

❖ 实验研究

Color Doppler ultrasonographic staging of rat liver fibrosis

WANG Peng, TANG Shao-shan*, WANG Yi-jiao, ZHAO Guo-jia, LIU Shou-jun
(Department of Ultrasound, Shengjing Hospital of China
Medical University, Shenyang 110004, China)

[Abstract] **Objective** To assess the value of conventional two-dimensional (2D) and color Doppler ultrasonography in the staging of rat liver fibrosis. **Methods** Eighty healthy Wistar rats were used to establish rat liver fibrosis models, whose portal vein diameter and blood flow velocity, spleen thickness and length were measured by 2D and color Doppler ultrasound, and their correlation with the rat liver fibrosis pathology stage results were analyzed. **Results** The portal vein diameter of S4 liver fibrosis rats was statistically different from that of S0, S1, S2 and S3 (all $P < 0.05$), and statistical differences were found between S1 and S3, as well as S2 and S0 (both $P < 0.05$). The portal vein blood flow velocity of S4 was significantly different from that of S0 ($P < 0.05$). The spleen thickness and length were not significantly different among liver fibrosis stages (all $P > 0.05$). Positive correlation between the portal vein diameter and pathological stage of liver fibrosis was found ($r = 0.77$, $P < 0.001$), while negative correlation between the portal vein blood flow velocity and liver fibrosis stage was observed ($r = -0.29$, $P < 0.05$). No obvious correlation between the spleen size and liver fibrosis stage was found. **Conclusion** The portal vein diameter and blood flow velocity measured with conventional 2D and color Doppler ultrasound can be used to evaluate the rat liver fibrosis stage simply, noninvasively and objectively.

[Key words] Ultrasonography, Doppler, color; Liver cirrhosis

彩色多普勒超声评价大鼠肝纤维化分期

王 鹏, 唐少珊*, 王一娇, 赵国家, 刘守君
(中国医科大学附属盛京医院超声科, 辽宁 沈阳 110004)

[摘要] **目的** 探讨常规二维超声及CDFI评价大鼠肝纤维化分期的价值。**方法** 选取80只健康Wistar大鼠,建立肝纤维化模型,应用二维超声及CDFI测量大鼠门静脉内径及血流速度、脾脏厚度及长度,对测量结果与大鼠肝纤维化病理分期进行相关性分析。**结果** 大鼠门静脉内径在S4与S0、S1、S2、S3之间差异均有统计学意义(P 均 < 0.05),S1与S3、S2与S0的差异有统计学意义(P 均 < 0.05);门静脉血流速度S0与S4的差异有统计学意义($P < 0.05$)。各期肝纤维化中,脾脏厚度及长度差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。门静脉内径与肝纤维化病理分期呈正相关($r = 0.77$, $P < 0.001$),门静脉血流速度与肝纤维化分期呈负相关性($r = -0.29$, $P < 0.05$)。脾脏厚度及长度与肝纤维化分期无明显相关性。**结论** 常规二维超声及CDFI可通过检测大鼠门静脉内径及血流速度,简便、无创、客观地评价肝纤维化进程。

[关键词] 超声检查,多普勒,彩色;肝硬化

[中图分类号] R657.31; R445.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2013)02-0181-04

肝纤维化是各种慢性肝损伤发展为肝硬化的共同病理过程,主要病理特征为细胞外基质异常过度沉积

及纤维成分过度形成,超过了肝脏的降解能力,导致正常肝脏组织的结构和功能被破坏。早期、有效治疗能够减缓和逆转肝纤维化进展,因此,准确评价肝纤维化严重程度对于临床治疗具有重要意义。本研究应用常规二维超声及CDFI测量不同程度肝纤维化大鼠的门静脉内径及血流速度、脾脏厚度及长度等指标,并与病理结果对照,观察上述指标与肝纤维化分期的相关性,

