

网络出版时间: 2018-6-8 10:05 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20180607.1132.033.html>

◇经验与体会◇

多指标联合诊断兔应用他莫昔芬后肝损害的研究

张旭¹, 田瑞^{2,3}, 闫亚飞¹, 栗建辉¹

摘要 随机选取新西兰雌性大白兔 20 只, 他莫昔芬灌胃, 对照兔肝脏病理结果得出: 单独应用二维超声诊断肝脏弥漫性病变的准确率为 77.78%; 应用受试者工作特征曲线(ROC)得出总胆固醇(TC)和甘油三酯(TG)曲线下面积(AUC)分别是 0.792、0.799; 声触诊组织量化技术(VTQ) AUC 为 0.792; VTQ 联合上述指标诊断应用他莫昔芬后兔肝损害 AUC 为 0.937, 明显高于任何单一指标的诊断率($P = 0.003$)。此方法有望成为临床上乳腺癌患者内分泌治疗后肝损害筛查及评估预后的新标准。

关键词 他莫昔芬; 肝损害; 声触诊组织量化技术

中图分类号 R 575.5

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2018)07-1143-03

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.07.033

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 严重威胁着女性的健康^[1]。除手术切除和常规放化疗外, 内分泌治疗也是一种极其重要的治疗手段^[2]。乳腺癌患者长期口服他莫昔芬产生的常见副作用—非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)^[3-4], 如不及时控制, 可进展为脂肪性肝炎甚至肝纤维化和(或)肝硬化, 从而影响治疗的进行, 导致原发肿瘤治疗失败。由于伦理、患者身体状况等因素, 组织病理学检查不能成为常规检查方法。该研究通过建立动物实验模型模拟临床诊疗过程, 对肝损害进行定量分析, 运用病理学佐证, 探讨声触诊组织量化技术(virtual touch tissue quantification, VTQ)联合二维超声及血生化指标对肝损害的诊断价值。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选取雌性新西兰大白兔 20 只, 由

2018-01-18 接收

基金项目: 河北省医学科学研究重点课题计划(编号: 20160044)

作者单位: 河北大学附属医院¹ 超声科、² 肿瘤内科, 保定 071000

³ 河北省放化疗机制与规程研究重点实验室, 保定 071000

作者简介: 张旭, 女, 医师, 硕士研究生;

栗建辉, 男, 博士, 副主任医师, 主任技师, 硕士生导师, 责任编辑 E-mail: 371738987@qq.com

北京海淀区兴隆实验动物养殖场提供, 体质量(2.0 ± 0.10) kg, 所有实验用兔身体健康, 用药前各项生理及生化指标符合实验标准, 于河北大学医学部动物实验室内单笼喂养, 适应性喂养 1 周后开始实验。

1.2 实验方法 实验前: 从兔耳缘静脉抽血, 测生化指标血清总胆固醇(total cholesterol, TC)、三酰甘油(triglyceride, TG)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST), 并行肝脏二维超声检查及 VTQ 值测定, 记录相关数据。给予他莫昔芬 0.6 mg/kg 灌胃 6 个月后复查血生化指标、肝脏二维超声及 VTQ 值, 记录相关数据。实验结束, 用乌拉坦处死兔子, 取出肝脏, 福尔马林固定, HE 染色。

1.3 仪器及超声检查方法 采用西门子 ACUSON S3000 彩色超声诊断仪(自带 VTQ 功能), 选择线阵探头, 频率 4~9 MHz, 深度 4.0 cm。实验兔腹部去毛后仰卧, 安静状态下观察肝脏的大小、外形、内部实质回声、肝内管道回声、走行, 管道径线变化情况。启动 VTQ 功能, 在右肝经第一肝门切面附近避开肝内管道系统测量肝实质的剪切波速度(m/s), 重复测量 5 次, 去除极大值、极小值, 取平均值记录, 进行分析。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 19.0 软件处理数据, 计量资料正态数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计数资料的比较采用 χ^2 检验; 用药前后比较采用配对 t 检验。通过受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)计算曲线下面积(area under curve, AUC)。AUC 值在 0.5~0.7 表示诊断价值较低, 在 0.7~0.9 表示诊断价值中等, >0.9 表明诊断价值较高; 建立 Logistic 回归预测模型, 应用 ROC 曲线多因素分析预测诊断效果。

