

## 한국 흑염소에 있어서 Indocyanine Green 배설시험

李 聖 燁 · 李 昌 雨

서울대학교 獸醫科大學

### 서 론

사람과 동물의 간장기능검사는 간장의 유기음 이온 수송기능(흡수포함 및 배설)에 근거를 두는 검사, 혈청 효소활성도 측정, 특히 생화학적 검사, 간장생검 및 방사선학적 검사 등으로 대별할 수 있고<sup>9)</sup> 그중 간장수송기능에 근거를 두는 배설기능 시험에는 bromsulphalein(BSP) 배설시험,<sup>1, 2, 11, 12, 13, 21, 31, 32, 33)</sup> indocyanine green(ICG) 배설시험,<sup>7, 9, 10, 16, 17, 19, 20, 24, 28, 29, 30)</sup> 혈청 빌리루빈<sup>8)</sup> 및 담즙산 농도<sup>3, 4, 18)</sup>의 측정 등이 있다.

간장의 배설능력을 판단하기 위한 검사법중 혈청 빌리루빈 농도는 소에 있어서 예민한 지표가 되지 못하며, 담즙산 농도의 측정은 정확성은 있지만<sup>3, 4, 18)</sup> 일반적으로 임상 검사실에서 보유하고 있지 않은 고가의 기재를 사용해야 하고 방법이 복잡한 단점 때문에 실용화 되기 어렵다. 따라서 소에 있어서는 BSP배설시험이 가장 널리 사용되어 왔으며, ICG배설시험은 1984년 Sato<sup>25)</sup>에 의해 처음 시도된 바 있다.

ICG는 사람에게 있어서 혈류량의 측정 및 심장 질환의 진단목적으로 Fox 등<sup>14, 15)</sup>에 의해 처음 이용된 색소의 일종으로서 그 후 사람,<sup>7, 17, 20, 22, 27, 30)</sup> 개,<sup>5, 20, 24, 28, 30)</sup> 고양이,<sup>6)</sup> 랫트,<sup>17)</sup> 토끼<sup>17)</sup> rhesus 원숭이 등<sup>20)</sup>의 동물에 있어서 간장의 배설기능에 근거를 둔 간장기능 검사법에 이용되어 왔다.

ICG는 지질단백과 결합하는 색소로서<sup>26)</sup> BSP

에 비해 다음과 같이 장점을 갖고 있다. 즉 ICG는 정맥주사 후 거의 대부분이 담즙중으로 배설되며,<sup>19, 30)</sup> 말초조직에서 흡수되지 않고<sup>7)</sup> 신장으로 배설되지 않으며,<sup>17, 20, 28, 30)</sup> 장간순환(enterohepatic circulation)이 되지 않고,<sup>30)</sup> 간장임파계로 확산되지 않으며,<sup>17)</sup> 진동기에 태반 통과가 안되는<sup>28)</sup> 특성들을 갖고 있다.

한국 흑염소는 체격이 작고 관리하기 용이하기 때문에 반추동물을 실험대상으로 하여야 할 때 바람직한 실험동물이라고 생각된다. 그러나 아직까지 흑염소를 사용한 ICG배설시험 보문을 찾아 볼 수 없었다. 그런 까닭에 흑염소를 이용하여 ICG배설시험 방법을 정립하고, 간장독성실험을 위한 ICG배설시험의 응용가능성을 조사하기 위하여 이 연구에 착수하였다.

### 재료 및 방법

시약: Indocyanine green(ICG, Diagnogreen®, 일본 第一製藥株式會社)

Potassium cyanide(KCN)액: KCN 15g과 sodium potassium tartrate 37.5g을 증류수에 용해하여 100ml의 수용액을 만든 다음, polyethylene 병에 담아 -20°C에서 보존하고 필요할 때 용해하여 사용하였다.

실험동물: 임상적으로 건강한 한국흑염소 6두(수컷 3두, 암컷 3두)를 albendazole로 구충하고

Table 1. Preparation of ICG Calibration Solutions

| Tube No. | Plasma (ml) | Saline (ml) | Standard ICG solution* (ml) | H <sub>2</sub> O (ml) | Equivalent to concentration of ICG (mg/100ml) |
|----------|-------------|-------------|-----------------------------|-----------------------|---|
| 1        | 1.0         | 1.0         | 0                           | 1.0                   | 0   |
| 2        | 1.0         | 1.0         | 0.1                         | 0.9                   | 0.1   |
| 3        | 1.0         | 1.0         | 0.2                         | 0.8                   | 0.2   |
| 4        | 1.0         | 1.0         | 0.4                         | 0.6                   | 0.4   |
| 5        | 1.0         | 1.0         | 0.6                         | 0.4                   | 0.6   |
| 6        | 1.0         | 1.0         | 0.8                         | 0.2                   | 0.8   |
| 7        | 1.0         | 1.0         | 1.0                         | 0                     | 1.0   |

\* : Contains 1mg of ICG per 100ml of distilled water.

