

# 声触诊组织成像定量技术诊断大鼠急性肝衰竭及评估预防性用药效果的价值

杜洋 土继政 韩梅 郝磊 郭西源 梁华 王兴华

**摘要** **目的** 探讨声触诊组织成像定量(VTIQ)技术在预测大鼠急性肝衰竭及评估预防性用药效果中的应用价值。**方法** 将24只雄性SD大鼠随机分为对照组、模型未治疗组和模型治疗组,每组8只。模型治疗组予以枯草杆菌二联活菌肠溶胶囊( $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )稀释后灌胃治疗,对照组和模型未治疗组每天给予同等量温生理盐水灌胃,共注射8 d;模型未治疗组和模型治疗组于实验第6、7天注射硫代乙酰胺( $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ )制备急性肝衰竭模型,共注射2次。应用VTIQ测量对照组和模型未治疗组、模型治疗组造模前后大鼠肝脏剪切波速度(SWV),比较上述参数的差异。以病理结果为金标准,绘制受试者工作特征(ROC)曲线,确定SWV预测急性肝衰竭的截断值并计算其曲线下面积。**结果** 造模前对照组和模型未治疗组、模型治疗组大鼠肝脏平均SWV分别为( $2.43\pm 0.57$ )m/s、( $2.61\pm 0.42$ )m/s和( $2.71\pm 0.49$ )m/s,差异无统计学意义;造模后对照组、模型未治疗组和模型治疗组平均SWV分别为( $2.50\pm 0.71$ )m/s、( $3.56\pm 0.48$ )m/s和( $3.06\pm 0.27$ )m/s,模型未治疗组测值较对照组和模型治疗组升高,差异均有统计学意义(均 $P<0.05$ )。SWV预测大鼠急性肝衰竭的截断值为2.83 m/s,ROC曲线下面积、敏感性和特异性分别为0.938、100%和75.00%。**结论** VTIQ技术在预测大鼠急性肝衰竭及评估预防性用药效果方面具有一定的应用价值。

**关键词** 超声检查;声触诊组织成像定量;肝衰竭,急性;大鼠  
[中图法分类号]R445.1;R-332 [文献标识码]A

## Application value of virtual touch tissue imaging quantification technique in detecting acute liver failure and evaluating the effect of preventive medication in rats

DU Yang, TU Jizheng, HAN Mei, HAO Lei, GUO Xiyuan, LIANG Hua, WANG Xinghua

Department of Ultrasound, the Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China

**ABSTRACT** **Objective** To investigate the clinical application value of virtual touch tissue imaging quantification (VTIQ) technique in detecting acute liver failure (ALF) and evaluating the effect of preventive medication in rats. **Methods** Twenty-four male SD rats were randomly divided into the control group, the model group and the treatment group with eight rats in each group. The treatment group was treated by gavage with Medilac-S ( $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ) after dilution, while the control group and the model group were treated with the same volume of warm normal saline for 8 d. On the 6th and 7th day of the experiment, the model group and the treatment group were intraperitoneally injected with TAA ( $200\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ). The shear wave velocity (SWV) of liver were measured and compared among three groups before and after the establishment of the model. Taken pathological result as the golden standard, ROC curve was drawn to obtain the cut-off value for predicting ALF by SWV, and area under the curve was calculated. **Results** Before modeling, the SWV mean of control group, model group and treatment group were ( $2.43\pm 0.57$ ) m/s, ( $2.61\pm 0.42$ ) m/s and ( $2.71\pm 0.49$ ) m/s, respectively, and the difference was not statistical significance. After modeling, the SWV mean of control group, model group and treatment group were ( $2.50\pm 0.71$ ) m/s, ( $3.56\pm 0.48$ ) m/s and ( $3.06\pm 0.27$ ) m/s, respectively. The SWV mean in the model group was higher than that in the control group, and the difference was statistical significance ( $P<0.05$ ). With cut-off value of 2.83 m/s, the area under the curve, sensitivity and specificity were 0.938, 100% and 75.00% in predicting ALF, respectively. **Conclusion** The VTIQ technique has a potential

基金项目:山西省科技厅重点研发计划项目(201703D421029)

作者单位:030001 太原市,山西医科大学第二医院超声科

通讯作者:王兴华, Email: wangxhus@163.com

application value in predicting ALF and evaluating the effect of preventive medication.

