DOI:10.16016/j.1000-5404.1999.06.002

碘伏和苯妥因局部用药对放烧复合伤创面的治疗研究*

宋举峰** 楼淑芬 余争平 程天民 (第三军医大学预防医学系防原医学教研室、全军复合伤研究所) 重庆,400038

提 要 目的:用大鼠放烧复合伤模型观察碘伏与苯妥因(PHT)局部单用与伍用的抗感染和促愈效果。方法:复制大鼠15%Ⅱ度烧伤和4 Gy ^{60}Coγ辐照复合15%Ⅱ度烧伤的损伤模型,观察不同给药方案治疗后30 d存活率、创面残留率、创面感染率、肉芽组织蛋白与羟脯氨酸含量以及血管生成等指标变化。结果:碘伏单用和与PHT伍用在两种损伤均显示显著的抗感染作用和促愈作用,创面感染率、组织菌量30 d创面残留率均低于对照组,而肉芽组织蛋白、羟脯氨酸含量及血管密度计数用药后7~24 d两种损伤模型相继高于对照组。两药伍用未见拮抗效应,而且无论是抗感染还是促愈效果均优于单用。PHT促进蛋白、羟脯氨酸的合成代谢与促血管形成作用可能是其促愈效应的生化和形态学基础。结论:碘伏与PHT局部伍用可起抗感染和促进创面愈合的良好作用。用于放烧复合伤的治疗有重要的潜在应用价值。

关键词 碘伏;苯妥因;创面愈合;放烧复合伤

中图法分类号 R644;R818

放烧复合伤烧伤创面常发生感染和延迟愈合,创面感染是诱发脓毒血症等并发症以至危及生命的主要原因之一。有效控制创面感染和促进创面愈合,是放烧复合伤救治中的重要环节[1]。既往已有众多局部抗感染措施的研究报道,如应用磺胺嘧啶银涂抹等[2],但同时从抗感染和促愈两方面考虑研究伍用药物的治疗效果尚未深入研究。本研究目的在于,应用大鼠放烧复合伤模型,观察抗菌药碘伏与具有促愈和辐射防护双重作用的药物苯妥因(Phenytoin,PHT)局部单用与伍用的治疗效果。

1 材料与方法

1.1 动物与药品

实验用雄性Wistar大鼠体重(206±18)g由本校实验动物中心提供,PHT(注射用钠盐,纯度>99%,上海新亚药业有限公司),碘伏(含碘5%,重庆中药厂)为市售产品,其它试剂为分析纯级产品。

1.2 分组、致伤与给药方案

1.2.1 分组 实验在15%体表面积Ⅱ度烧伤(15%ⅡB)及此损伤合并4 Gy ^{60}Coγ线全身辐射的大鼠致伤模型上,设对照、碘伏治疗、PHT治疗、碘伏与PHT伍用治疗共4个实验组。

1.2.2 致伤 大鼠实验前1 d背部剪毛,按体重计算体表面积。在戊巴比妥35 mg/kg,ip麻醉下,由5 000 W溴钨灯垂直投射距离70 cm处照射25 s(室温10~15 ℃)造成15%ⅡB,经组织切片证实为全层皮肤烧伤。复合伤动物在接受4 Gy ^{60}Coγ辐照后30 min内用同样方法造成15%ⅡB,动物伤后均立即ip注射生理盐水10 ml。

1.2.3 给药方案 碘伏为含碘浓度5%(W/V)的市售产品;PHT用生理盐水配制成20%的溶液,给药剂量按创面面积换算。①碘伏治疗组动物按0.1 mg/cm^{2}伤后每日均匀涂抹创面1次。②PHT治疗组每日用无菌生理盐水配制的10%PHT溶液按0.5 mg/cm^{2}均匀涂抹创面1次。③伍用治疗组在碘伏给药30 min后用PHT。上述3组均连续用药10 d。④对照组动物伤后创面用等量生理盐水每日涂抹1次,连续10 d。未作任何处理。

1.3 观察指标

1.3.1 30 d存活率与创面残留率 观察不同治疗组动物30 d存活率和创面残留率。

1.3.2 创面感染率 以创面接种培养出溶血性链球菌为感染指征。

1.3.3 创面组织细菌含量 无菌条件下取伤后不同时间创面组织用无菌0.1 mol/L PBS(pH7.4)制备10%(W/V)组织匀浆,取0.1 ml在10至1万倍范围内递比稀释的匀浆液接种于不同的琼脂平皿,37℃培养24 h计数菌落并推算组织细菌含量。