Table 2. Preparation of ICG Solutions of Different Concentrations

| Tube No. | Plasma (ml) | Saline (ml) | Standard ICG solution* (ml) | H <sub>2</sub> O (ml) | Equivalent of concentration of ICG (mg/100ml) |
|----------|-------------|-------------|-----------------------------|-----------------------|---|
| Blank    | 1.0         | 1.0         | 0.                          | 1.0                   | 0   |
| 1        | 1.0         | 1.0         | 0.1                         | 0.9                   | 0.1   |
| 2        | 1.0         | 1.0         | 0.2                         | 0.8                   | 0.2   |
| 3        | 1.0         | 1.0         | 0.3                         | 0.7                   | 0.3   |
| 4        | 1.0         | 1.0         | 0.4                         | 0.6                   | 0.4   |
| 5        | 1.0         | 1.0         | 0.5                         | 0.5                   | 0.5   |
| 6        | 1.0         | 1.0         | 0.6                         | 0.4                   | 0.6   |
| 7        | 1.0         | 1.0         | 0.7                         | 0.3                   | 0.7   |
| 8        | 1.0         | 1.0         | 0.8                         | 0.2                   | 0.8   |
| 9        | 1.0         | 1.0         | 0.9                         | 0.1                   | 0.9   |
| 10       | 1.0         | 1.0         | 1.0                         | 0.                    | 0.0   |

\* : Contains 1mg of ICG per 100ml of distilled water.

3개월간 예비사육하여 체중이 14~23kg된 것을 실험동물로 사용하였다.

**ICG흡수곡선:** ICG의 최대흡수파장을 조사하기 위하여 흑염소의 경정맥에서 채혈하여 맹검혈액으로 사용하였으며, 3mg의 ICG를 경정맥내에 주사하고 2분후에 반대측 경정맥에서 채혈하여 주사후 혈액으로 사용하였다.

주사전 맹검혈액과 주사후 혈액은 각각 2 Na-EDTA로 처리한 원심관에 넣어 혼합한 후 3,000rpm으로 20분간 원심 분리하여 상층액을 생리식염수로 3배 희석(혈장1+생리식염수2)한 다음 분광광도계(Shimadzu UV-100-01)로 400nm에서 900nm까지 파장을 변화시켜 가며 흡광도를 측정하여 흡수곡선을 작성하였다.

**ICG표준곡선:** ICG농도의 측정을 위한 표준액은 Table 1과 같이 하였으며 Ueda<sup>27)</sup>에 준해 표준곡선을 작성하기 위하여 810nm에서 흡광도를 측정하였다.

**표준법과 KCN법의 비교:** Table 2와 같이 여러 가지 농도(0~1.0mg/100ml)의 ICG용액을 만들어 표준법과 KCN법에 의한 성적의 비교를 위한 시료로 사용하였다.

1. **표준법:** ICG를 전혀 첨가하지 않은 Table 2의 맹검을 대조로 하여 준비된 각 시료의 흡광도를 분광 광도계를 사용하여 810nm에서 측정하였다.

2. **KCN법:** 표준법과 같은 방법으로 각 시료의 흡광도를 측정하되, 각각의 시료 3ml에 KCN액

0.1ml를 가하여 ICG를 탈색시킨 시료를 맹검대신 대조로 하여 흡광도를 측정하였다.

표준법과 KCN법으로 측정한 성적들은 상관계수와 회귀방정식을 구하여 비교하였다.

ICG의 투여량에 따른 소실율 비교시험:

1. 소실곡선의 작성: ICG투여량에 따른 혈액내 ICG의 소실율을 비교하기 위해 체중 kg당 0.25, 0.50 또는 0.75mg을 투여한 후 다음과 같이 ICG의 소실율을 조사하였다.

ICG수용액을 경정맥에 5~7초간에 걸쳐 주사한 직후부터 시간을 측정하여 주사후 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14, 16 및 20분에 경시적으로 반대편 경정맥으로부터 혈액을 약 5ml씩 2Na-EDTA로 처리한 원심관에 채혈하였다. 채혈시간은 정확하게 기록 하였으며 혈액은 ice box내에 넣어 차광냉장 상태로 실험실까지 운반하였다. 혈액은 3,000rpm으로 20분간 원심 분리하여 혈장을 얻은 후 생리식염수로 3배 희석하고 KCN법으로 810nm에서 흡광도를 측정하여 투여량별로 소실곡선을 작성하였다.

2. ICG의 반감기(ICG  $T_{1/2}$ )와 Fractional clearance rate(KICG)의 측정: 경정맥에 ICG를 주사한 후 2분과 6분에 다른 쪽 경정맥에서 채혈하여 KCN법으로 810nm에서 흡광도를 측정한 성적을 편대수 방안에 의해 횡축을 채혈시간, 종축(대수눈금)을 흡광도로 하여 plot한 다음 두점을 통과하는 직선을 그어서 ICG  $T_{1/2}$ 를 산출하였다.

