

高频超声多参数诊断SD大鼠脂肪肝的价值

全杰荣, 罗燕, 范玉亭

■背景资料

脂肪肝是多种因素引起的肝细胞内脂肪堆积的一种病理表现, 目前, 脂肪肝患病率呈上升趋势。定量诊断脂肪肝的方法包括CT、MRI、MRS及超声。超声由于普及、经济、快速、方便成为诊断脂肪肝最常用的方法, 在定量诊断研究中也引人注目。

全杰荣, 罗燕, 范玉亭, 四川大学华西医院超声诊断科 四川省成都市 610041

国家自然科学基金资助项目, No. 30870715

作者贡献分布: 此课题立项及设计由罗燕完成; 研究过程由罗燕、全杰荣及范玉亭完成; 数据分析及论文撰写由全杰荣完成; 实验指导及论文修改由罗燕完成。

通讯作者: 罗燕, 教授, 610041, 四川省成都市国学巷37号, 四川大学华西医院超声诊断科. luoyan77@vip.sina.com

电话: 028-85423192

收稿日期: 2010-02-25 修回日期: 2010-04-16

接受日期: 2010-04-20 在线出版日期: 2010-05-08

Multi-parameter quantitative evaluation of rat fatty liver using high-frequency ultrasound

Jie-Rong Quan, Yan Luo, Yu-Ting Fan

Jie-Rong Quan, Yan Luo, Yu-Ting Fan, Department of Ultrasound, West China Hospital of Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30870715

Correspondence to: Professor Yan Luo, Department of Ultrasound, West China Hospital of Sichuan University, 37 Guoxue Lane, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. luoyan77@vip.sina.com

Received: 2010-02-25 Revised: 2010-04-16

Accepted: 2010-04-20 Published online: 2010-05-08

Abstract

AIM: To investigate the value of high-frequency ultrasound for multi-parameter quantitative evaluation of fatty liver in rats.

METHODS: Thirty-two Sprague-Dawley rats, including 24 rats with nonalcoholic fatty liver and 8 normal controls, were used in this study. The significance of liver gray scale (GS) value, hepatorenal GS ratio and hepatosplenic GS ratio in diagnosing fatty liver was evaluated by comparing with pathological results.

RESULTS: The area under the receiver operating characteristic (ROC) curve for liver GS value was 0.91. Using a liver GS value of 54 as the cutoff point, the sensitivity and specificity were 81.8% and 100%, respectively. The area under the ROC curve for hepatorenal GS ratio was 0.76. Using a hepatorenal GS ratio of 1.05 as the cutoff

point, the sensitivity and specificity were 63.6% and 88.9%, respectively. The optimal cutoff point of hepatorenal GS ratio for the prediction of steatosis > 60% was 1.2, with a sensitivity of 100% and a specificity of 99.0%. The area under the ROC curve of hepatosplenic GS ratio was 0.96. Using a hepatosplenic GS ratio of 1.1 as the cutoff point, the sensitivity and specificity were 86.4% and 100%, respectively. The optimal cutoff point of hepatosplenic GS ratio for the prediction of steatosis \geq 30% was 1.23, with a sensitivity of 80% and a specificity of 100%; and for the prediction of steatosis > 60% was 1.3, with a sensitivity of 100% and a specificity of 95.5%.

CONCLUSION: Liver GS value can be used as a diagnostic parameter for fatty liver in rats. Hepatorenal GS ratio can only be used for diagnosis of severe steatosis. Hepatosplenic GS ratio is a promising parameter for diagnosis of different degrees of steatosis.