1.3.4 肉芽组织蛋白与羟脯氨酸含量测定[3] 取伤后不同时间创面肉芽组织称重后置于20 ml安瓿按10%(W/V)加入6 mol/L HCl封口后135℃消化3.5 h,用6 mol/L NaOH滴定至中性,稀释后过滤,用DNAB显色测定羟脯氨酸含量。另取肉芽组织制成匀浆后按常规方法作总蛋白含量测定。

1.3.5 肉芽组织血管密度与形态参数测定 取伤后不同时间创面肉芽组织,10%甲醛固定后作常规石腊包埋切片,HE染色后用TECBAS-6803真彩色图象分析系统作单位面积毛细血管密度测定,读取不同组别伤后14 d切片中20支毛细血管图像,并编号标记以避免重复读取,测定平均口径和管腔截面积,以反映新生血管形成的差别。

1.4 统计分析

用Harvard 4.0统计软件(Microsoft,USA)作ANOVA分析,组间差别用Student's t 检验,$P<0.05$ 和 $P<0.01$ 分别判

* 全军"九五"指令性攻关项目,No. 96L045

** 宋举峰,男,34岁,主治医师,国防科工委第五四六医院烧伤外科 新疆,841700

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

定为有显著和非常显著的差别；百分率差别用 χ^2 检验(Chi-test)。

2 结果

2.1 治疗创面感染与促进创面愈合的效果

碘伏治疗在 15% Ⅲ B 组显著降低 30 d 创面残留率和感染率，并提高复合伤动物 30 d 存活率，而对复合伤创面愈合无显著效果；PHT 治疗在复合伤组显著降低创面残留率而未显示抗感染作用；两者伍用治疗可显著提高复合伤组动物存活率和降低感染率，缩小创面残留率，见表 1。两者伍用治疗无论是对单烧还是复合伤效果均优于单用。

表 1　碘伏与 PHT 治疗促愈效果观察

Tab 1　Effect of iodophor and phenytoin on wound healing

Group	Type of injury	n	30 d survival rate(%)	Candition of wound	
				30 d residual rate (%)	Infection rate (%)
Control	15% Ⅲ burn	12	83.3	44.6±11.2	100
	Com. Injury	12	50	71.3±8.4	100
Iodophor	15% Ⅲ burn	12	50	31.3±8.4*	41.7△
	Com. Injury	12	75△	67.5±12.6	50△
PHT	15% Ⅲ burn	12	83.3	36.5±8.7	91.7
	Com. Injury	12	66.7	44.5±8.3**	100
Iodophor-PHT combination	15% Ⅲ burn	12	91.7	26.6±5.7**	33.3△△
	Com. Injury	12	83.3△	38.6±11.3**	50△

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ *vs* control(Student's test)；△：$P<0.05$，△△：$P<0.01$ *vs* control(Chi-square，χ^2)

2.2 创面组织菌量的变化

碘伏抗感染作用显著，表现为在两类损伤用药后较之对照组均显著地降低了组织细菌量；PHT 治疗复合伤动物在 14 d 和 21 d 组织菌量低于对照；伍用治疗两类损伤创面组织菌量均显著低于对照组，见表 2。两药伍用并未影响碘伏的抗菌作用。伍用效果优于单用碘伏。

表 2　碘伏与 PHT 治疗创面组织菌量的变化($n=5$，$\bar{x}\pm s$，$\times 10^6$/g)

Tab 2　Changes of bacteria count in wound tissue treated with iodophor and PHT，($n=5$，$\bar{x}\pm s$，$\times 10^6$/g)

Group	Type of injury	Time after injury (d)			
		3	7	14	21
Control	15% Ⅲ burn	2.9±0.3	4.1±1.1	4.3±0.6	3.1±0.3
	Com. Injury	3.4±0.6	5.1±1.3	6.3±1.5	6.1±0.7
Iodophor	15% Ⅲ burn	1.7±0.5*	1.9±0.7**	1.6±0.4**	2.1±0.8*
	Com. Injury	1.5±0.7**	2.4±0.6**	2.9±1.1**	2.6±1.2**
PHT	15% Ⅲ burn	3.2±0.7	4.7±0.6	4.1±0.3	2.6±0.7
	Com. Injury	3.5±1.2	5.4±0.3	5.6±1.3*	4.4±0.4*
Iodophor-PHT combination	15% Ⅲ burn	2.1±0.4*	2.3±0.8**	1.3±0.5**	1.4±0.6**
	Com. Injury	2.3±0.6*	2.7±0.5**	2.2±0.7**	1.6±0.3**