KICG는 다음의 공식으로 산출하였다.

$$KICG = \frac{0.693}{T_{1/2}(\text{minute})} (\ln 2 = 0.693)$$

투여량의 차이에 따르는 ICG  $T_{1/2}$ 과 KICG의 성적은 F-검정을 실시하여 비교하였다.

정상 염소에서의 ICG배설시험: 건강한 염소 26마리에 체중kg당 0.25mg의 ICG를 주사한 후 상술한 방법으로 ICG  $T_{1/2}$ 과 KICG를 측정하였다.

사염화탄소를 투여한 흑염소에 있어서 ICG  $T_{1/2}$ 의 경시적 변동: 사염화탄소를 투여하기 전에 실험동물 6마리의 ICG  $T_{1/2}$ 를 측정한 후 체중kg당 0.3ml의 사염화탄소와 동량의 유동과라핀을 혼합하여 제1위내 주사를 하였다. 사염화탄소 투

여 후, 1, 2, 3, 4, 5, 7, 9, 11 및 14일에 각 실험동물의 ICG  $T_{1/2}$ 를 측정하였다. 이때 ICG투여량은 체중kg당 0.25mg으로 하였다. 투여 전과 투여 후 성적의 비교는 paired data에 대한 t-검정을 하였다.

## 결 과

Indocyanine green(ICG)를 주사한 후, 채취한 혈액으로 부터 분리한 혈장은 약간의 용혈을 나타내고 있었으며, 흡수곡선은 Fig. 1과 같이 450, 550, 590 및 810nm에서 4개의 peak를 나타내었다.

ICG주사전 혈액으로 부터 분리한 비용혈 혈장과 생리식염수 및 ICG수용액(0.2mg / 100ml)을 각각 동량씩 혼합한 것을 시료로 사용하여 작성한 흡수곡선은 Fig. 2와 같이 810nm에서 단 하

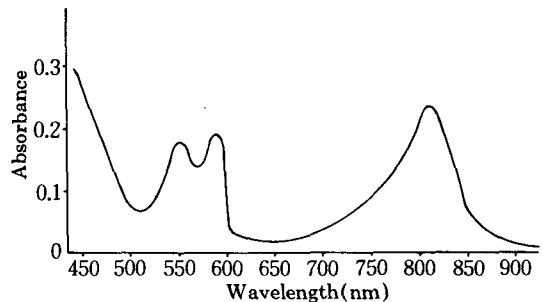


Fig. 1. Absorption spectrum of ICG in post-injection plasma which revealed slight hemolysis.

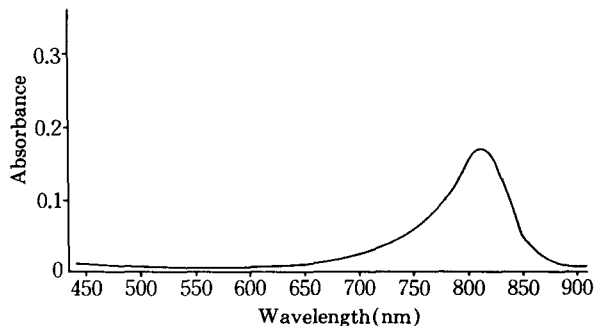


Fig. 2. Absorption spectrum of ICG in mixed solution containing equal volumes of ICG(0.2mg / 100ml), physiological saline and nonhemolytic goat plasma.

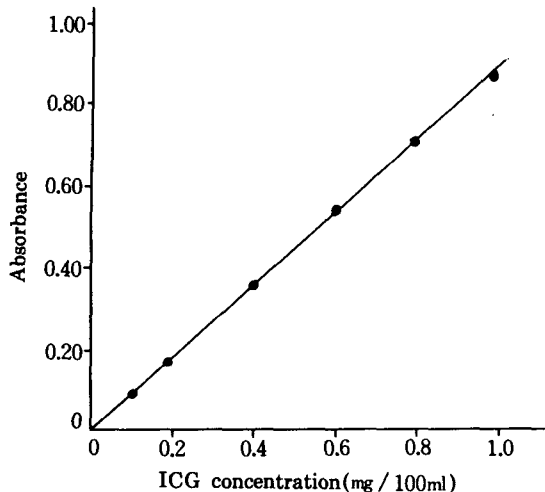


Fig. 3. Standard curve for quantitation of ICG in plasma.

