DOI:10.16016/j.1000-5404.1981.03.005

磷烧伤对大白鼠全身的影响

第一附属医院、训练部

夏淑芳　史景泉　刘明懿　黎　鳌　何宝斌
施同舟　张桂香　可金星　肖利民　李兆洲
李绍琴　李文庆　杨应东

白（黄）磷是一种强烈的细胞浆毒剂，不溶于水，溶于脂肪和胆汁，极易从创面和粘膜吸收，引起全身中毒，死亡率高。关于磷烧伤，文献中[1-4]无论临床或实验研究大都侧重于磷烧伤后的早期观察，涉及后期变化甚少，对内脏超微结构观察报导尤少。本实验拟通过对大白鼠磷烧伤半数致死面积的测定、血尿生化学检查、^{32}磷吸收后内脏分布的测定以及较长时间（30天）对主要脏器的病理组织学和超微结构检查，试图较系统的了解磷烧伤后各个时期（休克期、感染期、恢复期）动物的全身变化，以供临床参考。

材料与方法

选用健康、雄性大白鼠188只，体重252.6±19.7克，分组及检查项目如下：

（一）磷烧伤半数致死面积的测定

选磷量20mg/cm^{2}Ⅲ度烧伤为实验组，凝固汽油（3%）Ⅲ度烧伤为对照组。在两组死亡率分别为100%和0%之间按等级差数，各选出5个组，即烧伤面积40%、35%、30%、25%和20%。各面积组随机分配8～15只大白鼠。实验组共53只，对照组共63只，两组合计116只。均观察30天。实验所得数据，用直线回归求得半数致死面积。

实验组致伤方法，见大鼠白磷烧伤模型制作[5]。为了防止P_2O_5烟雾吸入引起呼吸道和肺部病变，致伤在室外卧式抽风排烟柜内进行。对照组用3%凝固汽油烧伤(30″)。

（二）病理形态学观察

病理材料来自上述实验组和对照组。按不同烧伤面积，实验组每组8只，对照组每组5只，共计大鼠65只。动物于伤后不同时间自行死亡或第30天活杀时进行解剖，当即采取心、肺、肝、脾、肾、肾上腺和胸骨髓组织，固定于10%福尔马林液、石蜡包埋、切片、H.E染色，作病理组织学检查。此外，实验组中每面积组任选2只动物，又以正常大白鼠2只为对照组，活杀或死后解剖时立即切取心肌、肺、肝、肾组织作电子显微镜检查。供电镜检查的标本，先以4%戊二醛磷酸缓冲液预固定，再用1%锇酸液后固定，EPON812包埋；LKB8800型超薄切片机切片；醋酸铀和柠檬酸铅染色；用DXA4～10型电镜观察。

（三）血、尿生物化学检查

另用大鼠23只，造成30%Ⅲ度磷烧伤，于伤后1°（4只）、10°（4只）、22°（4只）、46°（5只）、70°（6只）分批活杀，活杀时于下腔静脉取血，作血生化检查。作尿磷检查的动物置代谢笼内、留尿；伤前留12小时尿，伤后在10°～70°4个组内，各组任选3只动物

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

留尿，其中70°组的动物分别留尿2次。正常大鼠7只，以作对照。

（四）磷吸收后在各脏器、组织及血液含量的测定

用^{32}磷（200微居里/0.2～0.4ml）与白磷搅拌均匀，造成20%Ⅲ度磷烧伤。大鼠4只，随机分配为14组：伤后立即、1°、2°、4°、8°、12°、18°、24°、48°、72°、120°、240°、480°和720°，每组3只，分批活杀。活杀时从下腔静脉取血2～4ml，并切取心肌、肺、肝、脾、肾、脑、胸骨、大腿肌肉及烧伤皮肤各200毫克，进行同位素磷含量测定，所取血液标本，分为两份，分别置于肝素抗凝瓶中，将其中一份经离心、0.9%盐水反复洗涤，加蒸馏水制成溶解的红细胞。

检测用DBX—IA定标器，探头为J—69型闪烁计数管。将制备好的组织和血液（全血和溶解红细胞各1ml）标本，置于玻璃蝶内进行测量。

结　　果

（一）半数致死烧伤面积

根据实验结果，测得半数致死面积磷烧伤组为27.7%，而凝固汽油烧伤组为44.9%，两组相差显著（$P<0.05$）。

（二）血、尿生化改变

如图1所示，血清磷从烧伤后1°即开始升高，10°达高峰，70°未恢复正常。尿磷，伤后11°～22°开始迅速升高，25°～32°达高峰，以后逐渐下降，58°～70°仍高于伤前平均值。血清钾与尿素氮从伤后1°即开始有所升高，一直到70°仍保持较高水平。血清谷丙转氨酶，伤后1°开始升高，持续升高至46°，至70°才恢复到伤前水平。CO_2结合力、血清钠、氯与碱性磷酸酶无明显变化。值得注意的是，血清铜在伤后有不同程度的升高　原因不明。

