

犬静注氟碳代血液后的远期效应

丁训诚 王炳森 唐琪妮 王根发 秦逸秋 刘云利

(上海劳动卫生职业病研究所毒理研究室, 上海 200003)

提要 犬单次 iv 氟碳乳剂(FCE) 20 ml/kg 后观察 365 d, 发现 FC 微粒为多种固定或游离的组织细胞所吞噬, 未见血液、细胞遗传和肝肾功能有意义的变化。电镜下靶细胞只是吞噬 FC 微粒, 注后 d 365 除脾内尚有极少量 FC 微粒外, 未见各主要实质脏器由于 FC 微粒引起的毒性病理损害, 故认为 FCE 属生物惰性物质。

关键词 氟碳乳剂; 泡沫细胞; 网状内皮系统; 电子显微镜; 犬

氟碳代血液亦称氟碳乳剂 (fluorocarbon emulsions, FCE) 引起实质脏器功能方面的变化是一过性和不明显的⁽¹⁾。但 FC 微粒经血液循环进入单核巨噬细胞系统, 究竟能在体内存留多久, 其病理生理学意义如何? 这是值得关心的问题。为了解输注 FCE 后长期滞留在体内可能产生的危害性, 本文观察狗 iv FCE 后, FCE 的归宿及一年后其可能产生的效应。

材料与方 法

氟碳代血液 由中国科学院上海有机化学研究所合成全氟碳化合物, 经中山医院药剂科制备成乳剂。乳剂氟碳含量实测值为 20 mg/ml。用磷钨酸负染法, 电镜证实其氟碳微粒 96% 直径 $< 0.2 \mu\text{m}$, $< 0.1 \mu\text{m}$ 的占 35-40%, 质量符合临床要求。

实验动物、给药途径及剂量 ♂犬, 体重 $11 \pm \text{SD } 3 \text{ kg}$, 18 只。分 3 组: 给药组、6% 羟乙基淀粉(HES)组为配方对照组、生理盐水组为容量对照组。三组剂量均为 20 ml/kg。戊巴比妥钠 iv 麻醉, 后肢静脉缓慢推注 FCE。注后 d 30, 180, 365 各组同时测定各项指标, 其中 2 犬颈动脉放血处死, 检查病理改变。

观察指标 在清醒状态下, 犬后肢静脉取

血, 检查血色素(Hb)、红细胞(RBC)、白细胞(WBC)、血清谷丙转氨酶(SGPT)、血清尿素氮(BUN)以及培养淋巴细胞姐妹染色单体。

结 果

体重 FCE 组犬体重增长与对照犬基本一致。

血液及生化指标观察 由表 1 可知, 单次 iv 20 ml/kg FCE 后 d 30, 180, 365 检查 Hb, RBC, WBC, SGPT 和 BUN 结果与对照犬差异不显著($p > 0.05$)。骨髓象中细胞分类未见异常, 但泡沫细胞在 d 30 普遍可见, 注后 d 180 未检见。泡沫细胞胞体大, 直径 10-24 μm , 胞浆中核位于一侧, 核 1-3 个, 大小不等, 核仁不清。胞浆内含有大量 FC 微粒, 直径 0.1-1 μm (图 1 A, 见图版 1, 下同)。

SCE 测定 由表 1 可见, 犬经 iv FCE 20 ml/kg 后的 d 30, 180, 365 SCE 频率无明显增加($p > 0.05$), FCE 不诱发 DNA 的损伤。

病理观察 大体解剖未见异常。取出肝、脾、肾、肺和心脏, 称湿重, 计算脏器重量系数。结果 iv FCE 后 d 30, 仅肝重系数(5.7%)比对照组(4.1%)增加($p < 0.05$)。其它均无显著变化(表 2)。给药组犬病理改变是在脾、肝、肺、淋巴结和骨髓中泡沫细胞的形成, 其中以脾、肝最甚, 聚成团块(图 1 B)。淋巴结也有同样变化。这种泡沫细胞来自单核巨噬细胞, 胞浆内有大量圆或椭圆形的透明小泡, 即 FC 微粒。

肝脏内的 FC 微粒主要存在于枯否氏细胞(图 1 C)和间质吞噬细胞内(图 1 D), 肝实质细胞内偶而可见, 少部分微粒也可在线粒体或溶酶体内。FC 微粒往往聚集在一起, 有完整的外膜包裹(图 1 E)为扩张了的吞噬小体。有时, 当

