DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.11.042

论著

文章编号:1000-5404(2001)11-1340-02

大体标本冰冻薄层断面切片机的研制

高全胜,谭立文,应大君 (第三军医大学基础医学部解剖学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 制备大体冰冻薄层断面标本,为三维重建提供丰富、准确的原始数据。方法 在冰冻切片技术的基础上设计和自制大体冰冻软组织切片机,改进了相关的冰冻技术,在冰盒内通过定标板埋设定标线,利用螺旋升降系统调节断层厚度。结果 断层厚度小于0.5 mm(本实验为0.865 mm)。并解决了冰冻标本的定标问题。结论 该切片机操作简单、经济、实用,获得的图像清晰、定位准确,且实验周期短,在生物组织三维重建中具有广阔的应用前景。

关键词:三维重建;定标;冰冻切片
中图法分类号:R318.6;R322.34 文献标识码:A

Preparation of cryomicrotome for thin cross-sections of gross specimen

GAO Quan-sheng, TAN Li-wen, YING Da-jun (Department of Anatomy, Third Military Medical University, Chongqing 400038, china)

Abstract Objective To prepare cross-sections of frozen gross specimen to provide adequate original data for the three-dimensional reestablishment. Methods Based on the frozen section method, the frozen soft tissue microtome was designed and prepared. Some relevant frozen techniques were improved. The calibration line was buried in the ice box with the use of calibration board so that the thickness of the section could be adjusted by the spiral ascending and descending system. Results The thickness of the section was thinner than 0.9 mm (0.865 mm in our experiment). The problem of calibration of the frozen specimen was solved. Conclusion The self-made cryomicrootome is of simple operation, low cost and practical. By using this kind of cryomicrotome, clear images, accurate calibration in comparatively short experimental time can be obtained. This kind of cryomicrotome may have a wide application in the three-dimensional re-establishment of the biological tissues.

Key word three-dimensional reconstruction; calibration; frozen section

现代生物组织连续断层的三维重建技术已突破了传统形态学的二维形态资料表达的局限性,提供了形象直观、立体感强的三维形态学资料,充分展现了各解剖结构的毗邻关系,对临床医生在诊断和治疗上具有重要指导意义。

断层间距和定位系统的准确性直接影响三维重建的质量。断层越薄,定位系统越准确,重建的效果就越好。本研究在冰冻切片技术的基础上设计并制了大体冰冻标本薄层切片机,以期能为生物组织三维重建断层标本的制备提供一个准确、经济、快捷的实验方法。

1 材料与方法

1.1 大体标本冰冻切片机

大体标本冰冻切片机是由支架、标本升降系统、夹具和刀具等4个部分组成,见图1。

1.1.1 支架 利用角钢焊接而成,其中两条水平并平行的角钢作刀具的滑动槽,使刀具嵌于内槽间作前后移动,正中用4根角钢焊成方形垂直升降滑槽,使标本载物台可在槽内作垂直升降。整个支架体积较小,重量较轻,可固定在地板上、木板上或墙角使用。

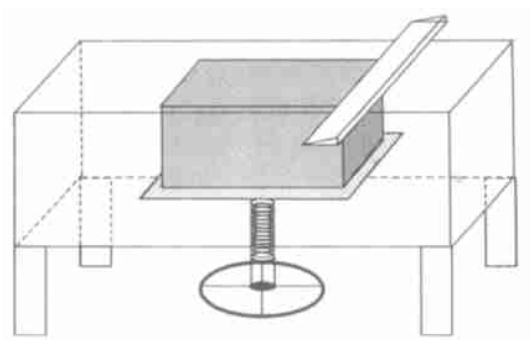


图1 大体标本冰冻切片机

Fig 1 Freezing microtome for gross specimen

1.1.2 标本升降系统 由升降转盘,螺帽、套筒、螺杆和载物台组成。螺杆的螺纹间距为3.46 mm。螺杆置于套筒中,螺帽的上下两端为固定套筒,螺帽的旋转带动螺杆作上下垂直升降。升降转盘由一内十字架与螺帽固定,其直径为200 mm,利用弦度分割将其标上明显的刻度槽,支架上有一指示针作为零起点的刻度。通过旋转不同均等份的刻度,便可得到不同厚度的冰冻组织切片图像。载物台固定在螺杆顶端,其托板上固定一厚塑料板,使载物台与冰冻组织块的接触面平整,并可减缓冰冻组织块底部的融化。

1.1.3 夹具 由于冰的表面磨擦力小,不易固定,因此在载物台的切割方向上有一螺栓控制调节的夹板,在切割物的前上端,略低于切割面处有一阻挡板,使冰冻组织块在切割过程中

作者简介:高全胜(1968—),男,北京市人,硕士,主治医师,主要从事心脏超声方面的研究。电话:(023)68752225

收稿日期:2001-04-18;修回日期:2001-09-20

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

保持稳定。

1.1.4　刀具　　用弹簧钢板经机械打磨而成, 刀具可直接在支架上推动, 也可将其做成推刨式, 在角钢内侧沿槽推刨。

1.2　冰冻组织块的制备

1.2.1　冰冻容器　　用厚塑料板材加热后围成一长方型, 大小视冰冻组织的大小而定, 接口处及底部托板处均打螺丝孔, 以备固定冰冻时用。同时冰冻容器两端作一标记, 以备切取组织块时辨明起始方向之用, 见图 2。