**KEY WORDS** Ultrasonography; Virtual touch tissue imaging quantification; Liver failure, acute; Rat

急性肝衰竭是由多种病因引起的一种急性肝脏损害,进展快、死亡率高,既往无肝硬化病史,其病理表现为肝细胞水肿、坏死和炎细胞浸润等急性肝坏死征象,及早发现、诊断和治疗可以明显改善预后<sup>[1]</sup>。目前急性肝衰竭的临床诊断主要依据其临床表现和实验室检查,早期影像学缺乏特征性表现,因此探索早期无创性评估急性肝衰竭及其预后的检查方法是亟待解决的问题。剪切波弹性成像已逐渐成为诊断肝衰竭的重要手段<sup>[2-3]</sup>。其中声触诊组织成像定量(virtual touch tissue imaging quantification, VTIQ)技术可以定性和定量检测组织的硬度,具有较好的重复性<sup>[4]</sup>。基于此,本实验应用 VTIQ 技术检测大鼠肝脏剪切波速度(shear wave velocity, SWV),旨在探讨该技术在预测急性肝衰竭及评估预防性用药效果中的价值。

### 材料与与方法

#### 一、实验动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 24 只, 体重 220 ~ 250 g, 由山西医科大学动物实验中心提供。

#### 二、实验材料和仪器

硫代乙酰胺(TAA, 上海凇恩科技发展有限公司), 枯草杆菌二联活菌肠溶胶囊(美常安, 北京韩美药品有限公司), 水合氯醛(天津市科密欧化学试剂有限公司)。谷丙转氨酶、总胆红素、白蛋白及血氨检测试剂盒(南京建成生物工程研究所)。西门子 Acuson Oxana 2 彩色多普勒超声诊断仪, 9L4 线阵探头, 频率 9 MHz; 配备 VTIQ 技术。

#### 三、实验方法

1. 动物分组及急性肝衰竭模型制备<sup>[5]</sup>: 将 24 只雄性 SD 大鼠随机分为对照组、模型未治疗组及模型治疗组, 每组 8 只。模型治疗组予以美常安(100 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) 稀释后灌胃治疗, 对照组和模型未治疗组每天注射等量生理盐水, 共注射 8 d。模型未治疗组和模型治疗组均于实验第 6、7 天分别通过腹腔注射 TAA(200 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>) 制备急性肝衰竭模型, 共注射 2 次。

2. 超声检查: 分别于造模前后测量各组大鼠肝脏 SWV。10% 水合氯醛(3 ml/kg) 腹腔麻醉, 将大鼠前胸及腹壁备皮, 仰卧位固定。应用常规超声扫查肝脏回声、血流等, 维持探头与扫查部位垂直和固定, 避开肝内管道结构, 选择 VTIQ 模式, 调节感兴趣区大小为

1.5 mm×1.5 mm, 取肝脏同一部位距体表深度 0.9 cm 处, 测量同一深度不同位置肝脏组织的 SWV, 共测量 8 次, 记录最大值(SWV<sub>max</sub>)、最小值(SWV<sub>min</sub>)和平均值(SWV<sub>mean</sub>)。

3. 血清学检测: 麻醉大鼠后, 经腹主动脉无菌取血进行血清学检测, 检测指标包括血清谷丙转氨酶、总胆红素、白蛋白及血氨。

4. 病理学检查: 取血后处死所有大鼠, 取肝脏同一部位大小为 1 cm×1 cm×1 cm 组织(取材部位尽量与感兴趣区取样部位一致), 10% 甲醛固定, 蜡块包埋, 连续切片, HE 染色。根据病变程度分别描述为肝细胞水肿(+)、气球样变(++)、点状坏死伴门管区炎症细胞浸润(+++)及小灶样坏死(++++)<sup>[6]</sup>。

#### 四、统计学处理

应用 SPSS 21.0 统计软件, 连续性资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 若样本服从正态分布, 行 *t* 检验或方差分析, 反之则使用非参数检验; 计数资料以频数表示, 行  $\chi^2$  检验。造模前后大鼠肝脏 SWV 比较采用方差分析。绘制 SWV 预测大鼠急性肝衰竭的受试者工作特征(ROC)曲线, 确定其截断值并计算曲线下面积。P<0.05 为差异有统计学意义。

### 结 果

#### 一、造模结果及血清学检测结果

实验第 8 天, 除模型未治疗组 1 只大鼠因药物注射过量和(或)个体耐药性差死亡, 余均造模成功。各组大鼠血清学检测结果见表 1; 各组血清谷丙转氨酶、总胆红素、白蛋白及血氨比较, 差异均有统计学意义(均 P<0.05)。

