

磷灼伤致毒物质与中毒机理的研究

阮仕荣, 胡安军, 李达, 阎锋, 李春光

(河北张家口第二五一医院烧伤中心, 河北 张家口 075000)

摘要: 目的 探讨磷灼伤中毒主要物质及机理。方法 以黄磷灼伤模型和磷酸热液热力致创面后磷酸吸收中毒模型, 在创面残留总磷量相近的情况下, 对黄磷与磷酸灼伤两组实验动物的中毒及死亡进行比较。结果 磷酸烫伤与黄磷灼伤均表现为血磷水平升高、血总钙正常而血游离钙下降, 细胞游离钙降低的同时血小板聚集功能抑制、主要脏器病理损害及7天死亡率(60%)均相同。结论 磷燃烧后经创面吸收中毒是一种特殊的中毒形式。磷在燃烧破坏皮肤屏障过程中形成的磷酸已经足以引起所有的磷灼伤中毒表现, 磷酸与黄磷灼伤致死性相同表明磷酸在磷灼伤中毒中起主要作用。

关键词: 磷灼伤; 磷酸; 中毒; 游离钙

中图分类号: R644; O613.62 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(1999)05-0265-03

Study on toxicants and poisoning mechanism in phosphor burns

RUAN Shi-rong, HU An-jun, LI Da, YAN Feng, LI Chun-guang

(Burn Center of the 251st Hospital of PLA, Zhangjiakou 075000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the main toxicants and poisoning mechanism in phosphor burns (PB). **Methods** A scald model with hot phosphoric acid (PA) was made and compared with PB which had equal total contents of phosphorus within wound. **Results** Both PA and PB caused increased content of plasma phosphorus, decreased levels of blood and intracellular free calcium accompanied with reduced platelet aggregation rate when total plasma calcium was normal, the similar serious damages in visceral organs and mortalities (about 60%) within 7 days after burns. **Conclusion** Systemic poisoning after PB had its features. The amounts of phosphoric acid produced and absorbed from the injured skin surface could induce the systemic poisoning in phosphor burns, especially there were the similar mortalities in the two groups. It suggests phosphoric acid might be the main toxicant.

Key words: Phosphor burns; Phosphoric acid; Poisoning; Free calcium

目前对于磷灼伤主要毒物和中毒机理尚不十分明了^[1-3]。根据口服磷中毒的致死性, 推测元素磷是磷灼伤中毒的主要原因, 但使用高锰酸钾将创面元素磷完全氧化未能降低死亡率^[3]。此外, 磷需要在燃烧热力破坏皮肤屏障后经创面吸收致中毒, 在此过程中, 大部分元素磷转化为磷酸。而临床上, 磷灼伤病人血磷水平越高, 中毒表现越严重^[4], 为此, 我们通过一系列研究对黄磷灼伤与磷酸烫伤进行比较, 以探讨磷灼伤中毒主要物质和机理。

1 材料与方法

1.1 动物及灼伤模型

健康新西兰兔 132 只, 雌雄各半, 体重 2 ~ 2.5kg; 雄性 Wistar 大鼠 98 只, 体重 200 ~ 250g, 兔及大鼠(一级动物)购自军事医学科学院动物中心等单位。

所有动物于背部剪毛及硫化钠脱毛, 灼伤面积为总体表面积(TBSA)的30%。兔静脉注射30mg/kg体重硫喷妥钠液, 大鼠腹腔注射35mg/kg戊巴比妥钠液麻醉后, 两种动物均随机分为灼伤组、烫伤组、黄磷组、磷酸组。灼伤组、烫伤组(普通灼伤对照)参照国内外模型^[5], 分别以凝固汽油燃烧及加热至80℃的热水作用30秒致III度灼伤。黄磷组以20mg/cm²体表面积黄磷燃烧致伤, 经测定该用量黄磷燃烧后66%形成烟雾挥发, 创面剩余总磷量6.1mg/cm²。将80%、70%、60%、50%、40%、30%、20%、10%梯度稀释磷酸恒温加热至80℃, 脱毛后大鼠皮肤表皮侧接触不同浓度磷酸热液30秒后, 测定每cm²皮肤残留总磷量并制作磷酸浓度-皮肤残留总磷量曲线(图1), 曲线显示45%浓度80℃的磷酸热液接触动物皮肤30秒皮肤残留磷量约为6mg/cm²。磷酸组以此浓度磷酸热液致伤, 其创面深度、创面残留总磷量与磷灼伤的接近。