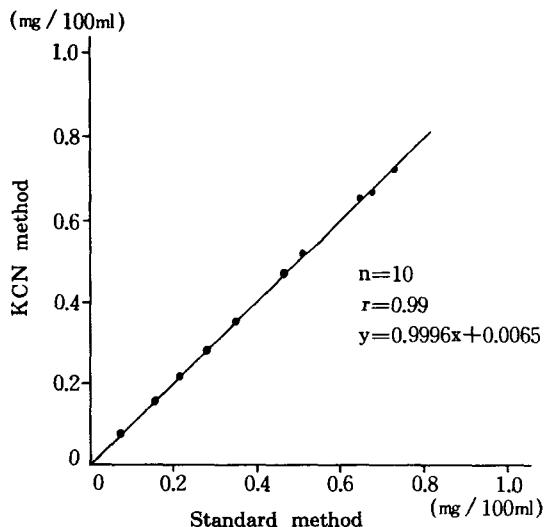


Fig. 4. Comparison of standard method and KCN method for quantitation of ICG. The absorbance of each ICG solution was read against blank in standard method and against each decolorized solution in KCN method.

나의 peak를 나타내었다.

Table 1과 같이 여러가지 농도의 ICG 표준액을 만들어 작성한 표준곡선은 Fig. 3과 같이 직선상을 나타내었다.

Table 2와 같이 준비한 여러가지 농도(0~1.0mg/100ml)의 ICG 용액의 흡광도를 표준법과 potassium cyanide(KCN)법에 의해 측정된 결

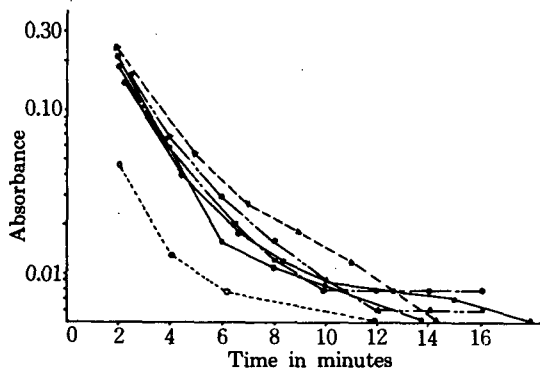


Fig. 5. Disappearance curves in 6 goats after administration of 0.25mg of ICG / kg body weight.

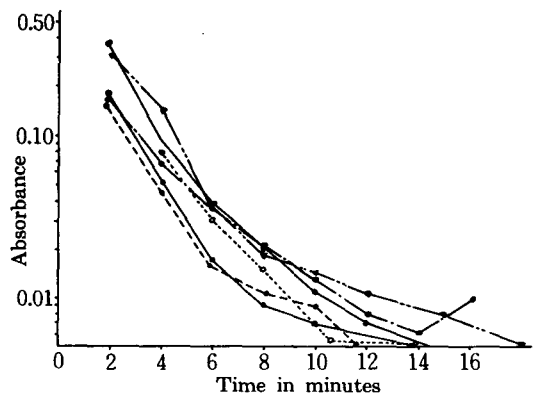


Fig. 6. Disappearance curves in 6 goats after administration of 0.50mg of ICG / kg body weight.

과는 Fig. 4와 같았으며 표준법과 KCN법은 상관계수  $r=0.999$ , 회귀곡선  $y=0.9996x+0.0065$ 로 거의 완벽한 상관관계를 나타내었다.

체중kg당 0.25, 0.50 및 0.75mg의 ICG를 정맥내 주사한 실험동물에 있어서 혈장내 ICG의 소실곡선은 각각 Fig. 5~7과 같았다. 즉, 체중kg당 0.25, 0.50mg을 주사하였을 경우에 혈장 ICG의 소실곡선은 주사후 6분까지 직선상을 나타내었으며 그 이후에는 점점 지연되는 경향을 나타내었다(Fig. 5, 6). 체중 kg당 0.75mg을 주사하였을 경우에 혈장 ICG의 소실곡선은 6두중 5두에서 10분까지 직선상을 나타내었고 그 이후에는 점점 지연되는 경향을 나타내었다(Fig. 7).

ICG의 투여량에 따른 반감기(ICG  $T_{1/2}$ )와 fractional clearance rate(KICG)는 Table 3과 같았으며 ICG  $T_{1/2}$ 과 KICG는 투여량을 달리해도 유

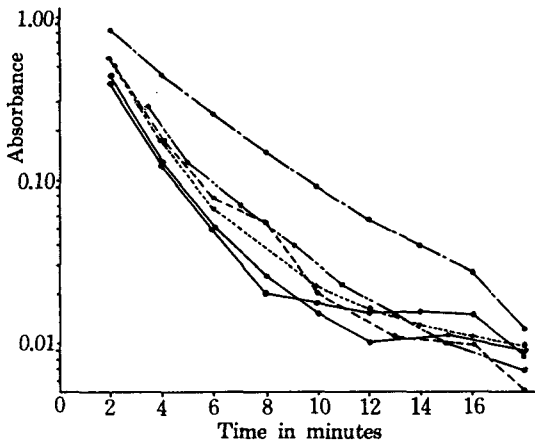


Fig. 7. Disappearance curves in 6 goats after administration of 0.75mg of ICG / kg body weight.

