

剪切波弹性成像评价大鼠急性肝淤血状态下 肝脏黏弹性变化

王雨萌, 王昆, 蔺雨萱, 刘冬

摘要 **目的** 建立大鼠急性肝淤血模型,应用剪切波弹性成像评价其急性肝淤血状态下肝脏黏弹性的变化情况。**方法** 选取雄性SD大鼠14只,通过结扎大鼠下腔静脉建立急性肝淤血模型。于活体状态下应用剪切波弹性成像测量结扎前、结扎后及结扎释放后大鼠肝脏黏性值和弹性值,比较上述参数的差异。分析肝脏黏性值与弹性值的相关性;比较急性肝淤血状态下肝脏黏性值与弹性值变化率和达峰时间。**结果** 结扎后大鼠肝脏黏性值和弹性值均较结扎前升高,结扎释放后大鼠肝脏黏性值和弹性值均较结扎后降低,差异均有统计学意义(均 $P<0.001$);结扎前与结扎释放后大鼠肝脏黏性值和弹性值比较差异均无统计学意义。相关性分析显示,肝脏黏性值与弹性值呈正相关($r=0.902$, $P<0.001$)。急性肝淤血状态下大鼠肝脏弹性值上升及下降变化率均显著高于黏性值上升及下降变化率,差异均有统计学意义($t=5.63, 5.49$, 均 $P<0.001$)。结扎后大鼠肝脏弹性值达峰时间为122 s(95%可信区间:106~138 s),黏性值达峰时间为110 s(95%可信区间:92~128 s),二者比较差异无统计学意义。**结论** 应用剪切波弹性成像可以评价大鼠急性肝淤血状态下肝脏黏弹性的变化情况;急性肝淤血状态下其肝脏黏弹性参数均升高,解除肝淤血后其肝脏黏弹性参数均可恢复至正常水平。

关键词 剪切波弹性成像;肝脏;黏弹性;急性肝淤血;大鼠

[中图分类号]R445.1

[文献标识码]A

Evaluation of liver viscoelastic changes in rats with acute liver congestion by shear wave elastography

WANG Yumeng, WANG Kun, LIN Yuxuan, LIU Dong

Department of Ultrasound Medicine, Beijing Friendship Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

ABSTRACT **Objective** To establish acute liver congestion models in rats, and to evaluate the liver viscoelastic changes by shear wave elastography. **Methods** Fourteen male SD rats were selected to establish acute congestion liver models by ligation of inferior vena cava. Shear wave elastography was applied to measure liver viscosity and elasticity of rats in vivo before ligation, after ligation, and after ligation release. The differences of the above parameters were compared. The correlation between liver viscosity and elasticity was analyzed. Additionally, the change rate in liver viscosity and elasticity and peak time under acute liver congestion were compared. **Results** After ligation, the viscosity and elasticity of rats livers significantly increased compared with those before ligation (both $P<0.001$). After ligation release, the viscosity and elasticity of rats livers significantly decreased compared with those before after ligation (both $P<0.001$). There were no significant difference in viscosity and elasticity of rats livers before and after ligation. Correlation analysis showed that viscosity was positive correlated with elasticity ($r=0.902$, $P<0.001$). In the acute liver congestion state, the change rate of increasing and decreasing of liver elasticity in rats were significantly higher than those of viscosity ($t=5.63, 5.49$, both $P<0.001$). After ligation, the peak time of rat livers elasticity was 122 s (95% confidence interval: 106~138 s), and the peak time of rat livers viscosity was 110 s (95% confidence interval: 92~128 s), there was no significant difference between the two items. **Conclusion** Shear wave elastography can be used to evaluate the changes in liver viscoelasticity in rats with acute liver congestion. In the acute liver congestion state, both liver viscosity and elasticity parameters are increased, and the viscoelastic parameters can return to normal level after ligation release.

