

개에서의 indocyanine green 배설시험 및 혈장효소 활성치의 변화

金哲浩*·崔日寬·孫民守·金晉龜·姜正夫
慶尙南道 家畜衛生試驗所*
慶尙大學校 獸醫科大學
(1991년 11월 16일 접수)

Indocyanine green excretion test and changes of plasma enzyme activities in dogs

Cheol-ho Kim*, Il-kwan Choi, Min-soo Son, Jin-gu Kim, Chung-boo Kang

*Gyeongsangnam Do Veterinary Service Laboratory **

College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University

(Received Nov 16, 1991)

Abstract : This experiment was carried out to establish a proper method of indocyanine green(ICG) excretion test for a applicable liver function test in dogs.

The half life(T_{1/2}), fractional clearance rate(KICG) and retention rate after injection of ICG with or without administered carbon tetrachloride(CCl₄) were also investigated.

The results obtained were as follows ;

1. The maximum absorbance of ICG in plasma was at 810nm.
2. Half life and fractional clearance rate when administered 0.25 and 0.50mg of ICG per Kilogram body weight were 6.33 ± 0.58 minutes and 0.11 ± 0.99 /minute in the former, 10.01 ± 1.0 minutes and 0.07 ± 0.007 /minute in the latter, respectively.

The ICG removal rate was exponentially linear for the first 15 minutes after injection both of 0.25 and 0.50mg of ICG.

3. One day following the administration of 0.0042ml CCl₄ kilogram body weight which injected 0.50mg of ICG, half life was more longer and fractional clearance rate was significantly reduced than that of ICG single injection.

4. Plasma retention rate when 15, 30, 45 minutes after injection dose of 0.25 and 0.50mg ICG per Kilogram body weight, 14.7 ± 4.8 , 5.1 ± 3.1 , 2.6 ± 1.6 % in the former, 26.9 ± 1.8 , 11.1 ± 2.4 , 4.8 ± 1.3 % in the latter, respectively.

However, after administration of CCl₄, plasma retention rate of ICG at a dose of 0.50mg, it was 39.3 ± 0.9 , 16 ± 2.9 , 10.7 ± 0.1 %, respectively.

5. Plasma enzyme(AST, ALT, r-GTP) activities administered with CCl₄ were increased, but there was no change which injected any dose of single ICG injection.

From these results, ICG excretion test to dog is applicable to evaluation of liver function in both clinical and research.

Key words : indocyanine green(ICG), retention rate, liver function, dog.

緒 論

肝臟機能 검사중 가축의 임상진단에 응용가능한 것은 매우 다양하고 많으나 기능별에 따라 분석법을 크게 분류하면 肝臟의 분비 및 배설기능, 단백질, 지질, 탄수화물, 비타민 및 홀몬대사의 같은 특유의 생화학적 기능, AST, ALT, r-GTP 등과 같은 혈장 또는 혈청효소 활성치의 동태에 근거한 방법과 이외 肝臟生檢 및 腹腔鏡 검사, 血管造影法 또는 Scintigraph法 등으로 나눌 수 있다. 이 중에서도 異物배설기능 시험으로 bromsulphotalein(BSP)배설시험이 肝臟 기능저하의 매우 예민한 지표로 알려져 많이 활용되어 왔으나^{2~7} 최근 indocyanine green(ICG) 색소가 BSP에 비해 우수함이 밝혀져 BSP 대신 ICG의 사용이 증가추세에 있다.^{8~10}

ICG는 albumin 및 lipoprotein과 결합하는 색소로 BSP에 비해 정맥주사후 대부분이 담즙중으로 배설되며^{9,11}, 말초조직에서 흡수되지 않고¹², 腎臟으로 배설되지 않으며 肝舒筋환이 없고 肝臟인파계로 확산(흡수)되지 않아 직선적인 배설을 하며 진통기에도 대반통과가 안되는 장점이 있기 때문이다.^{8,14}

최근 국내에서는 애완용 동물 특히 애완견의 보급이 널리 확산되어 가고 있어 간장기능 검사의 필요성이 매우 높고 절실할 것으로 생각된다.