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$ *vs* control

2.3 肉芽组织蛋白与羟脯氨酸含量变化

碘伏治疗 14 d 和 21 d 复合伤动物创面肉芽组织羟脯氨酸含量显著高于对照组，PHT 治疗单烧 7 d、复合伤 14 d 羟脯氨酸含量均显著高于对照组；伍用治疗组 7 d 和 14 d 两类损伤均非常显著地高于对照组，见表 3。结果表明 PHT 可促进肉芽组织羟脯氨酸合成，在单烧显效早(7 d)而在复合伤则较晚。肉芽组织总蛋白含量的变化与羟脯氨酸一致(结果未在此报告)。表明 PHT 单用或与碘伏伍用均能显著促进新生肉芽组织合成代谢。对照组和各治疗组中在复合伤早期羟脯氨酸含量较单烧高，尤其是伤后 3 d 更明显，随后下降，对此现象本研究未作进一步探讨。

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

表 3 碘伏与 PHT 治疗对创面组织羟脯氨酸代谢的影响($n=6, \bar{x}\pm s$, mg/g)

Tab 3 Effect of iodophor and PHT on hydroxyproline content in wound tissue($n=6, \bar{x}\pm s$, mg/g)

Group	Type of Injury	Time after injury (d)			
		3	7	14	21
Control	15% Ⅲ burn	1.74±0.23	1.99±0.27	2.98±0.36	3.42±0.27
	Com. Injury	4.93±0.76	3.43±0.29	2.22±0.46	2.10±0.37
Iodophor	15% Ⅲ burn	1.98±0.31	2.29±0.34	4.51±0.27*	3.47±0.53
	Com. Injury	4.26±0.42	3.65±0.52	3.39±0.47**	3.68±0.23**
PHT	15% Ⅲ burn	1.79±0.33	2.59±0.26*	3.52±0.44*	2.91±0.38
	Com. Injury	4.38±0.52	3.72±0.54	3.42±0.37**	3.53±0.33**
Iodophor-PHT combination	15% Ⅲ burn	1.85±0.27	3.18±0.62**	5.33±0.57**	2.97±0.42
	Com. Injury	4.59±0.41	4.73±0.54**	3.72±0.61**	2.23±0.31

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* control

2.4 肉芽组织血管形成观察

PHT 在单纯 15% Ⅲ°B 和复合伤均显示促进肉芽组织血管形成作用，伤后 7 d 起，血管密度计数高于对照组，第 14 天血管平均口径及截面积测定均大于对照组，碘伏未显示促血管形成作用。两药伍用未影响 PHT 的促血管形成作用，见表 4、5。

表 4 肉芽组织单位面积(5×8 mm²)血管密度计数($n=6, \bar{x}\pm s$)

Tab 4 Capillary density of granulation tissue in a definite area (5×8 mm²)($n=6, \bar{x}\pm s$)

Group	Type of injury	Time after injury (d)			
		3	7	14	21
Control	15% Ⅲ burn	2.8±1.1	5.2±3.1	7.8±4.2	8.3±3.6
	Com. Injury	1.2±0.3	3.2±1.1	5.4±1.6	5.5±5.2
Iodophor	15% Ⅲ burn	3.4±0.7	6.5±4.2	9.5±4.2*	8.2±2.7
	Com. Injury	2.2±1.3	4.1±2.4	6.8±5.5	6.3±3.6
PHT	15% Ⅲ burn	4.1±1.7	8.7±4.2*	11.3±3.2	10.5±5.7*
	Com. Injury	1.8±0.6	5.2±2.3**	9.7±4.5**	11.2±3.1**
Iodophor-PHT combination	15% Ⅲ burn	4.7±2.3**	8.2±5.6*	12.8±4.7**	10.5±2.6*
	Com. Injury	4.8±1.2**	6.1±3.1**	11.5±3.5**	9.5±4.7**

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* control

表 5 血管形态参数比较($n=20, \bar{x}\pm s$)

Tab 5 Comparison of morphorlogical index of capillaries($n=20, \bar{x}\pm s$)

Group	Type of injury	Mean diameter(μm)	Mean sectional area (μm²)
Control	15% Ⅲ burn	69.1±13.4	4802±257
	Com. Injury	48.6±16.8	2857±183
Iodophor	15% Ⅲ burn	71.6±25.3	5066±196
	Com. Injury	51.2±30.1	2987±273
PHT	15% Ⅲ burn	83.2±27.5*	6035±367**
	Com. Injury	74.7±46.2**	5382±413**
Iodophor-PHT combination	15% Ⅲ burn	80.5±36.2*	5927±304**
	Com. Injury	76.8±35.7**	5453±294**