KEY WORDS Shear wave elastography; Liver; Viscoelasticity; Acute liver congestion; Rats

基金项目:国家自然科学基金项目(82001819)

作者单位:首都医科大学附属北京友谊医院超声医学科,北京 100050

通讯作者:刘冬, Email: winterwenny@126.com

二维剪切波弹性成像是一种基于超声波的动态弹性成像方法,通过测量超声脉冲在组织中的传播速度获得弹性模量,从而对肝脏硬度进行定性和定量评价。理想情况下,剪切波速度随着肝纤维化严重程度的增加而均匀增加^[1],但生物软组织具有独特的黏弹性,其不仅具有弹性特性,而且具有黏性特性^[2]。Zhu 等^[3]应用蠕变实验、应力松弛实验和动态力学实验对纤维化的大鼠肝脏黏弹性进行研究,结果显示黏性参数(损耗模量)和弹性参数(存储模量)与不同肝纤维化分期均相关。此外,其他病理因素如脂肪变性、炎症等亦可影响肝纤维化进程中的肝脏黏弹性。肝脏组织中有丰富的血管,黏性液体通过这些血管的流动在应力松弛中起着至关重要的作用^[4]。本课题组前期实验^[5]发现离体的大鼠肝脏在不同血流灌注状态下会表现出不同的黏弹性,从而得出血流灌注状态会影响肝脏黏弹性的结论。但在体状态下肝脏的黏弹性随血流灌注的变化趋势尚未明确。目前新的 Hologic 彩色多普勒超声诊断仪不但可应用剪切波弹性成像实时量化肝脏硬度,同时还可应用黏度平面波超声实时量化肝脏黏度^[6]。基于此,本实验建立大鼠急性肝淤血模型,并应用剪切波弹性成像评价其急性肝淤血状态下肝脏黏弹性的变化情况。

材料与方 法

一、实验动物、试剂及仪器

选取普通清洁级雄性 SD 大鼠 14 只(北京华阜康生物科技股份有限公司提供),10 周龄,平均体质量(300±20)g。戊巴比妥钠注射液(批号:P3761,规格:10 g/L,美国 Sigma 公司)。美国 Hologic SuperSonic Mach 20 彩色多普勒超声诊断仪,C6-1X 凸阵探头,频率 1~6 MHz。本实验经我院动物使用和管理委员会批准(批准号:16-1010)。

二、实验方法

1. 模型建立:实验前 8 h 内所有大鼠禁食、不禁水。采用戊巴比妥钠注射液(5 ml/kg)进行腹腔内注射麻醉,麻醉成功后固定大鼠四肢,腹部备皮,于剑突下行腹部正中切口,暴露肝脏,离断肝周韧带,游离出下腔静脉,然后使用血管夹完全夹闭下腔静脉(图 1)。若见大鼠肝脏颜色由鲜红色逐渐变为暗红色,出现血运障碍,提示大鼠急性肝淤血模型建立成功。本实验 14 只大鼠均成功建立大鼠急性肝淤血模型,并测量肝脏黏弹性参数。

2. 肝脏黏弹性参数测量及分析:将超声探头置于

大鼠肝脏右叶(图 1),检查时保持探头固定垂直且不对肝脏施加任何压力,将取样框(大小为 1.5 cm×1.0 cm)置于肝实质内,使感兴趣区(直径 3 mm)尽量避免可见的管道结构,分别于结扎前、结扎后及结扎释放后测量大鼠肝脏黏性值和弹性值。其中结扎后于同一部位进行多次测量,测量时间点为结扎后 30 s、60 s、80 s、100 s、120 s、130 s、140 s、150 s 和 180 s;测量结束后释放下腔静脉,于同一部位再次进行多次测量,测量时间点为结扎释放后 30 s、60 s、100 s、120 s、150 s、180 s 和 360 s,每个时间点均重复测量 3 次,可靠结果定义为 3 次测量的平均值[从稳定性指数(SI)>90%的帧数中获得]。根据测量时间点绘制肝脏弹性值和黏性值随时间的变化曲线,并计算达峰时间平均值。本实验选取结扎后肝脏黏弹性参数最大值和结扎释放后肝脏黏弹性参数最小值纳入分析。计算急性肝淤血状态下肝脏黏性值和弹性值变化率,公式为:上升变化率=(结扎后最大值-结扎前基线值)/结扎前基线值,下降变化率=(结扎后最大值-结扎释放后最小值)/结扎后最大值。

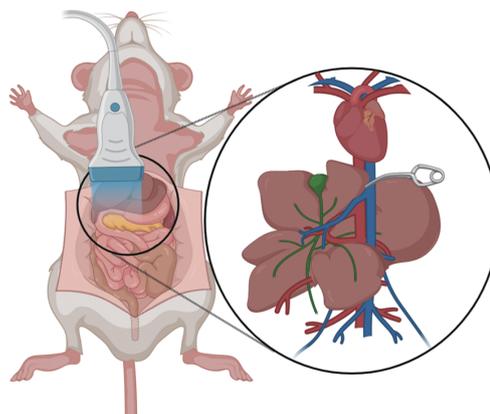


图 1 大鼠急性肝淤血模型建立模式图,待血管夹夹闭下腔静脉后,应用剪切波弹性成像对肝脏右叶进行检查(本图绘制于 BioRender)

