابولیزه کردن ماده شیمیایی داخل خون زیاد باشد باعث "اثر گذر اولیه" می‌شود که طی آن کسر زیادی از ماده شیمیایی در کبد متابولیزه می‌شود. این فرآیند می‌تواند به دو صورت اثر کند

۱- باعث سم‌زدایی ترکیب شود و سمیت آن را کاهش دهد.

۲- باعث تبدیل ترکیب به متابولیت فعال و سمی شود و سمیت آن را افزایش دهد.

محاسبه سطح ایمن مواجهه با ماده شیمیایی (SHD)

✓ محاسبه دوز ایمن برای انسان براساس پیش بینی از روی تفاوت اندازه‌های انسان و حیوانات مورد آزمایش انجام می‌شود.

$$SHD = \frac{NOAEL = (mg / kg \text{ per day}) \times 70 \text{ kg}}{UF} = N \text{ mg/day}$$

NOAEL = threshold dose or some other no-observable-adverse-effect-level selected from the no-effect region of the dose-response curve

SHD = safe human dose

UF = the total uncertainty factor, which depends on the nature and reliability of the animal data used for the extrapolation

N = number of milligrams consumed per day

✓ فاکتور عدم قطعیت بین ۱۰-۱۰۰۰ است و به میزان اطمینان اطلاعات حیوانی و وجود یا عدم وجود اطلاعات انسانی برای اثبات علمی سطح بدون اثر حیوانی گزارش شده بستگی دارد.

- فاکتور عدم قطعیت ۱۰ در صورت وجود دیتای مناسب انسانی

- فاکتور عدم قطعیت ۱۰۰ در صورت وجود دیتای مطالعه مزمن حیوانی

- فاکتور عدم قطعیت ۱۰۰۰ در صورت وجود دیتای حیوانی محدود

سطح ایمن مواجهه

✓ این نوع محاسبه، عددی را به عنوان مقدار ایمن برای انسان نشان می‌دهد که سازمان‌های تنظیم میزان مواجهه، آن را به عنوان **میزان دریافت قابل قبول روزانه (Acceptable Daily Intake (ADI))**، یا **دوز مرجع (Reference Dose (RD))** در نظر می‌گیرند.

✓ مواجهه‌هایی که دوز کمتر از این مقدار را وارد بدن می‌کنند، ایمن در نظر گرفته می‌شوند.

راه مواجهه و مقدار ایمن برای انسان

✓ قرار گرفتن در معرض از طریق استنشاق:

استنشاق معمولاً یک مسیر اصلی برای مواجهه‌های شغلی است و سطوح ایمن با مقایسه غلظت‌های موجود در هوا با استانداردهای مشخص شده تعیین می‌شود.

برای تبدیل دوز دریافتی قابل قبول روزانه ایمن به غلظت هوای ایمن، می‌توان از فرمول زیر استفاده کرد:

$$\text{Dosage} = \frac{(\alpha)(\text{BR})(C)(t)}{\text{BW}} = N \text{ mg/kg}$$

α = percent of the chemical absorbed by the lungs (if not known, considered to be 100 percent)

BR = breathing rate of the individual (which, for a normal worker, can be estimated as 2 h of heavy breathing at 1.47 m³/h or as 6 h of moderate breathing at 0.98 m³/h), depending on the size and physical activity of the individual

C = concentration of the chemical in the air (mg/m³)

t = time of exposure in hours (usually considered to be 8 h)

BW = body weight in kilograms (usually considered to be 70 kg for men and 60 kg for women)

راه مواجهه و مقدار ایمن برای انسان

✓ بنابراین با استفاده از داده‌های حیوانی و در صورتی که SHD مشخص باشد فرمول بالا را می‌توان برای محاسبه غلظت هوای ایمن تبدیل کرد:

$$C = \frac{\text{SHD}}{(\alpha)(\text{BR})(t)} = N \text{ mg/m}^3$$

✓ این نوع محاسبه به دو صورت مهم قابل استفاده است:

- برای پیش‌بینی غلظت ذرات معلق ایمن محیط کار در زمانی که استانداردهای مشخص ذرات معلق وجود ندارد.
- برای مقایسه استانداردهای ذرات معلق محیط کار (مثل TLV تعیین شده توسط ACGIH یا استاندارد OSHA) با اطلاعات جدید حاصل از مطالعات سم‌شناسی حیوانی

راه مواجهه و مقدار ایمن برای انسان

✓ برای تبدیل غلظت هوایی ایمن از mg/m^3 به ppm (تعداد قسمت ماده سمی به به ازای یک میلیون قسمت هوا) از فرمول زیر استفاده می‌شود:

$$\text{ppm} = \frac{C (\text{mg/m}^3) \times 24.5}{\text{MW}}$$

- که در آن MW وزن مولکولی ماده شیمیایی (g/mol)
- ۲۴.۵ مقدار حجم (لیتر) بخار به ازای هر مول آلاینده در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۷۶۰ میلی‌متر جیوه است.

مثال: پنتاکلرفنول (PCP) در مواجهه شغلی

- ✓ پنتاکلرفنول باعث ایجاد ناهنجاری و مسمومیت جنینی در مطالعات حیوانی شده است.
- ✓ NOAEL برای PCP برای ایجاد این عوارض 5.8 mg/kg در روز گزارش شده است.
- ✓ با استفاده از فرمول‌های فوق، محدوده مواجهه شغلی (OEL) را می‌توان به طریق زیر محاسبه کرد.

$$OEL = \frac{\frac{5.8 \text{ mg/kg daily (60 kg)}}{100}}{1.0[(0.98 \text{ m}^3/\text{h}) 6 \text{ h/day} + (1.47 \text{ m}^3/\text{h}) 2 \text{ h/day}]}$$

$$OEL = \frac{3.48 \text{ mg/day}}{8.82 \text{ m}^3/\text{day}} = 0.39 \text{ mg/m}^3$$

- ✓ در این مثال فاکتور عدم قطعیت (UF) برابر با ۱۰۰ در نظر گرفته شده زیرا اطلاعات گسترده‌ای در مورد PCP در حیوانات موجود است.
- ✓ وزن بدن برابر با ۶۰ کیلوگرم حساب شده، زیرا هدف از تعیین این OEL، حفاظت از زنان باردار است.
- ✓ آلفا برابر ۱۰۰ درصد و BR برابر مقدار استاندارد برای یک کارگر با کار متوسط در نظر گرفته شده است.