技术与方法 文章编号:0253-3626(2010)05-0715-03

电损伤与烧伤皮肤上皮细胞极性化改变的研究

唐任宽,李剑波,刘云志,李永国,孙云林
(重庆医科大学基础医学院法医学教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨电损伤、热烧伤皮肤上皮细胞极性化改变的机制,并为其诊断提供客观量化指标。方法:对 380 V 交流电组、220 V 交流电组、220 V 直流电组、火焰烧伤组、金属灼伤组及正常对照组进行 HE 染色、EGFR 染色及透射电镜观察,图像分析系统测定极性化上皮细胞核周长、长径、短径及长/短径比值,并进行统计学分析。结果:电损伤与热烧伤上皮细胞超微结构改变一致;极性化上皮细胞与正常上皮细胞 EGFR 在胞浆内分布较均匀;各损伤组皮肤上皮细胞核变长;各电损伤组上皮细胞核周长及长/短径比值两两比较无显著性差异($P>0.05$);2 组热烧伤组比较也无显著性差异($P>0.05$);而各电损伤组分别与各热烧伤组比较有显著性差异($P<0.05$)。结论:电、热损伤上皮细胞极性化改变主要系热效应作用所致;定量测定损伤皮肤上皮细胞核周长及核长/短径比值,可推断该损伤系低压电损伤或烧伤。

【关键词】电损伤;烧伤;计算机图像分析;极性化改变
【中国图书分类法分类号】R89 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-12-07

Polarized change of epithelia of skin on electrical injury and burn

TANG Ren-kuan, et al
(*Department of Forensic Medicine, College of Basic Medicine, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To study the mechanism of epithelium polarized change of skin on electrical injury and burn and provide an objective and quantitative index on them. *Methods*: Specimens including 380V alternating current (AC), 220V AC, 220V direct current (DC), flame burn, hot metal burn and the control group are dyed with hematoxylion-eosin, immunohistochemically examined with antibody against EGFR, and observed with transmission electron microscopy, respectively. Circumference, long axis, short axis and long /short axis ratio of the polarized epithelia nuclei were also measured by computerized image analysis and calculated. *Results*: There are homogeneous on ultrastructure among injured groups. Immunohistochemical staining with EGFR showed positive and uniform staining in injured and normal skin. Epithelia Nuclei of skin on all injured groups are elongated. By measuring the circumference and the long/short axis ratio of epithelia, there were no significant differences among three electrically injured groups ($P>0.05$). The same conclusion was also obtained between the flame burned group and hot metal burned group ($P>0.05$). But there were obvious differences between each electrically injured groups and each burned groups ($P<0.05$). *Conclusion*: Epithelium polarized change of skin on electrical injury and burned skin is mainly resulted from thermal effect. The circumference and the long/short axis ratio of polarized epithelia nuclei of injured skin may be used to differentiate low voltage electrical injury from burn.

【Key words】Electrical injury; Burn; Computerized image analysis; Polarized change

电损伤是一种特殊类型的损伤,表现为机体立体复合性损伤。电损伤的研究也从多方面展开:如神经系统损害[1]、心血管损伤[2]、非热性肌肉损害[3]、局部损伤皮肤金属元素含量的测定[4]及临床治疗[5-7]。在病理、法医实践中,常把局部皮肤上皮细胞极性化改变作为电损伤的特征性诊断指标,但在烧伤、冻伤等案件中也可观察到上皮细胞极性化改变,故两者有无差异,差异何在?

本实验对电流斑、火焰烧伤、金属灼伤等人体皮肤采用组织学、计算机图像分析、电镜、免疫组织化学等技术方法进行研究,以探讨电损伤和烧伤皮肤上皮细胞极性化改变的机制,并为诊断电损伤和烧伤提供形态学客观量化指标。

1 材料和方法

1.1 人体标本分组与方法

收集已知 380 V 交流电(Alternating current, AC)、220 V AC、220 V (Direct current, DC)电击伤皮肤、火焰烧伤、金属灼伤(金属棒温度达 150℃)人体皮肤、正常人体皮肤各 11