三、统计学处理

应用 SPSS 22.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,不同状态下肝脏黏弹性参数比较采用方差分析,多重比较采用 Bonferroni 法;肝脏黏性值与弹性值变化率比较采用配对样本 *t* 检验。肝脏黏性值与弹性值的相关性分析采用 Spearman 相关分析法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

本实验共纳入 14 只大鼠肝脏弹性值;由于 3 只大鼠黏性值 $SI \leq 90\%$ 故排除,共纳入 11 只大鼠黏性值。

一、不同状态下大鼠肝脏黏弹性参数比较

结扎前大鼠肝脏黏性值为(1.10±0.34)Pa.s,弹性值为(3.69±2.03)kPa;结扎后大鼠肝脏黏性值为(1.94±0.44)Pa.s,弹性值为(9.66±2.85)kPa;结扎释放后大鼠肝脏黏性值为(0.92±0.45)Pa.s,弹性值为(3.14±2.31)kPa。结扎后大鼠肝脏黏性值和弹性值均较结扎前升高,结扎释放后大鼠肝脏黏性值和弹性值均较结扎后降低,差异均有统计学意义(均 $P<0.001$);结扎前与结扎释放后大鼠肝脏黏性值和弹性值比较差异均无统计学意义。见图2。

二、肝脏黏性值与弹性值的相关性分析

相关性分析显示,肝脏黏性值与弹性值呈正相关($r=0.902, P<0.001$)。见图3。

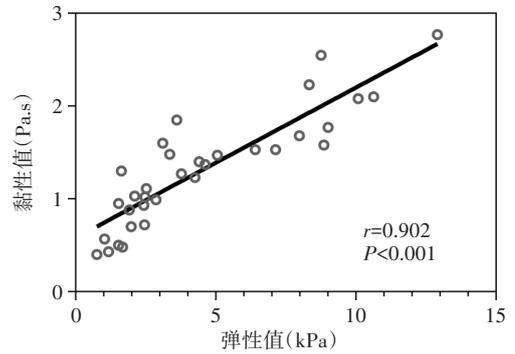
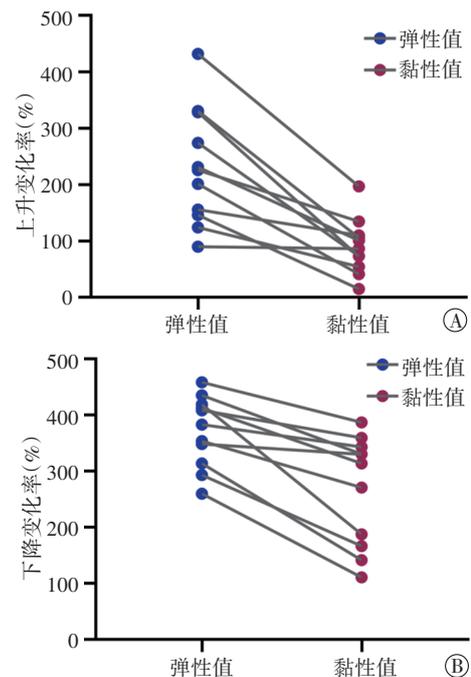


图3 肝脏黏性值与弹性值的相关性分析散点图

三、急性肝淤血状态下大鼠肝脏黏性值与弹性值变化率比较

结扎后大鼠肝脏弹性值上升变化率(230.66%±103.36%)显著高于黏性值上升变化率(89.87%±49.11%),结扎释放后大鼠肝脏弹性值下降变化率(74.30%±12.63%)显著高于黏性值下降变化率(53.47%±19.55%),差异均有统计学意义($t=5.63, 5.49$, 均 $P<0.001$)。见图4。