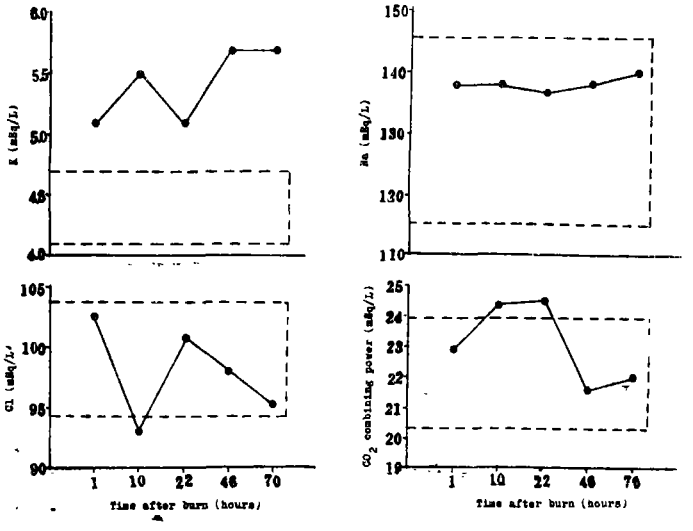


图1a　磷烧伤后大鼠血清钾、钠、氯化物和CO_2结合力的改变

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

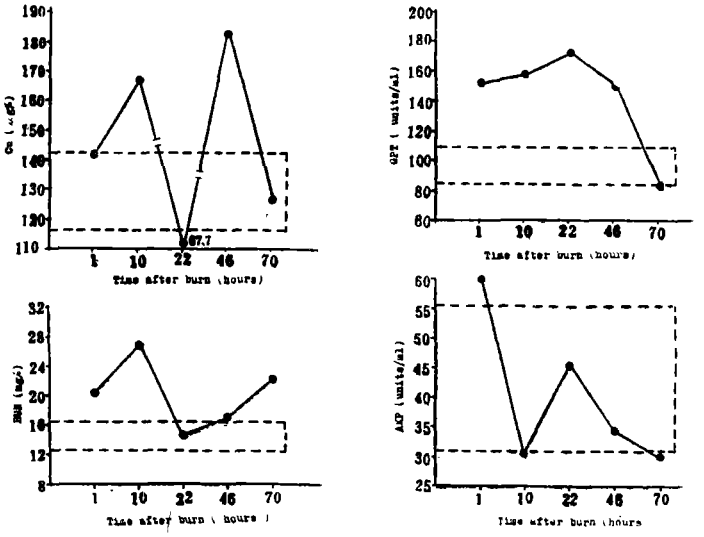


图 1b　磷烧伤后大鼠血清铜、尿素氮以及GPT、AKP活性的改变

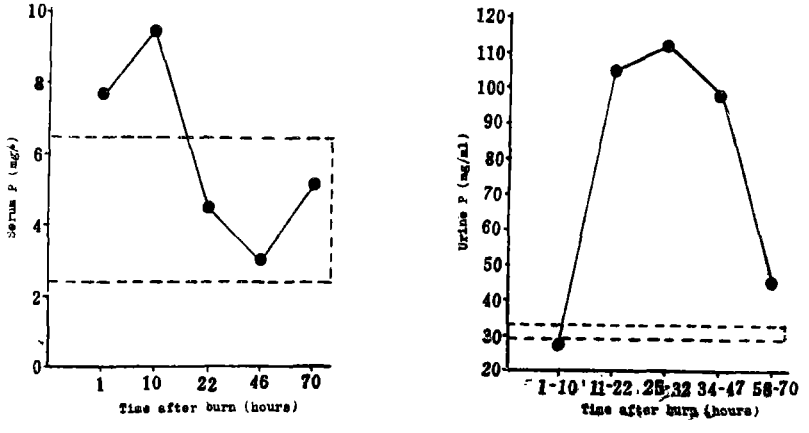


图 1c　磷烧伤后大鼠血清磷与尿磷含量的改变

（三）磷吸收后在各脏器、组织及血液中的含量

伤后立即测定各组中均含放射性磷，说明磷从烧伤创面吸收迅速。在主要脏器中^{32}磷含量依次为：肝、肾、脾、心肌、肺、脑。除脑组织外，绝大多数脏器^{32}磷含量分别于伤后 8 小时和48小时出现了高峰，第二个高峰比第一个略低，胸骨^{32}磷含量于第10天达高峰。于伤后立即测定时，血液^{32}磷含量较各脏器为高，且伤后 4 小时达高峰。全部被检脏器、组织及血液的^{32}磷含量于伤后第30天下降至最低水平。上述结果表明，^{32}磷自创面被吸收后，经血流带到各脏器，伤后 8 小时即达最高峰。尔后由于渗出至组织间隙的液体的回吸收，潴留在组织液中的^{32}磷再次随着血液循环到达各脏器，遂于伤后48小时出现第二个高峰。进入体内的磷由肝脏进行解毒，大部分经肾脏排出，故两脏器^{32}磷含量较高。脑组织^{32}磷含量显著低于其他组织，可能是吸收至血液中的^{32}磷不易通过血脑屏障之故。部分^{32}磷沉积在骨组织中，故伤后第10天胸骨^{32}磷含量仍较高。^{32}磷在体内经衰变、排泄，于伤后第30天各组织中

