

氟碳代血液对肝脾吞噬功能的影响

丁训诚 张胜年 刘春芳 王根发 王炳森 (上海市劳动卫生职业病研究所毒理研究室, 上海 200003)

提要 以 SACP 和肝摄取 ^{198}Au 为指标, 测定 iv FCE 后 RES 的吞噬功能。用电镜观察 RES 的亚微结构, 研究 FCE 对机体 RES 的影响。结果表明, iv FCE 后 48 h 内, 小鼠肝 RES 吞噬 ^{198}Au 胶粒有一时性抑制作用。大鼠 iv FCE 36 ml/kg 后肝脾最大增重分别为对照的 2-3 倍, 电镜观察, FCE 被单核巨噬细胞所吞噬, 形成吞噬体。肝脾增重和 FCE 含量增加大致相关, 亦与 SACP 活性变化相符合。

关键词 氟碳乳剂; 网状内皮系统; 吞噬功能; ^{198}Au 摄取; 血清酸性磷酸酶; 电子显微镜术

氟碳乳剂 (fluorocarbon emulsion, FCE) 是一种全氟碳化合物在水中的超细状乳剂, 输入体内起到代替血液的主要功能。FCE 作为一种异物, 在血液循环中的半衰期为 30—60 h⁽¹⁾, 会被机体的网状内皮系统(单核吞噬细胞系统或巨噬细胞系统)所吞噬, 滞留于肝、脾、淋巴结和骨髓等许多器官中⁽²⁾, 因此, FCE 是否会对 RES 产生封闭作用, 对 FCE 继续吞噬病菌, 异物, 发挥防御和免疫功能是否会产生影响, 这是 FCE 应用于临床前所必需探讨的问题。为此, 本文以血清酸性磷酸酶 (SACP) 和肝摄取 ^{198}Au 胶粒为指标, 结合电镜及组织中 FCE 含量的测定, 对 iv FCE 后肝脾 RES 的吞噬功能影响进行了实验研究。

材 料 和 方 法

氟碳代血液 由上海第一医学院附属中山医院药剂科提供。氟碳含量实测值为 20 mg/ml, 氟碳微粒 96% < 0.2 μm 其中直径 < 0.1 μm 的占 35—40%。

观察指标

1. SACP 活性测定⁽³⁾ 选 2.43 \pm 0.15 kg

体重家兔 24 只, 分 4 组。分别于耳缘 iv FCE 15 ml/kg qd \times 6 d 和单次 iv 25 ml/kg, 对照组 iv 盐水 25 ml/kg qd \times 6 d 在 iv 前, 末次注后 1, 2, 3, 5, 7 周由耳缘静脉取血, 用磷酸苯二钠法测定 SACP 活性。

2. 肝吞噬细胞摄取 ^{198}Au 放射性测定⁽⁴⁾ 选 21.3 \pm 0.6 g 小鼠 90 只, 分 3 组。分别尾 iv FCE 50 ml/kg 和 10 ml/kg, 盐水 50 ml/kg 为对照组。在 iv 后 6, 24, 48, 72 h 和 d 7 再分批 (6 只) iv ^{198}Au 胶粒 500 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$ 体重, 10 min 后取肝 100 mg 湿重, 涂在条状滤纸上, 置试管内, 在 r-井型闪烁计数器测其放射性量。

3. 肝脾称重及 FCE 含量测定⁽⁵⁾ 体重 254 \pm 22 g 大鼠 30 只, 尾 iv FCE 36 ml/kg 后, 分别在 d 1, 2, 3, 5, 7, 14, 21, 29, 42, 56 处死大鼠, 取肝脾称重, 并与对照相比, 计算出增重%, 按文献(5)法测定肝脾 FCE 含量。

4. 肝脾电子显微镜观察 电镜观察 iv 36 ml/kg 后不同时间, 大鼠肝脾吞噬细胞形态特征。

结 果

对家兔 SACP 活性的影响 由表 1 可见, 家兔 SACP 活性与 iv FCE 剂量存在明显的剂量效应关系。以 iv FCE 15 ml/kg qd \times 6 d 为例, SACP 活性 iv 后第 1 周逐渐升高, 第 3 周最高, 为 39 \pm 23 U, 而同期对照 SACP 活性为 14 \pm 3 U。

对小鼠肝 RES 吞噬功能的影响 表 2 可见, 小鼠 iv FCE 10 ml/kg 后不同时期, 肝 RES 吞噬细胞摄取 ^{198}Au 未见明显变化。50 ml/kg 组小鼠 iv FCE 后 24 和 48 h 肝吞噬细胞摄取 ^{198}Au 量明显降低, 分别为同期对照的 58.5%

Tab 1. Effect of fluorocarbon emulsion (FCE) on serum acid phosphatase (SACP) activity in rabbits. Groups of 6 rabbits iv FCE 15 ml/kg qd × 6 d, and single iv FCE 25 ml/kg or iv saline 15 ml/kg qd × 6 d. ($\bar{x} \pm SD$. * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$)

