

糖尿病与正常大鼠视网膜组织显微高光谱图像数据研究

李庆利¹, 薛永祺², 张敬法³, 刘 治¹

1 上海交通大学电子信息与电气工程学院, 上海 200030

2 中国科学院上海技术物理研究所, 上海 200083

3 上海交通大学健康研究所, 上海 200030

摘要 使用自行研制的显微高光谱成像仪采集了正常、糖尿病和药物治疗后大鼠的视网膜组织切片的显微高光谱图像数据。通过对正常对照组、糖尿病组、药物治疗3周组和药物治疗6周组4组共60例样本的显微高光谱数据进行处理,提取其外核丛透射光谱曲线进行对比分析发现,大鼠视网膜外核丛组织在400~800 nm光谱范围内存在3个谱峰,且正常大鼠视网膜外核丛组织光谱曲线在第113波段的谱峰明显高于糖尿病大鼠相同位置的谱峰。另外,经过注射LCVS1001药物治疗后大鼠视网膜外核丛组织的光谱曲线有逐渐向正常光谱曲线转变的趋势。通过该研究表明,可以利用显微高光谱成像仪来研究糖尿病大鼠视网膜的光谱特征以及物理化学组成等变化。

关键词 糖尿病视网膜病;显微高光谱成像仪;光谱

中图分类号: O657.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-0593(2007)08-1603-04

引言

随着人民生活水平的日益提高,糖尿病患病率正急剧增加,已成为影响人类身体健康的主要疾病之一^[1,2]。糖尿病若没有得到及时诊断和正规治疗,可引起多种慢性并发症。据统计,约有30%的糖尿病患者并发增生性视网膜病,其中每年有1.2%可能发展到失明^[3]。糖尿病性视网膜病变(diabetic retinopathy, DR)是糖尿病最常见和最严重的微血管并发症之一,DR的病理特征为视网膜新生血管形成和BRB破坏,它是糖尿病患者视力丧失的主要原因^[4,6]。鉴于糖尿病并发症的巨大危害,寻找筛选征服其并发症的有效药物已成为当今医学界竞相研究的热点。

本文首次利用自行研制的显微高光谱成像仪对正常、糖尿病和药物治疗后大鼠的视网膜外核丛组织进行了检测 and 对比分析,旨在通过图谱结合的方式检测糖尿病视网膜病变的发生以及药物治疗效果,为临床寻找更有效的治疗方法提供参考。

1 试验

1.1 样品及其制备

60例大鼠视网膜样本均由上海健康研究所提供,样本分为N, D, E⁻, E⁺四组,其中N为正常对照组;D为患糖尿病组,用链脲霉素(streptozocin, STZ)腹腔注射后,会出现糖尿病的相应的症状:多饮,多食,多尿,体重下降和血糖升高等表现,以此作为糖尿病组样本;E⁻为采用玻璃体内注射LCVS1001药物治疗3周组;E⁺为采用玻璃体内注射LCVS1001药物治疗6周组。将所有大鼠样本全身麻醉后,脱颈处死后取出眼球。将取出的眼球放入4% PBS缓冲的多聚甲醛固定24 h以上。在解剖显微镜下,去掉眼前节(包括角膜、虹膜和晶状体),并将眼球外组织剔除掉,剩余的部分为眼杯。将眼杯放入10%、20%和30%的PBS缓冲的蔗糖溶液中梯度脱水。在冰冻切片机上进行切片,获得经过视神经的视网膜冰冻切片样本。

1.2 试验仪器

采用自行研制的显微高光谱成像仪对4组60例样本进行测量,获取了相应的大鼠视网膜组织切片显微高光谱图像数据。显微高光谱成像仪根据推帚式成像光谱仪的原理进行设计^[7,8],系统原理图如图1所示。处于显微镜载物台上的样品被柯勒照明系统照明,瞬时视场内的样品条带通过显微镜物镜成像于光谱仪的狭缝处,再经过光栅及棱镜分光组件后,在垂直样品条带方向按光谱色散,最后成像于CCD像面。CCD光敏面平行于狭缝的一维称为空间维,垂直于狭缝