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

含量已极微。

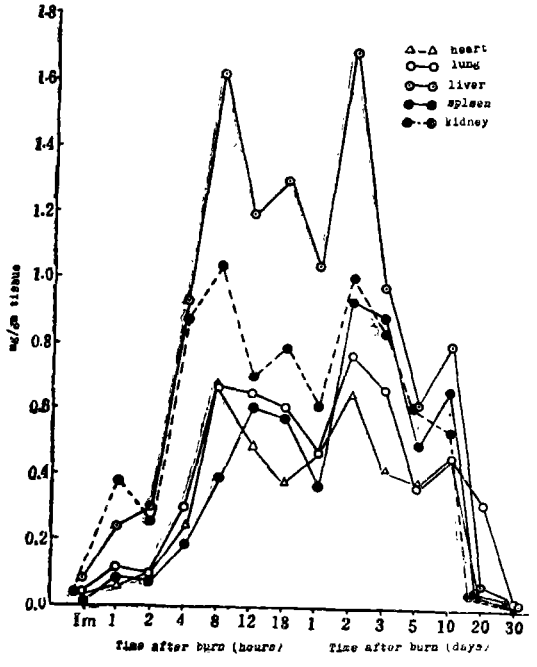


图2a 磷吸收后在心肌、肺、肝、脾和肾的含量变化

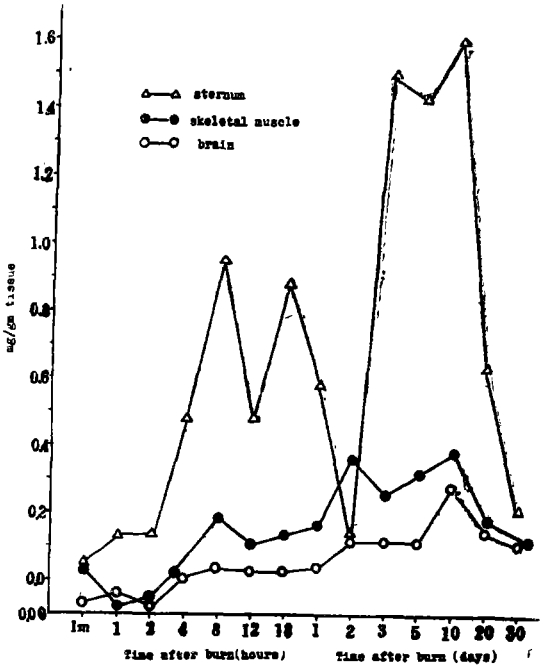


图2b 磷吸收后在脑、骨骼肌和胸骨的含量变化

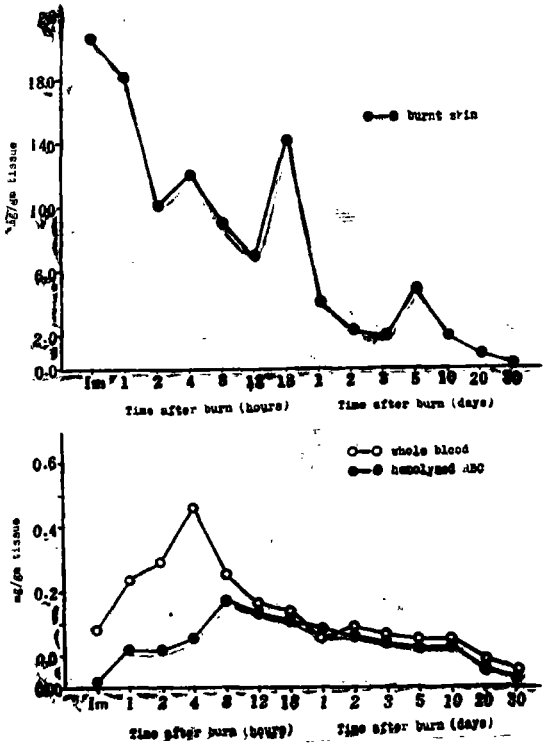


图2c 磷吸收后于全血和红细胞中的含量以及烧伤皮肤磷含量的变化

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

（四）主要脏器的病理变化

1．磷烧伤组病理组织学变化　共检查早期死亡（伤后48⁰内死亡）动物9只；中期死亡（伤后4～12天死亡）12只；后期死亡或活杀（24天死亡1只，伤后30天活杀17只）18只，合计39只。

（1）心肌：早期死亡动物心肌间质血管高度扩张充血，并有红细胞漏出，心肌细胞胞浆呈颗粒状，嗜酸性增强；中期上述病变逐渐减轻；后期未见明显病变。

（2）肺：早期死亡动物主要病变为双肺充血肺泡壁毛细血管红细胞有凝集现象，4只动物尚有肺泡内小出血灶、作散在分布。中期肺病变渐趋明显，大多数动物有肺水肿，斑片状出血（图3）及局限性肺气肿，3只动物并发支气管肺炎（2例为融合性）。值得注意的是，后期18只动物中，3只有出血灶，5只有支气管肺炎，多数为融合性，其中3只并有多发性粟粒型肺脓肿（图4）。中、后期并发融合性支气管肺炎者各有1例表现血管和支气管周围有一广阔炎性水肿区。