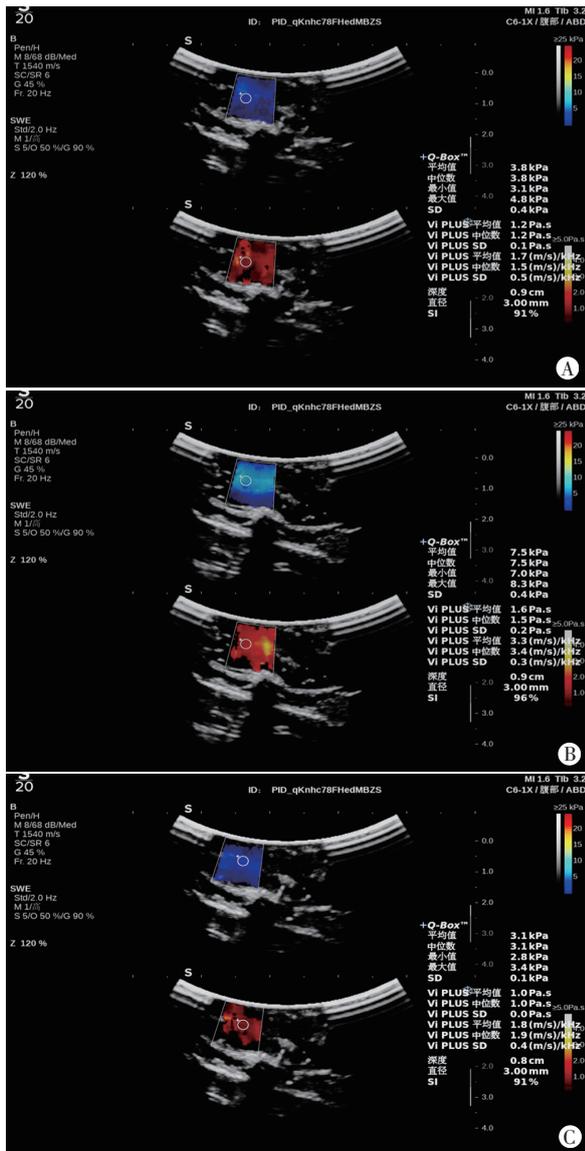


A:结扎后大鼠肝脏黏性值与弹性值上升变化率对比图;B:结扎释放后大鼠肝脏黏性值与弹性值下降变化率对比图

图4 急性肝淤血状态下大鼠肝脏黏性值与弹性值变化率对比图

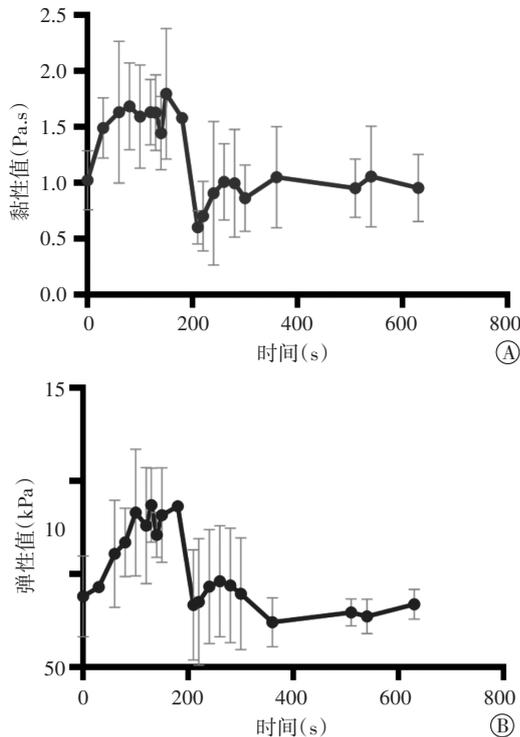
四、大鼠肝脏弹性值与黏性值达峰时间比较

结扎后大鼠肝脏弹性值达峰时间为122 s(95%可信区间:106~138 s),黏性值达峰时间为110 s(95%可信区间:92~128 s),二者比较差异无统计学意义($t=1.098, P=0.284$)。根据结扎后各测量时间点绘制的大鼠肝脏弹性值和黏性值变化曲线图见图5。



A:结扎前肝脏黏性值为1.2 Pa.s,弹性值为3.8 kPa;B:结扎后肝脏黏性值为1.6 Pa.s,弹性值为7.5 kPa;C:结扎释放后肝脏黏性值为1.0 Pa.s,弹性值为3.1 kPa

