

基于显微图像的血虚证大鼠肠系膜微循环变化研究

张孝龙¹, 李伟², 彭欣^{1*}

(1. 山东中医药大学理工学院, 济南 250355; 2. 山东医学高等专科学校医学影像系, 济南 250002)

[摘要] **目的:**观察血虚证大鼠肠系膜微循环变化,并测量其血液流速。**方法:**通过皮下注射乙酰苯肼(APH)制备血虚证大鼠模型,运用 BI-2000 医学图像分析系统观测血虚大鼠肠系膜微循环损伤的变化,采集微循环显微图像,并利用 LabVIEW IMAQ VISION 平台进行图像处理分析,提供一种跟踪白细胞团的微循环血液流速测量方法。**结果:**①血虚大鼠肠系膜微循环血色暗淡,微血管变形,管壁受损;②测得的大鼠肠系膜微循环血液流速与现代文献研究十分吻合,精确度提高,再现性良好。③血虚模型组大鼠肠系膜微循环血液流态呈粒线流甚至聚集流改变,且血液流速较正常组明显减慢,具有显著性差异($P < 0.05$)。**结论:**血虚大鼠微循环存在供血不足、血流瘀滞、管壁损伤和渗出出血等多重病理改变;运用 LabVIEW 图像处理方法测量血液流速,客观地反映了血虚大鼠微循环的病理改变,表明显微医学图像分析技术在中医血虚证研究中具有良好的应用前景。

[关键词] 显微图像;血虚证;肠系膜微循环;LabVIEW 图像处理;血液流速

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)05-0156-03

Study on Changes of Mesenteric Microcirculation in Rats with Syndrome of Deficiency of Blood Based on Micro Image Analysis System

ZHANG Xiao-long¹, LI Wei², PENG Xin^{1*}

(1. College of Science and Technology, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China; 2. Department of Medical Imaging, Shandong Medical College, Ji'nan 250002, China)

[Abstract] **Objective:** To observe changes of mesenteric microcirculation in rats with syndrome of blood deficiency, based on micro image analysis. **Method:** Acetyl phenyl hydrazine (APH) was subcutaneously injected on the back of rats to establish a blood deficiency model. The blood flow of mesenteric microcirculation was observed based on BI-2000 medical image analysis system, and the microcirculation image was acquired and analyzed through LabVIEW IMAQ Vision software, and the blood velocity was measured by tracing leukocyte. **Result:** ①The color of mesenteric microcirculation in blood deficiency rats was dim, microvascular was deformed and its vascular wall was damaged. ②The change of blood velocity of mesenteric microcirculation was matched with findings of modern research. ③Blood flow of mesenteric microcirculation in blood deficiency rats showed a line flow state with particle and a aggregation flow state, and blood velocity was lower compared with common group ($P < 0.05$). **Conclusion:** There exists vesicular wall injury in rats with syndroms of blood deficiency, as well as blood stasis and exudation. Measurement of blood velocity by image ananlysis based on LabVIEW objectively can reflect pathological changes of mesenteric microcirculation in rats syndroms of with blood deficiency which shows that microscopic medical image analysis technique in terms of research traditional Chinese medicine syndrome of blood deficiency has a good application prospect.

[收稿日期] 20110721(006)

[基金项目] 山东省教育厅科技计划基金资助项目(J06L19)

[第一作者] 张孝龙,在读硕士,从事生物医学工程研究,Tel:15666440503,E-mail:xiaolong7088@126.com

[通讯作者] *彭欣,教授,硕士,从事生物医学工程技术与中医药现代化研究、生物信息检测与分析,Tel:13791028782,E-mail:pengxin0531@163.com

[Key words] micro image; blood deficiency; mesenteric microcirculation; LabVIEW Image process; blood velocity

血虚证是血液亏虚,脏腑百脉失养,以体表肌肤黏膜组织呈现淡白以及全身虚弱为特征的证候群。中医认为:气血互根互用,“气为血之帅,血为气之母”。血虚则气无以生,气虚则血运无力,因此血虚证还往往伴随循环不利、瘀血阻滞的现象^[1]。对此,现代实验从血液流变及组织病理等方面提供了有力的证明。本研究运用医学图像分析处理技术,观测血虚大鼠肠系膜微循环的病理变化,并测量其微循环血液流速,为探讨显微图像技术在中医血虚证中的作用提供进一步的客观依据。