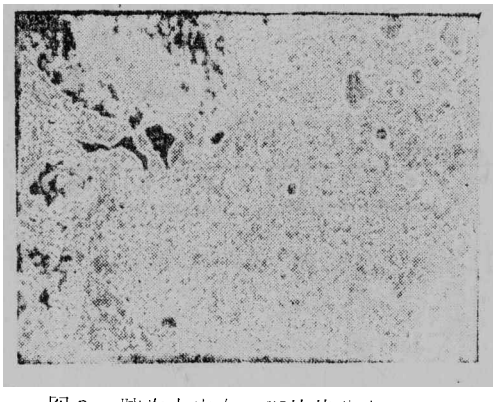


图3　肺泡内出血，斑片状分布。磷烧伤，中期，HE×102

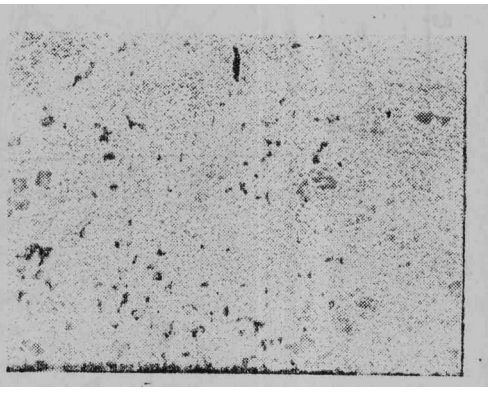


图4　融合性支气管肺炎并多发性肺脓肿。磷烧伤，后期，HE×102

（3）肝：早期见肝小叶中央静脉及肝窦扩张充血，部分动物肝细胞显程度不同的脂肪性变，脂滴位于小叶中央或呈弥漫性分布。中、后期时，肝窦充血已不明显，但仍见肝细胞脂肪变。

（4）肾：早期肾小球毛细血管袢及间质小血管明显扩张充血，近曲小管上皮浊肿；中、后期，肾小管上皮常见胞浆疏松及空泡变性。

（5）脾：早期脾窦充血显著，状如出血；中期者，充血减轻，脾小体淋巴组织萎缩，淋巴细胞减少。有支气管肺炎，特别是并发肺脓肿者，脾窦中充以单核细胞及中性粒细胞，颇似败血症脾之改变。

（6）其他：肾上腺血窦明显扩张充血，皮质束状带细胞类脂质减少；中后期未见明显改变。胸骨骨髓，早期见血窦充血，富于造血细胞。

2．磷烧伤组超微结构改变

（1）心肌：早期心肌细胞肌原纤维间可见大小不等的空泡（图5）；心肌间质疏松，内有中等电子密度的絮状物沉积，有些区域特别是在毛细血管旁，并见大小不等略呈同形的空泡。中、后期心肌细胞及间质未见明显病变。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

