DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.02.027
第26卷第2期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 2
2004年1月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jan. 2004


文章编号:1000-5404(2004)02-0149-02

论著

# 体视学技术在视乳头血管的定量分析

应 希[1],阴正勤[1],王 一[1],孙 榆[2] (第三军医大学:[1]西南医院全军眼科中心,[2]基础医学部组织胚胎学教研室,重庆市神经科学研究所,重庆 400038)

提 要:目的 观察和测定原发性开角型青光眼患者视神经乳头的血管形态、数量变化,探讨血循环障碍对青光眼所致视神经损害的影响并提供病理依据。方法 将青光眼患者和正常人视神经乳头标本连续半薄垂直切片,采用计算机图像分析和生物体视学方法测定血管的体积密度、数量密度和相对面积比率。结果 血管的体积密度和相对面积比率均较对照组显著降低,而两组的血管数量密度无明显差异。结论 原发性开角型青光眼视乳头筛板区的血管形态发生变化,提示原发性开角型青光眼患者存在视乳头血循环障碍。

关键词:体视学;定量分析;视神经乳头;毛细血管
中图法分类号:R322.91;R322.13;R775.2 文献标识码:A

## Stereological methods in quantitative analysis of optic nerve head

YING Xi[1], YIN Zheng-qin[1], WANG Yi[1], SUN Yu[2] ([1]Department of Ophthalmology, Southwest Hospital, [2]Department of Histology and Embryology, College of Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

**Abstract**: Objective To observe the structure and quantity of capillaries in optic nerve head (ONH) of primary open-angle glaucoma (POAG). Methods The vasculatures of ONH in clinicopathological slices from POAG eyes and normal human eyes were observed. The volume density (Vv), quantity density (NA), and relative area ratio (Ss) of capillaries in ONH eyes were measured by computer image analysis and biological stereological methods. Results Compared with those of the control group, the Vv and Ss of capillaries in ONH of the POAG group were significantly reduced. The morphometer NA of capillaries in POAG group was not significantly different from that in the control group. Conclusion The blood flow is diminished in ONH of POAG eyes.

**Key words**: stereology; quantitative analysis; optic nerve head; capillary

近年来,青光眼的血管病理日益受到关注,已有不少对原发性开角型青光眼(primary open-angle glaucoma, POAG)患者进行临床血液流变学观察的报道,认为POAG患者视乳头存在异常的血液流变学指标。与正常眼对照,患者局部的血液粘滞度增加、血流量和血流速度显著降低[1~4]。其具体机制尚不清楚。本研究采用生物体视学技术,通过观察POAG患者视乳头标本血管形态、数量特征,探讨血管形态变化对青光眼视神经损害的影响,为POAG的治疗新途径提供依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 临床资料

用于实验研究的视神经均取自自愿捐献者尸眼(澳大利亚新南威尔士眼科医院长期随访的青光眼患者。摘除眼球前已履行相关法律手续)。病例组为明确诊断的POAG患者眼视神经3例,均为男性,平均年龄(68.5±10.61)岁。对照组为正常人眼视神经2例,均为男性,平均年龄(83±1.41)岁。视神经乳头标本经常规取材、固定、脱水和环氧树脂包埋。

### 1.2 实验方法

1.2.1 切片、染色及显微镜观察 以视神经乳头冠状面作半薄连续垂直切片(片厚1 μm),每例标本的切片总数均超过2 000张。切片经HE染色及封片,在光镜下对其毛细血管分布、形态、数量等进行观察。

1.2.2 毛细血管图像分析及体视学测试 应用Tiger图像处理系统在放大400倍镜下摄入切片视野图像,在观测屏加载32×32方网关联测格(每一视野边长的实际值为171.9 μm,视野面积为29 549.61 $\mu m^2$,视野内测试点数为1 024,测试点间距为5.372 μm,每个方网小格面积均为28.86 $\mu m^2$)。按照从前至后的切片顺序,每隔100张切片抽取1张切片,每例标本选取15张切片。每张切片随机选取3个视野(步长为3),分别计数视野中毛细血管断面轮廓数及落在血管断面内的测线交点数。同时,勾勒毛细血管轮廓后显示其横截面积。按下列各式计算毛细血管的体积密度(Vv)、毛细血管的数量密度($N_A$)以及毛细血管的相对面积比率(Ss):

Vv(%)= 毛细血管断面内测点数/参照系内测点总数
$N_A$(/$mm^2$)= $10^6$(毛细血管断面轮廓数/参照系面积)
Ss(%)= 毛细血管截面积总和/参照系面积

### 1.3 统计学处理

实验结果以$\bar{x}\pm s$表示,组间资料采用两样本均数$t$检验

作者简介:应 希(1977-),女,重庆市人,硕士,医师,主要从事青光眼方面的研究。电话:(023)68754401
收稿日期:2003-01-14;修回日期:2003-03-10

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

分析。

## 2 结果

### 2.1 毛细血管体积密度(Vv)比较

对照组中30张切片共90个视野的观测表明,每一视野中毛细血管断面内测点数为(11.14±1.12)。病例组中45张切片共135个视野的观测表明,每一视野中毛细血管断面内测点数为5.58±0.26。根据体视学定量研究的原理,即在二维图像上,毛细血管的点密度等于毛细血管在三维空间中的体积密度。由此,对照组筛板区毛细血管体积密度为(1.088±0.064)%,病例组筛板区毛细血管体积密度为(0.545±0.011)%,两者比较相差显著($P<0.05$)。