2 结果

2.1 他莫昔芬灌胃后兔肝脏病理结果 实验中 20 只新西兰大白兔, 2 只动物因灌胃操作不当死亡, 18 只完成实验, 其中 12 例出现肝脂肪变性的模型, 6 只未出现典型的病理学上 NAFLD 的表现。死亡的

表1 用药前后 AST、ALT、TC、TG、VTQ 比较($\bar{x} \pm s$)

观察指标	用药前	用药后	F	P
TC(mmol/L)	1.78 ± 0.26	6.02 ± 2.29	15.00	0.00
TG(mmol/L)	1.44 ± 0.35	4.71 ± 1.97	30.85	0.00
ALT(IU/L)	29.15 ± 9.74	87.27 ± 9.82	0.21	0.00
AST(IU/L)	29.21 ± 12.41	88.54 ± 20.15	1.42	0.00
VTQ(m/s)	0.96 ± 0.40	1.28 ± 0.14	15.84	0.00

表2 不同指标在兔肝损伤中的诊断价值

指标	AUC	95% CI	灵敏度(%)	特异度(%)	P 值	界值
TC	0.792	0.573 ~ 1.000	75.5	66.7	0.049	5.005mmol/L
TG	0.799	0.573 ~ 1.000	75.0	83.3	0.044	4.160mmol/L
VTQ	0.792	0.573 ~ 1.000	83.3	83.3	0.049	1.270m/s
ALT	0.785	0.573 ~ 0.966	57.3	99.6	0.068	—
AST	0.538	0.263 ~ 0.814	26.3	81.4	0.805	—

新西兰大白兔不列入统计。

2.2 用药前后二维超声声像图比较 用药后兔肝的超声声像图肝包膜形态饱满,肝实质有不同程度的回声增强,肝内胆管走行不清晰。二维声像图诊断肝弥漫性病变的准确率为 77.78%,超声和病理学两种检测方法的相关系数($r=0.553$, $P<0.05$)。

2.3 用药前后 TC、TG、ALT、AST、VTQ 比较 用药后 TC、TG、ALT、AST 升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。用药后 VTQ 值升高,差异有统计意义($P<0.05$),见表 1。

2.4 不同指标在兔肝损伤中的诊断价值 以 TC、TG、AST、ALT、VTQ 作为诊断指标,并结合 ROC 曲线分析兔应用他莫昔芬后肝损伤的 AUC、敏感度、特异度及最佳诊断界值,TC、TG 及 VTQ 单独诊断兔应用他莫昔芬后肝损害的曲线下面积(AUC)均大于 0.70($P<0.05$),具有中等诊断价值。而 ALT、AST 不能作为单独诊断兔应用他莫昔芬后肝损害的指标($P>0.05$),详见表 2。

2.5 使用 SPSS 作多变量观察值的 ROC 曲线分析 以组织病理学出现肝脂肪变性作为诊断的金标准,用变量 group 表示(脂肪肝 = 1,非脂肪肝 = 0)。每例实验兔分别测量 4 项指标:二维超声、TC、TG、VTQ 分别用 X1、X2、X3、X4 表示(诊断为脂肪肝 = 1,非脂肪肝 = -1,未明 = 0)。利用 SPSS 分别求出协变量 X1 各个体预测率 pre-1;协变量 X1、X2、X3、X4 含各个个体预测率 pre-2;利用 ROC 对检验变量(pre-1、pre-2)、状态变量(group)分析得出多指标联合明显高于任何单一指标(二维超声、TC、TG、VTQ)的诊断率。见表 3、4。