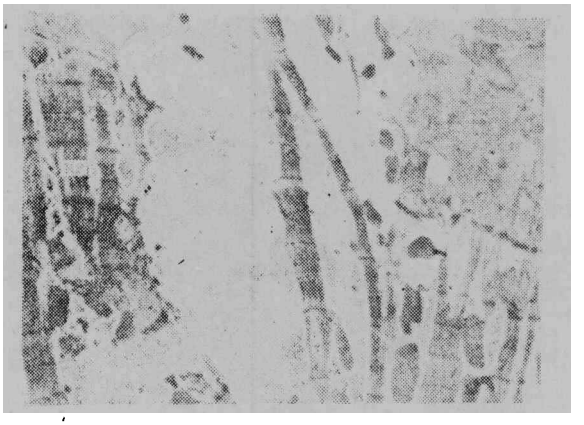


图5　心肌细胞肌原纤维（MF）间有大小不等的空泡（V），有的相互融合，使肌原纤维分离。磷烧伤，早期，×12,000

（2）肺：早期肺泡壁间质明显增宽，中有许多大小不等、形状不规则的空泡；间质细胞胞浆内亦含有多数大小较一致的圆形空泡。中期肺泡壁毛细血管内皮细胞胞浆中吞饮小泡明显增多；间质增宽，内含中等电子密度的絮状物质。肺泡Ⅱ型上皮细胞线粒体肿胀，嵴减少甚或消失，基质电子密度降低；肿胀明显者整个线粒体变成一个圆形的空泡，谓之线粒体性空泡变性（图6、7），有的动物肺泡Ⅱ型上皮细胞表现为内质网有不同程度的扩张，形成大小不等圆形或不规则形的空泡，线粒体则相对正常（图8）。肺泡腔内有水肿液，水肿液中可见游离的嗜锇性强的板层状物质（表面活性物质）。

