

## • 实验研究 Experimental research •

## 介入再通联合臭氧治疗阻塞性输卵管炎的实验研究

申 刚, 谭小云, 陈德基, 何明基, 李彦豪

**【摘要】 目的** 观察介入再通联合医用臭氧治疗慢性阻塞性输卵管炎的疗效,为临床应用提供实验依据。**方法** 采用经子宫输卵管插管介入途径建立炎性阻塞动物模型。将新西兰大白兔分为 30  $\mu\text{g/ml}$  臭氧治疗组(A 组)、40  $\mu\text{g/ml}$  臭氧治疗组(B 组)、常规介入治疗组(C 组)及模型对照组(D 组),每组 10 只,同时取正常兔 10 只作为空白对照组(E 组)。在常规介入治疗后,A 组和 B 组再经导管分别注入 30  $\mu\text{g/ml}$  及 40  $\mu\text{g/ml}$  臭氧各 10 ml;D 组和 E 组给予等量生理盐水。术后 4 周观察各组兔输卵管病理形态学改变。**结果** A、B、C、D 组介入术中输卵管再通技术成功率分别为 88.9%、85.0%、88.9%和 81.3%。与 D 组比较,A、B、C 组输卵管炎症改善显著,组间差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),A、B 组与 C 组比较,疗效差异亦有统计学意义( $P < 0.05$ ),但 A 组与 B 组间疗效差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。**结论** 30 和 40  $\mu\text{g/ml}$  臭氧均可不同程度改善输卵管慢性阻塞性炎症,值得在临床进一步推广使用。

**【关键词】** 输卵管炎;臭氧;介入;动物实验

中图分类号:R711.6 文献标志码:B 文章编号:1008-794X(2012)-05-0405-05

**Interventional fallopian tube recanalization combined with ozone injection in treating chronic obstructive salpingitis: an experimental study in rabbits** SHEN Gang, TAN Xiao-yun, CHEN De-ji, HE Ming-ji, LI Yan-hao. Department of Radiology, the Second Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College, Guangzhou 510260, China

Corresponding author: CHEN De-ji, E-mail: chendeji2003@yahoo.com.cn

**【Abstract】 Objective** To assess the therapeutic value of interventional fallopian tube recanalization (FTR) combined with ozone injection in treating chronic obstructive salpingitis in experimental rabbits in order to provide references for clinical application. **Methods** The animal model of chronic obstructive salpingitis was established through interventional uterotubal catheterization in New Zealand white rabbits. A total of 40 rabbit models with salpingitis were randomly and equally divided into four groups: group A (30  $\mu\text{g/ml}$  ozone), group B (40  $\mu\text{g/ml}$  ozone), group C (conventional interventional treatment) and group D (modeling control group). Another ten healthy rabbits were used as a blank control group (group E). After interventional FTR was successfully finished, 10 ml of 30  $\mu\text{g/ml}$  ozone and 40  $\mu\text{g/ml}$  ozone was injected through the catheter into each fallopian tube in the rabbits of group A and group B respectively, while anti-inflammatory drug was given to the rabbits in group C, and 10 ml of saline was injected in the rabbits of both group D and group E. Four weeks after the treatment, the experimental rabbits were sacrificed, and the fallopian tubes were collected and sent for macroscopic and microscopic examination. **Results** The recanalization rate of the fallopian tube in group A, B, C and D was 88.9%, 85.0%, 88.9% and 81.3%, respectively. The severity of salpingitis observed in group A, B and C was significantly improved when compared to that observed in group D ( $P < 0.05$ ). Statistically significant difference in the therapeutic effect existed between group A and C, as well as between group B and C ( $P < 0.05$ ), although the difference between group A and group B was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). **Conclusion**

Additional use of ozone injection with the concentration of 30  $\mu\text{g/ml}$  or 40  $\mu\text{g/ml}$  following interventional fallopian tube recanalization management can surely improve the chronic obstructive

DOI:10.3969/j.issn.1008-794X.2012.05.012

作者单位: 510260 广州医学院第二附属医院放射科(申 刚、谭小云、陈德基、何明基);南方医院介入治疗科(李彦豪)

通信作者: 陈德基 E-mail: chendeji2003@yahoo.com.cn

salpingitis to a certain degree in experimental rabbits. This technique might be advocated in clinical practice.(J Intervent Radiol, 2012, 21: 405-409)