*: $P<0.05$, **: $P<0.01$ *vs* control

3 讨论

本研究试将临床外用消毒剂碘伏和具有促愈作用的 PHT 伍用治疗放烧复合伤，以求达到抗感染和促愈的双重作用，结果表明：①碘伏可显著降低创面感染率和组织菌量，与 PHT 伍用抗菌作用未受影响，在伤后 14 d 观察到组织羟脯氨酸和总蛋白含量升高，这一现象提示控制局部感染有利于创面合成代谢。②PHT 有显著的促愈作用，重要的是两药伍用不但未减轻 PHT 的促愈效果，而且显示了更佳的效果。③PTH 局部用药可促进肉芽组织蛋白和羟脯氨酸的合成代谢和新生血管形成，这些作用可能是其促愈的生化和形态

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

基础。

碘伏是碘与乙烯吡咯烷酮的络合物，水溶性，刺激性小，国外早在五十年代就报道局部用于消毒、抗感染[4]，至八十年代我国有报道用于烧伤创面处理，但除控制感染之效用外，对创面愈合是否有影响，未见有报道。本研究进一步在放烧复合伤模型上肯定了碘伏的抗感染作用，并发现局部应用对创面愈合无不良影响。对 PHT 促进创伤愈合的作用认识已久，目前认为促愈机理是通过促进局部 TGFβ 等生长因子表达刺激成纤维细胞增殖和合成胶原来实现的[5,6]，本研究在整体动物模型进一步观察到 PHT 局部应用有促进创面局部新生血管形成的作用，这在改善和恢复局部组织血供、促进合成代谢（蛋白、胶原等细胞外基质的合成）等方面具有重要的意义。PHT 促血管形成机理有待进一步实验探讨。

本研究结果表明两药在放烧复合伤创面局部伍用，可起到抗感染和促愈的双重作用而无拮抗效应。鉴于两药价廉易得、使用方便、局部用药无毒副作用，在放烧复合伤创面处理两药伍用具有重要的潜在应用价值。

参考文献

1 Cheng T M. Medical management and its pathological basis of radiation combined injury in nuclear accidents. Int Rev Armed Forces Med Services, 1996, LXIX(4～6): 119

2 冉新泽，阎永堂，林　远，等. SD-Zn 或 SD-Ag 涂抹创面与切痂植皮时机对放烧复合伤大鼠的疗效观察. 中华整形烧伤外科杂志，1997，13(5)：330

3 Modaghegh S, Salehian B, Tavassoli M, *et al*. Uses of phenytoin in healing war and non-war wounds. Int J Dermatol, 1989, 28(5): 347

4 Garnes A L. Clinical evaluation of povidone iodine aerosol spray in surgical practice. Am J Surg, 1959, 97(1): 49

5 Anstead G M, Hart L M, Sunahara J F, *et al*. Phenytoin in wound healing. Ann Pharmacother, 1996, 30(7～8): 768

6 Schffer M R, Tantry U, Ahrendt G M, *et al*. Stimulation of fibroblast proliferation and matrix. Int J Biochem Cell Biol, 1997, 29(1): 231

（收稿：1998-06-15；修回：1999-03-31）

（编辑　陈聪连）

Therapeutic effect of topically applied iodophor and phenytoin on combined radiation-burn wounds in rats*

Song Jufeng, Lou Shufen, Yu Zhengping, Chen Tianmin (Instifute of Combined Injury of PLA, Department of Radiation Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract　Objective: To observe the anti-infection and heal-promoting effects of topically-applied iodophor and phenytoin singly or combinedly on combined radiation-burn wouds in rats. Methods: Rats were inflicted with 15% TBSA full thickness burns or combined injury of 4 Gy gamma ray irradiation and 15% TBSA full thickness burns and then the effects of different regimens and dosages of iodophor and phenytoin on the survival rate, the percentage of residual wound surface, the wound infection rate, the protein and hydroxyproline content in the granulation tissue, and the condition of angiogenesis were observed in the rats on the 30th d after injury. Results: ①Iodophor alone or in combination with phenytoin possessed excellent anti-infection capacity. The wound infection rate and tissue bacterial count in iodophor-treated group were significantly lower than those in the control. ②Phenytoin alone or in combination with iodophor markedly improved wound healing, which was evidenced by the significant increase of protein and hydroxyproline in the granulation tissue, the argumentation of angiogenesis on 7th to 21st d postinjury and the decrease of the percentage of residual wound surface on 30th d. ③ When the 2 agents were administered in combination, no antagonism but agonism existed since better effects to promote healing and control infection were observed. ④The effect of phenytoin on the promotion of protein and hydroxyprolin synthesis and on angiogenesis might be the biochemical and morphological basis to augment healing. Conclusion: Topically applied iodophor and phenytoin are synergistic to promote healing and suppress infection and exert great effects on the treatment of combined radiation-burn wounds.

Key words　iodophor; phenytoin; wound healing; combined radiation-burn in jury

* This project was supported by the "Ninth five" obligatory budget of PLA, No. 96L045

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