作者介绍:唐任宽(1972-),男,讲师,博士,
研究方向:法医病理学、发育生物学。
通讯作者:李剑波,男,教授,E-mail:ljb2032003@yahoo.com.cn。

例，标本来源于法医学检案实践。火焰烧伤组及金属灼伤组均取材于浅Ⅱ°皮损部位。

1.2 计算机图像分析与统计学处理

采用常规石蜡包埋，切片及 HE 染色方法。所有切片均采用盲测法，每张切片均采用北航 CM-2000B 生物医学图像分析系统对损伤皮肤周边部上皮细胞核境界清楚、核最长的基底层或棘层上皮细胞进行测量。测量指标包括细胞核周长、长径、短径及长/短径比值，每张切片测 5~10 个上皮细胞核，所得数据输入计算机并用 SAS 统计软件进行方差齐性检验、方差分析。数据用均数 ± 标准差（$\bar{x} \pm s$）表示，$P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.3 免疫组织化学染色法

1.3.1 实验试剂 鼠抗人表皮生长因子受体（Epidermal growth factor receptor，EGFR）单克隆抗体、S-P 试剂盒和 DAB 显色剂（均购于福州迈新公司）。

1.3.2 方法 各组标本切片厚度 0.4 μm，免疫组织化学 S-P 法按说明书操作，以 PBS 代替一抗作阴性对照。

1.4 电镜标本制作及观察

按常规制作透射电镜的方法制作标本，用 H-600 型透射电镜观察。

2 结 果

2.1 大体标本观察

电流斑大小、形状与导体接触面形状、大小一致，中央凹陷，周边部略隆起，与周围组织分界较清楚，质地略硬，呈黑色或灰白色（与炭化作用强弱有关），部分电流斑周围表皮层与真皮层分离。火焰烧伤皮肤：烧伤处皮肤呈暗红色或黑色，与周围组织分界欠清，部分有水泡形成，水泡破裂后表皮层轻微皱缩。金属灼伤皮肤：灼烧皮肤中央凹陷，表皮层缺失，周边部略隆起，与周围组织分界较清楚，质地略硬，呈黑色。

2.2 光镜观察

各损伤组皮肤中央部表皮缺失或仅残存少许上皮细胞，核消失，胞浆均染嗜碱性。周边部部分表皮层与真皮层分离，表皮层内有大小不等、数量不一的空泡，基底层或棘层上皮细胞核明显变长、深染，呈栅栏状或旋涡状；火焰烧伤组表皮层改变范围较其它损伤组更广。

电损伤组真皮层汗腺及毛囊部分上皮细胞核变长，呈栅栏状或部分核固缩，血管内皮细胞核变长；火焰烧伤及金属灼伤组仅真皮浅层部分汗腺、毛囊上皮细胞核变长，呈栅栏状或核固缩，但未观察到真皮深层汗腺、毛囊上皮细胞及血管内皮细胞核变长。

2.3 图像分析结果

各损伤组与对照组皮肤上皮细胞核周长和长/短径比值见表 1。

从表 1 可看出，对照组上皮细胞核周长与各损伤组有差别，经方差分析，正常组与各损伤组有显著性差异（$P<0.000\ 1$）；3 组电击伤组两两比较无显著差异（$P>0.05$）；火焰烧伤组与金属灼伤组比较无显著差异（$P>0.05$）；各烧伤组与各电击伤组分别两两比较均有显著性差异（$P<0.05$）。

从表 1 可看出，对照组上皮细胞核长/短径比值与各损伤组有差别，经方差分析，对照组与各损伤组有显著性差异（$P<0.000\ 1$）；3 组电击伤组两两比较无显著性差异（$P>0.05$）；火焰烧伤组与金属灼伤组无显著差异（$P>0.05$）；各电击伤组与各烧伤组两两比较有显著性差异（$P<0.05$）。

2.4 免疫组化实验结果

各损伤组变长的上皮细胞胞膜及胞浆 EGFR 染色呈棕黄色，且上皮细胞内染色基本均匀一致，未见上皮细胞两端染色明显增强；正常皮肤上皮细胞胞膜及胞浆 EGFR 染色呈棕黄色。