[作者简介] 王鹏(1981—),男,辽宁绥中人,学士,医师。研究方向:腹部超声。E-mail: wangp@sj-hospital.org

[通讯作者] 唐少珊,中国医科大学附属盛京医院超声科,110004。
E-mail: tangss@sj-hospital.org

[收稿日期] 2012-07-26 **[修回日期]** 2012-12-12

探讨其应用价值。

1 材料与方**法**

1.1 模型建立 健康 Wistar 大鼠 80 只,雄性,体质量 280~300 g,随机选取其中 64 只作为实验组,建立肝纤维化模型。经腹腔注射 60% CCl₄ 橄榄油溶液,首次剂量为 4 ml/kg 体质量,以后每周 3 次、每次 2 ml/kg 体质量。以另外 16 只作为对照组,经腹腔注射生理盐水,首次剂量为 4 ml/kg 体质量,以后每周 3 次,每次 2 ml/kg 体质量。分别于第 4、6、8、10 周从实验组中随机选取 16 只,对照组中选取 4 只,行肝脏超声检查。

1.2 超声检查 检查前对所有大鼠停饲、停水 8 h。采用 10%水合氯醛经腹腔注射麻醉,剂量为 3 ml/kg 体质量,之后将动物仰卧位保定于平板上,剪去肝区体毛。应用 Hitachi HV900 超声诊断仪,线阵探头,频率 8~10 MHz,测量并记录门静脉内径、血流速度、脾脏厚度及长度,测量 3 次、取平均值;测量门静脉血流速度时保证声束与血流夹角 < 60°。

1.3 病理学检查 完成超声检查后处死大鼠,取出肝组织,立刻以 10%甲醛溶液固定 48 h 以上,石蜡包埋,以 5 μm 厚度连续切片,行 HE 染色、Masson 染色及网状纤维染色。由病理科医师判定肝纤维化程度。肝纤维化分为 5 期^[1]: S0,无纤维化;S1,汇管区扩大纤维化,局限窦周及小叶内纤维化;S2,汇管区周围纤维化,纤维间隔形成,小叶结构保留;S3,大量纤维间隔形成、伴小叶结构紊乱,无肝硬化;S4,早期肝硬化。

1.4 统计学分析 采用 SPSS 13.0 统计分析软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示。不同肝纤维化分期超声测量结果、病理分期结果比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用最小显著差法(LSD)。超声测量结果与病理分期结果进行 Spearman 相关分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 对照组 16 只大鼠均饮食正常,体质量增加,毛发光泽。实验组大鼠食量减少,精神状态不佳,体质量下降,多汗,毛发无光泽,给药 2 周后陆续出