Key Words: Fatty liver; Ultrasonography; Rat

Quan JR, Luo Y, Fan YT. Multi-parameter quantitative evaluation of rat fatty liver using high-frequency ultrasound. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2010; 18(13): 1366-1370

摘要

目的: 探讨高频超声多参数诊断及分级诊断大鼠脂肪肝(FL)的价值。

方法: 选用SD大鼠32只, 8只为对照组, 24只为高脂饮食FL组, 以病理为金标准, 计算肝脏灰阶强度值(GS)、肝肾GS比值、肝脾GS比值诊断及分级诊断脂肪肝的准确性。

结果: 肝脏GS诊断FL的ROC曲线下面积为0.91, 以GS>54诊断FL的灵敏度(Sen)和特异度(Spe)为81.8%, 100.0%。肝肾GS比(肝/肾)诊断FL的ROC曲线下面积为0.76; 以肝/肾>1.05诊断FL的Sen和Spe为63.6%, 88.9%; 以肝/肾>1.2诊断重度FL的Sen和Spe为100%, 99%。肝脾GS比(肝/脾)诊断FL的ROC曲线下面积为0.96; 以肝/脾>1.1诊断FL的Sen和Spe为86.4%,

■同行评议者

吕宾, 教授, 浙江中医学附属属医院(浙江省中医院、浙江省东方医院)消化科

100.0%; 以肝/脾>1.23诊断中度以上FL的Sen和Spe为80%, 100%; 以肝/脾>1.3诊断重度FL的Sen和Spe为100%, 95.5%。

结论: 肝脏GS可作为大鼠FL初步诊断的指标; 肝肾GS比仅可作为重度FL的诊断指标; 肝脾GS比有望作为分级诊断的指标。

关键词: 脂肪肝; 超声诊断; 大鼠

全杰荣, 罗燕, 范玉亭. 高频超声多参数诊断SD大鼠脂肪肝的价值. 世界华人消化杂志 2010; 18(13): 1366-1370
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/18/1366.asp>

0 引言

随着我国公众生活水平的提高, 脂肪肝在我国逐渐成为常见病. 脂肪肝早期是防治的最佳阶段, 因此, 在高危人群中早期筛查出脂肪肝患者并密切随访, 对该疾病的治疗非常重要. 超声检查以其无创性、经济性而成为诊断脂肪肝的首选方法, 但由于受到患者条件、检查者经验及仪器条件等诸多影响, 诊断结果相对客观性较差, 且在分级诊断方面缺乏量化数值指标. 为了筛选出较好的诊断脂肪肝的量化数值指标, 我们采用高脂高胆固醇饮食建立了大鼠脂肪肝模型, 对肝脏、脾脏、肾脏进行了二维超声图像平均灰阶强度(gray scale, GS)分析, 探讨高频超声多参数诊断大鼠脂肪肝的准确性及分级诊断的可能性。

1 材料和方法

1.1 材料 SD大鼠32只, ♂, 体质量150-200 g, 由四川大学动物实验中心提供. 高脂饲料配方: 基础饲料87.9%, 猪油10%, 胆固醇2%, 猪胆盐0.1%. 由四川大学动物实验中心提供基础饲料并加工. 猪油为市售, 胆固醇和猪胆盐购自溶海生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 分组及造模: 对照组8只, 喂养基础饲料; 实验组24只, 喂养高脂饲料。

1.2.2 大鼠肝脏体表超声检查: 采用超声诊断仪Siemens Acuson Antares, 探头为VFX13-5, 在相同条件下(总增益为29 dB/DR65, 深度为2.5 cm, 分辨率及灵敏度固定, STC曲线调节钮置于正中成一直线)检查. 对照组于第4周和第10周各对4只大鼠进行超声检查, 实验组于第4, 6, 8, 10, 12, 14周分别对4只大鼠进行超声检查. 检查前用10%水合氯醛麻醉后胸腹部8% Na₂S溶液脱毛。

受检测大鼠取仰卧位, 留取右肝的横断面、脾脏及双肾的纵断面图像并存盘, 检查后第2天处死大鼠, 送肝脏病理检查。

1.2.3 超声分析方法及参数选择: 用Adobe Photoshop 7.0直方图技术测量每一样本肝脏、脾脏及肾脏实质灰阶值, 测量时选取60像素×60像素的感兴趣区域(图像大小为1024像素×768像素), 避开可见的管道系统, 重复测量3次取均值, 计算肝肾GS比值和肝脾GS比值. 整个过程由同一位有经验的超声医师盲法进行检查、测量。