의차를 나타내지 않았다.

정상적인 염소 26마리에 대해 ICG배설시험을 한 결과 반감기는  $1.468 \pm 0.197$ 분(평균±표준편차)이었고 범위는 0.97~1.82분 이었으며, KICG는  $0.482 \pm 0.076$  / 분이었고 범위는 0.392~0.714 이었다.

ICG  $T_{1/2}$ 은 사염화탄소 투여전에  $1.15 \pm 0.05$ 분이었고 투여 후 급격히 증가하기 시작하였으며 3일에 투여전 수준의 평균 4.8배로 증가하여 최대치인  $5.40 \pm 1.41$ 분을 나타내었다. 그후 빨리 회복하여 7일에는  $2.03 \pm 0.16$ 분을 나타내었고 그 다음부터는 서서히 회복하여 14일에는  $1.34 \pm 0.10$ 분을 나타내었으나 이 때까지도 투여전 수준에 미치지 못하였다(Fig. 8).

실험기간중 ICG주사로 인한 부작용은 전혀 발견되지 않았다.

### 고 찰

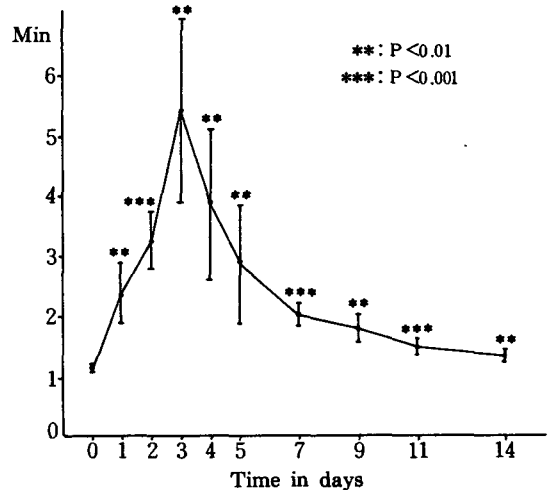


Fig. 8. Changes in half life of ICG in 6 goats administered with  $CCl_4$ . Vertical bar represents standard deviation.

Indocyanine green(ICG) 주사전 혈액으로 부터 분리된 비용혈 혈장, 생리식염수 및 ICG수용액(0.2mg/100ml)을 각각 동량(1:1:1)씩 혼합한 용액의 흡수곡선은 810nm에서 단 하나의 흡수 peak를 나타내었다. 혈장내 ICG의 최대흡수파장은 여러 연구자<sup>7, 14, 15, 17, 19, 22, 23, 25, 30, 34, 35</sup>에 따라 800~815nm라고 하였는데 이러한 차이는 실험동물과 실험실 조건의 차이에 기인한 것으로 사료된다.

한편, ICG를 주사한 후 채취한 혈액으로부터 분리한 혈장의 흡수곡선에서 810nm이외에 450, 550 및 590nm의 peak는 ICG의 흡광에 의한 peak가 아니고 용혈에 의해 혼합된 hemoglobin의 흡광에 의한 peak인 것으로 판단된다. 이 실험 진행중 흑염소에서는 ICG주사후 혈관내 용혈을 일으키는 개체가 많았으므로 흑염소에서는 주사전 혈장을 대조로 혈장 ICG농도를 측정하는 표

Table 3. Half Life( $T_{1/2}$ ) Values and Fractional Clearance Rates(KICG) after Administration of Different Doses of ICG

| Dose of ICG (mg/kg) | No. of goats | $T_{1/2}$ (min)   | Fractional clearance rate( /min) |
|---------------------|--------------|-------------------|----------------------------------|
| 0.25                | 6            | $1.433 \pm 0.214$ | $0.494 \pm 0.087$                |
| 0.50                | 6            | $1.433 \pm 0.256$ | $0.496 \pm 0.084$                |
| 0.75                | 6            | $1.567 \pm 0.389$ | $0.462 \pm 0.095$                |

준법은 응용하기가 곤란하다는 사실을 알 수 있었다.

표준법에서는 ICG주사전 혈장을 맹검으로 사용하여 혈장내 ICG의 흡광도를 측정하게 되어 있으나, 만일 연구자의 우발적인 실수로 주사전 맹검혈장을 얻지 못했을 경우에 potassium cyanide (KCN)<sup>36)</sup>, 초산제2철<sup>38)</sup> 또는 n-butanol<sup>37)</sup>을 사용하여 ICG주사 후 혈장내 ICG를 탈색시켜 맹검 혈장대신 사용하는 간이 방법이 개발되어 있다. 馬場 등<sup>35)</sup>은 ICG주사전 혈장 또는 주사후 혈장에서 용혈이 인정되면 표준법으로는 정확한 혈장 ICG농도를 측정할 수 없으나 주사후 혈장으로부터 ICG를 탈색하여 맹검혈장으로 사용하는 간이법을 응용하면 정확한 혈장 ICG 농도를 측정할 수 있다고 하였다. 그래서 저자는 간이법중 가장 정확도가 높은 것으로 알려진 KCN법과 표준법을 비교하였는데 그 결과 두 방법에 의한 성적에 차이가 없었음을 알 수 있었다. 그래서 이 실험 이후의 ICG농도의 측정은 KCN법으로 실시하였다.