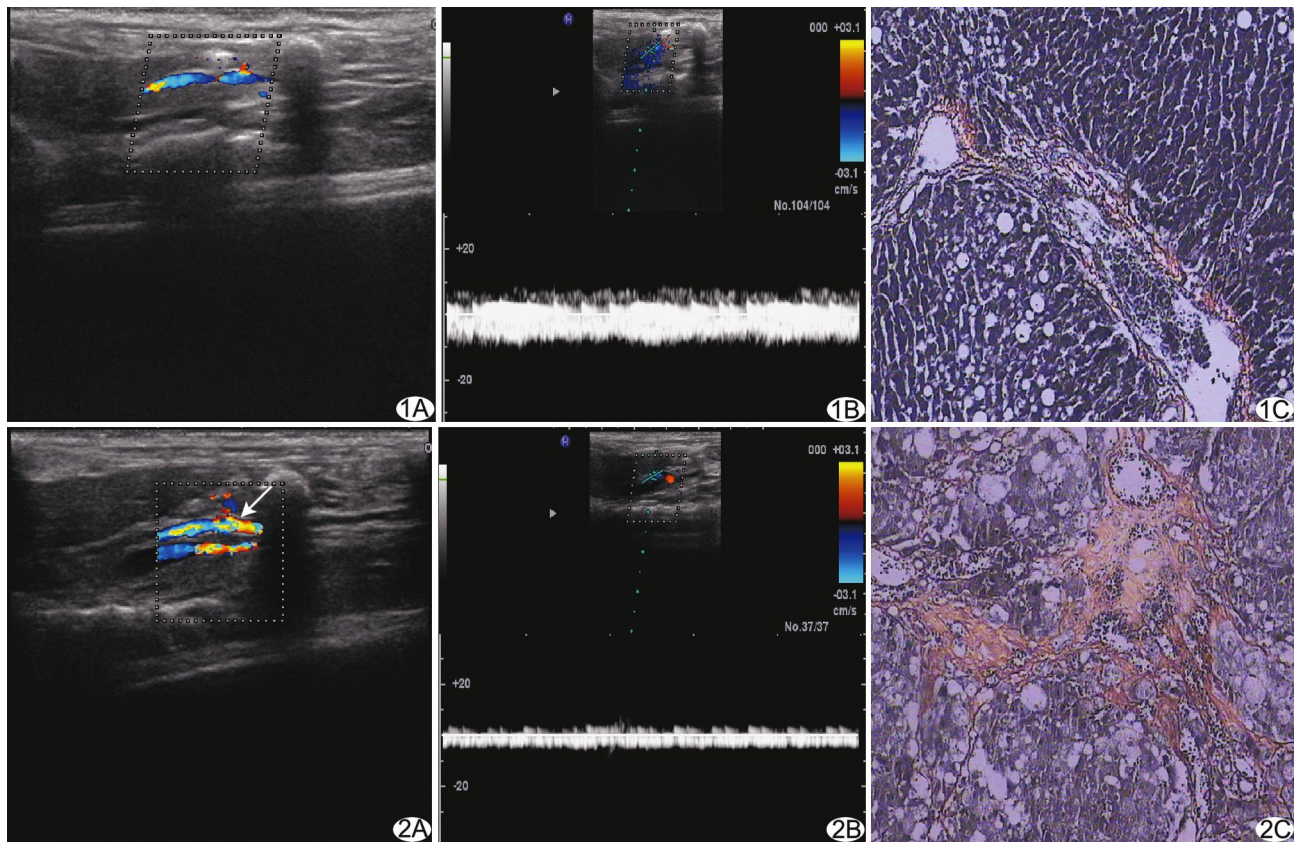


图 1 大鼠肝纤维化 S1 期 A. 声像图示门静脉内径 1.43 mm; B. 血流频谱图示门静脉血流速度为 8.92 cm/s; C. 病理图示大鼠肝脏组织汇管区扩大,周围纤维增生,肝细胞索排列正常(网状纤维染色,×100) 图 2 大鼠肝纤维化 S4 期 A. 声像图示门静脉内径 1.81 mm (箭); B. 血流频谱图示门静脉血流速度为 6.37 cm/s; C. 病理图示早期肝硬化,肝细胞索排列紊乱,纤维间隔分隔并破坏肝小叶,假小叶形成(网状纤维染色,×100)

表 1 各级肝纤维化的超声测量值($\bar{x} \pm s$)

肝纤维化分期	门静脉内径(mm)	门静脉血流速度(cm/s)	脾脏厚度(mm)	脾脏长度(mm)
S0(n=18)	1.38±0.16	7.70±1.59	5.25±0.48	23.39±3.10
S1(n=19)	1.44±0.08	7.67±1.32	5.26±0.44	23.55±2.56
S2(n=10)	1.56±0.14	7.57±0.91	5.29±0.36	23.53±3.96
S3(n=10)	1.66±0.11	7.12±1.17	5.31±0.33	23.34±3.78
S4(n=14)	1.83±0.17	6.47±0.38	5.31±0.49	23.46±6.35

现死亡,共计死亡 9 只。

2.2 病理学表现 对照组大鼠肝脏表面光滑,肝缘锐利,颜色鲜红,质地柔软。镜下肝小叶结构正常,无变性、坏死,无纤维间隔。实验组大鼠中 S0 期 2 只;S1 期 19 只,镜下可见肝细胞点、灶状坏死;S2 期 10 只,可见中央静脉、汇管区纤维组织增生,纤维间隔形成;S3 期 10 只,大面积肝细胞变性坏死,中央静脉周围及汇管区大量纤维间隔形成,肝小叶结构紊乱;S4 期 14 只,正常肝小叶结构消失,纤维间隔包绕形成假小叶。

2.3 超声测量结果(图 1、2) 门静脉内径:S4 与 S0、S1、S2、S3 差异均有统计学意义(P 均 <0.05),S3 与 S1、S2 与 S0 比较差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。门静脉血流速度:S0 至 S4 期门静脉血流速度逐渐减慢,S0 与 S4 比较差异有统计学意义($P<0.05$)。S0 至 S4 期脾脏厚度逐渐增加,但各期肝纤维化中脾脏厚度及长度差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。见表 1。