1 材料

1.1 动物 Wistar 雌性大鼠,20只,6月龄,体质量(300±20)g,山东大学实验动物中心提供,许可证号 SCXK(鲁)20030004。

1.2 药品与试剂 乙酰苯肼(APH),上海试剂三厂生产,批号 950224;戊巴比妥钠,上海化学试剂采购供应站分装厂,批号 86-01-22;注射用氯化钠溶液,250 mL;2.25 g,山东华鲁制药有限公司。

1.3 仪器 PB602-N 电子天平(Metter toledo group),BI-2000 医学图像分析系统(成都泰盟科技有限公司),LabVIEW 图像处理软件,实验动物保温箱(自制)。

2 方法

2.1 动物分组 动物购置后喂以饲料,自由摄食、饮水,室温 20~26℃,湿度 65%~80%,通风光照良好条件下,适应饲养 1 周,观察大鼠一般体征状况正常后,按体重随机分为 2 组,每组 10 只,即:正常组(A组),血虚模型组(B组)。

2.2 血虚模型制备 按文献[2]制备血虚模型,B组 sc1% APH·NS,隔日 1 次,共 5 次,剂量分别为 100,50,50,30,30 mg·kg⁻¹,A组 sc 等量的生理盐水。注射前对大鼠进行称重,并对动物一般体征进行观察记录(首次注射日期记为第 1 天)。

2.3 肠系膜微循环观察及图像采集 按文献[3-4]报道方法,将动物按 40 mg·kg⁻¹剂量用戊巴比妥钠 ip 麻醉,沿腹中线纵向切开腹壁 2~3 cm,轻轻拉出大鼠肠道回盲部,将肠系膜轻轻展开置于盛有恒温生理盐水的台式灌流槽的视窗上,保持肠系膜的周围环境接近于生理状态。通过 BI-2000 医学图像分析系统,直接观察肠系膜微循环血色和血液流态的变化并记录,录制保存实验镜下全过程的数字录像,

做进一步测定分析。

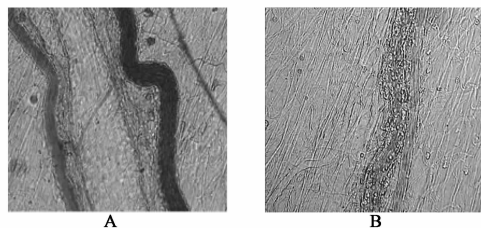
2.4 LabVIEW 图像处理 为了测量大鼠肠系膜微循环血液流速,需要对 BI-2000 系统观察采集到的微循环图像进行处理。IMAQ Vision 是一个功能强大的函数库,提供了在 LabVIEW 平台上开发机器视觉系统所需要的各种子程序,利用 IMAQ Vision 图像处理的功能模块,可以实现对微循环显微图像的处理分析。基本方法包括图像读取、平滑滤波、阈值分割、二值化、形态处理及边缘检测等过程。

2.5 血液流速测量 二值化图像中白细胞团与红细胞之间界限明显,通过边缘检测,可以得到连续几帧的边缘点(x,y)坐标。在进行图像测量之前,进行图像的长度定标是采用测微尺的方式定量,进而得出 ΔS。本研究中 BI-2000 医学图像分析系统 1 s 采集 25 帧图像,即每两帧图像之间的时间间隔 ΔT=0.04 s。利用公式 $V = \Delta S / \Delta T$,可得到微循环的血液流速值。

2.6 统计学处理 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计方法采用 SPSS 18.0 软件中单因素方差分析和组间 t 检验比较指标差异的显著程度。 $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠肠系膜微循环形态学变化 与正常组比较,模型组大鼠肠系膜微循环变化主要有:①血虚大鼠肠系膜微循环血色暗淡,微血管变形,管壁受损;②大鼠微循环血流瘀滞,微静脉管径增粗,血管周围有渗出甚至出血反应,呈现出血虚与血瘀、出血并见的形态学特征。见图 1。



A. 正常组; B. 模型组

图 1 大鼠肠系膜微循环形态学

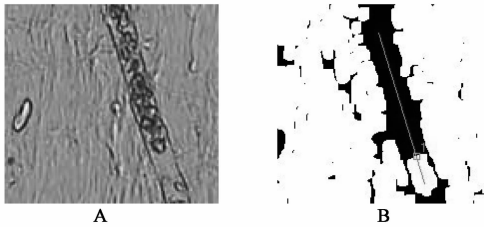
3.2 大鼠肠系膜微循环血液流速的测量 大鼠肠系膜微循环图像经过 LabVIEW 图像处理对比见图 2。通过边缘检测得到有效边缘点像素的(x,y)坐标,利用公式测得微循环流速值。与正常组比较,见表 1,血虚模型组大鼠的肠系膜微循环的血液流

