DOI: 10.16016/j.1000-5404.1998.01.041

豚鼠耳蜗切片的计算机图像分析

Computer image analysis of histological sections of cochlea in guinea pig

王宜南* 刘兆华 徐伟恒 (第三军医大学附属大坪医院耳鼻咽喉科) 重庆,400042

提 要 目的:探索一种膜迷路积水的客观判断方法。方法:采用计算机图像分析技术对豚鼠内耳组织切片做了相关数据的测试,并将正常组与积水模型组做比较。结果:正常组豚鼠耳蜗的中阶面积底回为12443.0± 407.2,顶回7652.2± 1559.2,前庭膜长度底回149.6± 14.7,顶回121.3± 22.0;积水组中阶面积底回23366.8± 5045.8,顶回10202.0± 2927.9,前庭膜长度底回228.8± 62.7,顶回129.4± 21.9。统计分析,积水组中阶面积蜗管各部(C1-C8)与正常组均有显著差异。结论:计算机图像分析法测定中阶面积及前庭膜长度,准确可靠,应用于积水耳蜗的测定较传统法(光镜下主观判断)更为科学、可信。

梅尼埃病重要的病理特征为内淋巴积水,然而对其积水程度的判断,长期以来仅凭光镜下主观观察[1,2],这给豚鼠膜迷路积水模型的鉴定及其病情变化的观察研究带来极大的不便。为此作者引入计算机图像分析技术对正常和积水模型豚鼠耳蜗火棉胶切片相关数据进行了测定。

1 材料和方法

选用白色和杂色豚鼠共40只,雌雄不限,体重200~ 500g,耳廓反射灵敏,耳镜检查双外耳道及鼓膜正常。正常组30只直接处死并做火棉胶切片;积水组10只作内淋巴囊、管阻塞术复制膜迷路积水动物模型(Kimura法)[1],术后30 d处死动物做火棉胶切片。

1.1 组织切片

2%戊巴比妥钠腹腔注射(30 mg/kg),快速断头处死,背侧径路取出双侧颞骨,打开听泡用细针刺破园窗膜和蜗顶骨性蜗壳,中性福尔马林局部灌流固定,然后于此液室温下固定1~ 2 d,5%三氯醋酸脱钙10 d,浸胶(1.5%,3%,6%,12%,18%,24%火棉胶各7~ 10 d),定向包埋(外耳道向下,蜗轴水平位),火棉胶切片机连续切片,片厚20μm,首次出现蜗管计算为第一张,此后每5张抽取1张,HE染色。

1.2 计算机图像分析

1.2.1 取材 正常组和积水组豚鼠耳蜗火棉胶连续切片,过蜗轴处每5张抽1张每耳7张。

1.2.2 测量参数及计算 将待测组织切片置于VAX/11-730型图像分析仪(美国产,重庆大学光电精密仪器研究所提供)摄影头下。将蜗管各部从底部到顶回标记为C1~ C8,测定每张片中C1~ C8蜗管各部中阶面积(S)和前庭膜长度(L)(图1,2)。VAX系统所测数据为点计数值(Ps, Pl),据下列公式可换算成实际面积(mm^2)和长度(μm)。实际面积= Ps× Factor× Factor,实际长度= Pl× Factor,其中Factor为比例因子,由VAX系统测定给出。在本实验条件下Factor= 0.00295858

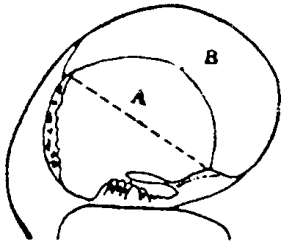


图1 积水耳蜗示意
A.正常前庭膜位置
B.积水耳前庭膜向上膨隆,中阶面积增大

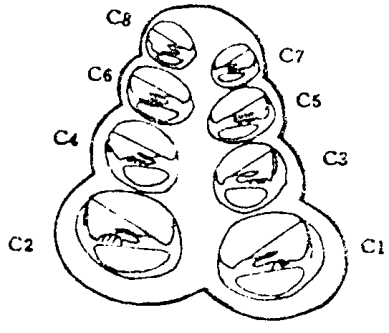


图2 蜗管C1~ C8示意图

1.3 统计分析

所测数据用三医大统计教研室软件PDA-2程序进行双样本t检验,以$\bar{x}\pm s$表示。

2 结果

光镜下可见膜迷路积水模型耳蜗前庭膜向前庭阶膨隆,中阶面积增大。中阶面积及前庭膜长度由底至顶回递减,耳蜗各部数据见表1,2

* 王宜南,女,38岁,主治医师,讲师,硕士

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

表 1 积水耳与正常耳前庭膜长度的比较 (点计数值)