Tab 1. Hemochemical changes and sister chromatid exchanges (40 cells were examined per dog) in 6 dogs before and after infusion of FCE 20 ml/kg ($\bar{x}\pm SD$) * $p>0.05$

Treatment		0 d	30 d	180 d	365 d
Hb (mmol/l)	Saline	-----	8.2±0.3	8.2±0.1	8.5±0.1
	FCE	-----	8.2±0.2*	8.2±0.2*	8.4±0.4*
	HES	-----	8.2±0.2*	8.2±0.1*	8.7±0.4*
RBC ($\times 10^{-4}/mm^3$)	Saline	-----	500±62	511±11	538±67
	FCE	-----	510±47*	522±24*	545±35*
	HES	-----	501±56*	509±22*	545±28*
WBC ($\times 10^{-2}/mm^3$)	Saline	-----	149±3	131±24	120±6
	FCE	-----	159±25*	136±22*	148±30*
	HES	-----	144±3*	117±4*	153±67*
SGPT (IU)	Saline	-----	15.1±4.8	15.1±2.4	16.0±1.5
	FCE	-----	16.9±2.7*	14.2±3.1*	20.9±1.6*
	HES	-----	16.1±2.3*	15.5±3.4*	16.2±0.8*
BUN (mmol/l)	Saline	-----	2.5±0.8	2.6±0.7	3.0±1.1
	FCE	-----	2.6±0.7*	2.6±1.2*	1.6±0.3*
	HES	-----	2.9±0.5*	2.5±0.3*	2.4±0.5*
SCE (/cell)	Saline	2.4±1.1	2.9±1.1	2.7±1.2	3.1±1.4
	FCE	3.1±1.6*	4.3±1.5*	3.0±1.1*	2.9±1.2*
	HES	2.5±1.8*	3.5±1.2*	3.0±1.0*	2.2±1.2*

Tab 2. Relative organ weights (% body wt) after iv FCE 20 ml/kg, 2♂ dogs/group. ($\bar{x}\pm SD$) * $p>0.05$, ** $p<0.05$

Days	Treatment	Liver	Spleen	Lung	Kidney	Heart
30	Saline	4.1±1.8	0.6±0.08	1.0±0.1	0.6±0.1	0.9±0.2
	FCE	5.7±0.8**	0.9±0.2**	1.3±0.07*	0.8±0.1*	1.0±0.02*
	HES	4.1±0.1*	0.6±0.01*	0.9±0.1*	0.6±0.01*	0.9±0.04*
180	Saline	4.1±0.05	0.6±0	1.0±0.1	0.6±0	0.8±0.04
	FCE	4.1±0.07*	0.6±0.01*	1.0±0.04*	0.6±0.07*	0.8±0.1*
	HES	4.0±0.07*	0.7±0.02*	0.9±0.04*	0.7±0.07*	0.9±0.1*
365	Saline	3.9±0	0.6±0.01	1.0±0.07	0.6±0.07	0.9±0.07
	FCE	3.9±0.01*	0.6±0.04*	1.0±0.04*	0.5±0.04*	0.7±0.04*
	HES	4.0±0.1*	0.6±0.04*	1.0±0.1*	0.6±0*	0.8±0.04*

细胞内的 FC 微粒聚集过多时才有内质网扩张, 线粒体脊断裂和髓样体的形成现象。脾脏内的窦壁网状细胞和单核巨噬细胞内亦有大量 FC 微粒, 并往往也聚集在吞噬小体内(图 1 F)。药后 d 180, 微粒明显减少, 亚微结构完全恢

复, 但直到 d 365 仍有极少量 FC 微粒。肺脏内的泡沫细胞数量较少, 电镜下可见数量较少的 FC 微粒位于上皮细胞胞浆内。此外, 肾小球毛细血管内以及肾上腺皮质内亦散见与肝脾相似的泡沫细胞, 但在药后 d 180 即未查见。

