

[19] 中华人民共和国国家知识产权局

[51] Int. Cl.

A61B 10/00 (2006.01)

A61B 19/00 (2006.01)

G01N 33/00 (2006.01)



[12] 实用新型专利说明书

专利号 ZL 200720148585.7

[45] 授权公告日 2008 年 2 月 13 日

[11] 授权公告号 CN 201019775Y

[22] 申请日 2007.5.8

[21] 申请号 200720148585.7

[73] 专利权人 张 罗

地址 北京市东城区崇内大街后沟胡同 17 号
北京市耳鼻咽喉科研究所

[72] 发明人 张 罗

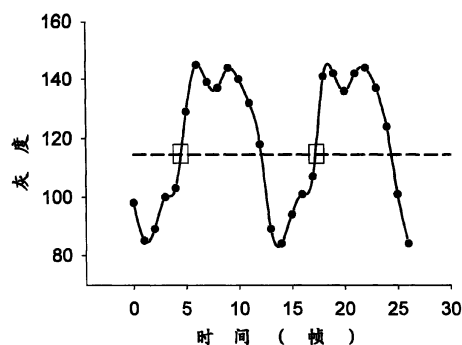
权利要求书 1 页 说明书 5 页 附图 3 页

[54] 实用新型名称

呼吸道纤毛摆动频率数字化测量系统

[57] 摘要

本实用新型涉及一种呼吸道纤毛摆动频率数字化测量系统，系统由倒置相差显微镜、高速电荷耦合器件摄像机、计算机工作站构成。应用倒置相差显微镜观测体外培养的纤毛上皮细胞，高速电荷耦合器件摄像机采集纤毛运动数字化图像。通过对数字化图像处理分析，在纤毛运动数字化图像中选取合适的纤毛运动观测点，得到观测点的灰度值变化曲线。在灰度值变化曲线中，通过三角函数计算得到每一摆动周期的纤毛摆动频率。应用此数字化测量系统能够准确记录呼吸道纤毛高速运动状况，实现纤毛摆动频率的精确测量。



- 1、一种呼吸道纤毛摆动频率数字化测量系统，由倒置相差显微镜、高速电荷耦合器件摄相机、计算机工作站构成，其特征是：倒置相差显微镜、高速电荷耦合器件摄相机和计算机工作站顺序连接，实现纤毛运动图像的高速数字化采集和存储；在纤毛运动数字化图像中通过观测点区域的灰度值变化曲线分析得到纤毛摆动频率。
- 2、根据权利要求1所述的呼吸道纤毛摆动频率数字化测量系统，其特征是：采用体外培养的呼吸道纤毛细胞作为观测对象。
- 3、根据权利要求1所述的呼吸道纤毛摆动频率数字化测量系统，其特征是：应用高速电荷耦合器件摄像机采集纤毛运动数字化图像。
- 4、根据权利要求1所述的呼吸道纤毛摆动频率数字化测量系统，其特征是：在纤毛运动数字化图像中选取观测点，通过数字化图像分析得到观测点区域的灰度值变化曲线，以灰度值变化曲线反映纤毛运动。
- 5、根据权利要求1所述的呼吸道纤毛摆动频率数字化测量系统，其特征是：灰度值变化曲线分析中，以最大灰度值和最小灰度值的平均值做一辅助直线，灰度值变化曲线与辅助直线的任意相邻三个交点确定一个纤毛摆动周期。
- 6、根据权利要求1所述的呼吸道纤毛摆动频率数字化测量系统，其特征是：通过三角函数计算得到每一个纤毛摆动周期所需要的时间，最终得到每一纤毛摆动周期所对应的纤毛摆动频率。