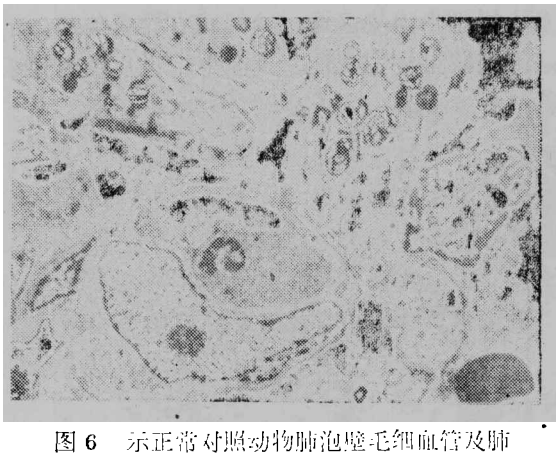


图6　示正常对照动物肺泡壁毛细血管及肺泡Ⅱ型上皮细胞（EPⅡ）。×6,900

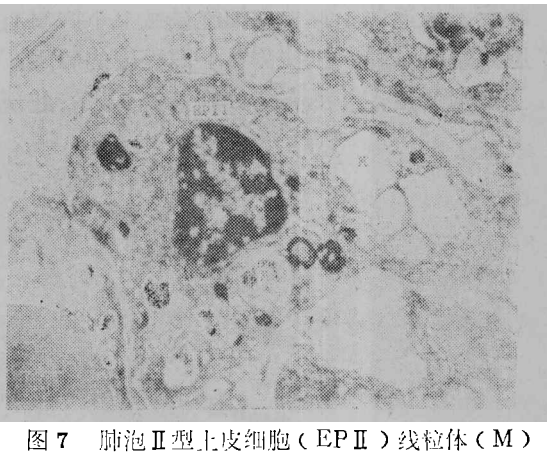


图7　肺泡Ⅱ型上皮细胞（EPⅡ）线粒体（M）肿胀、空泡化。磷烧伤，中期，×13,000

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

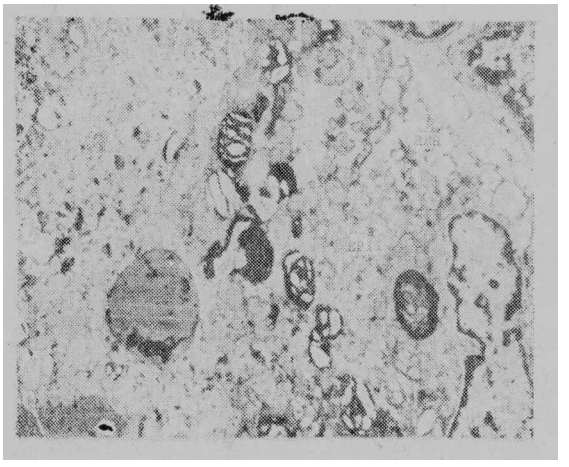


图8　肺泡Ⅱ型上皮细胞（EPⅡ）粗面内质网（RER）腔扩张，而线粒体相对正常。磷烧伤，中期，×5,500

（3）肾：早期肾小球毛细血管内皮细胞、基底膜，足细胞及其足突未见明显改变，但近曲小管上皮细胞胞浆呈空泡变性。中期肾小球毛细血管内皮细胞肿胀，向管腔内突出（图9）；有的毛细血管腔内含有中性粒细胞；偶见毛细血管间质细胞（又称血管系膜细胞）有增生现象（图10）。有的动物球囊腔变狭窄、甚至闭塞。近曲小管上皮细胞微绒毛下胞浆空泡变性（图11），并偶见髓鞘样结构形成。有的上皮细胞线粒体肿胀；有的基底部内褶间胞浆呈空泡变性。此外，近端小管直部上皮细胞变性，其顶端的微绒毛消失，细胞呈蘑菇状突入管腔，管腔内并可见脱落的细胞浆及其细胞器（图12）。30天活杀动物，肾小球未见明显改变。但近曲小管上皮细胞微绒毛下胞浆有许多不规则形淡染区域，其间似有界膜隔开，示胞浆基质水肿；线粒体显不同程度的肿胀；基底部胞浆呈空泡变性。远曲小管上皮细胞胞浆呈空泡变性，并见有部分胞浆脱落入管腔现象。

