DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.07.010

手术中,还需要通过对神经核团已知的三维坐标进行转换,以确定手术靶点。对已有的神经核团定位解剖学研究中,切面的层厚一般在2~5 mm,本组资料中,对神经核团断切的层面厚度为0.43 mm,定位测量的层面厚度为0.86 mm。本试验对丘脑内侧核和丘脑外侧核在冠状位、矢状位和轴位三种方位进行了薄层连续冰冻切片,并对不同方位切片中核团截面的中点进行了测量,所测得的丘脑内侧核靶心坐标为(5.12±1.13,-6.68±1.57,7.58±1.27),丘脑外侧核的靶心坐标为(12.47±1.21,-5.43±1.19,10.64±1.78),结果与传统方法一致。本组资料中丘脑内侧核水平位Z+12切面中心点的X值、丘脑内侧核水平位Z+22切面中心点的Y值、丘脑外侧核水平位Z+22切面中心点的Y值左右两侧比较,有统计学差异,其余切面中心点的坐标左右两侧比较无显著性差异,也佐证了左右两侧神经核团的靶心坐标基本一致。

随着首套中国数字化可视人体数据集的建立,我国的人体可视化研究已经进入了新的阶段[6,7]。本试验采用我国首例数字化可视人体数据集,对丘脑及其内部的神经核团进行了计算机三维重建,可以根据手术者的要求,从不同的显示角度对丘脑进行观察,便于手术者掌握丘脑的空间形态,增加手术的安全性,防止副损伤,对于功能和立体定向神经外科在丘脑区域的手术具有重要的参考价值。可视人体数据集均建立在人体的轴位切面基础之上,目前尚无从其它方位进行断切的资料,但如果有足够强大的软件支持,轴位切面也足以满足目前的需要。本实验发现,丘脑内侧核和丘脑外侧核轴位断面的定位测量中,其靶心的X、Y坐标与传统方法下所得结果一致,Z坐标的结果相近,如果层面达到足够薄,理论上也可以逼近实际的Z坐标值。由此,随着多例的数字化可视人体数据集建立,即可实现基于数字化人体数据集的标准神经核团的可视模型,结合精确的影像技术,功能和立体定向手术将会有质的提高。

参考文献:

[1] Atkinson J D, Collins D L, Bertrand G, *et al*. Optimal location of thalamotomy lesions for tumor associated with Parkinson disease: a probabilistic analysis based on postoperative magnetic resonance imaging and an integrated digital atlas[J]. J Neurosurg, 2002, 96(5): 854-866.
[2] Hodaie M, Wennberg R A, Dostrovsky J O, *et al*. Chronic anterior thalamus stimulation for intractable epilepsy[J]. Epilepsia, 2002, 43(6): 603-608.
[3] Vandewalle V, Linden C, Groenewegen H J, *et al*. Stereotactic treatment of Gilles de la Tourette syndrome by high frequency stimulation of thalamus [J]. Lancet, 1999, 353(9154): 724.
[4] Krauss J K, Pohle T, Weigel R, *et al*. Deep brain stimulation of the centre median-parafascicular complex in patients with movement disorders[J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2002, 72(4): 546-548
[5] 高全胜,谭立文,应大君. 大体标本冰冻薄层断面切片机的研究[J]. 第三军医大学学报,2001,23(11):1340-1341.
[6] 张绍祥,刘正津,谭立文,等. 首例中国数字化可视人体完成[J]. 第三军医大学学报,2002,24(10):1231-1232
[6] 张绍祥,刘正津,谭立文,等. 首例中国女性数字化可视人体数据集完成[J]. 第三军医大学学报,2003,25(4):371

(编辑 汪勤俭)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2003)07-0582-01

考马斯亮蓝染色评价哺乳动物精子顶体反应发生的效果

Effects of acrosome reaction on mammalian sperm by coomassie blue G-250 staining

叶华虎,苟本富,刘卢生,倪 勇,伍明山,魏 泓 (第三军医大学实验动物中心,重庆 400038)

精子获能是正常受精的前提,形态学表现为顶体反应(Acrosome reaction,AR)。目前,对AR评价尚缺乏简单、有效的方法,有报道考马斯亮蓝可用于小鼠精子顶体反应发生的检查[1],但尚未见其他哺乳动物的研究报道。本实验以小鼠、猪、牛、羊精子为材料,通过与台盼蓝-姬母萨检查方法的比较,评价考马斯亮蓝在哺乳动物精子顶体检查上的准确性和可靠性。