图2 同一大鼠不同状态下肝脏剪切波弹性成像图



A: 黏性值变化曲线图; B: 弹性值变化曲线图
图5 大鼠肝脏黏性值和弹性值变化曲线图

讨 论

目前,欧洲肝病学会临床指南^[7]推荐使用非侵入性检测方法对肝纤维化进行检测和分期。超声弹性成像是—种测量脏器硬度的非侵入性检测方法,目前被广泛应用于临床,其能够评价更大体积的肝实质,与肝活检相比减少了肝脏病变分布不均造成的取样误差^[8]。目前商用超声诊断仪采用的弹性成像算法基于肝脏为纯弹性且其结构均匀的假设,但热黏弹性理论表明生物软组织具有独特的黏弹性特性^[2]。故本实验将肝脏作为一个具有黏弹性的生物软组织进行研究。本课题组前期实验研究^[9]基于动力学分析得出离体大鼠肝脏在不同血流灌注状态下会表现出不同的黏弹性的结论,因此推测血流灌注状态会影响肝脏黏弹性,但在体状态下的肝脏黏弹性如何随血流灌注发生变化目前尚未明确。Sugimoto等^[10]研究也对体外大鼠肝脏黏弹性进行了探讨,提出并强调了血流动力学对其变化的重要性。本实验建立了大鼠急性肝淤血模型,应用剪切波弹性成像在活体状态下动态监测肝脏黏弹性的变化情况,旨在分析肝脏黏弹性参数与急性肝淤血状态的关系。

既往已有研究证实了肝脏血流量与硬度间的关系,如Ipek-Ugay等^[11]研究发现通过Valsalva动作可生理性减少肝静脉血流量从而降低肝脏硬度;Wang

等^[12]研究发现布加综合征患者治疗后,肝静脉再通者的肝脏硬度显著降低,且其与肝静脉压力相关,这可能是由于布加综合征患者的肝窦张力随着肝脏充血而上升,导致肝脏硬度增加,而肝静脉再通后肝脏充血情况好转,肝脏硬度降低。上述研究均表明肝脏血流量可影响肝脏硬度,血流量减少则肝脏硬度降低,本实验结论与其一致,在急性肝淤血状态下肝脏血流量增加后肝脏弹性值随之升高。此外,本实验还发现急性肝淤血状态下大鼠肝脏黏性值也随着肝脏血流量的增加而升高,相关性分析也表明大鼠肝脏黏性值与弹性值呈正相关($r=0.902, P<0.001$)。分析其原因为急性肝炎、胆汁淤积及肝淤血等病理情况下,剪切波的传播速度均会增加^[13],且其传播速度及衰减与肝脏弹性密切相关,均会随着剪切波频率的增大而增加,而这种变化率与黏性值呈正相关^[14-16]。

本实验还比较了急性肝淤血状态下大鼠肝脏黏性值与弹性值变化率,结果显示大鼠肝脏弹性值上升及下降变化率均显著高于黏性值上升及下降变化率,差异均有统计学意义($t=5.63, 5.49$, 均 $P<0.001$)。分析其机制:急性肝淤血状态下,肝脏由于静脉回流受阻,中心静脉压升高,血液滞留,这种压力引起的结构性改变会显著增加肝脏硬度^[17],从而导致弹性值的变化明显增大。而肝脏黏性主要与其内部血流动力学特性相关,包括血液和组织间液的流动阻力,虽然淤血状态下血液和液体的滞留会增加肝脏黏性,但这种变化与液体含量相关,是一个缓慢进展的过程,并不会发生快速改变,故与弹性值的变化相比,黏性值的变化较为平缓。本实验结扎后大鼠肝脏弹性值达峰时间约106~138 s,黏性值达峰时间约92~128 s,表明发生急性肝淤血后肝脏弹性值和黏性值先后到达峰值,这也体现了二者间较强的相关性;而肝脏黏性值较弹性值更早发生变化,提示黏性值对于反映血流灌注的变化可能更加敏感,但本实验发现二者达峰时间比较差异无统计学意义,分析可能是由于样本量较小所致。

本实验的局限性:①样本量较小,所得结果可能受实验操作影响较大;②因技术原因未同时动态测量门静脉或腔静脉压力,未分析肝脏黏弹性与静脉压力的相关性,今后应扩大样本量,增加静脉压力等相关参数的测定以减少误差,并进一步深入研究黏弹性的影响因素及其变化规律。

综上所述,应用剪切波弹性成像可以评价大鼠急性肝淤血状态下肝脏黏弹性的变化情况;急性肝淤血

状态下其肝脏黏弹性参数均升高,其中黏性值变化早于弹性值变化;肝脏血流灌注与肝脏黏弹性存在相关性,当肝淤血解除时,肝脏黏弹性参数均可恢复至正常水平,对于深入研究不同病理状态下肝脏黏弹性的变化具有重要意义。