1.2.4 病理检查方法: 处死大鼠后随即做肝脏冰冻切片, 切片厚度约3 mm, 苏丹III染色后用Image-Pro Plus 6.0软件进行脂滴计数和细胞计数, 根据脂肪浸润的肝细胞数量占肝细胞总数的比例<30%、30%-60%、>60%分为轻度、中度及重度脂肪肝^[1]。

统计学处理 定量数据均以mean±SD表示. 采用单因素方差分析(One-way ANOVA)比较对照组及不同程度脂肪肝组肝脏GS值、肝肾GS比值、肝脾GS比值, 组间存在差异者用S-N-K法进行组间比较. 统计软件为SPSS13.0, $P<0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠造模情况 根据病理诊断标准, 对照组8只无脂肪肝, 实验组无脂肪肝1只, 轻度脂肪肝7只, 中度脂肪肝6只, 重度脂肪肝9只, 1只因病理图像不清晰无法判定被剔除。

2.2 正常肝脏及脂肪肝超声与病理图像 超声发现: 正常肝脏实质回声稍低, 分布均匀, 可见稀疏、散在短小线状回声, 肝内管道显示清晰; 轻度脂肪肝与正常肝脏声像图无明显差异, 中重度脂肪肝可轻至中度长大, 实质回声细密、增强, 肝内管道走行不清, 后方回声未见明显衰减. 病理发现: 正常肝脏肝小叶结构清晰, 肝细胞索排列整齐, 肝窦正常, 实验组大鼠肝细胞内从第4周检查时即出现脂滴空泡, 但数目较少, 以小泡性脂滴为主, 随着时间的增加, 细胞内大泡性脂滴空泡增多. 同时, 肝细胞索排列紊乱, 肝窦变窄(图1)。

2.3 正常及不同程度脂肪肝的超声测值 肝脏GS值中度、重度组与正常组间差异有统计意义, 重度组和轻度组差异有统计意义. 肝肾GS比值重度组和正常、轻度、中度组差异有统计意义. 肝脾GS比值轻度、中度、重度组与正常组间差异有统计意义, 重度组与轻度组差异有统计意义。

■研发前沿

由于受到患者条件、检查者经验及超声仪器条件等诸多影响, 加之通常难以获得患者的病理资料, 因此超声对脂肪肝的诊断尤其是分级诊断存在一定的主观性及争议, 需要寻找准确诊断及分级诊断的方法, 而国内有病理对照的定量诊断脂肪肝的研究较少。

■相关报道

刘云霞等系统评价表明现有脂肪肝超声研究均存在病例选择和/或金标准和/或重复性等问题; 苏瑞娟等发现超声灰阶均值与脂肪变性细胞间有较好的相关性; 张文媛等发现肝脏平均灰阶值定量诊断脂肪肝优于现临床采用的目测观察法; Mancini等发现肝肾灰阶比值能定量评价脂肪肝含量。

■创新盘点

肝脏GS值可以用来初步诊断脂肪肝,但受不同仪器、不同条件、不同腹壁厚度影响大,肝肾GS比值可能受高脂血症造成的肾损害影响,而肝脾GS比值则理论上不受腹壁厚度或高脂血症等影响,有望作为评价肝脏相对回声强度的指标。