所有动物伤后均按常规抗休克, 动物单笼喂养, 自由进食水, 室温(28±2)℃, 湿度30%~50%。

收稿日期: 1998-06-10; 修回日期: 1999-08-10

基金项目: 全军医药科研基金资助项目(98M014)

作者简介: 阮仕荣(1964—), 男, 湖北十堰人, 医学硕士, 副主任医师, 主要从事化学烧伤治疗及中毒防治研究。

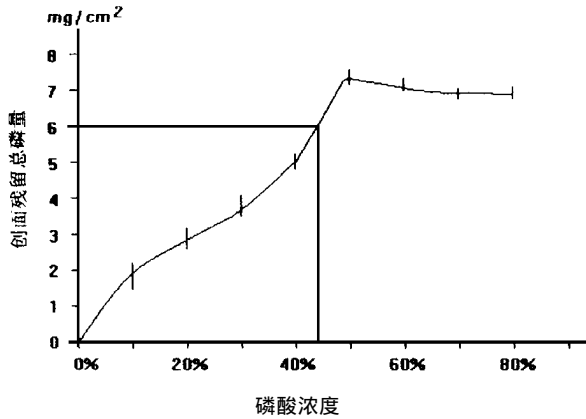


图1 磷酸浓度与创面残留磷量关系曲线

1.2 指标检测

32只兔，于伤后8、24小时取心血肝素抗凝，以电极法测定血游离钙^[9]。52只兔，分组于伤后4、10、24小时股静脉取血分离血清以滴定法测定血总钙；以钼蓝法测定血磷；并于伤后24小时股静脉取血，6:1加ACD抗凝剂（每升含柠檬酸7mmol，柠檬酸钠93mmol，葡萄糖140mmol，pH6.87）抗凝分离血小板后以Fura2/AM荧光法测定血小板游离钙^[10]；以比浊法测定血小板聚集；上述动物于伤前随机抽血测定各项指标的正常值；24只雄性大鼠，每组6只于伤后24、48小时分批活杀作显微及超微组织学检查。此外，48只兔与74只雄性大鼠分组观察并记录死亡情况。

1.3 统计学处理

计数资料采用 χ^2 检验，计量资料以t检验。

2 结果

2.1 伤后血浆钙、磷变化

兔灼伤及烫伤后血磷较伤前无变化，黄磷组与磷酸组灼伤后血磷水平迅速升高，显著高于正常值、灼伤组与烫伤组（表1）；伤后各组血浆总钙均在正常范围。

表1 兔灼伤后血磷浓度变化 ($\bar{x} \pm s$) mmol/L

分组	动物数	PBH4	PBH10	PBH24
烫伤组	12	1.40 ± 0.36	1.30 ± 0.21	1.37 ± 0.24
灼伤组	12	1.28 ± 0.29	1.35 ± 0.22	1.31 ± 0.25
磷酸组	14	2.69 ± 0.45	2.55 ± 0.47 ^{#△}	1.63 ± 0.42
黄磷组	14	1.97 ± 0.32	2.75 ± 0.31 [*]	1.84 ± 0.37

注：血磷正常值为1.35 ± 0.23。#与正常值比较 P < 0.05，
△与烫伤组比较 P < 0.05 *与灼伤组比较 P < 0.05，
下表同。

2.2 伤后细胞内外游离钙及血小板聚集率变化

黄磷与磷酸灼伤后，均出现血浆游离钙及血小板

游离钙显著下降，血小板聚集功能显著抑制（表2、3）。

表2 兔灼伤后血游离钙变化 ($\bar{x} \pm s$) mmol/L

分组	动物数	PBH8	PBH24
烫伤组	8	1.46 ± 0.12	1.46 ± 0.076
灼伤组	8	1.45 ± 0.14	1.38 ± 0.078
磷酸组	8	0.79 ± 0.16 ^{#△}	1.19 ± 0.049 ^{#△}
黄磷组	8	1.15 ± 0.15 ^{#*}	0.88 ± 0.180 ^{#*}