讨 论

各种动物和人在输注 FCE 后,全身的网状内皮系统中均出现泡沫细胞,尽管以后泡沫细胞逐渐减少,但直到注后 6 个月仍未见消失^(2,3)。最近, Kitazawa 和 Ohnishi 报道,家兔输注 Fluosol-DA 67 ml/kg 后经过两年,在肝、脾中仍可见到一定量的泡沫细胞,说明有 FC 微粒在肝、脾中的长期滞留,并提出肝纤维化与氟碳存在密切的相关⁽⁴⁾。本次实验犬的最长观察时间为 365 d,此时,电镜下仍见到在脾的单核巨噬细胞的胞浆中有极少量 FC 微粒,但未见到实质脏器的纤维化。上述结果证明,无论是在高剂量(67 ml/kg)还是在临床剂量(20 ml/kg)输注后的一年中仍可能有极少量 FC 微粒的积存。

目前,关于 FC 微粒长期滞留在细胞内的病理生理学性质还不十分明确⁽⁵⁾。我们虽然看到给药犬的单核巨噬细胞里,吞噬体膨胀形成大泡,这种吞噬很多 FC 微粒的细胞有时可出现部份细胞器变性和髓样体形成等现象,但极大部份单核巨噬细胞形态结构正常,很少坏死。因而推想,这种变化可能缺乏显著的病理学意义。Miller 等认为 FC 微粒是生物惰性的看法⁽⁶⁾。而且,机体能耐受相当量的 FCE,即使

含 FC 微粒的单核巨噬细胞占总数量的 30% 或更多时,其细胞形态学的改变也是良性的⁽⁷⁾。另外,从各内脏的主质细胞来看,似乎亦不引起显著的病理性反应。Bucala 认为,FCE 作为一种异物进入单核巨噬系统(少数可进入实质脏器的具有吞噬功能的主质细胞如肝细胞内),但对宿主细胞只有聚积作用而不是细胞毒性作用⁽⁸⁾。因此,我们认为本剂量的临床使用,基本上不存在由于 FCE 储留而引起继发性显著的病损问题。

参 考 文 献

- 1 Geyer RP. *Prog Clin Biol Res* 1983; 122:157
- 2 篠島 高. 呼吸と循環 1982; 30:758
- 3 北沢干男, 大西義久. 医学のあゆみ 1981; 116:575
- 4 Kitazawa M, Ohnishi Y. *Virchows Arch [A]* 1982; 398:1
- 5 Miller ML, Moore RE, Clark LC. Morphology and morphometry of the liver after infusion of perfluorochemical emulsions: An assessment of 19 selected compounds. In: Natio R, ed. *Proceeding IVth international symposium on perfluorochemical blood substitutes*. 1st ed. Amsterdam: Excerpta Medica 1979:81-97
- 6 Miller ML, Wesseler EP, Jones SC, Clark LC. *J Reticuloendothel Soc* 1976; 20:385
- 7 Yokoyama K, Ohyanagi YH, Mitsuno T. *Chem Pharm Bull (Tokyo)* 1978; 26:956
- 8 Bucala R. *Science* 1983; 220:965

Acta Pharmacologica Sinica 1985 Dec, 6 (4) : 270-273

LONG TERM EFFECTS OF INTRAVENOUS INFUSION OF FLUOROCARBON BLOOD SUBSTITUTE IN DOGS

DING Xun-cheng, WANG Bing-sen, TANG Qi-ni, WANG Gen-fa, QIN Yie-qiu, LIU Yun-le
(Dept Toxicology, Shanghai Institute of Industrial Hygiene and Occupational Diseases, Shanghai 200003)

ABSTRACT Biochemical and morphological changes 1 yr after iv fluorocarbon emulsions (FCE) 20 ml/kg in dogs were studied. No serious disturbances in hematology, cytogenetics, liver and kidney function were seen. The major finding was the persistence of numerous

foam cells in liver, spleen, lymph nodes, lungs, kidneys and bone marrow. Most of the FC granules were engulfed by macrophages in the reticuloendothelial system. One month after iv FCE, the total number of foam cells increased rapidly, then gradually decreased, and disap-

peared 1 yr after iv FCE, but many FC granules existed in cells of organs especially spleen. The foam cells may be derived from reticulum cells or Kupffer's cells. There were a large number of vesicles in the cytoplasm which contained low-density granules, corresponding to FC granules, about 0.1-1.0 μm in diameter.