3 讨论

近些年研究^[3-4]显示长期应用他莫昔芬可以造

表3 协变量 X1、X2、X3、X4 和 Logistic 回归系数、标准误和 P 值

协变量	回归系数	标准误	P 值
X1	9.970	6.249.896	0.999
X2	0.858	0.833	0.303
X3	0.468	0.824	0.570
X4	10.828	6.249.896	0.999
常数	0.468	0.824	0.570

表4 变量 pre-1 和 pre-2 的 AUC、标准误、P 值和 95% CI

检验变量	AUC	标准误	P 值	95% CI
变量 pre-1	0.625	0.147	0.399	0.338 ~ 0.912
变量 pre-2	0.937	0.056	0.003	0.829 ~ 1.000

成 NAFLD。常规超声检查是诊断脂肪肝应用最广泛的检查手段,但是表现多样,轻重不一^[5-7],容易受操作者主观影响,易造成漏诊。实验中兔应用他莫昔芬后肝脏产生了变性、坏死、炎症等损害,出现了许多不均质界面,声图像表现为回声不均匀,局部实质回声反射增强^[5-8],但是由于缺少定量的数值,导致近 1/4 左右的早期或不均质 NAFLD 漏诊。

本研究通过给予兔他莫昔芬灌胃后 TC、TG、AST 和 ALT 明显升高,差异有统计学意义,表明他莫昔芬可能对肝组织造成损害,进一步提示了肝内脂质代谢异常和蓄积导致了血清中 TC、TG 升高,间接促进了脂肪肝的合成,与既往研究^[9-10]基本一致。TC 和 TG 的 AUC 均在 0.75 以上,有一定的诊断价值,但是对于人类而言,TC、TG 升高还可见于心血管疾病,单独诊断的特异性低。

VTQ 又称声脉冲辐射(ARFI)技术,或剪切波技术,以声脉冲辐射力技术为基础产生剪切波,通过剪切波速度来定量测定组织硬度,克服了操作者的主观影响。研究^[5-7,11]表明肝脏的弹性模量与病毒性肝炎有较好的相关性,有可能挑战活检在肝脏纤维化评估中的地位。他莫昔芬灌胃前后兔肝脏 VTQ 对

比差异有统计学意义,且 AUC 大于 0.75,具有中等诊断价值。但是人类个体差异较大,如:肋间隙过窄、腹壁脂肪层过厚、检查过程中不配合等可能影响测量结果^[12-14]。

依据多变量分析发现 VTQ 联合多指标(二维超声、TC、TG),AUC 为 0.969,明显高于单一指标对应的 AUC。不但能消除干扰,而且还能提高诊断效率。其次,在临床工作中,根据线性内插法可以确定一到两个诊断点,把阳性和阴性者划分为三个范围(阳性、可疑阳性、阴性),对可疑阳性的患者进行定期观察随访,实施个体化治疗。