注：血游离钙正常值为1.40 ± 0.04。

表3 血小板游离钙与聚集率变化 ($\bar{x} \pm s$)

分组	动物数	血小板游离钙	血小板聚集率
		(mmol/L)	(%)
烫伤组	12	493.63 ± 69.27 [#]	77.63 ± 3.42 [#]
灼伤组	12	352.46 ± 55.00 [#]	78.09 ± 1.84 [#]
磷酸组	14	140.36 ± 26.69 ^{#△}	8.00 ± 1.74 ^{#△}
黄磷组	14	173.23 ± 44.24 ^{#*}	23.82 ± 6.99 ^{#*}
正常值		285.79 ± 43.99	67.01 ± 3.47

2.3 病理变化

黄磷及磷酸灼伤后，大鼠心肌、肝及肾小管上皮等实质细胞变性、坏死，肾小球及肺间质充血，肺泡水肿、出血。超微结构显示心肌、肝、肾小管上皮及血管内皮细胞核膜模糊、线粒体肿胀，脊消失，并出现大小不等空泡，肺II型细胞减少消失，I型细胞间隙变宽。上述变化远较灼伤及烫伤组严重，且许多变化是后者所没有的。

2.4 死亡率

在兔及大鼠两种动物模型，烫伤组、灼伤组30%TBSA伤后第3天（PBD3）和第7天（PBD7）死亡率接近，均在30%左右。在灼伤面积、深度及创面残留总磷量与磷粉灼伤模型相同的情况下，磷酸组与黄磷组灼伤死亡率相近，均在60%以上，死亡动物大部分在3天以内（表4）。

表4 兔及大鼠伤后死亡率 (%)

分组	兔			大鼠		
	动物数	PBD3	PBD7	动物数	PBD3	PBD7
烫伤组	12	25.0	25.0	15	26.7	33.3
灼伤组	12	25.0	25.0	16	25.0	31.3
磷酸组	12	66.7 [△]	66.7 [△]	21	52.3	66.7 [△]
黄磷组	12	66.7 [*]	66.7 [*]	22	45.5	63.6 [*]

3 讨论

以往国内外对于磷灼伤中毒的认识主要来自口服磷中毒。但研究显示，口服黄磷中毒主要损伤肝脏，而磷灼伤中毒主要损伤肾脏^[1-3]。口服中毒中肝脏过

氧化损伤起重要作用,而磷灼伤后,应用SOD不能降低死亡率,将创面元素磷以高锰酸钾完全氧化也未能降低死亡率,说明与口服元素磷致死不同^[3]。磷燃烧后创面残留的毒性物质至少有两种以上,已确认的包括少量未充分氧化的元素磷和大量磷酸,但何者在中毒中起主要作用争论较大。只有明确了主要毒性物质,临床治疗才有针对性。

皮肤对多种物质的吸收均有明显的屏障作用,磷灼伤中毒首要条件是燃烧热力导致皮肤屏障破坏,形成创面后再吸收中毒。有研究表明,需要20mg/cm²黄磷燃烧才能形成III度创面^[3],经测定,在此过程中,66%形成五氧化二磷烟雾挥发,创面残留总磷6.1mg/cm²,其中残留绝大多数为磷酸,很少部分以无毒的红磷形式存在,极少量以黄磷形式存在。预实验表明,大鼠皮下注射100mg磷酸即100%死亡,而30%磷灼伤模型创面残留总磷达600mg(绝大部分为磷酸),显然,磷灼伤后创面残留磷酸的毒性是不容忽视的,但由于该黄磷灼伤模型创面既有磷酸也有磷元素,显然,单用该模型无法区分主要中毒物质。

由于磷酸本身不易对皮肤造成损害与吸收。本研究以加热的磷酸液形成创面,并通过不同浓度的磷酸液选择,使创面深度、残留总磷量与黄磷灼伤模型相同,这样假设创面所有的磷最终均以磷酸形式导致中毒,与黄磷灼伤模型进行比较进行研究,将有助于明确磷灼伤后主要中毒物质。

本文结果显示,磷酸与黄磷灼伤后,血磷水平显著升高,主要脏器病理损害一致,在灼伤面积、深度及创面总磷量相同时,死亡率相同,血浆与细胞游离钙均下降。也就是说,两者在生化改变、脏器病理损害、致死性以及中毒表现均表现出一致性变化。这提示,磷灼伤后,创面残留的磷完全以磷酸形式即可致全身中毒,因而,可以认为磷灼伤中毒主要毒性物质