2.5 透射电镜观察

各损伤组上皮细胞间的连接被破坏，上皮细胞失去正

表 1 各组皮肤上皮细胞核周长、长/短径比值（$\bar{x} \pm s$）

标本类型	数量	周长（μm）	长/短径
380 V AC 组	9	46.95 ± 22.70	6.20 ± 1.95
220 V AC 组	12	4 46.18 ± 11.45	6.81 ± 1.53
220 V DC 组	12	41.39 ± 17.64	6.80 ± 1.63
火焰烧伤组	11	62.37 ± 17.58	7.70 ± 3.07
金属灼伤组	10	55.84 ± 24.12	8.01 ± 2.44
对照组组	9	26.45 ± 6.50	2.01 ± 0.44

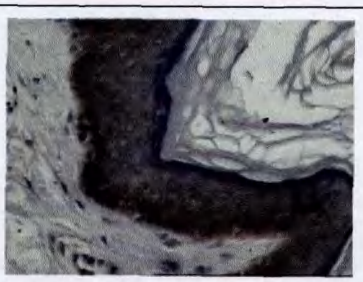


图 1 正常皮肤基底层上皮细胞 EGFR 免疫组化染色阳性（SP 免疫组化染色 ×200）

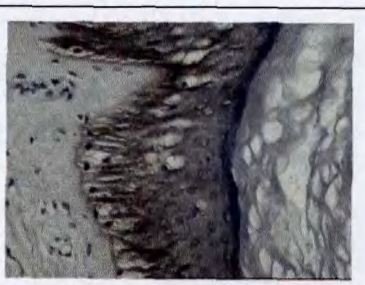


图 2 烧伤周边部基底层上皮细胞 EGFR 免疫组化染色阳性，且分布较均匀（SP 免疫组化染色 ×200）

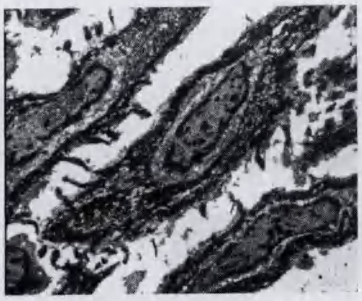


图 3 电损伤变长的上皮细胞胞浆流失或固缩、核变长、染色质边集（TEM×6 000）



图 4 烧伤变长的上皮细胞胞浆流失或凝固、核变长、核染色质边集（TEM×4 000）

常形态，细胞明显变长，细胞膜及细胞器被破坏，胞浆呈不均匀凝固性改变，核明显变细变长，核膜不完整，染色质边集，核仁消失。

3 讨 论

3.1 电损伤与烧伤皮肤上皮细胞极性化改变机制的探讨

Kalkan 等[8]研究发现电流通过组织（如肌肉、骨骼及血管等）温度均升高，其中以肌肉温度升高最为明显，这符合电流通过电阻时产热致电流通过组织温度升高而表现为电流热效应，也证明了电损伤是一种立体复合性损伤。

既往有学者[9]认为：电损伤电流斑皮肤上皮细胞极性化改变是电流作用所致，并把它作为电损伤的特征性改变及诊断指标，但未阐明是电流非热作用或热作用所致。本实验光镜观察电流斑与烧伤皮肤上皮细胞核长径与基底膜近似垂直，透射电镜未见电流斑与烧伤皮肤上皮细胞超微结构有明显区别，且免疫组化 EGFR 染色示 EGFR 在各损伤组上皮细胞胞浆内也呈较均匀一致分布。Chilbert 等[10]发现电损伤与金属灼伤时皮肤温度分布曲线非常相似，电、热损伤中央部皮肤温度达 100℃以上。热作用致中央部皮肤 EGFR 结构完全破坏而表现为 EGFR 表达阴性；周边部皮肤温度低于 100℃，细胞蛋白质结构破坏较少，故 EGFR 仍阳性表达，且较一致分布。Wolbarsht 等[11]发现用激光照射培养的一薄层细胞发现，灶中心直接吸收激光能量后有迅速而短暂的温升及受照物质急剧膨胀产生压强梯度及弹性波，弹性波沿细胞传播，在标本边缘处反射，于是弹性波与反射波相互作用致细胞拉长或扁平，且在物质冷却和压强锐减时出现胁强，它指向灶中心，参与细胞的拉伸。