**【Key words】** salpingitis; ozone; intervention; animal experiment

输卵管慢性阻塞性炎症是不孕症的常见原因, 约占女性不孕因素的 1/3<sup>[1]</sup>。介入性输卵管再通术由于操作简单、创伤小、费用少、再通率高等特点, 被临床广泛应用<sup>[2-5]</sup>。有临床报道, 介入再通联合医用臭氧治疗输卵管阻塞性炎症可以取得更好的抗炎及抗粘连作用<sup>[6]</sup>。本研究试图通过动物实验, 观察介入再通联合医用臭氧治疗慢性阻塞性输卵管炎的疗效, 旨在为其临床应用提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及预实验

取雌性未孕 5 月龄新西兰大白兔 79 只, 平均体重  $(3.3 \pm 0.2)$  kg, 由广州中医药大学实验动物中心提供, 合格证号为 0043111。

1.1.1 模型建立方法<sup>[7-11]</sup> 采用经子宫输卵管插管介入途径建立双侧输卵管炎性阻塞动物模型, 即在 X 线引导下经兔阴道子宫插管至输卵管近段与远段交界处, 注入“混合菌”, 细菌准备以大肠埃希菌、金黄色葡萄球菌、链球菌按 2:1:1 比例用无菌生

理盐水稀释, 配成浓度为  $3 \times 10^9/\text{ml}$  的混合菌(菌种由广州市微生物研究所提供、培养)。

#### 1.1.2 预实验

1.1.2.1 前期实验 模型组(10 只)输卵管注入混合菌 1 ml, 正常对照组(5 只)注入生理盐水 1 ml。之后于第 5、7、10、15、20 天两组分别抽样 1 只动物, 剖腹探查, 取标本观察其病理变化。正常对照组术后第 5 天输卵管局部轻微水肿, 无明显炎症反应, 第 10 天以后均无水肿和炎症表现(图 1)。模型组动物于第 5、7、10 天可见输卵管呈急性炎性反应, 至第 15 和 20 天, 病理所见基本相似, 均呈慢性炎性表现(图 2), 且以第 15 天更为典型, 遂以第 15 天为取材观察时间点。

1.1.2.2 后期实验 另取 10 只兔造模, 4 只兔作为正常对照组。第 15 天处死动物, 正常对照组无炎症反应, 管壁组织结构清晰, 管腔通畅; 黏膜上皮细胞呈柱状; 黏膜皱襞及纤毛丰富。造模组术后死亡 1 只, 其余兔病理检查近段和远段输卵管呈慢性炎性表现(图 3)。



图 1 正常兔输卵管大体解剖



图 2 输卵管呈慢性炎症, 色泽、弹性差, 呈“腊肠”样改变, 伞端粘连呈湖状

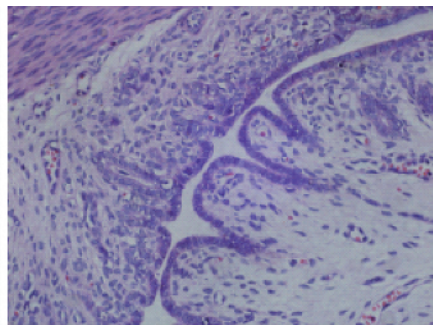


图 3 纤毛稀疏、短小, 胞核排列不规整, 黏膜下结缔组织可见较多新生血管(HE,  $\times 400$ )