The data suggest that FCE is inert and not

toxic to the cells. There were no secondary histopathologic changes caused by FC deposition. It seems that FCE 20 ml/kg iv is rather safe in dogs.

KEY WORDS fluorocarbons; foam cells; reticuloendothelial system; electron microscopy; dogs

* * * * *

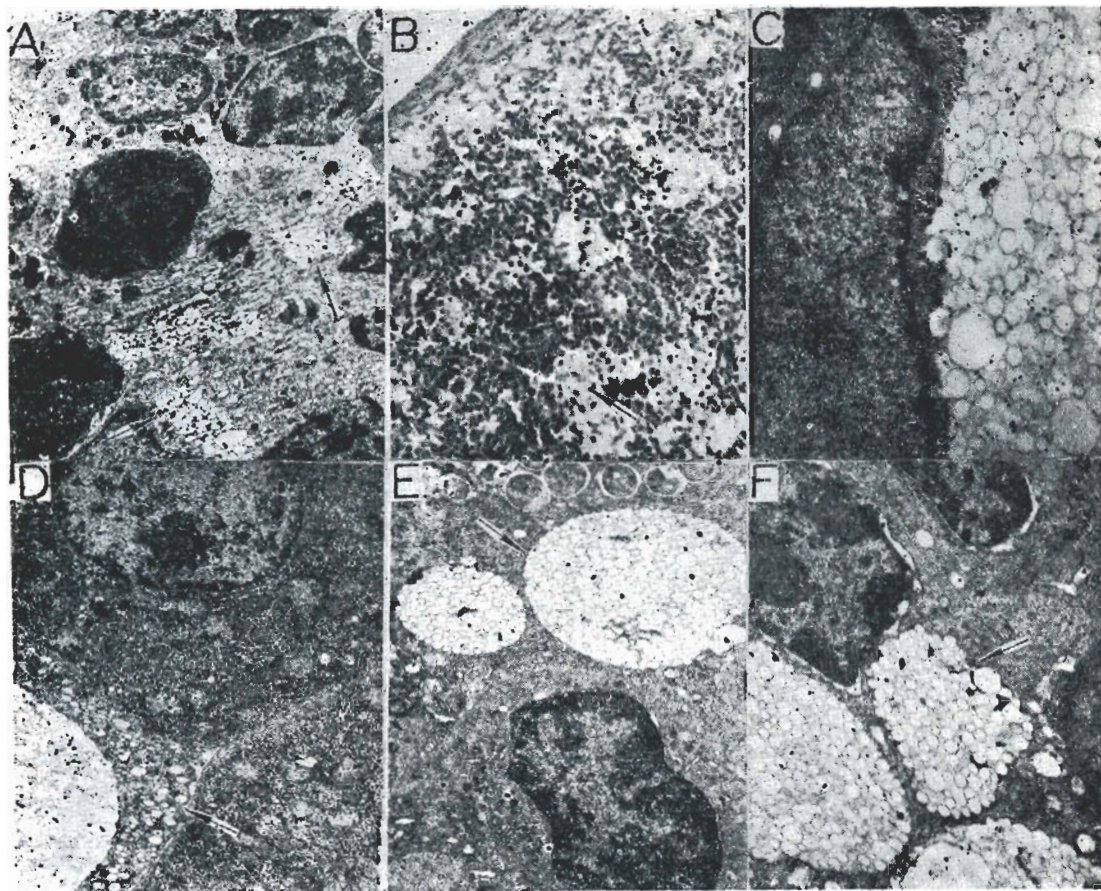


Fig 1. Histological appearances in dogs 30 d (A, B, C, D) and 180 d (E, F) after iv infusion of FCE 20 ml/kg. (A) Bone marrow of femur with FC granules, 0.1-1.0 μ m in the macrophages. $\times 8000$ (B) Spleen with a large number of foam cells. HE stain $\times 200$ (C) Liver with a large number of FC granules in Kupffer's cells. $\times 10000$ (D) Liver with many FC granules in endothelial cells. Hepatic cells were normal. $\times 7000$ (E) Liver contained FC granules with low density in macrophage; other granules were large phagolysosomes after phagocytosis. $\times 10000$ (F) Spleen with some dilated phagolysosomes and FC granules in histiocytes. $\times 15000$.

(See p 270)