电损伤电流斑上皮细胞变长若为电流非热作用（即电场作用）所致，则带负电荷的 EGFR 应在电场作用下重新分布，热烧伤则不应出现上皮细胞变长，这与本实验结果不符。故电损伤电流斑上皮细胞变长系热作用产生压强梯度、弹性波及反射波（类似激光产生的热作用，仅所产生的能量大小不同而已）所致，这种弹性波与反射波相互作用使上皮细胞变长、深染，即表现为上皮细胞极性化改变。

3.2 电损伤与烧伤皮肤上皮细胞形态学定量分析

已有学者通过计算机图像分析发现生前与死后皮肤电损伤的基底层上皮细胞核、毛囊上皮细胞核的长 / 短径比值无显著差异[12]。超微结构观察发现各损伤组皮肤上皮细胞膜破裂，胞浆不同程度流失。故采用上皮细胞核的形态因子作为测量指标较为客观、准确。

图像分析结果表明：正常组与 380 V AC 组、220 V AC组、220 V DC 组、火焰烧伤组及金属灼伤组上皮细胞核周长及长/短径比值分别为 26.45 μm（2.01）、46.95 μm（6.20）、46.18 μm（6.81）、41.39 μm（6.80）、62.37 μm（7.70）、55.84 μm（8.01）（注：括号内为长/短径比值）。各损伤组上皮细胞核周长及长/短径比值较正常组大，经统计分析表明：正常组与各损伤组有极显著性差别（$P<0.000\ 1$）；3 组电损伤组两两比较无显著性差异（$P>0.05$）；火焰烧伤组与金属灼伤组比较无显著性差异（$P>0.05$）；而 3 组电损伤组分别与火焰烧伤组和金属灼伤组两两比较均有显著性差异（$P<0.05$）。造成其统计学显著性差异原因在于：3 组电损伤组均存在电流流经机体电阻时产热是一个相对缓慢积累的热效应过程，因产热较慢，电流斑内水份蒸发及热膨胀率不大，热效应所产生的压强梯度与弹性波相对较小；金属棒温度达 150℃，火焰温度达数百摄氏度，故烧伤在极短时间内便使损伤皮肤中心温度达 100℃以上，皮肤内水份蒸发及热膨胀率较电损伤明显增加，所产生的压强梯度与弹性波相应更大，故低压电电损伤与烧伤比较，上皮细胞核形态学改变不如烧伤明显。故本实验可得出如下结论：利用计算机图像分析系统测量上皮细胞核周长和核长/短径比值，可推断损伤皮肤系低压电损伤或是热烧伤。

目前医学上对电压大于 380 V 称为高压电，36~380 V 称低压电，36 V 以下称安全电压。在低压电范围内，无论是直流电还是交流电，上皮细胞核周长与长/短径比值在统计学上均无显著性差异，这表明在低压电范围内，尚不能用上述指标来推断电压大小，直流电还是交流电损伤。

3.3 电损伤的诊断

在日常生活和生产中，因有明确的电源，与导线或电器接触史，有现场目击者，或典型的电流斑改变，电损伤的诊断并不困难。但在法医学实践中，现场常无明确电源，无目击者，或他杀伪装电击现场，或电击死后搬离电击现场，掩盖电击征象等，给诊断带来困难。本实验显示皮肤上皮细胞极性化改变不能单纯作为电损伤的特异性诊断指标仍可作为诊断电损伤的重要指标之一。在案情不清情况下，可利用计算机图象分析半定量测定极性化上皮细胞核形态指标，并结合皮肤附属结构（毛囊、汗腺及皮脂腺等）与内脏器官血管内皮细胞极性化改变[13]，原子吸收光谱测定皮肤金属元素含量等

技术与方法 文章编号:0253-3626(2010)05-0718-03

基于小波去噪的基因表达数据聚类集成算法的研究

徐 源,彭 斌,邓 宇,田考聪
(重庆医科大学公共卫生学院卫生统计教研室,重庆 400016)