가축에 대한 간장의 異物배설기능 시험에 대한 국내 보고로는 李와 李¹⁵, 任과 崔¹⁶가 있으나 재래종 흑염소에 관한 것으로 개에 대한 보고는 없어 개에서의 ICG 배설시험 방법의 정립 및 간장기능 검사에의 활용여부를 검토코저 ICG 단독 투여시 및 사염화탄소 투여후 ICG투여시의 반감기, 소실율, 정체를 및 혈중효소 활성치의 변화에 대한 실험을 실시키로 하였다.

材料 및 方法

供試動物 : 사육환경 및 관리가 비슷한 체중 27~30kg의 생후 8~10 개월령의 DHPPL을 2회 점종한 잡종견 3두(암컷 2두, 수컷 1두)로 임상적 관찰 및 AST, ALT, r-GTP의 혈중효소 활성치 검사에서도 아무 이상이 없음을 확인한후 사용하였다.

投與藥劑 : 色素劑로는 indocyanine green (Sigma Co., USA 및 第一製藥社製, 日本)을, 약물에 의한 간장 기능변화 추적을 위해서는 사염화탄소(CCl₄, 關東化學社製, 日本)를 사용하였다.

投與容量 및 方法 : 공시동물을 2군으로 나누어 체중 kg당 0.25mg 및 0.50mg의 ICG를 각각 3두에 경정맥내에 주사하였고 사염화탄소 투여에서는 실험실시 24시간 전에 체중 kg당 0.0042ml의 농도로 멸균생리식염수로

조절하여 2두(우)에 경정맥 투여후 ICG 농도는 체중 kg당 0.5mg으로 하여 실시하였다. 실험간격은 3주 간격으로 ICG 잔류가 없음을 확인하였고 사염화탄소 투여군에서는 3주이상의 회복후에도 특히 간장기능회복 여부는 혈중효소 활성치 분석후 정상임을 확인한후 투여하였다.

材料採取 : ICG 투여군 및 CCl₄투여 1일후 ICG 투여군에서의 채혈은 투여전과 투여후에는 기본적으로 5, 10, 15, 30, 45분으로 하여 주입한 반대측 경정맥으로부터 遮光한 상태에서 항응고제(2Na-EDTA)처리한 시험관에 넣어 혼합한후 3,000rpm 20분간 원심분리, 상층액을 분리하여 분석시까지 -20℃에 보존하였다.

分析項目 및 方法 : ICG용해액 및 補正용해액 作製는 李와 李의 방법¹⁵에 거의 준하였으나 補正용해액에서는 혈장, 생리식염수, ICG 표준용액(1mg/100ml), 증류수 등은 오차를 최소화 하기 위해 각각 2배량의 용량으로 하여 조제하였다. ICG 투여에서의 반감기(T 1/2), 혈장소실을 역시 李와 李의 방법¹⁵에 준하였다. 정체를 시간대의 ICG 혈중농도를 처음 투여시의 혈중농도로 나누어 여기에 100을 곱하여 나타내었다. AST, ALT, r-GTP의 혈장효소 혈장치는 亞山製藥(株)의 Kit를 사용해 측정하였다.

結 果

波長別에 대한 흡수곡선 : ICG를 투여한 후의 혈장에서의 흡수곡선은 Fig 1과 같이 810nm에서 흡수율이 제일 높았고 400~650nm 사이에는 낮았고, 670nm에서는 흡수되지 않았음을 알 수 있었다(Fig 1).

標準曲線 : ICG농도를 0-1.0mg/100ml로 하였을 때의 표준곡선(N=3)은 Fig 2와 같이 직선적이었다(Fig 2).

血中の 消失曲線 : ICG 농도를 체중 kg당 0.25mg으로 하였을 때의 소실곡선은 Fig 3과 같이 투여후 15분에서 거의 대부분이 소실되었으나 투여후 45분까지도 극미량의 잔류가 있음을 알 수 있었고, 투여후 15분까지는 직선상의 감소를 이하는 점차 지연되는 경향을 나타내었다(Fig 3).