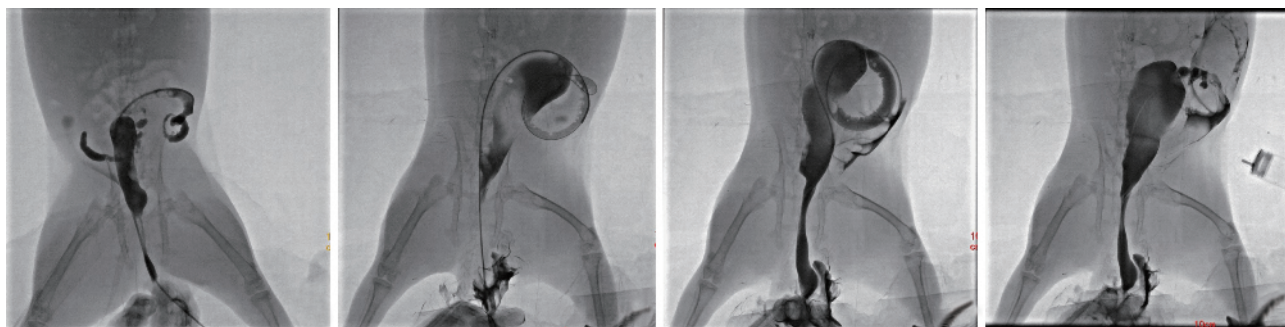
### 1.2 动物分组

取 40 只兔造模, 并分为 30  $\mu\text{g}/\text{ml}$  臭氧治疗组(A 组)、40  $\mu\text{g}/\text{ml}$  臭氧治疗组(B 组)、常规介入治疗组(C 组)和模型对照组(D 组), 每组 10 只, 另取 10 只作为空白对照组(E 组)。

### 1.3 实验方法

各组于造模成功后第 1 天行介入治疗。动物麻醉<sup>[12]</sup>后常规剃毛、消毒外阴, 导管插入阴道开口前半部(子宫与膀胱共同开口于此腔道), 透视下向阴道腔内注入适量对比剂, 辨别子宫及膀胱位置, 再

插管至子宫腔内, 用手及镊子紧固阴道外口以防止对比剂外漏, 继续注入适量对比剂直至双侧宫角及输卵管近段显影, 然后将单弯导管插入一侧宫腔, 利用导管前端的自然弯曲, 将导管送入子宫角处至输卵管开口处造影, 仔细观察输卵管远段炎症及阻塞情况, 再沿导管送入 0.035 英寸泥鳅导丝(图 4a-b), 成功再通后跟进导管至近段输卵管远端。C 组在输卵管阻塞介入再通术中常规注入庆大霉素 4 000 u、糜蛋白酶 200 u、地塞米松 0.5 mg 及甲硝唑混合液 10 ml (图 4c); A 组和 B 组再经导管分别缓慢注入



4a 选择性输卵管造影见左侧输卵管近段远端变窄 4b 用泥鳅导丝通过狭窄段加大推注压力输卵管远段亦无法显影,右侧盆腔可见对比剂弥散 4c 跟进导管,导管成功通过狭窄段,注入适量对比剂可见对比剂弥散至盆腔 4d 注入适量药物后,在 30 min 内注入 20 ml 臭氧,可见左侧输卵管及左侧盆腔内臭氧弥散

图 4 慢性阻塞性输卵管炎介入再通术过程

30  $\mu\text{g/ml}$  和 40  $\mu\text{g/ml}$  臭氧 20 ml (图 4d), 注气开始时在透视下进行, 观察气体缓慢进入腹腔, 掌握好注气速度, 推一下松一下, 尽量慢, 应在臭氧注入时间持续至少 30 min; D 组及 E 组给予等量生理盐水。于术后 4 周处死动物, 观察各组兔输卵管病理形态学改变, 其中未能成功再通的输卵管不纳入观察对象。

#### 1.4 输卵管炎症病理程度判断<sup>[7,13]</sup>

1.4.1 输卵管炎症半定量标准 “-”表示无明显实质性变性、坏死, 无明显炎性细胞浸润, 无间质结缔组织增生等病理改变; “+”表示细胞由柱状细胞变为立方细胞, 纤毛部分消失, 结缔组织少量增生, 有少量炎性细胞浸润, 管腔少量粘连; “++”表示细胞由柱状变为扁平状, 纤毛进一步消失, 结缔组织部分增生, 有部分的炎性细胞浸润, 管腔部分粘连; “+++”表示细胞上皮和纤毛完全消失, 大量纤毛细胞增生和炎症细胞浸润, 管腔严重粘连。

1.4.2 输卵管总体炎症程度分级 输卵管组织各层炎症改变程度半定量以“-”、“+”、“++”、“+++”表示, 分别赋予 0、1、2、3 分, 再把每个样本的各层分数累加, 将输卵管总体炎症程度分为 4 级, 即正常(分数为 0)、轻度( $1 \leq \text{分数} < 4$ )、中度( $4 \leq \text{分数} < 6$ )、重度(分数  $\geq 6$ )。

#### 1.5 统计学方法

用 SPSS13.0 软件进行数据统计, 多组单向有序资料采用 Ridit 分析, 多组均数比较采用方差分析。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般情况