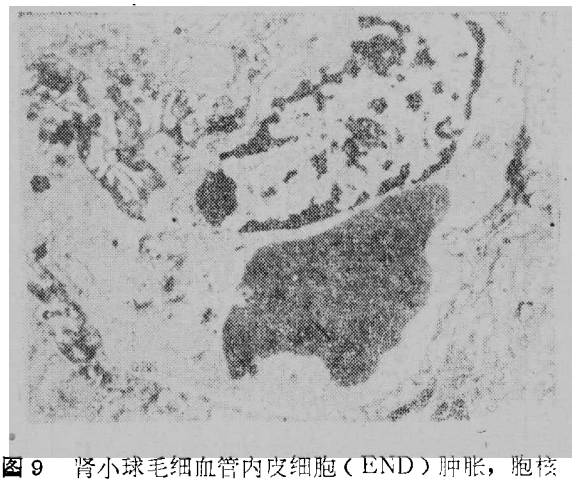


图9　肾小球毛细血管内皮细胞（END）肿胀，胞核增大。磷烧伤，中期，×12,000

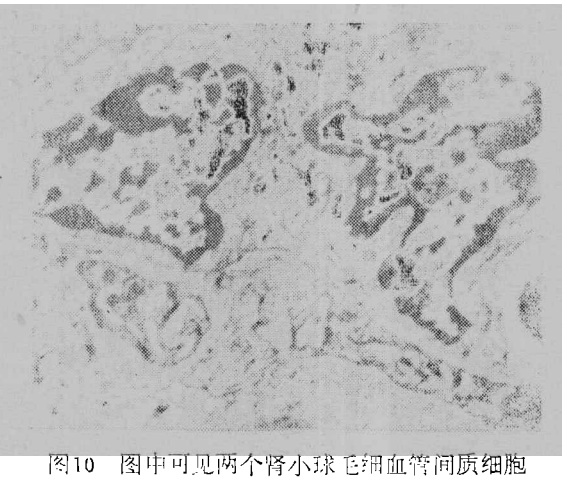


图10　图中可见两个肾小球毛细血管间质细胞（MES）。磷烧伤，中期，×12,600

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

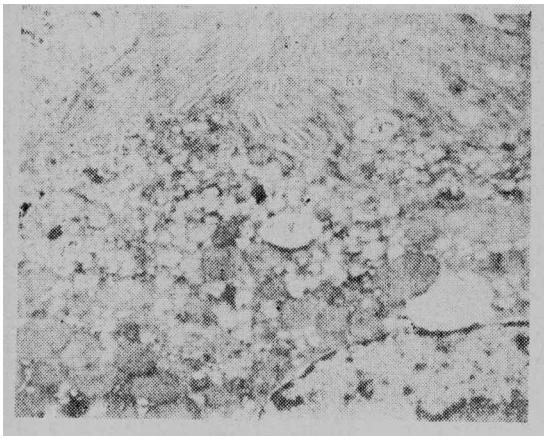


图11 肾近曲小管上皮细胞微绒毛（MV）下胞浆内含有许多空泡（V）。磷烧伤，中期，×10,000

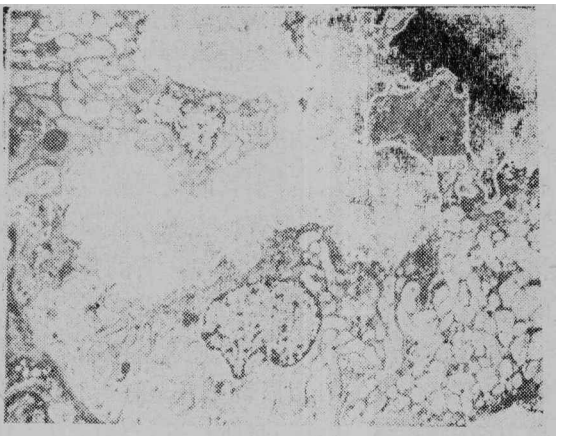


图12 肾近端小管直部上皮细胞退行性变，有的退变细胞呈肾小球样结构（MLS）突入管腔。磷烧伤，中期，×1,000

（4）肝：早期肝细胞线粒体有不同程度的肿胀、嵴减少、基质电子密度减低。中、后期肝细胞线粒体仍有轻度肿胀，并见糖元颗粒有减少现象。

3．凝固汽油烧伤组病理组织学变化

伤后48小时内死亡者10只，见心肺、肝、肾、脾、肾上腺等内脏明显充血，部分动物显肺点片状出血，肾小管上皮浊肿。伤后第5天死亡一只肺呈充血和灶性出血。30天活杀14只，诸内脏充血已不明显，肾小管上皮肿胀仍然存在，部分呈空泡变性。本组未进行超微结构检查。

讨　论

1．本实验结果再次阐明，磷烧伤的死亡率高。关于死亡率高的原因，根据本实验结果来看，我们认为：磷从创面迅速被吸收入血并带至各脏器中；心、肺、肝、肾等主要脏器均有不同程度的损伤。内脏病变主要表现为充血、水肿、出血和实质细胞变性。这可能是磷从创面吸收入血后，被带至内脏血管内，首先侵犯毛细血管内皮细胞，使血管壁发生损害所致。有人根据^{32}磷示踪估计，进入血中的磷侵入红细胞而被带至其他脏器，血浆与红细胞含磷量的比例最高可达1:62。因此有红细胞凝集的血管，内皮损伤可能更为严重，易导致渗出性出血。

2．本实验的病理组织学，超微结构和转氨酶检查均提示有肝脏的损害，但与一般文献记载和临床观察不同，损害不严重，仅表现为肝实充血，肝细胞线粒体肿胀，不同程度的脂肪变，未见肝细胞坏死。这与碱性磷酸酶变化不多，转氨酶在伤后70°已下降也是符合的(图1）。Ben—Hur等[3]在大鼠磷烧伤实验中也曾观察到此现象，认为从呼吸道或肠道吸收的磷先损伤肝脏；从创面吸收者，则先损伤肾脏，而后累及肝脏。对肝脏为何损伤较轻未作更多解释。从本实验^{32}磷示踪情况来看，伤后8°到10天以前肝组织中^{32}磷含量一直高于肾组织，故难以从磷的分布情况说明损伤的先后或肝脏受损较轻的原因，是否可能大鼠肝细胞解磷毒能力（磷主要在肝细胞内解毒）较强，是值得探索的。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3．磷烧伤后肾脏病变较明显且持续时间较长。伤后早期即出现肾小球毛细血管袢及间质血管明显扩张充血。近曲小管上皮浊肿；中、后期肾小管上皮仍有胞浆疏松和空泡变性。超微病变较组织学所见更为显著而多样。如伤后5～10天死亡的动物，光镜检查肾小球病变与早期相似，而电镜检查肾小球毛细血管内皮细胞肿胀，有的毛细血管间质细胞增生，球囊腔变窄，甚至闭塞，肾小管的改变则更为突出，从早期开始，一直延续到后期，不仅累及近端小管，且波及远端小管，表现为线粒体肿胀，胞浆空泡变性，表示细胞内水肿；髓鞘样结构形成，乃膜结构损害的表现；有的肾小管损害严重，有部分胞浆及其细胞器脱落入管腔的现象。

本组磷烧伤动物伤后1°血尿素氮即开始升高，血清磷从伤前的4.4升至7.7mg%；尿磷在伤后10°从伤前的31.2显著上升至104.75mg%。一方面说明磷烧伤肾功能障碍很早即出现，另方面也说明磷从创面吸收后迅速使血清磷升高，并从肾脏大量排出。除磷及其化合物通过血流直接造成肾组织的损害外，血清磷酸盐的升高，可使尿pH明显降低[3]。这种酸性尿可导致肾小管损伤，特别是在烧伤后血容量降低的情况下更易发生。这可能说明磷烧伤后肾脏损害不仅出现早且重，而且持续时间长，特别是肾小管病变。