表 1 各组大鼠血清学检测结果比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	谷丙转氨酶 (U/L)	总胆红素 ( $\mu\text{mol/L}$ )	白蛋白 (g/L)	血氨 (mmol/L)
对照组(8)	56.99±8.44	6.13±1.65	34.52±1.80	34.18±11.93
模型未治疗组(7)	135.66±13.74 <sup>a</sup>	15.14±3.28 <sup>a</sup>	29.98±0.99 <sup>a</sup>	109.27±8.42 <sup>a</sup>
模型治疗组(8)	121.09±12.16 <sup>ab</sup>	11.04±1.31 <sup>ab</sup>	30.88±1.34 <sup>a</sup>	61.67±4.83 <sup>ab</sup>
F 值	61.254	10.515	11.929	84.481
P 值	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

与对照组比较, <sup>a</sup>P<0.05; 与模型未治疗组比较, <sup>b</sup>P<0.05

#### 二、大鼠肝脏组织病理检测结果

对照组表现为正常肝组织, 光镜下肝小叶结构完整, 肝索呈放射状排列在中央静脉周围; 模型未治疗

组表现为肝组织肉眼普遍肿大,光镜下肝小叶结构显示不清,肝细胞水肿、变性,以中央静脉为中心的肝细胞坏死,呈点状、桥接坏死,部分可见灶状坏死,门管区炎细胞浸润,肝窦受压变窄或消失,肝中央静脉淤血。模型治疗组表现为肝细胞脂肪变性及气球样变,炎症坏死较模型未治疗组减轻,肝窦扩张,部分可见点状坏死,灶状坏死不明显,肝中央静脉淤血。三组均未见明显的肝纤维化。见表2和图1A、图2A、图3A。

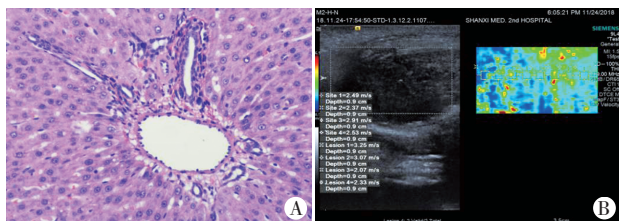
### 三、各组大鼠肝脏SWV比较

造模前对照组、模型未治疗组和模型治疗组SWVmean分别为(2.43±0.57)m/s、(2.61±0.42)m/s和(2.71±0.49)m/s,各组比较差异无统计学意义。造模后对照组、模型未治疗组和模型治疗组SWVmean分别为(2.50±0.71)m/s、(3.56±0.48)m/s和(3.06±0.27)m/s,差异有统计学意义( $F=7.747, P<0.05$ )。见图1B、图2B、图3B。

表2 各组大鼠肝脏组织病理检测结果比较 只

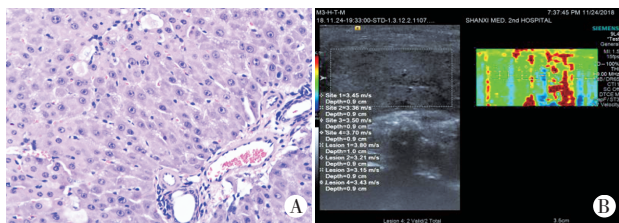
组别	-/+	+	++	+++	++++
对照组(8)	8	0	0	0	0
模型未治疗组(8)	0	0	0	6	2
模型治疗组(8)	0	2	5	1	0

+ :肝细胞水肿; ++ :气球样变; +++ :点状坏死伴门管区炎症细胞浸润; ++++ :小灶样坏死



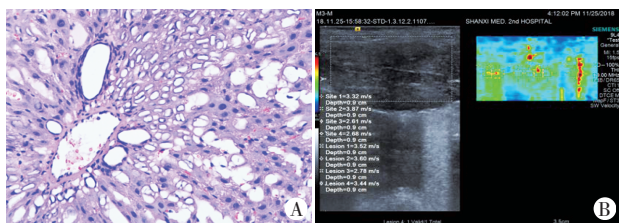
A:病理图(HE染色,×200);B:VTIQ图,SWVmean为2.63 m/s