呼吸道纤毛摆动频率数字化测量系统

一、所属技术领域

本实用新型涉及一种呼吸道纤毛摆动频率数字化测量系统，其能够准确记录、分析呼吸道纤毛高速运动状况，精确测量纤毛摆动频率。

二、背景技术

呼吸道纤毛研究的难点之一是准确计算纤毛摆动频率 (ciliary beat frequency)，目前常用的纤毛摆动频率测量方法有视频观察法、高速摄影法、光电检测法等。视频观察法采用传统的家用录像机格式 (video home system) 记录纤毛运动，慢速回放计算纤毛摆动频率，其采集频率最高为 30 帧/秒，根据奈奎斯特准则 (Nyquist criterion) 要求，当纤毛摆动频率超过 15Hz，视频观察法无法准确反映纤毛运动状况^[1,2]。高速摄影法 (high-speed photography) 采取高速采集，慢速回放的方式，速度可达 250 帧/秒，准确记录纤毛摆动频率、方向和协同摆动情况，但其设备复杂昂贵，记录过程缓慢，图像存储处理困难，实用性差^[3,4]。光电检测技术采用光束照射纤毛表面或穿过纤毛层面，纤毛运动引起反射光或透射光强度的变化，光强度变化通过光电管或光电倍增管转换为电压或电流的波动，通过示波器、荧光屏显示出来。这种方法不能反映纤毛的整体运动状况，且受纤毛表面黏液或相邻纤毛干扰等多种因素影响，其纤毛摆动频率测量准确性差^[5,6]。

目前常用的纤毛摆动频率分析方法有慢速回放计数和快速傅立叶转换 (fast Fourier transformation)。在视频观察法常采用慢速回放、人工计数的方法，实用性较差。快速傅立叶转换分析方法把频率谱中最主要的频率作为纤毛摆动频率，容易受混杂频率因素干扰，导致结果不准确^[7]。

参考文献:

- [1] Gioia Piatti, Luigi Allegra, Umberto Ambrosetti. Nasal Ciliary Function and Ultrastructure in Down Syndrome. *Laryngoscope*, 2001, 111:1227 - 1230
- [2] 王丰, 苏振伦, 黄靖香等. 鼻黏膜呼吸区上皮细胞原代培养模型的建立和纤毛摆动频率的测量. *临床耳鼻咽喉科杂志*, 2000, 14:370-372
- [3] 张罗, 韩德民. 呼吸道纤毛运动调控机制的研究现状. *中华耳鼻咽喉科杂志*, 2004, 39 (3) :188-191
- [4] M A Chilvers, A Rutman. Functional analysis of cilia and ciliated epithelial ultrastructure in healthy children and young adults. *Thorax*, 2003, 58:333 - 338
- [5] Runer. Recordings of mucociliary activity in vivo: benefit of fast Fourier transform. *The Annals of Otology, Rhinology and Laryngology*, 1996, 105:734-745
- [6] Thiemo Hofmann, Bernd Koidl. Influence of Preservatives and Topical Steroids on Ciliary Beat Frequency In Vitro. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 2004, 130:440-445
- [7] Sanderson MJ, Dirksen ER. A Versatile and quantitative computer-assisted photo electronic technique used for the analysis of ciliary beat cycles. *Cell Motil*, 1985, 5:267-392

三、发明内容

为了克服现有技术的各种缺陷，本实用新型提供一种数字化测量系统，该系统能够准确记录呼吸道纤毛高速运动状况，而且能够精确计算每一摆动周期的纤毛摆动频率。

为了实现上述目的，本实用新型采用如下技术方案：

- 1、数字化测量系统由倒置相差显微镜、高速电荷耦合器件摄相机、计算机工作站构成。
- 2、采用体外细胞培养的方法得到呼吸道纤毛细胞（如人鼻腔黏膜纤毛细胞、兔气管黏膜纤毛细胞等）。
- 3、在倒置相差显微镜下观测纤毛运动，应用高速电荷耦合器件摄相机记录纤毛运动图像（采集频率为 240 帧/秒）。
- 4、纤毛运动数字化图像存储于计算机工作站，并可以回放和分析。
- 5、应用图像分析软件在纤毛运动数字化图像中选取合适的观测点，得到观测点区域的灰度值变化曲线，灰度值变化与纤毛规律性摆动相对应。
- 6、分析灰度值变化曲线，通过三角函数计算得到每一摆动周期的纤毛摆动频率，实现纤毛摆动频率的逐周期测量。

本实用新型的有益效果是：采用体外培养的呼吸道纤毛细胞为观测对象，可操作性强；通过高速电荷耦合器件摄像机采集纤毛运动数字化图像，采集频率达到 240 帧/秒，准确记录纤毛运动；通过分析灰度值变化曲线，计算每一摆动周期的纤毛摆动频率，精确反映了呼吸道纤毛运动变化情况。