1 材料和方法

1.1 精液来源

猪、羊为健康公猪、羊鲜精液;小鼠为附睾尾及输精管精液;牛冻精购于重庆市种公牛站。

1.2 精子获能处理

小鼠精子在T6液中(含5 mmol/L咖啡因、10 μg/ml肝素)孵育4 h获能。猪、牛、羊精子以钙离子载体A23187处理后4 h获

(下转587页)

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30070120)
作者简介:叶华虎(1970-),男,四川省绵阳市人,博士研究生,助理研究员,主要从事转基因动物实验方面的研究,发表论文6篇。电话:(023)68752759
通信作者:魏 泓,E-mail:Weihong@mail.tmmu.com.cn
收稿日期:2002-06-06;修回日期:2002-07-15

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

[2] 邹　波, 王　勇, 吕培军, 等. 标准牙冠三维模型底建立及其可操作平台底研究[J]. 现代口腔医学杂志, 2002, 16(1): 34－37.
[3] 郑元俐, 张富强, 陈　笠, 等. 采用牙 CT 技术建立完整下颌骨三维有限元模型[J]. 实用口腔医学杂志, 2000, 16(2): 134－136.
[4] 李　玲, 张　睿, 于力牛, 等. 基于 CT 断层影像底下颌骨及下牙列三维几何学仿真[J]. 上海口腔医学, 2000, 9(4): 235－236.
[5] 韩　科, 陆汝铃, 吕培军, 等. 人类恒牙的计算机三维建模[J]. 中华口腔医学杂志, 1998, 33(2): 94－96.
[6] 张绍祥, 刘正津, 谭立文, 等. 首例中国数字化可视人体完成[J]. 第三军医大学学报. 2002, 24(10): 1231－1232.
[7] Ackerman M J. The visible human project: a resource for education[J]. Acad Med, 1999, 74(6): 667.
[8] 黄隆庆, 朱智敏, 张　萌, 等. 计算机图形图象处理技术在牙颌及修复体三维形态数字模型建立中底应用[J]. 华西口腔医学杂志, 1997, 15(1): 76－78.
[9] 邱明国, 张绍祥, 刘正津, 等. 应用激光快速成型方法复制颞骨[J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(8): 816－818.
[10] 范朝云. 减数拔牙在牙列拥挤矫治中的临床应用[J]. 山西医科大学学报, 1998, 29(4): 376－377.
[11] 张金香, 刘丰春. 前牙错 畸的早期正畸[J]. 康复与疗养杂志, 1994, 9(3): 125－126.
[12] 王翰章. 中华口腔科学(上卷)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2001. 141－180, 786－815, 1496－1516.
[13] 何成君. 下颌阻生智齿的对称性及与牙牙合畸形的关系[J]. 哈尔滨医科大学学报, 1994, 28(2): 136.

(编辑　汪勤俭)

(上接 582 页)

能。分别以考马斯亮蓝染色[1]和台盼蓝-姬母萨染色[2]检查 AR 率。

1.3　顶体反应评定标准及顶体反应发生率计算

考马斯亮蓝染色后, 精子头部顶端顶体区着蓝色者为无顶体反应, 不着色者为有顶体反应。台盼蓝-姬母萨染色的精子, 顶体部未着色或部分着色, 为有顶体反应; 顶体部着色深, 为无顶体反应。每份样品做 3 张平行涂片, 每涂片在 1 000 倍显微镜下记数 200 个精子, 计算 AR 发生率(%, $\bar{x}\pm s$)。

1.4　统计学处理

采用 χ^2 检验。

2　结果

2.1　考马斯亮蓝与台盼蓝-姬母萨染色后的精子顶体效果观察

考马斯亮蓝染色后, 4 种哺乳动物未获能的精子头部顶端顶体区呈深蓝色, 获能后的精子顶体区不着色, 反差明显, 容易辨别。台盼蓝-姬母萨染色, 除顶体区呈深染(为获能)或不着色(已获能)外, 另有部分精子着色介于二者之间, 难于判定, 这种现象在猪尤为多见。