ICG의 적정 투여량을 결정하기 위해 젓소에서의 실험<sup>39)</sup>을 참고하여 투여량을 체중kg당 0.25, 0.50 및 0.75mg의 세 수준으로 하였다. 세가지 투여량을 각각 주사했을 때 ICG의 소실곡선은 모두 주사후 2분에서 6분 사이에 직선상을 나타내었으며 그후 소실율이 감소하는 경향을 나타내었고, 혈장내 ICG의 반감기(ICG T<sub>1/2</sub>)와 fractional clearance rate(KICG)는 세 종류의 투여량 사이에 유의차가 없었으므로 어떤 수준의 용량을 투여해도 차이가 없을 것으로 생각된다.

KICG는 동물의 종에 따라 많은 차이가 나며 7, 17, 20, 22, 23, 25, 29, 30같은 동물에 있어서도 ICG의 투여량에 따라 차이가 날 수 있기<sup>17)</sup> 때문에 사용하려는 실험동물과 투여량에 따라 적합한채혈 간격을 결정하지 않으면 안된다. 이 실험결과에서 ICG를 체중kg당 0.25mg 투여하였을 때, KICG는 0.482±0.076/분이었으며 6분이 지나면 직선상을 나타내지 않는 경우가 있었으므로 채혈을 6분 이내에 완료하지 않으면 안될 것으로 사료된다.

흑염소를 이용한 간장독성시험에 있어서 ICG 배설시험의 응용 가능성을 조사하기 위하여 체중kg당 0.3ml의 사염화탄소를 제1위내에 주사한 흑염소에 체중kg당 0.25ml의 ICG를 투여하여 ICG T<sub>1/2</sub>을 조사한 결과 사염화탄소 투여전에 평균 1.15±0.05분이었고, 투여후 1일부터 급격히 증가하기 시작하였고, 투여후 3일에는 투여전 수준의 4.8배로 증가하여 최대치인 5.40±1.41분을 나타내었다. 그후 ICG T<sub>1/2</sub>은 감소하기 시작하였으나 14일에도 평균 1.34±0.10분을 나타내어 이때 까지도 투여전 수준에 비해 유의성 있게 높은 값을 유지하였다. 그러므로 이러한 결과들을 종합적으로 고찰할 때 ICG배설시험은 한국 흑염소에 있어서 간장손상 정도에 대한 예민한 자료로 이용될 수 있다고 사료된다.

## 결 론

한국흑염소에 있어서 indocyanine green(ICG)의 반감기 및 소실율을 구하기 위한 실험방법을 정립하고, 간장독성시험에 ICG 배설시험의 응용 가능성을 조사하기 위하여 수행한 실험결과는 다음과 같다.

1. 혈장내 ICG의 최대흡수파장은 810nm이었다.
2. 표준법과 potassium cyanide법으로 얻은 결과의 상관계수는 0.99이었고 두 방법간의 회귀함수  $y=0.996x+0.0065$ 이었다.
3. 편대수 방안지에 표시한 ICG의 소실곡선은 주사후 6분까지는 직선상을 나타내었으므로 ICG 주사후 6분 이내에 채혈하는 것이 바람직하였다.
4. ICG의 반감기와 소실율은 투여량을 달리하여도 차이가 없었다.
5. 정상적인 흑염소 26두에 체중kg당 0.25mg의 ICG를 투여한 후 혈장내 ICG의 반감기와 fractional clearance rate를 조사한 결과 각각 1.468±0.197(평균±표준편차)분과 0.482±0.076/분이었다.
6. 흑염소 6두에 체중kg당 0.3ml 사염화탄소를 제1위내 주사한 후 ICG를 체중kg당 0.25mg 투여하여 ICG의 반감기를 14일간 경시적으로 조사

한 결과 사염화탄소 투여전에는 평균  $1.5 \pm 0.05$ 분이었으며 투여한 1일부터 급격히 증가하기 시작하여 3일에는 투여전 수준의 4.8배로 증가하여 최대치인  $5.40 \pm 1.41$ 분을 나타내었다. 그후 회복되기 시작하였으나 14일에도  $1.34 \pm 0.10$ 분을 나타내어 이때 까지도 투여전 수준에 비해 유의성있게 높은 수준을 유지하였다.

그러므로 흑염소에 있어서 ICG의 혈장내 반감기는 간장손상 정도에 대한 예민한 지표로 사용할 수 있을 것으로 생각된다.