ICG 농도를 체중 kg당 0.50mg으로 하였을 때의 소실곡선 역시 투여후 15분에서 거의 대부분이 소실되었으나 이후는 소실정도가 완만하였으며 45분에서의 ICG의 혈장잔류는 0.25mg에서 보다 높았다(Fig 4).

사염화탄소는 투여 1일후 ICG 농도를 0.50mg으로 하여 투여하였을 때의 소실곡선은 투여후 30분까지는 완만한 감소를 나타내었으나 이후 45분까지에서는 거의 감소하는 경향을 보이지 않아 같은 용량의 ICG 단독투여시와는 뚜렷한 차이가 있음을 알 수 있다(Fig 5).

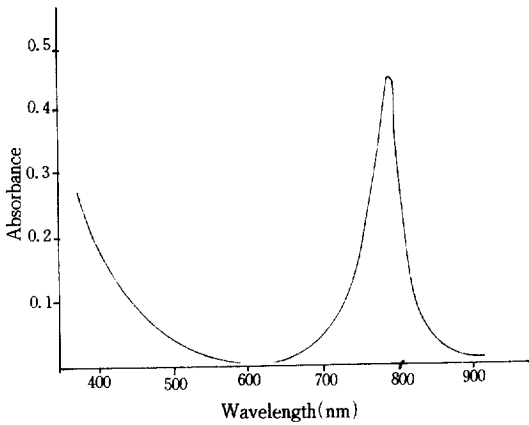


Fig 1. Absorption spectrum of ICG in plasma.

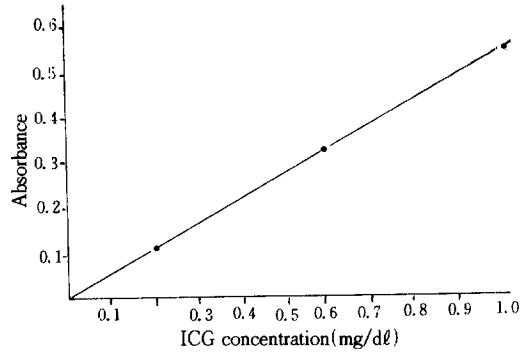


Fig 2. Standard curve for determination of ICG plasma clearance.

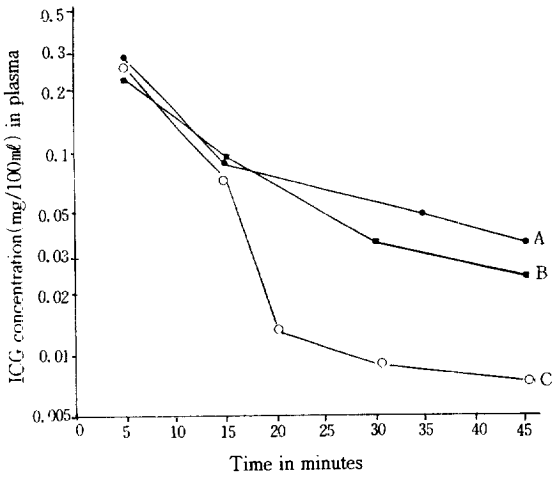


Fig 3. Disappearance curves after administration of ICG (0.25mg/kg B.W.) in dogs.

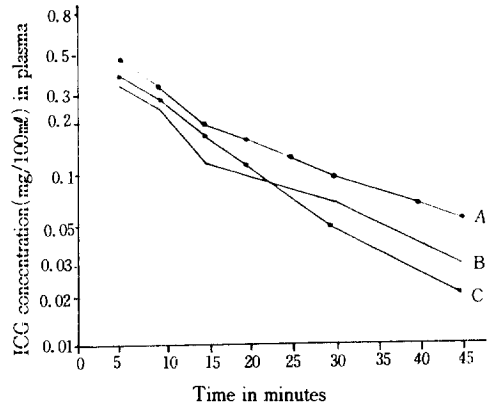


Fig 4. Disappearance curves after administration of ICG (0.5mg/kg B.W.) in dogs.