2.4 相关性分析 大鼠门静脉内径与肝纤维化分期明显正相关性($r=0.77, P<0.001$,图 3),门静脉血流速度与肝纤维化分期呈负相关性($r=-0.29, P<0.05$,图 4)。随着肝纤维化程度加重,门静脉内径增宽,血流速度降低。脾脏厚度及长度与肝纤维化分期无明显相关性。

3 讨论

肝纤维化是机体对肝损伤代偿性修复的渐进性病理变化,表现为肝内纤维结缔组织异常增生、沉积,在肝功能障碍和门静脉高压的发病机制中起着直接作用^[2]。肝炎可导致肝纤维化和早期肝硬化,最终发展为终末期肝病,如肝硬化失代偿期及肝细胞癌。但由于肝脏的代偿能力较强,肝纤维化或早期肝硬化阶段缺乏典型临床症状,不易做出诊断。目前诊断肝纤维化分期的金标准仍是肝脏穿刺活组织检查,但其为有创性检查,且有存在临床禁忌证、并发症较多、穿刺部位局限等弊端。

超声对于肝硬化的诊断价值已得到广泛认可。目前有关失代偿期肝硬化的声像图表现及血流动力学改

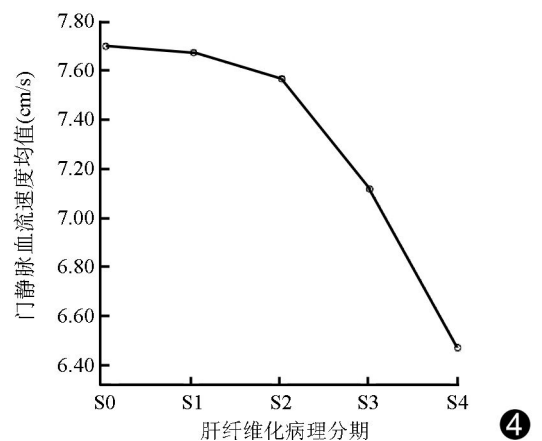
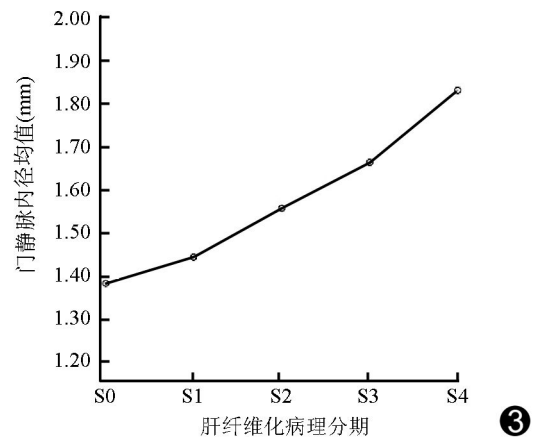


图 3 门静脉内径与肝纤维化病理分期相关性曲线 图 4 门静脉血流速度与肝纤维化病理分期相关性曲线

变方面的研究已较深入,而治疗慢性肝病的最佳时期为 S4 期之前,现有超声诊断多以主观判断为主,还不能做出准确的分期诊断^[3-4]。研究^[5-7]表明 CEUS、弹性成像等新技术能够较好地评价肝纤维化,但尚不能完全应用于临床实践。常规二维超声及 CDFI 是基础的超声成像技术,操作简便,价格低廉,可无创检测血管直径及血流动力学参数^[8]。肝纤维化时门静脉压力和血流动力学的改变已经存在,因血管直径和血流速度等指标具有客观性,检查的可重复性较好。

肝脏由门静脉和肝动脉双重供血,70%~75%来自于门静脉,25%~30%来自于肝动脉。门静脉内平均压力、肝窦内压力、下腔静脉压力依次递减,这种压

力梯度差为门静脉供血的主要动力。肝纤维化时,汇管区及肝小叶内大量纤维结缔组织增生、肝细胞外基质异常沉积,肝窦内皮细胞窗孔消失致肝窦内皮毛细血管化引起肝窦血流阻力增高,使维持门静脉正常血供的压力梯度差降低、门静脉血流速度减慢,肝内血流动力学发生改变^[9]。本实验结果显示大鼠肝纤维化 S0 至 S4 期门静脉血流速度逐渐减慢, S4 与 S0、S1、S2、S3 的差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05), S3 与 S1、S2 与 S0 间的差异有统计学意义 (P 均 < 0.05), 提示超声检测大鼠门静脉血流速度可以反映其肝纤维化的进展程度。