40 只实验动物造模后, 因感染等原因死亡 4 只, 其中 A 组 1 只、C 组 1 只、D 组 2 只。输卵管造

影显示 A(18 条)、B(20 条)、C(18 条)、D(16 条)组输卵管均显示不同程度梗阻, 梗阻部位主要发生在输卵管远段与近段交接处(图 4a)。不完全梗阻定义为正常压力下输卵管显影不良, 加压后显影, 对比剂通过缓慢。A、B、C 和 D 组的输卵管完全梗阻分别占 66.8% (12/18)、65% (13/20)、77.8% (14/18) 及 62.5% (10/16), 不完全梗阻分别占 33.3% (6/18)、35% (7/20)、22.2% (4/18) 及 37.5% (6/16)。模型兔输卵管炎性阻塞大部分可成功再通, A、B、C、D 组介入术中输卵管再通技术成功率分别为 88.9% (16/18)、85.0% (17/20)、88.9% (16/18) 及 81.3% (13/16)。再通不成功原因主要为输卵管远端近伞端处严重粘连或积水。

### 2.2 治疗后 4 周输卵管炎症改善情况

图 5 为 B 组输卵管炎症治疗后的病理所见。各组输卵管组织炎症情况见表 1, 经过评分处理得出表 2, 表 2 中 Ridit 均值及 95% 置信区间 (CI) 由 Ridit 分析得出。从各组 Ridit 均值误差条线图 (图 6) 可以看出, 各治疗组 (A、B、C 组) 与 D 组间 CI 值均无重叠, B 组与 D 组间 CI 值无重叠, 故可认为各治疗组治疗有效。A 组与 B、C 组的 CI 区间均有不同程度重叠, 对上述三组平均 Ridit 值进一步行方差分析, 结果证实 B 组与 C 组间疗效差异有统计学意义 ( $P = 0.004$ ); A 组与 C 组疗效差异亦有统计学意义 ( $P = 0.038$ ), 但 A 组与 B 组间疗效差异无统计学意义 ( $P = 0.405$ )。

## 3 讨论

### 3.1 模型建立

目前, 有文献报道建立不孕症动物模型的基本原理是对动物造成输卵管炎、盆腔炎而引起输卵管阻塞、功能减退, 导致不孕, 造模方法包括剖腹向动

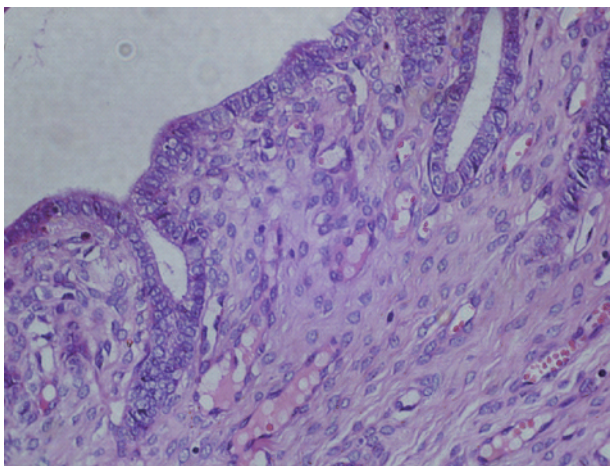


图 5 治疗后,黏膜皱襞周边可见较多短小纤毛,分布尚均匀但较稀疏,较多淋巴细胞浸润(HE,x400)