#### 참 고 문 헌

1. Brauer, R.W., Pessotti, R.L. and Krebs, J.S.: The distribution and excretion of  $S^{35}$ -labeled sulfobromophthalein- sodium administered to dogs by continuous infusion. *J. Clin. Investi.* (1955) 34:35.
2. Carbone, J.V., Grodsky, G.M. and Fanska, R.: Chemical and clinical studies of bromsulphalein (BSP) metabolites. *J. Clin. Investi.* (1959) 38:994.
3. Center, S.A., Baldwin, B.H., de Lahunta, A., Dietze, A.E. and Tennant, B.C.: Evaluation of serum bile acid concentrations for the diagnosis of portosystemic venous anomalies in the dog and cat. *J.A.V.M.A.* (1985) 186:1090.
4. Center, S.A., Baldwin, B.H., Erb, H.N. and Tennant, B.C.: Bile acid concentrations in the diagnosis of hepatobiliary disease in the dog. *J.A.V.M.A.* (1985) 187:935.
5. Center, S.A., Bunch, S.E., Baldwin, B.H., Hornbuckle, W.E. and Tennant, B.C.: Comparison of sulfobromophthalein and indocyanine green clearances in the dog. *Am. J. Vet. Res.* (1983) 44:722.
6. Center, S.A., Bunch, S.E., Baldwin, B.H., Hornbuckle, W.E. and Tennant, B.C.: Comparison of sulfobromophthalein and indocyanine green clearances in the cat. *Am. J. Vet. Res.* (1983) 44:727.
7. Cherrick, G.R., Stein, S.W., Levy, C.M. and Davidson, C.S.: Indocyanine green: Observations on its physical properties, plasma decay and hepatic extraction. *J. Clin. Investi.* (1960) 39:592.
8. Clarenburg, R. and Kao, C.C.: Shared and separate pathways for biliary excretion of bilirubin and BSP in rats. *Am. J. Physio.* (1973) 225:192.
9. Cornelius, C.E.: Liver function. in *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 3rd ed. edited by Kaneko, J.J. Academic Press, New York (1980) p. 201.
10. Cornelius, C.E. and Gronwall, R.R.: Congenital photosensitivity and hyperbilirubinemia in southdown sheep in the united states. *Am. J. Vet. Res.* (1968) 29:291.
11. Cornelius, C.E., Theilen, G.S. and Rhode, E.A.: Quantitative assessment of bovine liver function, using the sulfobromophthalein sodium clearance technique. *Am. J. Vet. Res.* (1958) 19:560.
12. Cornelius, C.E. and Wheat, J.D.: Bromsulphalein clearance in the horse-A quantitative liver function test. *Am. J. Vet. Res.* (1957) 18:369.
13. Fauvert, R.E.: The concept of hepatic clearance. *Gastroent.* (1959) 37:603.
14. Fox, I.J., Brooker, L.G.S., Heseltine, D.W., Essex, H.E. and Wood, E.H.: A tricarboyanine dye for continuous recording of dilution curves in whole blood independent of variations in blood oxygen saturation. *Proc. Mayo Clin.* (1957) 32:478.
15. Fox, I.J. and Wood, E.H.: Applications of dilution curves recorded from the right side of the heart or venous circulation with the aid of a new indicator dye. *Proc. Mayo Clin.* (1957) 32:541.
16. Hensen, M.A.: An outbreak of toxic liver injury in ruminants. *Nord. Vet. Med.* (1964) 16:323.
17. Hunton, D.B., Bollman, J.L. and Hoffman, H.N.: Studies of hepatic function with indocyanine green. *Gastroent.* (1960) 39:713.
18. Kaplowitz, N., Kok, E. and Javitt, N.B.: Postprandial serum bile acid for the detection of hepatobiliary disease. *J.A.V.M.A.* (1973) 225:292.
19. Ketterer, S.G., Wiegand, B.D. and Rapaport, E.: Hepatic uptake and biliary excretion of indocyanine green and its use in estimation of hepatic blood flow in dogs. *Am. J. Physio.* (1960) 199:481.
20. Leevy, C.M., Stein, S.W., Cherrick, G.R. and Davidson, C.S.: Indocyanine green clearance: A test of liver excretory function. *Clin. Res.* (1959) 7:290.
21. Morgan, H.C.: A qualitative sulfobromophthalein sodium retention test of liver function in the horse. *J.A.V.M.A.* (1959) 135:412.
22. Namihisa, T., Nanbu, K., Iizima, K., Ide, Y., Hisauchi, N., Sakurada, T., Rin, K., Kobayashi, Y., Morishita,