### 2.2 毛细血管数量密度($N_A$)比较

计数对照组中30张切片共90个视野和病例组中45张切片共135个视野内毛细血管断面数,单位面积内的毛细血管断面数即为毛细血管的数量密度。对照组筛板区毛细血管数量密度为(164.66±5.37)/mm$^2$,病例组筛板区毛细血管数量密度为(147.40±9.42)/mm$^2$,两者比较无统计学差异($P>0.05$)。

### 2.3 毛细血管相对面积比率(Ss)比较

测量对照组中30张切片共90个视野和病例组中45张切片共135个视野内毛细血管断面横截面积总和,毛细血管截面积与视野参照面积的比值即为毛细血管的相对面积比率。每一视野中,对照组筛板区毛细血管横截面积为(368.57±8.60)$\mu$m$^2$,病例组筛板区毛细血管横截面积为(172.41±1.37)$\mu$m$^2$。由此,对照组筛板区毛细血管相对面积比率为(1.235±0.064)%,病例组筛板区毛细血管相对面积比率为(0.583±0.011)%,两者比较相差显著($P<0.05$)。

## 3 讨论

### 3.1 体视学在定量分析中的运用

体视学是近年来迅速发展起来的一门新兴边缘学科,它用几何学、概率论、数理统计、微积分、拓扑学等综合方法,通过对二维平面的结构测试,实现对三维空间的定量分析[5~7]。在实验中,我们采用了生物体视学方法来探讨POAG患者视乳头血管形态特征的定量改变。以往研究中的单纯形态描述虽然也有定性判断,但往往带有一定主观性,并且由于实验方法的不同,有时会得出不同的结论。随着计算机图像分析仪器的产生和体视学方法的应用,我们可以从二维结构阐明组织细胞的三维定量关系,从而使形态表象能通过数学方法较为准确地反映其真实状态。

### 3.2 体视学形态研究中样本量的确定

在体视学研究中,足够的样本量和随机取样法则是其重要原则[8]。用于体视学研究的样本量可采用Weiber多阶随机取样的方法来评估,即包括:①实验研究的例数;②每例标本组织块的数量;③每个组织块的切片数;④每张切片随机选择的视野数;⑤每个视野中观测的样品数。可见,在上述五元素中增加任一取样的数量,均能够减少样本与总体的标准误。在本实验中,我们以人眼视乳头作为研究对象,病例组和对照组均受到标本来源的一定限制。我们依靠有限的标本例数,遵循Weiber's方法,分层抽取一定的切片数,并随机选取一定的视野数,根据预实验的测算结果,本实验研究的置信限为80%以上,能够反映临床POAG患者的群体状况。

### 3.3 POAG患者视乳头血管形态变化与组织血供的关系

在本实验中,毛细血管体积密度(Vv)是指在一定空间中毛细血管体积与参照空间之比。毛细血管相对面积比率(Ss)是指在一定空间中毛细血管面积与参照面积之比。它们均受到毛细血管数量和大小的影响,若毛细血管数量密度($N_A$)没有明显变化,则毛细血管Vv、Ss的变化反映了毛细血管舒缩的程度。本实验研究结果显示:病例组毛细血管体积密度、毛细血管相对面积比率较对照组均显著减少,而病例组和对照组毛细血管数量密度的改变不明显,表明POAG患者视神经乳头筛板区的血管形态变化,主要表现为毛细血管管径减小。根据流体力学中的Poiseuille's定律,循环管道的流量与管道半径的4次方及管道两端的压力差成正比,因此毛细血管管径的减小提示POAG患者视神经乳头筛板区血流量大大减少,从而证实POAG患者存在视神经乳头血循环障碍。

## 参考文献:


[1] Hamard P, Hamard H, Dufaux F, *et al*. Optic nerve head blood flow using a laser Doppler velocimeter and haemorheology in primary open-angle glaucoma and normal pressure glaucoma[J]. Br J Ophthalmol, 1994, 78(6): 449-453.

[2] Pilta Seymour J R. Laser Doppler flowmetry of the optic nerve head in glaucoma[J]. Surv Ophthalmol, 1999, 43(1): 191-198.

[3] Harris A, Chung H S, Ciulla T A, *et al*. Progress in measurement of ocular blood flow and relevance to our understanding of glaucoma and age-related macular degeneration[J]. Prog Retin Eye Res, 1999, 18(5): 669-687.

[4] Piltz Seymour J R, Grunwald J E, Hariprasad S M, *et al*. Optic nerve blood flow is diminished in eyes of primary open-angle glaucoma suspects [J]. Am J Ophthalmol, 2001, 132(1): 63-69.

[5] 申 洪, 沈忠英. 实用生物体视学技术[M]. 广州:中山大学出版社, 1991. 1.

[6] Bolender R P. Biological stereology: history, present state, future directions[J]. Microsc Res Tech, 1992, 21(4): 255-261.

[7] Manoonkitiwongsa P S, Mcmillan P J, Schultz R L, *et al*. A simple stereologic method for analysis of cerebral cortical microvessels using image analysis[J]. Brain Res Brain Res Protoc, 2001, 8(1): 45-57.

[8] Dorph P K A, Gundersen H J, Jensen E B. Non-uniform systematic sampling in stereology[J]. J Microsc, 2000, 200(Pt 2): 148-157.


(编辑 张大春)

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