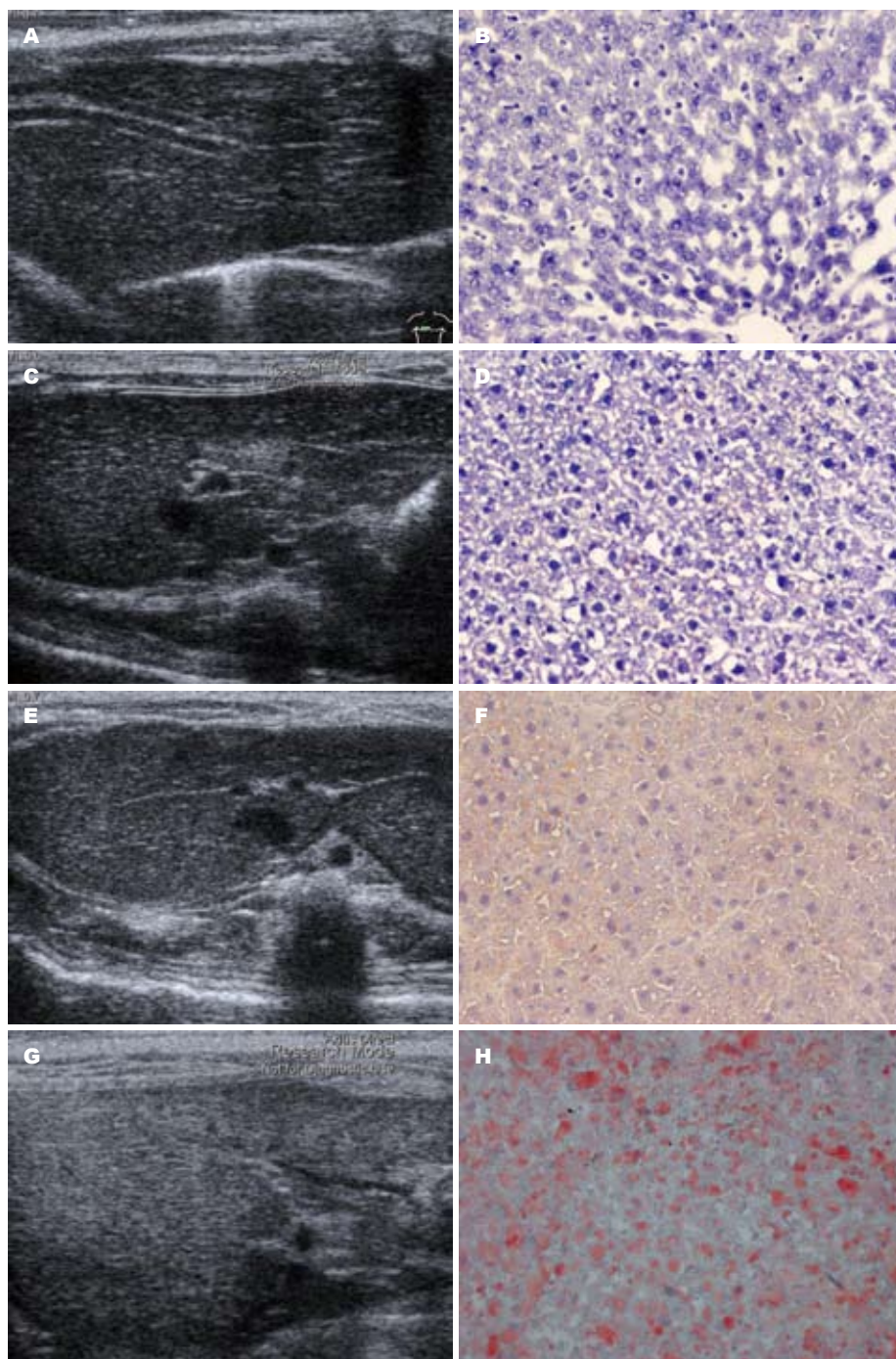


图1 正常肝脏及不同程度脂肪肝超声与病理图像. A, B: 正常大鼠肝脏; C, D: 轻度脂肪肝; E, F: 中度脂肪肝; G, H: 重度脂肪肝; A, C, E, G: 超声图像; B, D, F, H: 病理图像(苏丹Ⅲ×400).

义,重度组与中度组差异有统计意义(表1).