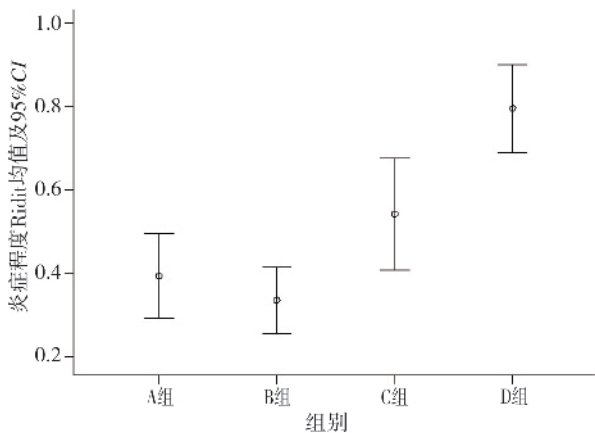


图 6 各组 Ridit 均值误差条线图

物盆腔及输卵管内接种细菌以及自阴道接种衣原体等<sup>[7-11]</sup>。我们考虑到剖腹途径创伤面较大,且本研究旨在进一步研究输卵管介入再通治疗,故从介入专业角度出发选择输卵管插管途径建模,此方法与赵广兴等<sup>[10]</sup>、唐伟琼等<sup>[11]</sup>的造模方法不同,未造成人为输卵管及盆腔的手术损伤,更接近于炎症感染的自然发展过程,不存在外科损伤所致炎症与接种细菌感染所致炎症相互重叠、混淆的概念,更接近于一个真实的细菌性炎症感染模型。在致炎剂的选择方面,我们结合相关文献<sup>[11]</sup>认为输卵管炎致病菌主要为金黄色葡萄球菌、链球菌及大肠埃希菌,故本实验选用上述 3 种细菌的“混合菌”。当然,此模型制作成本相对较昂贵,但对于介入医生来说,完全可以用经严格消毒过的“二手材料”来进行实验,对实验操作影响不大,同时还可节约成本。总之,此造模方法确实可行、安全简单、真实可靠、稳定性好,为输卵管炎性不孕症的研究提供了一种新的更加逼真的动物模型。

### 3.2 应用医用臭氧治疗输卵管炎的安全性

臭氧用于妇科感染治疗已有数年,对于各种阴道炎、宫颈炎、输卵管炎、子宫内膜炎和盆腔炎均具有很好的治疗效果<sup>[14]</sup>。臭氧作为氧气的同素异形体,有极强的氧化作用,对各种致病微生物均具有极强的消毒杀菌作用。臭氧具有分解组织结构的作用,活性成分还可促进上皮细胞生长和创伤面的愈

表 1 治疗后 4 周各组兔输卵管炎症程度 (n)

组别	黏膜上皮坏死				肌层结缔组织增生				固有层结缔组织增生				浆膜层炎性细胞浸润				管腔粘连阻塞			
	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++	-	+	++	+++
A组(n=16)	11	2	2	1	13	2	1	0	10	3	2	1	11	2	2	1	11	1	2	2
B组(n=17)	11	4	2	0	13	2	2	0	12	3	2	0	13	2	1	1	12	2	2	1
C组(n=16)	9	4	1	2	7	5	2	2	6	5	3	2	10	2	2	2	7	4	3	2
D组(n=13)	3	3	4	3	2	4	4	3	4	4	2	3	6	3	1	3	2	5	3	3

表 2 治疗后 4 周各组兔输卵管总体炎症程度比较 (n)

组别	炎症程度				Ridit 均值(CI 值)
	正常	轻度	中度	重度	
A组(n=16)	0	13	2	1	0.3931(0.2995~0.4868) <sup>b</sup>
B组(n=17)	1	14	2	0	0.3354(0.2614~0.4093) <sup>c</sup>
C组(n=16)	0	8	5	3	0.5418(0.4177~0.6659)
D组(n=13)	0	1	4	8	0.7953(0.7001~0.8904)

注:与 D 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与 C 组比较<sup>b</sup> $P < 0.05$ ,<sup>c</sup> $P < 0.01$

合,而对于正常组织无任何毒性,可改变女性生殖管腔的酸碱度,但不会造成菌群失调,不产生耐药性<sup>[15]</sup>。理论上,直接在输卵管内注入臭氧气体,压力过大有可能有气体进入黏膜血管造成气栓,实际在本实验过程,采用了一些预防措施,首先是阻塞输

卵管经导丝再通成功,对比剂可以顺利进入盆腔后才注入臭氧,同时开始注气时在透视下控制压力,推一下松一下,压力尽可能低,速度尽量慢,所以未发生不良影响。在临床报道中也未发生任何有关气栓等不良后果<sup>[6]</sup>。

### 3.3 臭氧治疗输卵管炎性疾病的机制

本研究证实,常规介入性输卵管再通术中加注 30 或 40  $\mu\text{g/ml}$  臭氧可更好的改善输卵管炎症。究其原因,臭氧具有高效、广谱、快速灭菌作用;可拮抗炎性因子的释放,扩张血管,改善回流,减轻局部渗出、水肿;抑制前列腺素、缓激肽及致通复合物的合成与释放;中和白细胞介素可溶性受体;抑制  $\alpha$ -