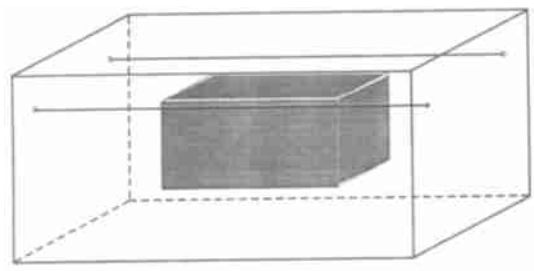


图 2　冰冻容器及定标线

Fig 2　The ice box and the cali bration line

1.2.2　定标板　　三维重建上定标点的准确与否取决于定标点的埋设。三维重建多采用三点定标。本实验用塑料板制作两块内夹板, 在两块内夹板上同时打孔, 为定标孔。这样在埋设定标线时, 将定标线在相对的两孔中穿过绷直, 嵌于冰冻容器中便可保持定标线相互间的平行。定标板上有多对定标孔, 可根据标本的大小选择不同的定标孔, 确保定标线的准确。

1.2.3　冰冻步骤

1.2.3.1　冰冻前的准备　　选取形状较好, 已固定过的组织, 冲洗干净后置于冰箱－25 ℃中冷却 0.5 h, 以使其冰冻固定其形状, 在此之前将两小桶水置于冰箱中冷冻, 一桶使其完全冰冻, 作为制取冰块之用, 另一桶预冷至 0 ℃左右。埋设 4 根色彩明显的定标线。

1.2.3.2　冰冻　　取冰块敲碎铺垫于冰冻容器的底部方向约 2 cm 厚, 将预冷冻的组织取出按照所要切割的方向将其放置于碎冰块上, 同时加 1/3 冰水置于－25 ℃冰箱内冰冻, 而后分别于 3、6 h 后将冰水加至满位。

1.3　冰冻组织块的切割

在 0 ℃以上切割时, 先将刀具和载物台预冷 5~6 min。将冰冻组织块用夹具固定在载物台上, 先刨除冰冻组织块上面的冰层, 而后调整好起始点及切面进行连续切割。每切割一层后, 用毛刷扫除切面上的碎冰渣, 使其表面干净。

1.4　图像的采集和重建

将 Nikon 880 数码相机安置于摄影支架中并调整好画面的采集区域及光学数据, 在自然光下进行拍照。每切割一层时, 采集一幅图像, 每幅图像的定标点一定要显示清晰。而后将获取的图像数据输入 SGI 图形工作站进行三维重建。

2　结果

①通过自制的冰冻切片机对冰冻心脏组织块进行切片, 片厚为每层 0.865 mm, 操作过程中精度始终得以准确掌握, 以心脏作水平切割为例, 从心尖到主动脉弓上缘, 得到 180 张断层切面图像, 切割面平整、光滑。各层之间解剖结构的连续性较好, 信息量非富, 重建出的心脏表面光滑, 显示清晰, 特别是一些复杂结构如瓣膜, 冠状动脉等都等到了较好的显示。

②定标准确, 我们在冰冻组织块中埋设四根定标线, 如相机与切面始终水平, 可采用两点定标法[1], 否则宜采用三点定标。每幅图像中定标线显示清晰, 在三维重建的过程中始终对位准确, 排除了因操作而导致的位移的改变引起的错位。

③冰冻切片机的可操作性好, 冰冻组织块的大小不受限制, 在短时间内即可完成整个切割过程。方便快捷, 操作简单。

3　讨论

传统的大体冰冻断层标本常用于断层面解剖结构的二维观测, 解冻后组织易变形、脱落, 且不易标记定标点, 观测中要丢失大量结构信息, 所以一般不用于三维重建。利用火棉胶包埋标本、生物塑化薄层断面标本作三维重建可获得较薄的连续断层标本和较好的重建效果[1,2], 但因其制作时间较长、费用较高、不易操作等原因不易普及和推广。本实验采用的软组织冰冻切片机及其相关的技术方法可获得较理想的连续断层图像, 其费用低, 重建效果好, 制作周期短, 2 d 即可完成 1 例标本从准备到获得图像的全过程。

以生物组织断层图像进行计算机三维重建, 重建图像效果在很大程度上取决于定标点的准确性和断层图像的厚度。以往冰冻采用在组织周围嵌入塑料管与切面垂直来定标[3], 在操作过程中不易把握。本研究采用内置夹板穿线定位, 与冰冻盒合成一体, 操作简单且定标准确。

本实验断层标本厚度由螺杆及升降转盘控制, 实验测得层间误差为 0.01 mm。且直接采用数码像机摄取图像, 减少了人为的干扰因素。

在操作方面, 具有简单快捷、节约费用的优点。组织冰冻块的制作仅需 1 d 时间, 而且不需要其它原材料方面的费用支出, 切割时操作简单, 可以在任何条件下开展, 因此具有广阔的应用价值。但本研究也受下列条件的制约: ①刀具, 由于推动的过程中会出现用力不均的现象, 造成组织块出现切痕; ②受环境温度的影响较大, 在较高温度下切割时易形成冰融, 需反复冷冻, 再切割。

本实验若采用旋转刨刀、自动进位系统、减小螺纹间距, 使片层厚度达到更薄, 将更加扩大切割标本范围, 获得更丰富的图像资料。

参考文献:

[1] 张绍祥, 刘正津, 唐泽胜, 等. 生物塑化薄层连续断面的计算机三维重建[J]. 解剖学报, 1996, 27(2): 113－118.

[2] 宋志坚, 吴国强, 左焕琛. 心脏解剖断面的三维重建与计算方法[J]. 上海医科大学学报, 1996, 23(5): 351－354.

[3] 黄泽奇, 左焕琛, 刘卫民, 等. 人心计算机三维重建和显示的研究[J]. 解剖学杂志, 1991, 14(4): 318－321.

（编辑　谢义霞）

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