4．本实验观察结果中，比较突出的是肺部病变，其特点是：（1）早期死亡动物主要为充血和肺泡内小出血灶。（2）中期死亡动物主要为肺水肿，斑片状出血，少数有支气管肺炎；超微结构检查肺泡Ⅱ型上皮线粒体肿胀，内质网扩张，提示细胞内水肿；肺泡壁间质亦有水肿。（3）后期死亡和活杀动物则以感染为主，5/18表现有支气管肺炎，大多为融合性，有的且并发粟粒型肺脓肿。

本实验观察结果与文献记载有所不同，以往大都认为肺损伤是由于吸入磷烟雾所致，而皮肤磷烧伤很少引起肺的严重病变，可能以往的观察只限于早期之故。

对照组早期死亡动物肺部虽也有充血、出血现象，但中、后期死亡者无肺水肿或感染迹象。因此实验组动物肺部病变难以单纯用烧伤本身或休克来解释，显然与磷损害有关。是否有磷从呼吸道吸入的可能？本实验致伤时，即注意避免磷烟雾的吸入，同时肺部产生病变发生较迟，故不可能是磷吸入性损伤。至于肺部病变发生的确切机理，本实验的材料尚难予以阐明，有待研究。但总观肺病变发展的规律是：充血、小出血灶⟶肺水肿、斑片状出血⟶严重肺部感染。这与所谓休克肺或创伤后急性呼吸困难综合征的发展过程颇相类似。因此可否认为肺部病变是在烧伤休克的基础上再加磷损伤所致，是创伤后急性呼吸困难综合征的一种类型，也可称之为“磷烧伤后呼吸困难综合征”。

5．关于心肌的改变，以往文献[1,4]很少涉及超微结构检查。对待临床上磷烧伤后常出现的心电图改变，如QT延长，ST段下降，T波双相或其他改变，QRS波低电位、束枝传导阻滞等，大都单纯从血清电解质紊乱如血清高钾、高磷、低钙等来解释。根据本实验超微结构检查结果，心肌细胞早期即有明显损害。表现为细胞内水肿、心肌间质水肿、红细胞渗出等，值得临床上处理这类病人时注意。

6．从^{32}磷示踪结果看来，磷伤后立即被吸收入血，分布到各脏器，而且各脏器的损害，大都以早期为重，因此创面冲洗愈早、愈彻底，愈好；深度烧伤焦痂，如无禁忌也应及早切除。

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

小　　结

本实验通过大白鼠磷烧伤不同烧伤面积与死亡率关系的计算，^{32}磷示踪，血尿生化检查以及伤后不同时间主要脏器的病理形态学观察，对磷烧伤后全身变化进行了探索。获得以下几点：

1．磷烧伤大白鼠半数致死面积为27.7%，较之对照组（凝固汽油烧伤）的44.9%，有显著差异。死亡率高的主要原因系磷从创面被迅速吸收入血，带至各脏器引起损害所致。此点可从^{32}磷示踪、伤后迅速被吸收入血进入各脏器得到证明。血尿生化检查表明，血清磷、血清钾与尿素氮、血清谷丙转氨酶等项指标伤后1°即开始升高，且持续相当一段时间，尿磷于伤后亦有明显升高，说明肾、肝功能早期即遭受明显损害。

2．主要脏器病变的特点是：肝脏的形态和功能改变较一般文献记载为轻；肾脏的超微病变较组织学改变为明显而多样；休克期以后死亡的动物，肺部出现肺水肿，斑片状出血及严重感染，发展过程颇似"创伤后急性呼吸困难综合征"；心肌早期即有损害，主要表现为细胞内水肿。本文对这些现象进行了分析和探讨，提出了初步看法。

3．由于磷从创面吸收，故创面处理包括冲洗、切痂，愈早愈好。

参 考 文 献

（1）王书等：家兔磷烧伤后肝、肾功能以及组织磷的变化。全军烧伤防治科研协作会议选编237页1979

（2）Ben—Hur N, et al: Phosphorus Burn in Primates. Burns 4:246, 1978.

（3）Ben—Hui N, et al: The Phosphorus burn and its specific treatment. Burns 1:222, 1975

（4）Ben—Hur N, et al: Phosphorus burns—a pathophysiological study, Brit J Plastic Surg 25:238, 1972

（5）夏淑芳等：磷烧伤实验研究之一——大白鼠白磷烧伤实验模型的制作。第二军医大学烧伤防治专辑 1980. 11

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net