随着肝纤维化逐渐加重,汇管区纤维化及纤维间隔形成,血管间形成吻合支,压力较高的肝动脉血流向门静脉,门静脉压力升高;同时由于纤维间隔收缩,汇管区纤维化及胆汁淤积增加了肝小叶周围的压力,门静脉阻力增加,导致门静脉增宽^[10-12]。本实验结果显示大鼠门静脉内径与肝纤维化分期呈正相关,随着肝纤维化程度加重、门静脉内径逐渐增宽,提示在大鼠肝硬化、门静脉高压形成前,其肝内及内脏器官的血流动力学改变即已存在,且随着纤维化程度加重,血流动力学改变更加明显,门静脉高压是其演变的结果。

肝硬化合并门静脉高压时,脾脏可有不同程度增大,脾脏增大程度与门静脉高压严重程度具有相关性;而肝纤维化时脾脏的形态学改变不明显^[13]。本实验结果显示,随着大鼠肝纤维化严重程度增加,其脾脏厚度逐渐增大,但各病理分期中大鼠脾脏厚度及长度的差异均无统计学意义,亦无相关性,提示大鼠肝纤维化时门静脉压力虽有明显增加趋势,但仍不足以导致脾脏形态学的改变。

综上所述,常规二维超声及 CDFI 可通过检测大鼠门静脉内径及血流速度,简便、无创、客观地评价肝纤维化进程。

[参考文献]

- [1] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会. 肝病学会. 病毒性肝炎防治方案. 中华传染病杂志, 2001, 19(1): 56-62.
- [2] 谢青, 桂红莲. 肝纤维化诊断标准的现今认识. 诊断学理论与实践, 2009, 8(2): 133-136.
- [3] 江珍珍, 夏国园, 何本振, 等. 超声在评价四氯化碳诱导肝纤维化模型中的应用. 中国超声医学杂志, 2011, 27(3): 200-203.
- [4] 林惠洪, 童小青. 超声定量诊断慢性乙型肝炎肝纤维化的临床分析. 医学影像学杂志, 2011, 21(10): 1586-1588.
- [5] 郑颖, 孟繁坤. 超声造影评价慢性病毒性肝炎肝纤维化的应用价值. 临床超声医学杂志, 2007, 9(4): 205-207.
- [6] Wang MH, Palmeri ML, Guy CD, et al. In vivo quantification of liver stiffness in a rat model of hepatic fibrosis with acoustic radiation force. *Ultrasound Med Biol*, 2009, 35(10): 1709-1721.
- [7] 裴书芳, 丛淑珍, 冯占武, 等. 实时组织弹性成像诊断肝纤维化. 中国医学影像技术, 2010, 26(5): 893-895.
- [8] 解丽梅, 郭启勇, 刘鑫. 超声造影评价肝纤维化. 中国医学影像技术, 2009, 25(8): 1447-1449.
- [9] Abbattista T, Ridolfi F, Ciabattini E, et al. Diagnosis of liver cirrhosis by transit-time analysis at contrast-enhanced ultrasonography. *Radiol Med*, 2008, 113(6): 860-874.
- [10] Searle J, Mendelson R, Zelesco M, et al. Non-invasive prediction of the degree of liver fibrosis in patients with hepatitis C using an ultrasound contrast agent. A pilot study. *J Med Imaging Radiat Oncol*, 2008, 52(2): 130-133.
- [11] Tang A, Kim TK, Heathcote J, et al. Does hepatic vein transit time performed with contrast-enhanced ultrasound predict the severity of hepatic fibrosis? *Ultrasound Med Biol*, 2011, 37(12): 1963-1969.
- [12] 王红英. 门静脉血流动力学及脾脏大小与肝纤维化关系. 临床医学工程, 2009, 16(11): 50-51.
- [13] Lessa AS, Paredes BD, Dias JV, et al. Ultrasound imaging in an experimental model of fatty liver disease and cirrhosis in rats. *BMC Vet Res*, 2010, 6: 6.