收稿日期: 2006-03-18, 修订日期: 2006-06-26

基金项目: 国家高技术“863”计划项目(2001AA131090)资助

作者简介: 李庆利, 1977年生, 上海交通大学自动化系博士研究生, e-mail: tsinglili@163.com

的一维称为光谱维,空间维每一行光敏元上得到的是样品条带一个光谱波段的像,这样面阵 CCD 相机每帧图像便对应于一个样品条带的多光谱图像。通过载物台自动装置对样品进行推扫,就得到整个样品的二维图像及光谱数据,即图像

立方体(如图 2)。该仪器的光谱范围为 400~ 800 nm,有效象元数 640×300 ,共 240 个波段,光谱分辨率优于 2 nm,当选 40 倍物镜时,空间分辨率为 $1.125 \mu\text{m}$ 。

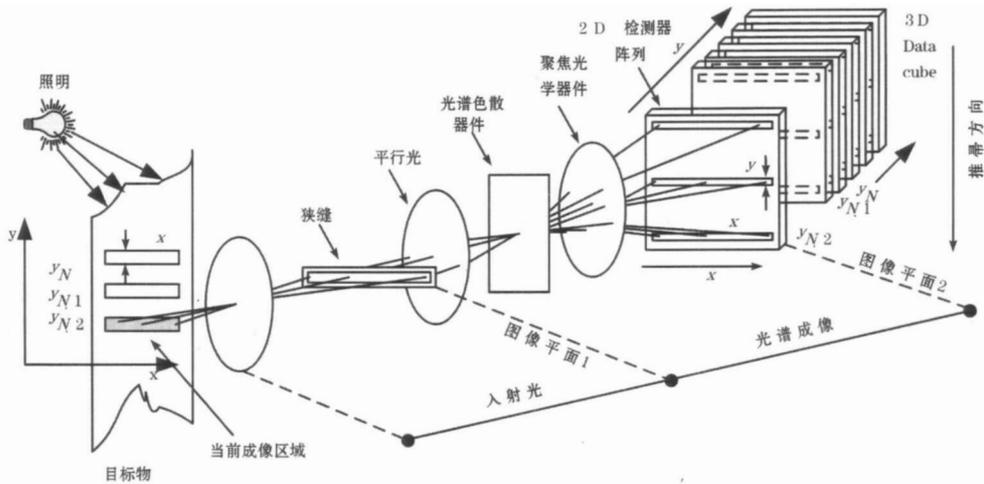


Fig 1 Schematic diagram of microscopic hyperspectral imaging device

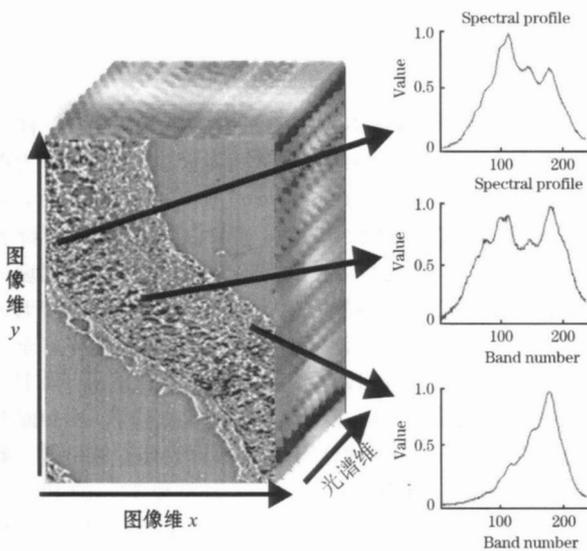


Fig 2 Microscopic hyperspectral imagery data cube

2 结果

通过试验获得了 4 组共计 60 例大鼠视网膜组织切片的显微高光谱图像。提取出各组样本视网膜外核丛组织细胞的光谱曲线进行比较发现,正常、患糖尿病和药物治疗的大鼠视网膜切片外核丛细胞的光谱曲线在第一个波峰处存在明显差异。本文从 4 组样本中各选取 1 个样本,取其第 120 波段的图像和其外核丛组织细胞对应的的光谱曲线进行比较,如图 3(a)~ 图 3(d)所示。图中(a)~ 图(d)分别为正常对照组、糖尿病组、药物治疗 3 周组和药物治疗 6 周组的试验结果,每组图中同时列出了第 120 波段图像和图像中箭头所指点对应的光谱曲线。