图1 对照组大鼠肝脏组织病理图和 VTIQ 图



A:病理图(HE染色,×200);B:VTIQ图,SWVmean为3.53 m/s

图2 模型未治疗组大鼠肝脏组织病理图和 VTIQ 图



A:病理图(HE染色,×200);B:VTIQ图,SWVmean为3.23 m/s

图3 模型治疗组大鼠肝脏组织病理图和 VTIQ 图

### 四、ROC 曲线分析

调整造模前SWV水平后,造模后模型未治疗组和模型治疗组SWV不同( $F=5.623, P<0.05$ );模型未治疗组造模后SWV值较模型治疗组高0.474 m/s(95%可信区间:0.038~0.909 m/s,  $P<0.05$ )。模型未治疗组SWVmax、SWVmin和SWVmean所构建的ROC曲线显示,以SWVmean预测急性肝衰竭的曲线下面积最大,为0.938,当截断值为2.83 m/s,其诊断大鼠急性肝衰竭的敏感性和特异性分别为100%和75.00%。见表3和图4。

表3 模型未治疗组大鼠肝脏SWV值预测急性肝衰竭的ROC曲线分析

参数	截断值(m/s)	曲线下面积(95%可信区间)
SWVmax	3.21	0.795(0.513~0.954)
SWVmin	2.42	0.929(0.674~0.998)
SWVmean	2.83	0.938(0.686~0.999)

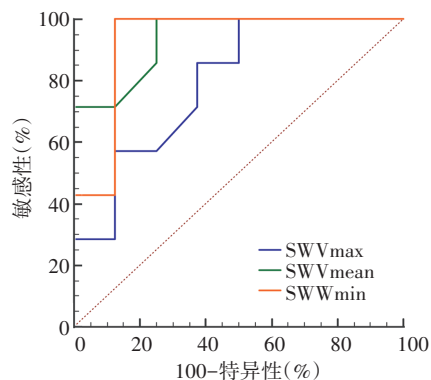


图4 SWV预测大鼠急性肝衰竭的ROC曲线图

### 讨论

急性肝衰竭作为临床常见的严重肝病症候群,主要表现为严重的原发性肝损伤,进展快,死亡率高<sup>[1,7]</sup>,其病理表现主要为肝脏炎症坏死。本实验通过腹腔注射TAA制备急性肝衰竭大鼠模型,大鼠的血清学结果及病理结果均提示造模成功。有研究<sup>[8]</sup>表明尽早发现及对症治疗对急性肝衰竭的预后和提高生存率有重要意义。肝损伤患者肠道屏障受损,导致肠道菌群失调及肠屏障功能紊乱;革兰阴性杆菌过度生长会产生大量肠源性内毒素,进一步损伤肝脏。美常安作为微生态制剂,其成分为屎肠球菌和枯草杆菌,可利用和吸收肠道内的含氮有害物质,抑制产胺和内毒素生成,降低肠道pH值,从而降低血氨,所以使用美常安对急性肝衰竭患者进行预防性治疗,对改善急性肝衰竭预后及提高生存率有重要意义,但目前缺乏评价其疗效的方法。剪切波弹性成像作为一种无创性检查

技术,已被欧洲超声医学与生物学联合会《肝脏超声弹性成像临床应用指南与建议(2017)》、世界超声医学与生物学联合会等国内外指南及共识<sup>[3,9]</sup>推荐为诊断肝脏疾病的重要方法,主要应用于肝脏纤维化分期及肝硬化,相比剪切波弹性成像在肝纤维化及肝硬化中的广泛应用,其在肝衰竭中的应用相对较少<sup>[10]</sup>。肝脏的硬度测值与炎症和(或)坏死程度密切相关,炎症和(或)坏死越严重所测弹性值越高,其 SWV 也越快。本实验通过对急性肝衰竭大鼠模型预防性注射美常安,并应用 VTIQ 对大鼠肝脏 SWV 进行测量,旨在探讨 VTIQ 在预测急性肝衰竭及评估预防性用药效果中的应用价值。

Kuroda 等<sup>[11]</sup>根据肝脏病变程度及是否具有肝性脑病将患者分为急性肝炎组、重型肝炎组和暴发性肝炎组,应用声辐射力脉冲成像(acoustic radiation force impulse, ARFI)测量各组入院时 SWVmean,结果表明,ARFI 测量的 SWV 可反映肝脏损伤的程度,其数值的连续变化可评估急性肝衰竭患者的预后,可作为早期预测暴发性肝炎的指标之一。本课题小组在前期实验<sup>[12]</sup>中也发现炎症坏死可影响肝纤维化指数评价肝纤维化分期的准确性,其原因为炎症坏死影响肝脏组织硬度,导致肝脏 SWV 的增加。本实验结果显示,模型未治疗组 SWVmean 较对照组升高( $P<0.05$ ),其预测急性肝衰竭的截断值为 2.83 m/s,ROC 曲线下面积、敏感性和特异性分别为 0.938、100% 和 75.00%,说明 SWV 值在急性肝衰竭早期检测中具有潜在的应用价值。