表 1 各组大鼠肠系膜微循环变化及血液流速比较 ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | 血色 | 血液流态 | | | | 血液流速 / $\mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ |
|----|----|--------|------|-----|----|-----|---|
| | | | 线流 | 线粒流 | 粒流 | 粒缓流 | |
| 正常 | 10 | 鲜红 | 9 | 1 | 0 | 0 | 1 876.5 ± 17.2 |
| 模型 | 9 | 暗红, 色淡 | 1 | 2 | 5 | 1 | 534.7 ± 8.9 ¹⁾ |

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

速明显减慢,具有显著性差异 ($P < 0.05$),客观的反映了血虚证大鼠肠系膜微循环的病理变化。



A. 原始图像, B. 处理后图像

图 2 大鼠肠系膜微循环图像经过 LabVIEW 图像处理前后对比

4 讨论

肠系膜微循环系统是机体最大的血管床之一,与全身循环密切相关。肠系膜微循环的调节机制不但对脏器局部有影响,对全身循环亦有影响^[5]。肠系膜微循环检测是常用的微循环实验检测方法。它可以方便地观察微血管的管壁、管腔,以及血管运动的情况和血流中各种细胞流态,如白细胞贴壁滚动或穿过管壁,微小血栓等,还可观察内皮细胞以及内皮细胞与白细胞及其他血细胞之间的黏附关系等。因此,该方法可广泛用于基础研究、临床病证研究、以及药理学研究。微血管的血液流速是反映微循环状态的重要指标,在许多生理和病理状态下有着重要的参考价值。微循环动态检测参数包括:微血管中的血流速度、血管直径、血细胞比积、管内压力积和血管壁的通透性,其中最重要的是微循环血液流速^[6]。

本实验研究中,通过显微图像观测到血虚大鼠微循环存在供血不足、血流瘀滞、管壁损伤和渗出出血等多重病理改变。在病理情况下,血中可见红细胞聚集,血流呈线粒状或粒状^[7]。运用 LabVIEW 图像处理方法测量的血液流速,它在保持对微循环显微图像进行实时、动态检测的同时,增加了检测的准确性,弥补了主观目测法的不足,客观地反映了血虚大鼠微循环的病理改变,为测定微循环血液流速,提供了一种简便准确的检测方法。

应用医学显微图像分析方法进行微循环研究,是近年来新形成的研究技术,尚有许多需要探索与完善之处,相应的研究报道也较匮乏^[8-10]。以上研究证实,运用显微图像分析技术,可以较好地观测血虚大鼠微循环病理变化规律,从而为深入认识中医血虚证实质,加强血虚证与微循环的实验研究,以及为临床对血虚证微循环障碍及早发现、及时防治,提供了研究方法 with 实验依据。

[参考文献]

- [1] 秦林,刘更生,宋月芹. 试论四物汤血虚证与贫血症的关系[J]. 中国中医基础医学杂志, 2004, 10(2): 48, 59.
- [2] 彭欣,宋月芹,张增敏,等. 贫血大鼠模型瘀血出血改变与其临床意义的研究[J]. 山东中医药大学学报, 2006, 30(3): 236.
- [3] 田牛,李向红,刘育英. 微循环方法学[M]. 北京: 原子能出版社, 1993: 230.
- [4] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993: 554.
- [5] 郑楚,唐金良,杨冬业,等. 活血散瘀颗粒的活血化瘀作用研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(16): 191.
- [6] 文伟宁,周兆英. 微循环流速测量技术的发展及临床应用简况[J]. 北京生物医学工程, 1995, 14(2): 116.
- [7] 葛争艳,郭宇洁,金龙,等. 芎芷痛瘀散消肿止痛作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21): 155.
- [8] 余上斌,刘声远. 营养性肥胖大鼠肠系膜微循环变化[J]. 中国微循环, 2005, 9(1): 41.
- [9] 连学建,王建武,郭莲军,等. 胃克星对大鼠肠系膜微循环的影响[J]. 临床消化病杂志, 2003, 15(6): 265.
- [10] 刘秀平,董超,廉海晨,等. 石菖蒲挥发油对吗啡戒断大鼠微循环障碍的治疗作用[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(6): 529, 532.

[责任编辑 聂淑琴]