四、附图说明

图 1 为呼吸道纤毛摆动频率数字化测量系统的结构示意图：体外培养的纤毛细胞标本②放置于倒置相差显微镜载物台上，光源①透过纤毛细胞标本经倒置相差显微镜③得到光学图像，高速电荷耦合器件摄像机④采集数字化图像存储于计算机工作站⑤，通过数据分析得到纤毛摆动频率⑥。

图 2 为 60 帧（约 0.25 秒）连续数字化图像测量点灰度值的散点图。

图 3 为灰度值散点相连接所得的灰度值曲线图，可见观测点的灰度值变化随纤毛摆动形成规律的双峰曲线。

图 4 为第 1 个纤毛摆动所造成的灰度值变化曲线图。

图 5 为第 1 和第 2 个纤毛摆动所造成的灰度值变化曲线图，中间辅助直线与曲线相交获得两个交点（方框），两个方框间距即为 1 次纤毛摆动所消耗的时间。

图 6 为计算交点处时间变量 F_x 的三角函数关系图。

五、具体实施方式

如附图所示，纤毛摆动频率数字化测量系统的实施方式如下：

- 1、体外培养的纤毛细胞标本放置于倒置相差显微镜载物台上，高速电荷耦合器件摄像机与倒置相差显微镜相接，采集数字化图像存储于计算机工作站。
- 2、在纤毛运动数字化图像中下选取合适的测量点（region of interest, ROI），纤毛的周期性摆动导致测量点透光度发生改变，灰度值变化表现为规律的双峰曲线（图3）。
- 3、选取最大和最小灰度值的中间值（Gcross）做一辅助直线，每次纤毛摆动的灰度值曲线与该直线相交得到两个交点，即可作为测量纤毛摆动周期的起点和终点，计算两点的时间间隔，可以得到纤毛摆动周期（图5）。
- 4、因为每240帧图片代表1秒钟，所以图像序列的实质即为时间序列。如果第n幅图像Fn（Frame, F）的灰度值为Gn（Grey, G），紧邻其后第n+1幅图像Fn+1的灰度值为Gn+1，交点处的灰度值为Gcross，则根据简单的三角函数变换即可计算出交点处的时间变量值 $Fx=[Fn+(Gcross-Gn)/(Gn+1-Gn)]/240$ （图6），将相邻两个交点的时间变量相减，即获得每次纤毛摆动所消耗的时间。
- 5、通过测量每次纤毛摆动周期所消耗的时间，计算该值的倒数，可获得（每摆）纤毛摆动频率，上述过程可通过计算机控制进行自动化测量。