2.4 肝脏GS值、肝肾GS比值、肝脾GS比值正常组与脂肪肝组的临界值 根据ROC曲线选取灵敏度和特异度之和最大的点为临界值.当诊断中度以上脂肪肝时,则以轻度和正常为阴性,中度和重度为阳性,诊断重度脂肪肝时,则以正常、轻度和中度为阴性,重度为阳性,绘制ROC曲线后,再由前述方法选取临界值.肝脏GS值诊断脂肪肝的ROC曲线下面积为0.91,以肝脏GS>54诊断脂肪肝的灵敏度和特异度为81.8%, 100.0%. 肝肾GS比值(肝/肾)诊断脂肪肝的ROC曲线下面积

为0.76,以肝/肾>1.05诊断脂肪肝的灵敏度和特异度为63.6%, 88.9%,以肝/肾>1.2诊断重度脂肪肝的灵敏度和特异度为100%, 99%. 肝脾GS比值(肝/脾)诊断脂肪肝的ROC曲线下面积为0.96;以肝/脾>1.1诊断脂肪肝的灵敏度和特异度为86.4%, 100.0%;以肝/脾>1.23诊断中度以上脂肪肝的灵敏度和特异度为80%, 100%;以肝/脾>1.3诊断重度脂肪肝的灵敏度和特异度为100%, 95.5%(图2).

3 讨论

随着我国公众生活水平的提高及饮食结构的改

表 1 大鼠脂肪肝超声测值 (mean ± SD)

病理程度	n	肝脏GS值	肝肾GS比值	肝脾GS比值
正常	9	48.80 ± 3.60	0.95 ± 0.09	1.02 ± 0.05
轻度	7	54.15 ± 7.50	1.07 ± 0.15	1.15 ± 0.07 ^a
中度	6	62.18 ± 5.60 ^a	0.92 ± 0.10	1.20 ± 0.11 ^a
重度	9	68.72 ± 12.91 ^{ac}	1.40 ± 0.13 ^{ace}	1.56 ± 0.15 ^{ace}

^aP<0.05 vs 正常组; ^aP<0.05 vs 轻度脂肪肝组; ^aP<0.05 vs 中度脂肪肝组.

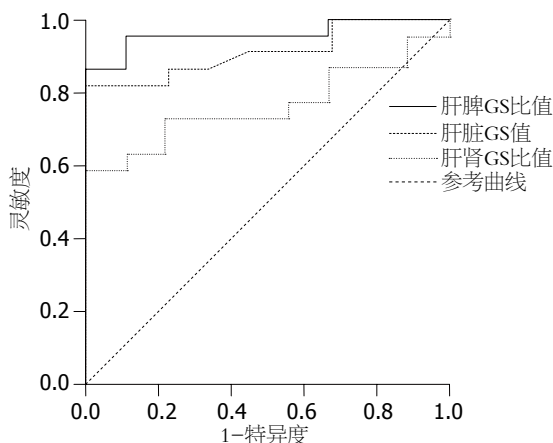


图 2 正常组与脂肪肝组ROC曲线.

变, 脂肪肝在我国逐渐成为常见病. 早期脂肪肝是防治的最佳阶段, 不加以干预则可能导致肝功异常, 甚至发展到肝硬化、肝硬化^[2]. 因此, 在高危人群中早期筛查出脂肪肝患者并早期干预, 对该疾病的转归非常重要. B超是临床上常用及经济的检查手段, 但在轻度脂肪浸润时诊断脂肪肝敏感性低, 肝脏纤维化程度也会影响诊断的敏感性, 且不同患者、不同医生、不同的仪器及设置条件等都会影响诊断结果, 此外, 在超声诊断脂肪肝的研究中, 通常难以获得患者的病理资料, 因此超声对脂肪肝的诊断尤其是分级诊断存在一定的主观性及争议^[3-5]. 实验动物模型去除了腹壁的影响、固定仪器使用条件避免了不同仪器及不同使用条件的差异, 且容易获得病理结果, 因而能够较好地研究脂肪肝诊断及分级诊断, 本研究通过高脂高胆固醇饮食建立脂肪肝模型^[6].