从图 3 可以看出,所有大鼠视网膜外核丛组织的光谱曲线都是在第 113(中心波长 601.4 nm)、146(中心波长 659.7 nm)和 180(中心波长 724.0 nm)波段附近存在谱峰;其中正常组织的谱峰最为明显,而患有糖尿病的大鼠视网膜外核丛组织第 1 个谱峰最弱,与正常组织相比差别比较大;经过注射药物 LCVS1001 治疗后,第 1 个谱峰开始逐渐增强,谱的整体形态也逐渐接近正常光谱。将图 3 中四组样本光谱曲线叠加在一起比较,如图 4 所示。从图中可以明显看出,患糖尿病大鼠样本经过药物治疗后,其视网膜外核丛组织的光谱曲线有向正常样本光谱曲线转变的趋势。

3 讨论

显微高光谱图像数据可以从多角度,从分子水平提供物质结构和组成的信息。大鼠视网膜组织的高光谱图像数据经过简单处理以后,可以给出糖尿病视网膜组织和正常组织的差别,并给出药物治疗后的对比效果。

本研究结果显示,在糖尿病早期和 DR 出现之前,糖尿病大鼠的视网膜外核丛组织 400~ 800 nm 范围光谱曲线已经开始发生变化,在第 113 波段(中心波长 601.4 nm)处的谱峰与正常情况相比变得较弱,提示视网膜开始出现异常,这表明从显微高光谱图像数据中可以检测出早期糖尿病视网膜病变。

因 DR 的发病机制十分复杂,目前仍未完全阐明,广泛认为是多种因素相互作用的结果^[9, 10]。近年来,专家学者们对 DR 的发生机制的相关因素做了大量的研究^[11, 12],目的在寻求调节关键生长因子水平的新的药理学手段。本文使用 LCVS1001 药物对糖尿病大鼠进行了治疗,并使用显微高光谱成像仪检测治疗 3 周和 6 周后大鼠视网膜外核丛组织发生的变化,发现其光谱曲线逐渐向正常组织光谱曲线转变,这

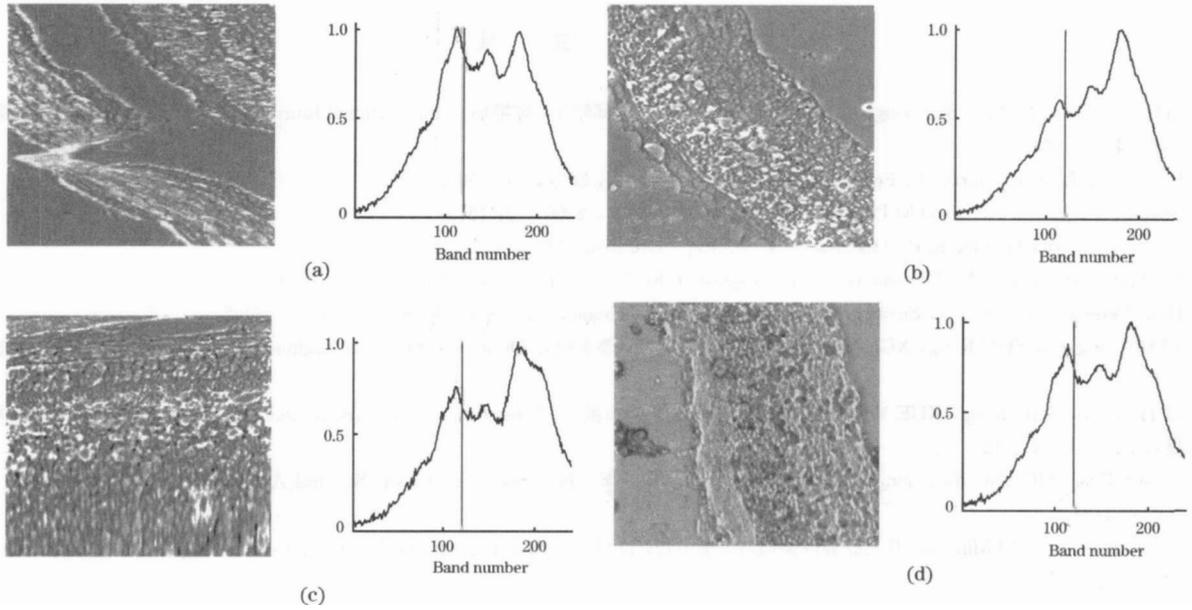


Fig 3 Experiment result

表明 LCVS1001 这一药物对糖尿病视网膜病变有一定的治疗作用。

由于显微高光谱成像仪的研制和使用还处于起步阶段，目前所做的研究只是探索性工作。下一步将首先对仪器光源和光谱进行定标，从而实现定量描述糖尿病视网膜病变的程度以及药物治疗的效果。