参考文献

- [1] Cosgrove D, Piscaglia F, Bamber J, et al. EFSUMB Guidelines and recommendations on the clinical use of ultrasound elastography. Part 2: clinical applications[J]. *Ultraschall Med*, 2013, 34(3): 238-253.
- [2] 张义同. 热粘弹性理论[M]. 天津: 天津大学出版社, 2002: 116.
- [3] Zhu Y, Chen X, Zhang X, et al. Modeling the mechanical properties of liver fibrosis in rats[J]. *J Biomech*, 2016, 49(9): 1461-1467.
- [4] Parker KJ. A microchannel flow model for soft tissue elasticity[J]. *Phys Med Biol*, 2014, 59(15): 4443-4457.
- [5] Liu D, Li GY, Su C, et al. Effect of ligation on the viscoelastic properties of liver tissues[J]. *J Biomech*, 2018, 76: 235-240.
- [6] Popa A, Sporea I, Bende F, et al. The non-invasive ultrasound-based assessment of liver viscosity in a healthy cohort[J]. *Diagnostics (Basel)*, 2022, 12(6): 1451.
- [7] European Association for the Study of the Liver, Clinical Practice Guideline Panel, Chair, et al. EASL Clinical Practice Guidelines on non-invasive tests for evaluation of liver disease severity and prognosis—2021 update[J]. *J Hepatol*, 2021, 75(3): 659-689.
- [8] Li Q, Dhyani M, Grajo JR, et al. Current status of imaging in nonalcoholic fatty liver disease[J]. *World J Hepatol*, 2018, 10(8): 530-542.
- [9] 刘冬, 苏晨, 钱林学, 等. 不同形式大鼠肝脏标本在压痕松弛实验中的黏弹性参数的差异[J]. *临床和实验医学杂志*, 2019, 18(19): 2017-2020.
- [10] Sugimoto K, Moriyasu F, Oshiro H, et al. Viscoelasticity measurement in rat livers using shear-wave us elastography[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2018, 44(9): 2018-2024.
- [11] Ipek-Ugay S, Tzschätzsch H, Braun J, et al. Physiologic reduction of hepatic venous blood flow by the Valsalva maneuver decreases liver stiffness[J]. *J Ultrasound Med*, 2017, 36(7): 1305-1311.
- [12] Wang H, Shi H, Cheng J, et al. Real-time shear wave elastography (SWE) assessment of short- and long-term treatment outcome in Budd-Chiari syndrome: a pilot study[J]. *PloS One*, 2018, 13(5): e197550.
- [13] Naganuma H, Ishida H. Factors other than fibrosis that increase measured shear wave velocity[J]. *World J Gastroenterol*, 2022, 28(46): 6512-6521.
- [14] Chen S, Sanchez W, Callstrom MR, et al. Assessment of liver viscoelasticity by using shear waves induced by ultrasound radiation force[J]. *Radiology*, 2013, 266(3): 964-970.
- [15] Cetinic I, de Lange C, Simrén Y, et al. Ultrasound shear wave elastography, shear wave dispersion and attenuation imaging of pediatric liver disease with histological correlation[J]. *Children (Basel)*, 2022, 9(5): 692.
- [16] Ormachea J, Parker KJ, Barr RG. An initial study of complete 2D shear wave dispersion images using a reverberant shear wave field[J]. *Phys Med Biol*, 2019, 64(14): 145009.
- [17] Pernot M, Villemain O. Stone liver, heart in danger: could the liver stiffness assessment improve the management of patients with heart failure?[J]. *JACC Cardiovas Imaging*, 2019, 12(6): 965-966.

(收稿日期: 2024-08-29)

《临床超声医学杂志》征订启事

《临床超声医学杂志》是经国家科委批准,集超声影像诊断、治疗、工程及基础研究为一体的科技刊物。国内外公开发行,月刊。为“中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊”“中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)”。设有临床研究、实验研究、病例报道、述评、专家讲座、工程及译文等栏目,报道超声医学领域影像诊断与治疗的先进技术和前沿进展,为广大临床超声医师和研究人员提供良好的学术交流平台。

本刊刊号:ISSN 1008-6978;CN 50-1116/R。邮发代号:78-116。

每期定价:19元,全年228元(含邮寄费)。请到全国各地邮局订阅,也可直接向本刊编辑部订阅。

地址:重庆市渝中区临江路74号,重庆医科大学附属第二医院内,临床超声医学杂志编辑部。邮编:400010

电话:023-63811304。Email:lccscq@vip.163.com