苏瑞娟等^[7]研究提示肝脏GS值与大鼠肝细胞脂肪变性数密切相关($r = 0.81$). 据文献^[8]报道, 当大鼠肝脏回声强于或等于右肾皮质回声时, 肝脏回声诊断脂肪肝的敏感度和特异度分别为90%, 100%, 阳性和阴性预测值分别为100.0%, 76.9%. 张文绥等^[9]用超声直方图肝脏平

均灰阶值诊断大鼠脂肪肝的灵敏度88%, 特异度93%, 准确性90%. 本实验肝脏灰阶值诊断大鼠脂肪肝的灵敏度81.8%, 特异度100.0%, 提示肝脏灰阶值可作为脂肪肝诊断的数值指标, 实验结果与其他学者相似. 但其在分级诊断方面效果不理想, 可能与样本量小或者指标本身有关. 此外在临床应用中, 该指标可能会受到不同仪器、不同条件、不同腹壁厚度影响大, 不宜作为分级诊断指标.

除了上述指标, 也有研究^[10-13]趋于用相对指标来诊断, 因为基本排除了影响直方图值的主要因素, 比如探头频率、直方图样框的深度及仪器增益等, 在以上条件相对恒定的状态下, 所测得的直方图值则具有相对准确的价值, 所以本研究也选择了用肝肾GS比值和肝脾GS比值来诊断.

研究^[11-13]表明肝肾GS比值与肝脂肪细胞变性数明显相关, 以此指标诊断脂肪肝灵敏度90%-100%, 特异度90%-95%, 但也有研究者^[14]认为肝肾GS比值分级诊断脂肪肝不如肉眼判断. 本研究中, 肝肾GS比值诊断脂肪肝的灵敏度和特异度分别为63.6%, 88.9%, 与其他研究相比较, 也低于另外两个指标, 可能与高脂血症造成的肾损害相关^[15], 实验中观察到部分大鼠肾脏回声明显增强. 当以肝/肾>1.2诊断重度脂肪肝的灵敏度和特异度为100%, 99%, 提示其可以作为大鼠重度脂肪肝的诊断指标.

脾脏是均质性器官, 常作为腹部脏器定量诊断的参照物^[16], CT也正是以肝脾CT比值来诊断脂肪肝. 本研究中, 我们提出以脾脏的灰阶值作为参照, 肝脾GS比值正常大鼠95%CI为0.98-1.06, 脂肪肝组95%CI为1.23-1.43; 以肝脾GS比值大于1.1诊断脂肪肝, 诊断的灵敏度、特异度分别为86.4%, 100.0%; 以肝脾GS比值大于1.23诊断中度以上脂肪肝, 诊断的灵敏度、特异度分别是80%, 100%; 以肝脾GS比值大于1.3诊断重度脂肪肝, 诊断的灵敏度、特异度分别是

应用要点

超声直方图平均灰阶值测定是一种简单、实用的方法, 目前采用相同的仪器及条件控制, 应用相对比值可能会有较大的临床应用意义, 肝脾灰阶比值有望作为临床诊断脂肪肝的无创性量化指标推广.

■同行评价

本研究设计尚可, 结果可靠, 具有较好的参考价值.

100.0%, 95.5%. 由此提示其即可用于脂肪肝诊断, 还可能成为脂肪肝分级的有效指标, 而且用于临床有可能消除不同腹壁厚度等患者条件的影响, 对于脂肪肝合并肾脏损害的患者该指标同样有意义.

肝脏GS值可作为大鼠脂肪肝初步诊断的指标, 肝肾GS比值仅可作为重度脂肪肝的诊断指标, 肝脾GS比值有望作为大鼠脂肪肝诊断及分级诊断的指标, 但由于该研究样本量较小, 尚需更多研究进一步证实.