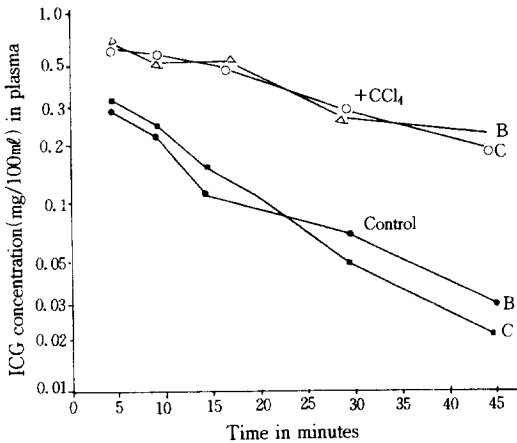


Fig 5. Disappearance curves after administration of ICG (0.5mg/kg B.W.) with without pretreatment of CCl₄ in dog B and C

Table 1. Half life (T_{1/2}) values, fractional clearance rates (KICG) and retention rates (\bar{R}) in dogs after administration of different doses of ICG

Dose (mg/kg)	No. of dogs	T _{1/2} (min)	KICG (/min)	\bar{R} (%)		
				15	30	45
0.25	3	6.33±0.58	0.11±0.09	14.7±4.8	5.1±3.1	2.6±1.6
0.50	3	10.01±1.0	0.07±0.007	26.9±1.8	11.1±2.4	4.8±1.3
0.50*	3	12.0±1.4	0.60±0.004	39.3±0.9	16.1±2.9	10.7±0.1

* Pretreated with CCl₄(0.004ml/kg body weight)IV

Table 2. Plasma enzyme activities of AST, ALT and r-GTP before and after administration of ICG in dogs pretreated with CCl₄ or not

CCl ₄ Pretreated		Enzyme activities		
		AST(K.U.)	ALT(K.U.)	r-GTP(mU/ml)
None	before	10±5.6	7.3±1.5	11.7±2.9
	after	9±0.4	6.8±0.4	10.6±2.6
Yes	before	10±5.6	7.3±1.5	11.7±2.9
	after	24±8.4	12.8±3.5	16.5±2.1

반감기, 혈장소실율 및 정체율 : ICG 농도를 체중 kg 당 0.25mg으로 하였을 때의 반감기는 평균 6.33분이었고 혈장 소실율은 평균 0.11/분이었고, 0.50mg에서는 평균 10.01분 및 0.07/분이었다.

사염화탄소 투여 1일 후 ICG 0.50mg에서는 반감기는 평균 12.0분이었고, 혈장소실율은 평균 0.06/분이었다.

ICG 0.25mg에서는 ICG투여후 15, 30, 45분에서의 정체율은 평균 27.4, 14.7, 5.1, 2.6%이었고, 0.50mg에서는 0.25mg에서보다 정체율이 높았으나 사염화탄소 투여후의 0.50mg 투여군에서는 ICG 단독 0.50mg 투여군보다 정체율이 현저히 증가하였다(Table 1).

혈장효소 활성치 : 사염화탄소 투여후의 ICG 주입군 및 ICG 단독주입군에서의 효소 활성치의 변동은 Table 2와 같이 사염화탄소 투여후의 ICG 주입군에서는 AST, ALT 및 r-GTP의 상승을 볼 수 있었으나 ICG 단독투여군에서는 투여전·후에 따른 변동은 없었다. 또한 사용한 ICG는 제조회사별로 다른 차이는 볼 수 없었으며 실험기관중 ICG에 의한 부작용 역시 볼 수 없었다.

考 察

ICG의 최대흡수는 Cherrick 등¹²은 사람에서는 815nm, Ketterer 등⁹은 개에서, Hunton 등⁸은 사람 및 토끼에서, Lee와 Lee는 한국흑염소에서 810nm로 보고하였고, 본 실험에서도 810nm에서 단 하나의 최대흡수를 나타내어 810nm가 가장 이상적임을 알 수 있었다.