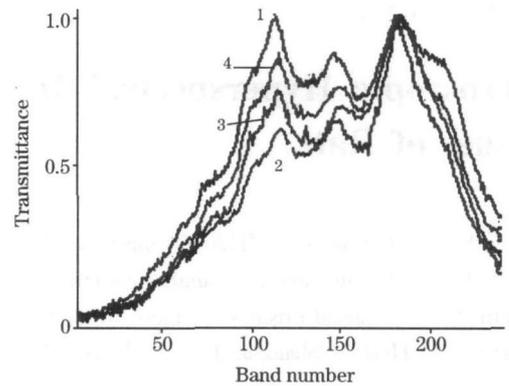


Fig 4 Spectrum of N, D, E-, E-

1: N; 2: D; 3: E- ; 4: E-

参 考 文 献

- [1] ZHANG Xiao-ling, QIU Shu-dong, CHEN Yan-jiong(张小玲, 邱曙东, 陈艳炯). International Journal of Phthalmology(国际眼科杂志), 2005, 4(6): 1239.
- [2] Fransen S, Leonard+Martin T, Feuer W, et al. Ophthalmology, 2002, 109: 595.
- [3] Glover J P, Jacot J L, Basso M D. J. Ocul. Pharmacol. Ther., 2000, 16: 167.
- [4] Jonathan L, Matthew D, Karlo Hockmann, et al. Exp. Eye Res., 2006, 82: 132.
- [5] Iall Pattona, Tariq M A, Thomas M, et al. Progress in Retinal and Eye Research, 2006, 25: 99.
- [6] Hans Peter H, Irmtraud K, Susanna W. Investigative Ophthalmology & Visual Science, 1993, 34: 2092.
- [7] XIAO Gong-hai, SHU Rong, XUE Yong-qi(肖功海, 舒 荣, 薛永祺). Optics and Precision Engineering(光学精密工程), 2004, 12(4): 367.
- [8] LI Hong-bo, SHU Rong, XUE Yong-qi(李红波, 舒 嵘, 薛永祺). Chinese Journal of Infrared and Millimeter Waves(红外与毫米波学报), 2002, 21(6): 429.
- [9] RUAN Ping, HUANG Yao-xiong, LI Dan(阮 萍, 黄耀熊, 李 丹). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(7): 1121.
- [10] RAO Zhen-hong, LI Min-zan, JI Hai-yan(饶震红, 李民赞, 吉海彦). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(4): 633.
- [11] ZHAO Jie-wen, ZHAI Jian-mei, LIU Min-hua, et al(赵杰文, 翟剑妹, 刘木华, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2006, 26(4): 640.
- [12] LIU Gang, LIU Jian-hong, ZHANG Lin, et al(刘 刚, 刘剑虹, 张 林, 等). Spectroscopy and Spectral Analysis(光谱学与光谱分析), 2005, 25(5): 723.

Microscopic Hyperspectral Image Study of Normal and Diabetic Retina Tissues of Rats

LI Qing-li¹, XUE Yong-qi², ZHANG Jing-fa³, LIU Zhi¹

1. Department of Automation, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200030, China

2. Institute of Technical Physics, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200083, China

3. Institute of Health, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200030, China

Abstract A microscopic hyperspectral imaging device was used to study the normal and diabetic retinas of rats. The microscopic hyperspectral images of retinas from normal, diabetic and medicative rats were collected and processed. Some transmission spectral curves of outer nuclear layer of retina were extracted and analyzed. The results showed that there are three characteristic spikes in the spectral curves between 400 and 800 nm from the outer nuclear layer, and the heights of the characteristic spikes at 113 band were altered obviously between the normal and diabetic retinas. In addition, the spectral curve of the diabetic retina changes gradually to the normal spectrum curve after treatment by the LCVS1001. The experiment result showed that the microscope hyperspectral imaging device could be used to study the changes in spectrum characters and physical chemistry composition of the diabetic retina.

Keywords Diabetic retinopathy; Microscopic hyperspectral imaging device; Spectrum

(Received Mar. 18, 2006; accepted Jun. 26, 2006)