4 参考文献

- 1 Iwasaki M, Takada Y, Hayashi M, Minamiguchi S, Haga H, Maetani Y, Fujii K, Kiuchi T, Tanaka K. Noninvasive evaluation of graft steatosis in living donor liver transplantation. *Transplantation* 2004; 78: 1501-1505
- 2 Reid BM, Sanyal AJ. Evaluation and management of non-alcoholic steatohepatitis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 1117-1122
- 3 Mehta SR, Thomas EL, Bell JD, Johnston DG, Taylor-Robinson SD. Non-invasive means of measuring hepatic fat content. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3476-3483
- 4 Schwenzer NF, Springer F, Schraml C, Stefan N, Machann J, Schick F. Non-invasive assessment and quantification of liver steatosis by ultrasound, computed tomography and magnetic resonance. *J Hepatol* 2009; 51: 433-445
- 5 刘云霞, 王洁贞, 刘建平, 庞春坤, 贾红英. 脂肪肝影像学诊断性试验的系统评价. *中国医学科学院学报* 2004; 26: 580-584
- 6 刘再毅, 梁长虹, 王秋实, 刘于宝, 徐莉, 郑君惠. ¹H-MRS在鉴定大鼠非酒精性脂肪肝模型构建中的作

- 用. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1612-1616
- 7 苏瑞娟, 吕国荣, 王振华, 李伯义, 刘彦英, 何韶铮, 金鹏. 宫内缺氧对子代大鼠脂肪肝发病的影响. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1048-1051
- 8 Lessa AS, Paredes BD, Dias JV, Carvalho AB, Quintanilha LF, Takiya CM, Tura BR, Rezende GF, Campos de Carvalho AC, Resende CM, Goldenberg RC. Ultrasound imaging in an experimental model of fatty liver disease and cirrhosis in rats. *BMC Vet Res* 2010; 6: 6
- 9 张文媛, 刘阁玲, 张国顺, 马利转. 超声直方图定量评价大鼠肝脏脂肪变性的实验研究. *武警医学* 2009; 20: 590-593
- 10 王韧, 陈亚青, 周永昌, 朱洁华. 超声直方图对脂肪肝诊断的初步分析. *临床消化病杂志* 2006; 18: 91-92
- 11 Mancini M, Prinster A, Annuzzi G, Liuzzi R, Giacco R, Medagli C, Cremone M, Clemente G, Maurea S, Riccardi G, Rivellese AA, Salvatore M. Sonographic hepatic-renal ratio as indicator of hepatic steatosis: comparison with (1)H magnetic resonance spectroscopy. *Metabolism* 2009; 58: 1724-1730
- 12 Webb M, Yeshua H, Zelber-Sagi S, Santo E, Brazowski E, Halpern Z, Oren R. Diagnostic value of a computerized hepatorenal index for sonographic quantification of liver steatosis. *AJR Am J Roentgenol* 2009; 192: 909-914
- 13 王立, 何苗苗, 周宇谦. 超声定量分析脂肪肝图像与肝功能的关系. *中国临床医学* 2005; 12: 904-908
- 14 Vehmas T, Kaukiainen A, Luoma K, Lohman M, Nurminen M, Taskinen H. Liver echogenicity: measurement or visual grading? *Comput Med Imaging Graph* 2004; 28: 289-293
- 15 张娟, 刘颖, 礼广森, 韩琳琳. 超声背向散射积分技术评价高脂大鼠肾损害的实验研究. *中国超声医学杂志* 2007; 23: 176-179
- 16 Yabuki A, Endo Y, Sakamoto H, Nagayoshi T, Matsumoto M, Suzuki S. Quantitative assessment of renal cortical echogenicity in clinically normal cats. *Anat Histol Embryol* 2008; 37: 383-386

编辑 曹丽鸥 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2010年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆 2008年版《中文核心期刊要目总览》

本刊讯 《中文核心期刊要目总览》(2008年版)采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、获国家奖或被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达80余种, 统计文献量达32 400余万篇次(2003-2005年), 涉及期刊12 400余种. 本版还加大了专家评审力度, 5 500多位学科专家参加了核心期刊评审工作. 经过定量评价和定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1 980余种核心期刊, 分属七大编73个学科类目. 《世界华人消化杂志》入选本版核心期刊库(见R5内科学类核心期刊表, 第66页). (编辑部主任: 李军亮 2010-01-08)