2.2　考马斯亮蓝与台盼蓝-姬母萨染色检查的顶体反应发生率结果比较

小鼠、猪、牛、羊 4 种哺乳动物精子顶体反应发生率的 3 次重复实验结果见表 1。牛、羊精子获能处理后, 两种染色方法获得的顶体反应发生率高度一致, 小鼠精子在台盼蓝-姬母萨染色中的获能率较考马斯亮蓝高 10%, 但统计学差异尚未达到显著; 猪精子以考马斯亮蓝染色的顶体反应发生率显著低于台盼蓝-姬母萨的 78.8%($P<0.01$)。此外, 考马斯亮蓝检查结果的稳定性重复性好, 而台盼蓝-姬母萨在平行组内以及重复实验中变异度大。

表 1　两种染色方法检查四种动物精子顶体发生率比较(%, $\bar{x}\pm s$)

检查方法	小鼠	猪	牛	羊
考马斯亮蓝	80.15±1.95	58.65±2.92**	85.50±1.68	81.00±1.15
台盼蓝-姬母萨	90.35±9.10	78.85±16.50	83.85±8.50	78.50±6.75

**: $P<0.01$ 与台盼蓝-姬母萨法比较

3　讨论

实验结果表明, 考马斯亮蓝染色技术可用于哺乳动物精子顶体状态的准确评价。未获能的小鼠、猪、牛、羊精子, 头部顶体区呈深蓝色着染, 而获能的精子, 顶体区不着色, 二者反差明显, 易于辨别, 3 次实验结果重复性稳定性好。此外, 考马斯亮蓝染色适用范围广泛, 猪获能精子的评价, 一直是普通简单染色技术的盲区, 苯胺黑-伊红-姬母萨三染色以及台盼蓝-姬母萨染色都存在较大比例的中间型染色个体(获能精子顶体区不着色, 未获能精子顶体区深蓝色或黑色), 获能率在不同研究者的报道中差异较大[1~3]; 小鼠精子因其特别的形态结构, 普通简单染色技术也存在难于辨认等缺点。本实验以小鼠、猪、牛、羊为研究对象, 都取得较为理想的染色效果。两种染色技术的获能率统计分析表明, 牛、羊、小鼠 3 种哺乳动物精子的获能率差异不显著($P>0.05$), 但猪的获能率差异较大($P<0.01$)。Tamuli 和冯怀亮发现, 姬母萨方法获得的猪精子顶体反应发生率较微分干涉(DIC)高 15%左右[2,3], 与本实验结果相似, 同时考马斯亮蓝平行组内变异程度以及重复实验的稳定性均优于台盼蓝-姬母萨组(数据没有列出)。因此, 作者认为: 考马斯亮蓝的检查结果更为客观。

精子获能效率不仅影响体外受精的穿透率、受精率和胚胎发育率, 而且还是评价雄性不育的可靠指标[4,5]。考马斯亮蓝染色方法的建立, 可为哺乳动物受精, 特别是体外受精以及雄性不育的研究提供重要技术手段。

关键词: 顶体反应; 考马斯亮蓝染色技术; 精子; 哺乳动物
中图法分类号: Q95-33　　文献标识码: B

参考文献:

[1] Moller C C, Bleil J D, Kinloch R A, *et al*. Structural and functional relationships between mouse and hamster zonapellucida glycoproteins[J]. Dev Biol, 1990, 137(1): 276－286.
[2] Tamuli M K, Watson P F. Use of a simple staining technique to distinguish acrosomal changes in live sperm sub-population[J]. Anim Reprod Sci, 1994, 35(2): 247－254.
[3] 陈大元. 精子顶体反应及穿过透明带[A]. 见: 陈大元 主编. 受精生物学[M]. 北京: 科学技术出版社, 2000. 105－145.
[4] Cummins J M, Pember S M, Jequier A M, *et al*. A test of the human sperm acrosome reaction following ionophore challenge: relationship to fertility and other seminal parameters[J]. J Androl, 1991, 12(1): 98－103.
[5] Christensen P, Parkinson T, Whitfield C. *In vitro* induction of acrosome reactions in stallion spermatozoa by heparin and A23187[J]. Theriogenology, 1996, 45(6): 1201－1210.

(编辑　陈聪连)

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