FCE doses	Before iv	1 wk	2 wks	3 wks	5 wks	7 wks
15 ml/kg qd × 6 d	15 ± 6*	23 ± 9**	32 ± 17***	39 ± 23***	29 ± 16***	35 ± 14*
Control	13 ± 2	13 ± 1	14 ± 4	14 ± 3	16 ± 3	22 ± 2
25 ml/kg qd × 1 d	20 ± 6*	21 ± 3*	22 ± 3*	21 ± 6*	23 ± 9*	
Control	14 ± 4	14 ± 3	15 ± 3	16 ± 3	22 ± 2	

Tab 2. Liver uptake of colloidal ^{198}Au in FCE- and saline-treated mice. Groups of 10 mice iv saline 50 ml/kg or FCE 10 and 50 ml/kg. After 6, 24, 48, 72 h and 7 d ^{198}Au (500 $\mu\text{Ci}/\text{kg}$) were injected iv. Ten min later the mice were killed by decapitation. $\bar{x} \pm SD$. * $P > 0.05$, ** $P < 0.05$, *** $P < 0.01$

FCE (ml/kg)	^{198}Au uptake in liver ($\times 10^{-3}$ cpm/100 mg wt)				
	6 h	24 h	48 h	72 h	7 d
—	230 ± 8	224 ± 20	223 ± 19	224 ± 16	223 ± 17
10	225 ± 10 (97.8%)*	193 ± 9 (86.2%)*	199 ± 14 (89.2%)*	208 ± 8 (92.9%)*	220 ± 16 (98.7%)*
50	213 ± 16 (92.6%)*	131 ± 17 (58.5%)*	153 ± 16 (68.6%)*	176 ± 8 (78.6%)*	212 ± 14 (95.1%)*

($p < 0.01$)和 68.6% ($p < 0.05$), iv 后 d7 基本恢复到对照水平。由此可见, 输入较大剂量的 FCE 后, 在 48 h 内, 对肝 RES 吞噬功能是有抑制作用的, 但是, 吞噬功能降低的现象只是一时性的, 在 iv FCE 72 h 后, 吞噬活性即逐渐恢复到正常水平。

注入 FCE 后, 大鼠肝脾重量及 FCE 含量的变化 由表 3 可见, iv FCE 24 h 后, 肝脾重量都增加, iv 后 d 14 肝重达到最高, 为 76 ± 12 g/kg 体重, 对照组肝重 39 ± 5 g/kg 体重; iv 后 d 5 脾重达最高, 为 6.4 ± 0.2 g/kg 体重, 对照组脾重 2.0 ± 0.2 g/kg 体重, 增加 2.2 倍, 显示脾脏对 FCE 的吞噬反应较肝迅速而强烈。随着时间的延长, 肝脾重量能逐渐恢复到正常。

肝脾组织中 FCE 含量的动态变化情况, 见表 3。其含量以 iv 后 d 1 最高, 后逐渐降低。肝中 FCE 量到 d 28 后, 脾中 FCE 量则到 d 42 后还能检出。上述结果表明, 肝脾重量变化与其 FCE 含量有密切相关, 但含量的增加先于

重量增加。

电子显微镜观察 大鼠尾 iv FCE 36 ml/kg 后 d 1—56, 在肝脾均可见胞浆内积存有大量透明空泡的吞噬细胞, 来源于肝窦内皮细胞

Tab 3. Relative liver and spleen weights and FCE contents of liver and spleen in rats after iv FCE 36 ml/kg. $\bar{x} \pm SD$. N = 6.

	Liver		Spleen	
	weights (g/kg)	FCE (mg/g wt)	weights (g/kg)	FCE (mg/g wt)
30 min	-----	4.0 ± 0.4	-----	4.4 ± 0.6
6 h	-----	17.0 ± 2.0	-----	17.0 ± 1.8
1 d	42 ± 10	45 ± 3	3.6 ± 0.6	144 ± 9
2 d	55 ± 8	-----	6.3 ± 0.4	-----
3 d	60 ± 7	18.8 ± 2.6	5.1 ± 0.3	76 ± 8
5 d	66 ± 4	-----	6.4 ± 0.4	-----
7 d	71 ± 8	17.6 ± 1.5	4.9 ± 0.2	73 ± 6
14 d	76 ± 12	-----	4.4 ± 0.6	-----
21 d	68 ± 11	5.2 ± 0.5	3.0 ± 0.2	36 ± 5
28 d	55 ± 3	2.4 ± 0.5	3.0 ± 0.5	12 ± 3
42 d	52 ± 6	< 0.01	2.7 ± 0.4	4.8 ± 0.5
56 d	44 ± 8	< 0.01	1.7 ± 0.2	< 0.01

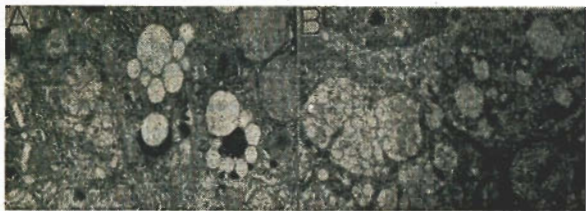


Fig 1. Electron micrographs of liver (A) and spleen (B) of rats 24 h after iv fluorocarbon emulsion 36 ml/kg. A) One vesicle in a lysosome and 8 vesicles around the lysosome. Liver cells are normal. $\times 22,000$. B) RES-cells contained FCE. The internal structures were fragmented in large phagolysosomes, but well preserved in small phagolysosomes. $\times 12,000$.