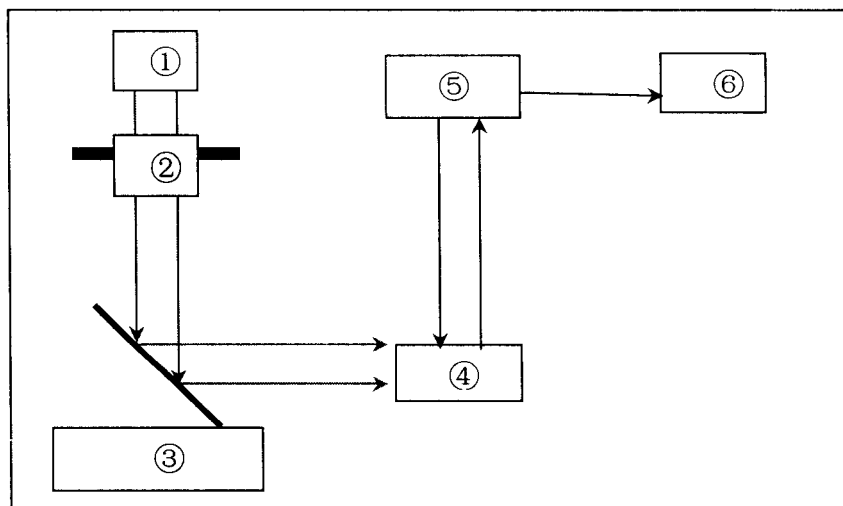


图 1

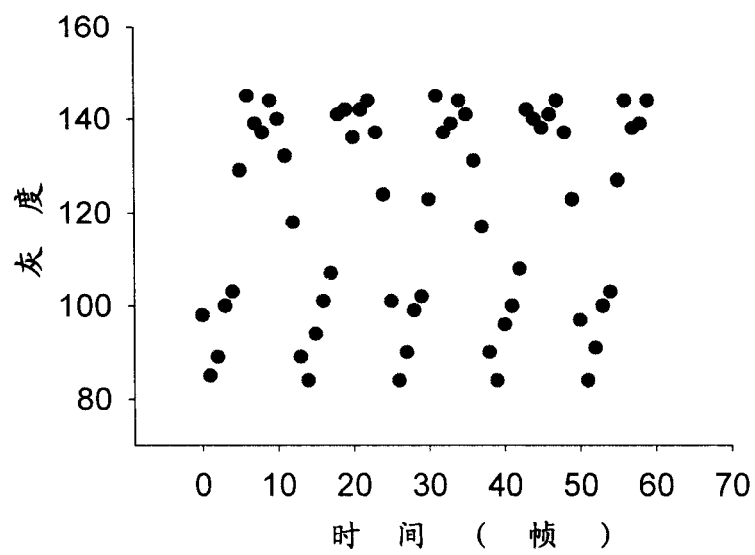


图 2

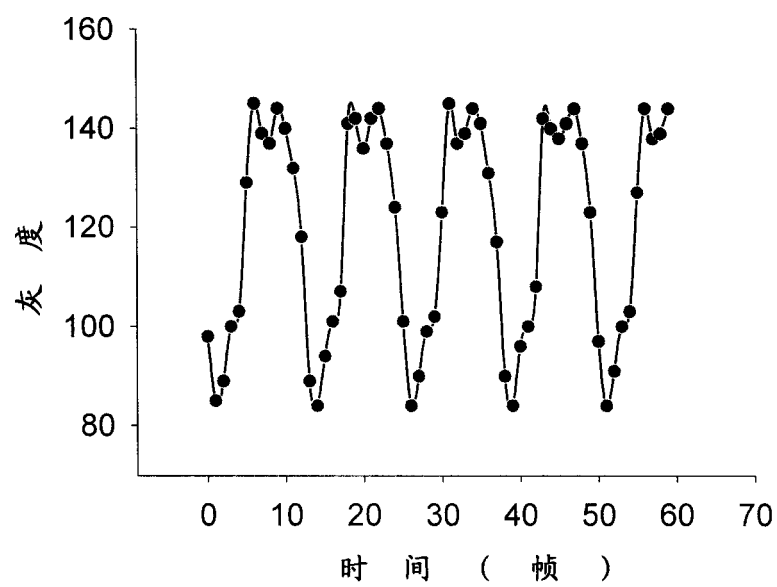


图 3

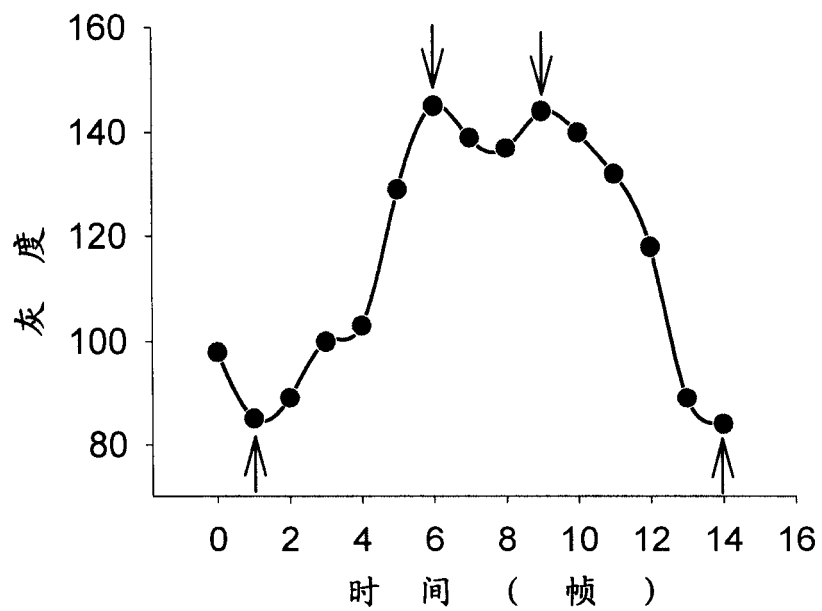


图 4

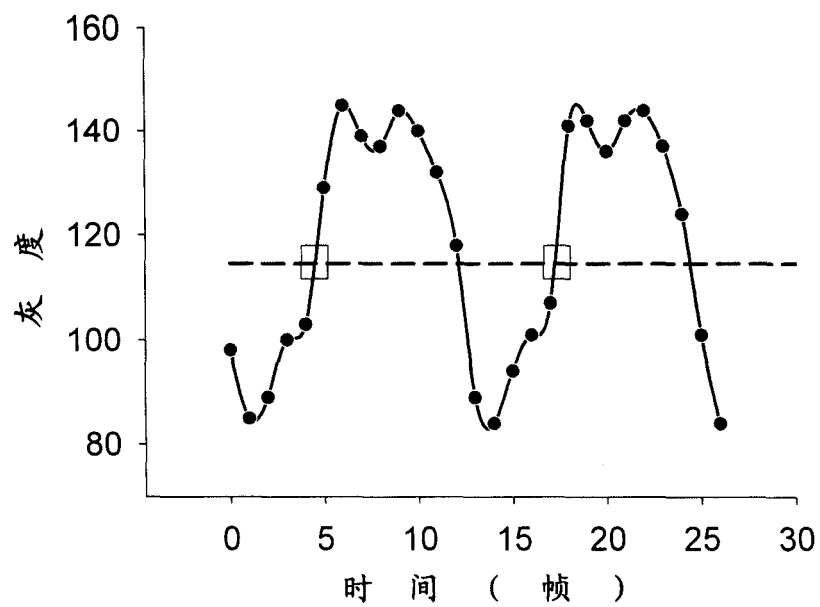


图 5

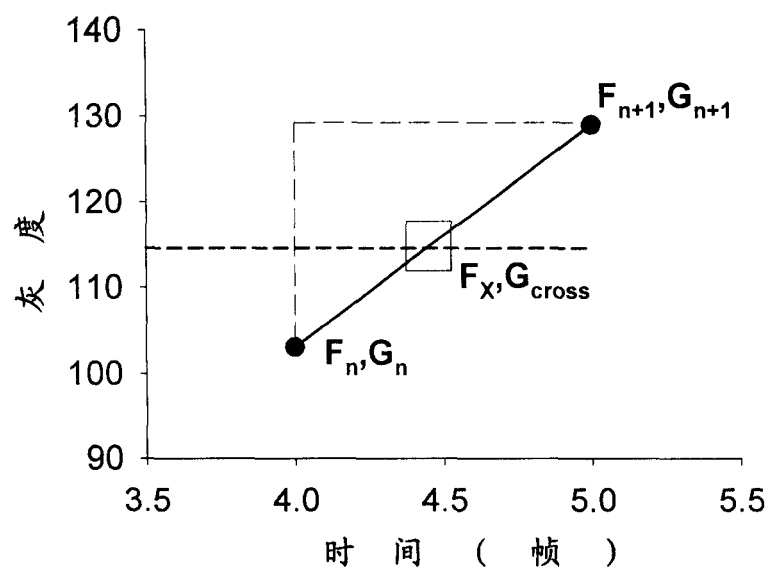


图 6

专利名称(译)	呼吸道纤毛摆动频率数字化测量系统		
公开(公告)号	CN201019775Y	公开(公告)日	2008-02-13
申请号	CN200720148585.7	申请日	2007-05-08
[标]申请(专利权)人(译)	张罗		
申请(专利权)人(译)	张罗		
当前申请(专利权)人(译)	张罗		
[标]发明人	张罗		
发明人	张罗		
IPC分类号	A61B10/00 A61B19/00 G01N33/00 A61B5/00 A61B5/11		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本实用新型涉及一种呼吸道纤毛摆动频率数字化测量系统，系统由倒置相差显微镜、高速电荷耦合器件摄像机、计算机工作站构成。应用倒置相差显微镜观测体外培养的纤毛上皮细胞，高速电荷耦合器件摄像机采集纤毛运动数字化图像。通过对数字化图像处理分析，在纤毛运动数字化图像中选取合适的纤毛运动观测点，得到观测点的灰度值变化曲线。在灰度值变化曲线中，通过三角函数计算得到每一摆动周期的纤毛摆动频率。应用此数字化测量系统能够准确记录呼吸道纤毛高速运动状况，实现纤毛摆动频率的精确测量。