本实验还应用 SWV 对急性肝衰竭大鼠预防性用药的效果进行了评估,结果显示,造模后模型治疗组 SWVmean 较模型未治疗组降低,但较造模前升高,病理检查也提示肝组织炎症坏死也较模型未治疗组减轻;SWVmean 较对照组增高,肝细胞水肿、变性,细胞核被压缩,细胞密度减低,可见少量炎症反应。表明 SWV 在急性肝衰竭预防性治疗的评估中具有一定应用价值。

本实验中,急性肝衰竭肝脏硬度增加的原因可能与肝细胞水肿、变性及炎症坏死有关。有研究<sup>[13-14]</sup>表明,炎症程度、血流灌注压力、脂肪浸润程度及细胞密度均会影响肝脏硬度。本实验中影响模型未治疗组大鼠肝脏 SWV 最主要的因素可能是炎症坏死。然而,本实验仅关注了炎症坏死对 SWV 的影响,并未考虑血

流灌注压力、脂肪浸润程度及细胞密度等影响因素,有待今后进一步研究。

综上所述,VTIQ 技术对预测大鼠急性肝衰竭及评估预防性用药效果方面具有一定应用价值。

#### 参考文献

- [1] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组,中华医学会肝病学会重型肝病与人工肝学组.肝衰竭诊治指南(2018年版)[J].中华肝脏病杂志,2019,27(1):18-26.
- [2] Dietrich CF, Bamber J, Berzigotti A, et al. EFSUMB guidelines and recommendations on the clinical use of liver ultrasound elastography, update long version[J]. *Ultraschall Med*, 2017, 38(4): 16-47.
- [3] Ferraioli G, Filice C, Castera L, et al. WFUMB guidelines and recommendations for clinical use of ultrasound elastography: Part 3: liver[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2015, 41(5): 1161-1179.
- [4] 刘洁,王荣,王兴田,等.声触诊组织成像及声触诊组织成像量化技术在乳腺实性小结节鉴别诊断中的应用[J].中国临床医学影像杂志,2019,30(7):463-467.
- [5] 瞿叶清.急性肝衰竭动物模型的研究进展[J].中国比较医学杂志,2014,24(8):57-61.
- [6] 熊益群,周大桥,李航森,等.实验性大鼠肝性脑病动物模型的研究[J].中国比较医学杂志,2002,12(6):340-342.
- [7] Flamm SL, Yang YX, Singh S, et al. American Gastroenterological Association Institute Guidelines for the diagnosis and management of acute liver failure[J]. *Gastroenterology*, 2017, 152(3): 644-647.
- [8] 张永超,毕研贞,方萧,等.益生菌对慢急性肝衰竭大鼠模型的保护作用及其机制[J].临床肝胆病杂志,2019,35(7):1570-1575.
- [9] Dietrich CF, Bamber J, Berzigotti A, et al. EFSUMB guidelines and recommendations on the clinical use of liver ultrasound elastography, Update 2017(Long Version)[J]. *Ultraschall Med*, 2017, 38(4): 16-47.
- [10] Gao Y, Zheng J, Liang P, et al. Liver fibrosis with two-dimensional US shear-wave elastography in participants with chronic hepatitis B: a prospective multicenter study[J]. *Radiology*, 2018, 289(2): 407-415.
- [11] Kuroda H, Kakisaka K, Oikawa T, et al. Liver stiffness measured by acoustic radiation force impulse elastography reflects the severity of liver damage and prognosis in patients with acute liver failure [J]. *Hepatol Res*, 2015, 45(5): 571-577.
- [12] Hao L, Tu JZ, Wang XH, et al. Effect of inflammation on fibrosis staging measured by quantitative elasticity parameters in rats with immune hepatitis[J]. *J Ultrasound Med*, 2016, 35(6): 1223-1231.
- [13] Barry CT, Mills B, Hah Z, et al. Shear wave dispersion measures liver steatosis[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2012, 38(2): 175-182.
- [14] Deffieux T, Gennisson JL, Bousquet L, et al. Investigating liver stiffness and viscosity for fibrosis, steatosis and activity staging using shear wave elastography[J]. *J Hepatol*, 2015, 62(2): 317-324.

(收稿日期:2020-01-04)