是创面的磷酸,元素磷只起次要作用。

磷灼伤后,磷酸吸收一方面导致细胞内外游离钙下降及血小板等细胞功能障碍,临床表现为抽搐、心率增快、出血等,补钙后可迅速消失;另一方面,磷酸可直接对细胞及线粒体等结构造成损害,钙治疗后显著改善。临床补钙能完全防止磷烧伤所致中毒,这些均与本研究结果相一致^[4,8,9]。以往有报道在磷灼伤总钙降低时可以补钙纠正低钙,多数资料未发现血总钙降低,我们发现,总钙正常时游离钙降低,说明总钙远不如游离钙检测敏感。因此,磷灼伤后无论是从拮抗磷酸毒性的角度还是预防低钙的角度,均应及时、足量使用钙治疗。

参考文献:

- [1] 曹大鑫. 磷烧伤与磷中毒的治疗 [A]. 常致德, 张明良, 孙永华, 等. 烧伤创面修复与全身治疗 [M]. 北京: 北京出版社, 1993. 163~173.
- [2] 方之扬, 陈玉林. 常见化学烧伤 [A]. 黎鳌, 杨宗诚. 烧伤治疗学 [M]. 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1995. 339~345.
- [3] Eklad A, Wisoki M, Cohen H, et al. Phosphorus burns; Evaluation of various modalities for primary treatment [J]. J Bum Care Rehabil, 1995, 16 (1): 49~55.
- [4] 胡安军, 杨智义, 刘新民, 等. 钙剂防治磷烧伤中毒的临床效果 [J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1993, 11 (1): 421~425.
- [5] 夏淑芳, 史景泉, 刘明懿, 等. 磷烧伤对大鼠全身影响的实验研究 [J]. 中华外科杂志, 1982, 20: 411~418.
- [6] 孟迅吾, 邢小平, 谭舒文, 等. 血游离钙浓度测定的初步临床应用 [J]. 中华内科杂志, 1993, 32 (10): 665~668.
- [7] Hiroshi Komada, Hiroshi Nakabayashi, Hiroshi Nakano, et al. Measurement of the cytosolic free calcium ion concentration of individual lymphocytes by microfluorometry using Quin-2 or Fura-2 [J]. Cell Struct Funct, 1989, 14: 141~147.
- [8] 李达, 阮仕荣, 胡安军, 等. 磷烧伤出血机理及钙剂治疗效果的实验研究作用 [J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1998, 14 (1): 45~48.
- [9] 阮仕荣, 李达, 胡安军, 等. 钙剂防治磷烧伤中毒机理的研究 [J]. 解放军医学杂志, 1997, 22 (6): 450~452.

(上接 264 页)

- [3] Fahion. M. S. et al. Fertility & Sterility, 1977, 28 (8): 828.
- [4] 卢晓琴. 实验动物精子制片的改良方法. 中华预防医学杂志, 1993, 27 (5): 307.
- [5] 张虎山. 热习服过程水盐代谢规律探讨 [A]. 全军第四次中暑防治学术会议汇编 [C]. 北京: 1987. 65.
- [6] 王国钦. 化学物的生殖毒理 [A]. 见: 李寿祺. 卫生毒理学基本原理和方法 [M]. 第一版. 成都: 四川科技出版社, 1987. 273.
- [7] Asdell S A, et al. Anatomical Record, 1941, 80: 145
- [8] Payne J M. Journal of Pathology & Bacteriology, 1956, 71: 117.
- [9] 张汇泉, 朱文化. 温水加热对大白鼠睾丸组织学影响的定量研究 [J]. 生殖与避孕, 1982, 2 (4): 35.
- [10] 温泉法, 王兰兴, 范正平. 低剂量辐射和高温复合暴露对大鼠精子发生的影响 [J]. 海军军事医学, 1991, 12 (2): 11.
- [11] 朱继业, 王一飞, 吴明章. 电吹风透热对睾丸精子发生和间质细胞影响的组织学和组化观察 [J]. 生殖与避孕, 1982, 2 (3): 37.