声触诊组织量化联合多指标提高了肝损害的诊断率,有望成为临床上乳腺癌患者内分泌治疗后肝损害筛查及预后的新标准。

参考文献

- [1] Torre L A ,Bray F ,Siegel R L ,et al. Global cancer statistics ,2012 [J]. *CA Cancer J Clin* 2015 ,65(2) : 87 - 108.
- [2] Zagouri F ,Liakou P ,Bartsch R ,et al. Discrepancies between ES-MO and NCCN breast cancer guidelines: an appraisal [J]. *Breast* , 2015 ,24(4) : 513 - 23.
- [3] Lin Y ,Liu J ,Zhang X ,et al. A prospective , randomized study on hepatotoxicity of anastrozole compared with tamoxifen in women with breast cancer [J]. *Cancer Sci* 2014 ,105(9) : 1182 - 8.
- [4] Zheng Q ,Xu F ,Nie M ,et al. Selective estrogen receptor modulator-associated nonalcoholic fatty liver disease improved survival in patients with breast cancer: aretrospective cohort analysis [J]. *Medicine (Baltimore)* 2015 ,94(40) : e1718.
- [5] Ballestri S ,Nascimbeni F ,Baldelli E ,et al. Ultrasonographic fatty liver indicator detects mild steatosis and correlates with metabolic/histological parameters in various liver diseases [J]. *Metabolism* , 2017 ,72: 57 - 65.
- [6] Joo S K ,Kim W ,Kim D ,et al. Steatosis severity affects the diagnostic performances of noninvasive fibrosis tests in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Liver Int* , 2018 ,38(2) : 331 - 41.
- [7] Montazerifar F ,Bakhshipour A R ,Karajibani M ,et al. Serum omentin-1 ,vaspin , and apelin levels and central obesity in patients with nonalcoholic fatty liver disease [J]. *J Res Med Sci* , 2017 ,22: 70.
- [8] Ruiz - Tovar J ,Alsina M E ,Alpera M R ,et al. Improvement of nonalcoholic fatty liver disease in morbidly obese patients after sleeve gastrectomy: association of ultrasonographic findings with lipid profile and liver enzymes [J]. *Acta Chir Belg* 2017 ,117(6) : 363 - 9.
- [9] Mishima M ,Toh U ,Iwakuma N ,et al. Evaluation of contrast Sonazoid-enhanced ultrasonography for the detection of hepatic metastases in breast cancer [J]. *Breast Cancer* ,2016 ,23(2) : 231 - 41.
- [10] Tang Y ,Zhao J ,Liu D ,et al. Evaluation of early kidney damage caused by brain death using real-time ultrasound elastography in a bama pig model [J]. *Ultrasound Med Biol* , 2017 ,43(10) : 2395 - 401.
- [11] Chen Y ,Luo Y ,Huang W ,et al. Machine-learning-based classification of real-time tissue elastography for hepatic fibrosis in patients with chronic hepatitis B [J]. *Comput Biol Med* ,2017 ,89: 18 - 23.
- [12] Ma Q ,Yang D R ,Xue B X ,et al. Transrectal real-time tissue elastography targeted biopsy coupled with peak strain index improves the detection of clinically important prostate cancer [J]. *Oncol Lett* ,2017 ,14(1) : 210 - 6.
- [13] Kamble R ,Sodhi K S ,Thapa B R ,et al. Liver acoustic radiation force impulse (ARFI) in childhood obesity: comparison and correlation with biochemical markers [J]. *J Ultrasound* ,2016 ,20(1) : 33 - 42.
- [14] Hendy O M ,Elsabaawy M M ,Aref M M ,et al. Evaluation of circulating zonulin as a potential marker in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease [J]. *APMIS* , 2017 ,125(7) : 607 - 13.

Multi-index combined diagnosis of hepatic injury in rabbits after tamoxifen application

Zhang Xu¹ ,Tian Rui^{2,3} ,Yan Yafei¹ , et al

(¹Dept of Ultrasound ,²Dept of Oncology ,Affiliated Hospital of Hebei University ,Baoding 071000;

³Hebei Key Laboratory of Cancer Radiotherapy and Chemotherapy ,Baoding 071000)

Abstract Twenty female New Zealand rabbits were randomly selected and given gavage with tamoxifen. Compared with the pathological results ,the accuracy of ultrasonic diagnosis of hepatic lesion was 77.78%. The area under the receiver operating characteristic curve (ROC) (AUC) of total cholesterol (TC) was 0.792 and triglyceride (TG) was 0.799. The area under the curve of virtual touch tissue quantification VTQ (AUC) was 0.792. The AUC of VTQ combined with the above indicators was 0.937 ,the rate of diagnosis of hepatic lesion was significantly higher than that of any single indicator ($P=0.003$). Therefore ,this method is expected to become a new standard for screening and assessing prognosis of liver damage after tamoxifen therapy in clinical breast cancer patients.

Key words tamoxifen; hepatic lesion; virtual touch tissue quantification