【摘 要】目的:为基因表达数据的聚类提供方法学参考。方法:提出了一种小波去噪与模糊聚类集成算法结合起来进行聚类的新算法对酵母细胞的基因表达数据进行聚类,并同模糊聚类集成算法进行比较分析。结果:采用 Micro-precision 方法对新算法和模糊聚类集成算法进行评价。结果表明本文提出的算法具有较高的聚类精度,并且聚类精度高于模糊聚类集成算法。结论:利用本文提出的算法对基因表达数据具有较好的聚类效果。

【关键词】小波去噪;模糊聚类;集成学习;基因表达
【中国图书分类法分类号】R318.04 【文献标识码】A 【收稿日期】2009-09-01

Approach of clustering ensemble in gene expression data based on Wavelet De-noising

XU Yuan, et al
(*Department of Health Statistics, College of Public Health, Chongqing Medical University*)

【Abstract】***Objective***: To provide the methodology reference for the gene expression data clustering. ***Methods***: This paper proposed a fuzzy clustering ensemble algorithm based on wavelet de-noising.The new method is applied to the yeast cell's gene expression data, and the clustering results were compared with fuzzy ensemble clustering methods. ***Results***: Apply micro-precision to evaluate the clustering results. The research indicated that the proposed method was superior to fuzzy ensemble clustering algotuthm. ***Conclusion***: The proposed method has better clustering for the gene expression data clustering.

【Key words】Wavelet de-noising; Fuzzy clustering; Ensemble learning; Gene expression

作者介绍:徐 源(1984-),女,硕士,
研究方向:多元统计分析方法在医疗卫生领域中的应用。
通讯作者:田考聪,男,教授,E-mail:tkc5155@126.com。

检测来综合作出结论。

参 考 文 献

[1] Pliskin N H, Capelli-Schellpfeffer M, Law R T, et al. Neuropsychological symptom presentation after electric injury[J]. J Trauma, 1998, 44(4): 709-715.

[2] Matsumura H, Kobayashi Y, Mann R, et al. Residual myocardial damage following electrical injuries[J]. J Burn Care Rehabil, 1997, 18(4): 299-305.

[3] Block T A, Aarsvold J N, Matthews K L, et al. The 1995 Lindberg Award, Nonthermally mediated muscle injury and necrosis in electrical trauma[J]. J Burn Care Rehabil, 1995, 16(6): 581-588.

[4] Acar K, Boz B, kurtulus A, et al. Using of atomic absorption spectrometry for diagnosis of electrical injury (an experiment rat study)[J]. Forensic Sci Int, 2004, 146(s): 3-4.

[5] Pan Y, Xu J, Chen S, et al. Use of the lateral Intercostal perforator-based pedicled abdominal flap for upper-limb wounds from severe electrical injury[J]. Ann Plast Surg, 2006, 56: 116-121.

[6] Cancio L C, Jimenez-Reyna J E, Barilla DJ, et al. One hundred ninety-five cases of high-voltage electric injury [J]. J Burn Care Rehabil, 2000, 26: 331-340.

[7] Cochran A, Edelman L S, Saffle J R, et al. Self- reported quality of life after electrical and thermal injury[J]. J Burn Care Rehabil, 2004, 25: 61-66.

[8] Kalkan T, Demir M, Ahemed A S, et al. A dynamic study of the thermal components in electrical injury mechanism for better understanding and management of electric trauma: an animal model[J]. Burns, 2004, 30(4): 334-340.

[9] 郭景元.现代法医学[M].北京:科学出版社,2000.422.

[10] Chilbert M, Prieto T, Sances A J. Finite element modeling of electrode contacts in electrical injury[J]. Ieee, 1989, 1: 323-333.

[11] Wolbarsht ML, 著见刘普和, 李书田译.激光在医学和生物学中的应用[M].北京:科学出版社,1983.78-79.

[12] Xu X H, Xu H Q, Zhu J Z, et al. A preliminary study of skin electrical injury[J]. Forensic Sci Int, 1995, 73: 197-202.

[13] 万立华,马智华,张佐才.血管电损伤的实验研究[J].中国法医学杂志,2001,16(1):19-22.

(责任编辑:冉明会)