Lee와 Lee¹⁵의 흑염소의 성적을 근거로 본 실험의 체중 kg당 0.25 및 0.50mg의 반감기는 투여량이 많으면 길어지고 혈장소실율은 감소하는 경향을 나타내었는데 이와 같은 현상은 Sato¹⁰의 소에서의 0.25, 0.50 및 0.75mg으로 하였을 때 반감기는 ICG의 투여량이 0.25mg일 때는 짧고, 혈장소실율은 높은 대신 0.50 및 0.75mg에서는 점점 반감기가 길어지고 혈장소실율은 낮아졌다는 내용과는 같았으나 결과치에서는 상당한 차이가 있어 표준치의 확립에는 앞으로 보다 많은 개체에 대한 분석이 필요할 것으로 생각된다. 투여량은 0.25 및 0.50mg에서 투여후 15분까지는 다같이 직선적인 소실로 크게 차이는 없었으나 이후의 변화의 추적에는 0.50mg이 적당한 것으로 생각되었다.

Hunton 등⁸은 개에서 체중 kg당 ICG 투여량을 0.4~0.6, 사람에게는 0.25mg으로, 혈중소실은 투여후 10~15분간이 더욱더 직선적이었고 혈장소실율은 0.032~0.039/분으로 보고하였다. 본 실험에서도 ICG 농도를 체중 kg당 0.50mg으로하고 사염화탄소를 체중 kg당 0.042ml의 극소량을 정맥주사한 다음 ICG를 투여한 그룹

과 ICG 단독투여 그룹간에서 전자에서는 반감기는 12.0±1.4분으로 길고, 혈장소실율은 0.06±0.04/분으로 낮았으며 더우기 정체율은 투여후 15분에서도 약 40%, 45분에서도 약 11%의 정체율을 보여 ICG단독 투여군과는 현저한 차이가 있음을 알 수 있었다. 이상과 같은 소견은 사염화탄소는 간세포의 구조적, 기능적 손상을 유발하고 ribosome내 효소활성의 저하와 단백질 합성을 억제해 간세포의 괴사와 간세포내 지질침착을 일으키는 것으로 알려져 있는 사실과 깊은 관련이 있는 것으로 생각된다.¹⁷⁻¹⁹

혈중효소 활성치에서는 ICG의 투여용량(0.25 및 0.50mg)에서의 차이는 물론 투여전후에 있어서도 변화를 볼 수 없었으나 사염화탄소 투여후의 AST, ALT, r-GTP 활성치는 투여전과 비교해서는 다같이 증가하였으나 국내사육견에 대한 정상치가 확립되어 있지 않아 어려움이 있으나 사염화탄소의 투여로 인한 간세포 손상을 반영하고 있는 것으로 추측되어 앞으로는 병리조직 소견에 대한 검토도 동시에 실시되어야 할 것으로 생각된다.

結 論

개에 대한 간장기능 검사의 한 방편으로 ICG 배설시험의 방법의 정립 및 임상에서의 활용여부를 검토코져 ICG 단독투여시 및 사염화탄소 주사후 ICG 투여시에서의 반감기, 소실율, 정체율 및 혈중효소 활성치의 변화에 대한 결과는 다음과 같다.

1. 개에서의 혈중의 ICG 최대 흡수는 810nm이었다.
2. ICG 투여량을 체중 kg당 0.25 및 0.50mg으로 하였을 때의 반감기 및 혈장소실율은 전자에서는 6.33±0.58분, 0.11±0.09/분이었고, 후자에서는 10.01±1.0분, 0.07±0.007/분이었고 투여후 15분까지는 다같이 직선적인 혈중소실을 나타내었다.
3. 사염화탄소 주사후 체중 kg당 ICG를 0.50mg으로 투여한 군에서의 반감기 및 혈장소실율은 12.01±1.4분, 0.06±0.004/분으로 ICG 단독 투여군과 비교해 반감기는 길고 혈장소실율은 낮았다.
4. 혈중정체율은 체중 kg당 ICG 투여량을 0.25mg 및 0.50mg으로 하였을 때의 투여후 15, 30 및 45분에서의 정체율은 전자에서는 14.7±4.8, 5.1±3.1, 2.6±1.6%이었고, 후자에서는 26.9±1.8, 11.1±2.4, 4.8±1.3%이었다. 사염화탄소 투여후 ICG 농도 0.50mg에서의 정체율은 각각 39.3±0.9, 16.1±2.9 및 10.7±0.1%이었다.
5. ICG 투여량을 체중 kg당 0.25 및 0.50mg으로 하였을 때의 투여전후에 대한 혈중효소 활성치(AST, AL-

T 및 r-GTP)에 대한 변동은 전혀 볼 수 없었으나 사염화탄소 주사후의 상기의 효소 활성치는 다같이 상승하였다.