蜗管	正常耳	积水耳
C1	149.6± 14.7	228.8± 62.7*
C2	142.2± 9.2	234.4± 33.0*
C3	152.8± 6.7	228.9± 31.8*
C4	143.5± 15.5	210.3± 13.9
C5	157.7± 14.6	209.9± 30.0
C6	136.2± 11.0	184.6± 20.2
C7	145.5± 14.3	172.8± 13.3
C8	121.3± 22.0	129.4± 21.9

*: $P < 0.01$ 与正常耳比较

表 2 积水耳中阶面积与正常耳中阶面积比较 (点计数值)

蜗管	正常耳	积水耳
C1	12443.0± 407.0	23366.8± 5045.8*
C2	11043.6± 528.1	21078.3± 5063.6*
C3	10572.7± 611.5	18912.0± 2873.1*
C4	10126.0± 787.4	16965.4± 1421.5*
C5	9501.7± 796.3	15585.0± 2287.7*
C6	9292.2± 756.8	13922.2± 1254.6*
C7	8725.4± 782.6	12376.3± 1400.6*
C8	7652.2± 1559.2	10202.0± 2927.9*

*: $P < 0.01$ 与正常耳蜗管比较

3 讨论

近年来计算机图像分析及三维重建技术引入医学研究领域[3~5],使生物结构、形态学研究的定量和立体再现成为可能。由于定量、准确客观地记录结果,使研究结果更加科学、可靠。判断膜迷路积水传统的方法是在光镜下根据前庭膜向前庭阶膨隆情况分为轻、中、重度积水,此法在不同观察者,不同实验室之间具有很大差异,因而失去了观察结果的客观性、可比性。计算机图像分析技术的引入给内耳疾病的研究提供了科学、准确的数据,使实验结果更具说服力[4]。本实验选用两个参数:中阶面积(S),前庭膜长度(L);积水组蜗管各部(C1~C8)中阶面积均较正常组显著增加,而前庭膜长度只在底回(C1~C3)较正常组显著增加。选用面积参数敏度较高。

由于耳蜗结构的特殊性(多腔隙、迂回、脆弱),其病理制片较一般组织复杂,在脱钙、梯度浓度火棉胶浸胶等过程中很可能影响到耳蜗的自然形态。尤其基底膜、前庭膜组织呈悬浮状态,在制片、切片等步骤中都可能使基底膜移位,由此影响到实验结果的判断。以往的实验常见在正常耳蜗组织切片中前庭膜移位(膨隆或萎陷),在膜迷路积水实验中可能因制片的因素影响到对积水程度客观的判断。本实验借助计算机图像分析经统计处理得出正常耳蜗中阶面积和前庭膜长度的客观数值,为内耳疾病的研究确立了基础。

耳蜗截面积由底至顶呈螺旋形递减,过轴的切片在顶回难以保证所有切片方向与蜗管长轴相垂直,顶回部分切片可能呈斜截面积从而影响所测算截面积及前庭膜长度的准确性(测算值可能较实际值偏高),这一缺陷有待进一步探索和改进。

关键词 计算机图像分析;豚鼠;耳蜗积水
中图法分类号 R764.35

参考文献

1 Kimura R S, Skuknachet H F. Experimental production of endolymphatic hydrops. Otol Clinical of North America, 1968; 10: 457
2 刘东风,李新吾,汪磊等.实验性内淋巴积水内耳病理观察.中华耳鼻咽喉科杂志, 1988; 23: 80
3 王宜南,刘兆华.用计算机图像分析技术研究膜迷路积水.中华耳鼻咽喉科杂志, 1996; 3: 139
4 刘阳.计算机辅助颞骨结构三维重建.国外医学:耳鼻咽喉科学分册, 1996; 20(3): 129
5 刘湘燕.多媒体技术在耳鼻咽喉领域的应用.国外医学:耳鼻咽喉科学分册, 1996; 20(5): 288

(收稿: 1997-04-10;修回: 1997-06-16)
(编辑 仇玉福)

犬脑干缺血后血小板聚集功能的改变

Changes of platelet agregation gauge after brainstem ischemia in dogs

何 英* 王东武 邓志宽 张 蔚** (第三军医大学附属新桥医院神经内科)重庆, 400037

提 要 目的:观察脑干缺血后外周血血小板聚集功能(PAG)和脑干听觉诱发电位(BAEP)的变化。方法:建立犬局灶性脑干缺血模型。结果:犬局灶性脑干缺血后 0.5、1、1.5、3、6和 12h BAEP的Ⅰ、Ⅲ、Ⅴ波潜伏

* 何 英,女, 30岁,主治医师,讲师,硕士
** 预防医学系医学统计学教研室 重庆, 400038

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