干扰素、 $\alpha$ -肿瘤坏死因子释放;增加 B1 转移生长因子的释放<sup>[15]</sup>。同时,臭氧通过局部氧浓度发挥抗炎作用,通过诱导抗氧化酶的过度表达,中和反应性氧化产物发挥抗炎作用<sup>[16-18]</sup>。臭氧注射时产生的压力也可对粘连组织产生机械性分离作用。此外,A 组与 B 组间疗效差异无统计学意义( $P = 0.405$ ),CI 值重叠率也达 50%以上。我们认为其疗效可能还与有效评估时间有关,B 组长期疗效是否优于 A 组,还有待于进一步研究。

总之,此研究为临床上应用医用臭氧治疗输卵管炎症提供了实验依据,医用臭氧值得在临床进一步推广使用。

#### [参考文献]

- [1] 乐 杰. 妇产科学[M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 381 - 384.
- [2] 谭一清, 王亚瑟, 戴洪修, 等. 不同干预方法对输卵管通而不畅者 186 例的疗效分析[J]. 介入放射学杂志, 2011, 20: 818 - 821.
- [3] 韩志刚, 张国福, 田晓梅, 等. 选择性输卵管造影及再通术在不孕症中的应用价值[J]. 介入放射学杂志, 2010, 19: 964 - 967.
- [4] 梁 君, 杨士彬, 孙 惠, 等. 输卵管性不孕症的介入治疗[J]. 介入放射学杂志, 2008, 17: 439 - 441.
- [5] 严 英, 李 盈, 周伟生. 输卵管阻塞的介入治疗进展[J]. 介入放射学杂志, 2007, 16: 714 - 717.
- [6] 刘伟波, 李启锡, 何晓峰. 医用臭氧在介入治疗输卵管阻塞性不孕症中的临床应用[J]. 中国介入影像与治疗学, 2008, 5:

206 - 208.

- [7] 李 玲, 庞泮池, 戴德英, 等. 通管汤对家兔输卵管的抗炎作用[J]. 中西医结合杂志, 1987: 293 - 294, 262.
- [8] 周伟生, 张文宙, 蔡 欣. 输卵管阻塞病因病理学研究进展[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2010, 26: 398 - 400.
- [9] Thurmond AS, Hedgpeth PL, Scanlan RM. Selective injection of contrast media: inflammatory effects on rabbit fallopian tubes[J]. Radiology, 1991, 180: 97 - 99.
- [10] 赵广兴, 王春田, 马宝璋, 等. 大鼠输卵管炎性不孕症模型的建立[J]. 中国比较医学杂志, 2004, 14: 23 - 26.
- [11] 唐伟琼, 杨日普, 翟桂悦, 等. 盆腔炎动物模型的建立[J]. 中国比较医学杂志, 2005, 15: 305 - 307.
- [12] 胡玉红. 一种新的家兔麻醉方法[J]. 中国实验动物学杂志, 2001, 11: 183.
- [13] 张小丽, 张静云, 范引科, 等. 盆炎宁对苯酚胶浆致大鼠输卵管炎的治疗作用[J]. 中国药业, 2009, 18: 8 - 9.
- [14] 尚林辉, 陈荣青, 李新燕, 等. 医用臭氧冲洗术在介入治疗输卵管阻塞性不孕中的应用[J]. 新乡医学院学报, 2009, 26: 287 - 289.
- [15] 何晓峰, 李彦豪. 臭氧治疗: 历史, 现状与未来[J]. 中国介入影像与治疗学, 2005, 2: 389 - 391.
- [16] Bocci V, Corradeschi E, Cervelli C, et al. Oxygen-ozone in orthopaedics: EPR detection of hydroxyl free radicals in ozone-treated "nucleus pulposus" material [J]. Rivista di Neuroradiologia, 2001, 14: 55 - 59.
- [17] Larini A, Bianchi L, Bocci V. The ozone tolerance: I) Enhancement of antioxidant enzymes is ozone dose-dependent in Jurkat cells[J]. Free Radic Res, 2003, 37: 1163 - 1168.
- [18] Bocci V. Ozone: a new medical drug[M]. Springer Netherlands, 2005: 19 - 28.

(收稿日期: 2011-12-20)

(本文编辑: 侯虹鲁)