- H., Kasakura, E. and Watanabe, K.: Liver function test with indocyanine green. *Acta Hepatol. Japonica* (1963) 5:114.
23. Probst, P., Paumgartner, G., Caucig, H., Frohlich, H. and Grabner, G.: Studies on clearance and placental transfer of indocyanine green during labor. *Clin. Chim. Acta* (1970) 29:157.
24. Rapaport, E., Ketterer, S.G. and Wiegand, B.D.: Hepatic clearance of indocyanine green. *Clin. Res.* (1959) 7:289.
25. Sato, T.: Application of indocyanine green clearance test in dairy cows. *Jpn. J. Vet. Sci.* (1984) 46:687.
26. Tsuneoka, H., Yamaguchi, E., Taniguchi, B., Yamamoto, K., Hattori, Y. and Yoshinaka, H.: Studies on the indocyanine green binding serum protein. *Jap. J. Clin. Path.* (1979) 27:533.
27. Ueda, H., Kameda, T., Migita, T., Yamada, H., Iwase, T., Sugishita, H. and Saito, S.: Hepatic function test with indocyanine green. *Jpn. Med. J.* (1962) 2015:7.
28. Van Vleet, J.F. and Alberts, J.O.: Evaluation of liver function tests and liver biopsy in experimental carbon tetrachloride intoxication and extrahepatic bile duct obstruction in the dog. *Am. J. Vet. Res.* (1968) 29:2119.
29. Vogin, E.E., Moreno, O.M., Brodie, D.A. and Mattis, P.A.: Indocyanine green clearance in the rhesus monkey (*Macaca mulatta*). *J. Appl. Physiol.* (1966) 21:1880.
30. Wheeler, H.O., Cranston, W.I. and Meltzer, J.I.: Hepatic uptake and biliary excretion of indocyanine green in the dog. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* (1958) 99:11.
31. Wheeler, H.O., Meltzer, J.I. and Bradley, S.E.: Biliary transport and hepatic storage of sulfobromophthalein sodium in the unanesthetized dog, in normal man and in patients with hepatic disease. *J. Clin. Invest.* (1960) 39:1131.
32. Wheeler, H.O., Meltzer, J.I., Epstein, R.M. and Bradley, S.E.: Hepatic storage and biliary transport of bromsulfalein in dog and man. *J. Clin. Invest.* (1958) 37:942.
33. Yamane, O., Eguchi, H. and Sako, S.: Normal values of bromsulfalein test in cattle. *J. Jpn. Vet. Med. Assoc.* (1957) 10:505.
34. Yodoyama, Y., Takeshige, K., Kasuya, M., Fukuhara, Y., Sawada, M., Kato, Y., Kurokawa, K., Takagi, H., Takimoto, H., Sasanabe, J. and Yamamoto, S.: Hepatic function test with indocyanine green. *Acta Hepatol. Japonica* (1966) 7:86.
35. 馬場巽, 綱島勝政, 谷水功: KCN變色反應による血中 Indocyanine Green の簡易測定法について. *臨床病理*, (1971) 19:853.
36. 日本消化器病學會 肝機能研究會報告: インドシアニングリーン(ICG) 試験標準操作法. *日本消化器病學會誌*, (1968) 66:573.
37. 坪倉篤雄, 平田敏子, 細川洋子: Indocyanine Green (ICG)の新レイ測定法. *臨床病理*, (1970) 18 (總會號):26.
38. 臼井敏明, 河本裕子: 血中 Indocyanine Green(ICG)の新測定法について, 血中ICGの脱色剤の開発. *臨床病理*, (1970) 18:882.



## Indocyanine Green Excretion Test in Korean Black Goats

Sung-Yub Lee, D.V.M., M.S. and Chang-Woo Lee, D.V.M., Ph.D.

College of Veterinary Medicine, Seoul National University

### Abstract

This experiment was performed in order to establish a proper method to determine the half life of indocyanine green (ICG  $T_{1/2}$ ) and its fractional clearance rate (KICG) and investigate the applicability of indocyanine green (ICG) excretion test in hepatotoxicity experiment in Korean black goats. The results were as follows:

1. Maximum absorbance of ICG in plasma was at 810 nm in this experiment.
  2. The coefficient of correlation between the results obtained by standard method and potassium cyanide method was 0.99 and the regression equation between two methods was  $y=0.9996x+0.0065$ .
  3. As the disappearance curve of ICG plotted in semi-log graph revealed linear pattern at least for 6 minutes after injection, the postinjection blood samples were decided to collect at 2 and 6 minutes after ICG injection.
  4. ICG  $T_{1/2}$  and KICG values were not affected by dose level of ICG.
  5. When 0.25 mg of ICG per kg body weight was administered the normal data of ICG  $T_{1/2}$  and KICG in Korean black goats were  $1.468 \pm 0.197$  minutes (mean  $\pm$  SD) and  $0.482 \pm 0.076$  / minutes respectively.
  6. After administration of carbon tetrachloride, the ICG  $T_{1/2}$  started to increase acutely from day 1, revealed the peak at day 3, and then returned almostly but not completely to preinjection level at day 14. The ICG  $T_{1/2}$  value was suggested to be a sensitive indicator of hepatic injury in Korean black goats.
-