和枯否氏细胞以及脾巨噬细胞，见图 1。

经与 FCE 电镜对比观察，该小泡状物质即为 FCE 原形。这种空泡境界清楚，呈园形或椭圆形，有的有膜包绕，成为吞噬体。少量 FCE 亦可在溶酶体内，图 2 A。随着时间的延长，这些网状内皮细胞的 FCE 数量逐渐减少，但 iv 后 d 56 仍有少量 FCE 存在。

讨 论

FCE 输入机体后，作为异物绝大部分蓄积在 RES 丰富的肝和脾内，只有少量 FCE 沉积在肺、骨髓、淋巴结、肾中。FCE 被单核巨噬系统所吞噬，在光学显微镜下，表现为泡沫细胞。电镜观察，见吞噬的 FCE 不能被溶酶体酶消化，经相当时间才排出体外。FCE 被肝脾 RES 吞噬后可引起肝脾肿大，在 iv 后 d 42-56 肝脾重量以及 FCE 含量才降至正常水平，而文献(6)的结果要在 iv 后 d 128。但是，FCE 大量沉积在 RES 中，仅出现一过性 SGPT

和 SGOT 活性升高，其亚微结构亦未见病理变化，推测这种肝脾增重的主要原因可能是 FCE 在 RES 中，形成大量泡沫细胞所致，

小鼠 iv FCE 50 ml/kg 后，在 d 2 内对肝 RES 的吞噬活性是有抑制作用的，但是，吞噬功能抑制的现象只是一过性的，在 iv d 3 即可恢复正常。文献(7)指出，凡吞噬有 FCE 的泡沫细胞，虽然胞体已经肿得很大，但并未丧失继续吞噬碳粒的能力。可以认为，机体 RES 的吞噬能力是很强的，而且潜在的吞噬能力亦很强的，一次应用 FCE 作为急救输注，对机体 RES 继续吞噬病菌，消除异物等功能，想必仅有一过性的影响。

另外，本实验还发现，肝脾重量和 FCE 含量增减的变化规律与 SCAP 活性消长大致相关，能否以测定 SCAP 活性为临床使用 FCE 输注时估计 RES 功能的指标，有待研究。

参 考 文 献

- 1 大柳治正、医学のあゆみ 1979 Feb; 110 (2): 453
- 2 大柳治正、斎藤洋一、光野孝雄。日本臨床 1980 Apr; 38 (4): 174
- 3 Skilleter DN. *Biochem Pharmacol* 1979 Dec 15; 28 (24): 3595
- 4 Engstedt L, Franzen S, Jonsson L, Larsson IG. Reticuloendothelial activity studied *in vivo* in humans by means of whole-body scintigrams after intravenous colloidal ^{199}Au . In: Heller HJ, ed. *Reticuloendothelial structure and function*. 1st ed; NY: Ronald Press, 1966: 365-71
- 5 Yokoyama K, Yamanochi K, Murashima R. *Chem Pharmacol Bull (Tokyo)* 1978 Mar; 26 (3): 965
- 6 Lutz J, Metzner P. *Pfluegers Arch* 1980 Mar; 387 (2): 175
- 7 Wisse E. *J Ultrastruct Res* 1974 Nov; 46 (2): 499

INFLUENCE OF FLUOROCARBON BLOOD SUBSTITUTE ON PHAGOCYTTIC FUNCTION OF LIVER AND SPLEEN

DING Xun-cheng, ZHANG Sheng-nian, LIU Chun-fang, WANG Gen-fa, WANG Bin-sen

(*Department of Toxicology, Shanghai Institute of Industrial Hygiene and Occupational Diseases, Shanghai 200003*)

ABSTRACT Colloidal ^{198}Au uptake, used as a measure of the function of RES in mice, decreased to about 50% of the control value within 2 d after iv infusion of fluorocarbon emulsion (FCE) 50 ml/kg, then recovered on d 7. FCE (15 ml/kg) was given by iv infusion to rabbits qd \times 6 d. The serum acid phosphatase (SACP) showed a 2.5-fold increase, and returned to control level after 7 wks. Maximal storage of FCE was attained in spleen and liver of rats 24 h after FCE infusion. The increases in weights differed: A maximal increase occurred in spleen on d 5, and in liver on d 14. There were ballooning foamy cells in spleen and liver.

FCE was found in the macrophage cytoplasm. All inclusions appeared to be spherical within membrane-bound phagolysosomes. Results suggest that the large amounts of FCE retained in liver and spleen on d 2 would induce a reduction of phagocytic activity in reticulo-histiocytes. FCE is a powerful blocking agent of macrophages in liver and spleen.

KEY WORDS fluorocarbon emulsions; reticuloendothelial system; phagocytosis; ^{198}Au uptake; serum acid phosphatase; electron microscopy