이상과 같은 결과에서 ICG 배설시험은 개에서의 간장기능 검사의 활용에 충분히 활용될 수 있을 것으로 판단된다.

參 考 文 獻

1. Cornelius CE. Liver function in Chincial Biochemistry of Domesic Animals. 3rd ed. edited by Kaneko, J.J. Academic Press, New York 1980 : 201~257.
2. Brauer RW, Pessotti RL, Krebs JS. The distribution and excretion of S³⁵-labeled sulfobromophthalein-sodium administered to dogs by continuous infusion. *J Clin Invest* 1955 ; 34 : 35~42.
3. Carbone JV, Grodsky GM, Fanska R. Chemical and clinical studies of bromsulfalein(BSP) metabolites. *J Clin Invest* 1959 ; 38 : 994~998.
4. Cornelius CE, Theilen GS, Rhode EA. Quantitative assessment of bovine liver function, using the sulfobromophthalein sodium clearance technique. *Am J Vet Res* 1958 ; 19 : 560~571.
5. Morgan HC. A Qualitative sulfobromphthalein sodium retention test of liver function in the horse. *JAVMA* 1959 ; 135 : 412~417.
6. Wheeler HO, Meltzer JI, Epstein PM, et al. Hepatic storage and biliary transport of bromsulfalein in dog and man. *J Clin Invest* 1958 ; 37 : 942~950.
7. Yamane O, Equchi H, Sako S. Normal values of bromsulfalein test in cattle. *J Jpn Vet Med Assoc* 1957 ; 10 : 505~511.
8. Hunton DB, Bollman JL, Hoffman HN. studies of hepatic function with indocyanine green. *Gastroent* 1960 ; 39 : 713~718.
9. Ketterer SG, Wiegand BD, Rapaport E. Hepatic uptake and Biliary excretion of indocyanine green and its use in estimation of hepatic blood flow in dogs. *Am J Physiol* 1960 ; 199 : 481~489.
10. Sato T. Application of indocyanine green clearance test in dairy cows. *Jpn J Vet Sci* 1984 ; 46 : 687~695.
11. Wheeler HO, Cranston WI, Meltzer JI. Hepatic uptake and biliary excretion of indocyanine green in the dog. *Proc Soc Exp Biol Med* 1958 ; 99 : 11~19.
12. Cherrick GR, Stein SW, Levy CM, et al. Indocyanine green : Observations on its physical properties, plasma decay and hepatic extraction. *J Clin Invest* 1960 ; 39 : 592~601.
13. Leevy CM, Stein SW, Cherrick GR, et al. Indocyanine green clearance : A test of liver excretory function. *Clin Res* 1959 ; 7 : 290~295.
14. Probst P, Paumgartner G, Caucing H, et al. Studies on clearance and placental transfer of indocyanine green during labor. *Clin Chim Acta* 1970 ; 29 : 157~162.
15. 李聖燁, 李昌雨. 한국흑염소에 있어서 indocyanine green 배설시험. *韓國臨床獸醫學會誌* 1987 ; 4(2) : 29~37.
16. 任正堤, 崔熙仁. 한국흑염소에 있어서 사염화탄소와 1-naphthylisothiocyanate 투여시의 간기능 변화. *韓國臨床獸醫學會誌* 1990 ; 7(7) : 11~20.
17. Adam SEI. A review of drug hepatotoxicity in animals. *Veterinary bulletin* 1972 ; 42 : 68.
18. Anderson PH, Matthews JG, Berrett S, et al. Changes in plasma enzyme activities and other blood components in response to acute and chronic liver damage in cattle. *Res Sci* 1981 ; 31 : 1~6.
19. Van Vleet JF, Alberts JO. Evaluation of liver function tests and liver biopsy in experimental caebron tetrachloride intoxication and extrahepatic bile duct obstruction in the dog. *Am J Vet Res* 1968 ; 29 : 2119~2223.