

# 간의 허혈 재관류 손상 측정 도구로서의 Bioelectrical Impedance의 의의

<sup>1</sup>영남대학교 의과대학 외과학교실, <sup>2</sup>영남대학교 의료공학연구소

조용석<sup>1</sup>, 윤성수<sup>1,2</sup>, 신현진<sup>2</sup>, 안현수<sup>2</sup>, 이동식<sup>1</sup>, 김홍진<sup>1</sup>

## Significance of Bioelectrical Impedance during Ischemia-Reperfusion Injury in the Rabbit's Liver

Yong Seok Cho<sup>1</sup>, M.D., Sung Su Yun<sup>1,2</sup>, M.D.,  
Hyun Jin Shin<sup>2</sup>, Ph.D., Hyun Soo Ahn<sup>2</sup>, Ph.D.,  
Dong Shik Lee<sup>1</sup>, M.D., Hong Jin Kim<sup>1</sup>, M.D.

<sup>1</sup>Department of Surgery and <sup>2</sup>Research Institute of Biomedical Engineering, Yeungnam University College of Medicine, Daegu, Korea

**Purpose:** During liver resection and transplantation, liver is damaged by ischemia-reperfusion injury. Until now, there is no approved method to measure or predict the extent of liver injury during the operation. This is the preliminary study to make the real time monitoring system by quantification of bioelectrical impedance and ischemia-reperfusion injury in liver.

**Methods:** Male Newzealand white rabbits (body weight 3.5-4.0 kg) were used. We observed changes of bioelectrical impedance during ischemia and reperfusion injury according to frequency (120 Hz-100 KHz). Bioelectrical impedance of liver tissue were measured every 5 minutes interval with two mono-polar needle coated with platinum using LCR meter (GS-4311B, ANDO, Japan). Cell viability was assessed by metabolic capacity of fatty acid (palmitic acid metabolic rate) and histologic examination (H&E stain) at every 30 minutes interval during 120 minutes ischemia.

**Results:** Liver bioelectrical impedance was changed significantly ( $p < 0.05$ ) during ischemia in lower frequency compared to those of higher frequency. Bioelectrical impedance (120 Hz) increased during ischemia and returned to base line level after reperfusion. The level of bioelectrical impedance (120 Hz) increased gradually after ischemia for 1 hour. After 1 hour, the level of bioelectrical impedance had tendency to maintain plateau. Palmitic acid oxidation rate were not changed significantly during 120 minutes ischemia and there were no significant difference in histologic examination.

**Conclusion:** We found the possible role of bioelectrical impedance to measure and predict the extent of ischemia-reperfusion injury.

**Key words:** Liver, Ischemia, Reperfusion, Bioelectrical Impedance

**중심 단어:** 간, 허혈, 재관류, 생체전기저항

## 서론

최근 간 절제술 및 간 이식술의 성적이 획기적으로 개선되었지만, 술 후 간 기능 부전에 의한 사망은 여전히 심각한 문제로 남아 있으며, 주요 원인은 수술 중 받은 허혈 및 재관류 손상으로 알려져 있다. 간 수술 중에 발생하는 허혈 및 재관류 손상은 피할 수 없는 과정으로, 간 절제술시는 간의 구동과정 (hepatic mobilization)과 출혈을 줄이기 위한 인위적 혈류폐쇄가 주원인이 되며, 간이식 중에는 이식 간의 적출에서 문합에 이르기까지의 허혈손상과 문합 후 재관류에 따르는 손상은 피할 수 없는 과정이기 때문이다.

간 수술 전 외과기가 시행하는 간 예비능 검사는 다양한 종류가 소개되어 있다.<sup>1-5</sup> 그러나, 간 수술 중에 발생하는 허혈 및 재관류 손상은 술 후 간 기능 부전과 직접 연계되어, 술 후 예후를 결정하는 큰 요소임에도 불구하고, 술 중 이를 실시간으로 측정할 수 있는 적절한 방법을 찾을 수 없다.

이에 저자들은 간 허혈 손상시 간의 bioelectrical impedance (bioimpedance, 생체 전기 저항: 이하생략)가 변화한다는 사실에 착안하여<sup>6-10</sup> 본 연구를 계획하게 되었고, 간의 허혈-재관류 손상과 간 조직 bioelectrical impedance 변화와의 상관관계와 허혈-재관류 손상을 조직학적 측면에서 관찰하고, 술 중 간의 허혈-재관류 손상 측정 도구로서 간 조직 bioelectrical impedance의 변화가 가지는 의미를 알기 위하여 본 연구를 시행하였다.

책임저자: 윤성수  
대구광역시 남구 대명동 317-1 ☎ 705-717  
영남대학교 의과대학 외과학교실  
Tel: 053-620-3590, Fax: 053-624-1213,  
E-mail: sssyun@med.yu.ac.kr

※본 연구는 2004년 한국과학재단 지역대학 우수과학자 지원 연구비로 진행되었음.  
2005년 춘계간담체외과학회에서 구연 되었음.

## 방 법

### 실험동물

실험동물은 체중 3~4 kg의 Newzealand white 중 수컷 토끼(효창사이언스, 한국)로 실험환경 적응기간 동안 고형 사료(제일제당)와 물을 자유롭게 먹게 하였다. 시술 전 12 시간 금식 시킨 후 실험을 시행하였고 pentobarbital sodium (20 mg/kg B.W.) 및 ketamine (2.22 mg/kg B.W.) 을 정맥 주사하여 전신마취 하였다.

### 간의 허혈-재관류 손상과 간 조직 bioelectrical impedance 변화 측정

Bioelectrical impedance의 측정은 직경 0.2 mm의 백금으로 도금된 mono-polar needle 전극 2개를 10 mm 간격으로 간 조직에 삽입 고정시킨 후, LCR meter (GS-4311B, ANDO, Japan)를 이용하여 양극 간에 다양한 교류전류 (120 Hz - 100 KHz)를 인가하여 5분 간격으로 연속 관찰 하였다.

간의 허혈-재관류 손상과 간조직 bioelectrical impedance 변화와의 상관관계를 규명하고, 술 중 간의 허혈-재관류 손상 측정 도구로서 간 조직 bioelectrical impedance의 변화가 가지는 의미를 알기 위하여 세 가지 실험을 시행하였다.

### 실험 1. 간 허혈 손상을 예견 할 수 있는 주파수 대역을 찾기 위한 관찰 (n=5)

간의 허혈 손상을 가장 정확히 예견하는 주파수 대역을 찾기 위해 5마리의 토끼는 마취 후 절개 부위를 소독한 다음 정중절개로 개복하여 간을 노출시키고 간으로 가는 간 문맥과 간 동맥을 확인하여 혈관용 겸자로 완전히 차단하여 간에 허혈 손상을 주었다. 허혈 유도 후 bioelectrical impedance 측정은 120 Hz, 1.2 KHz, 12 KHz, 62.5 KHz 및 100 KHz을 인가하여 5분 간격 연속적으로 관찰하였다.

### 실험 2. 허혈-재관류 손상에 대한 bioelectrical impedance 변화 관찰 (n=5)

간의 허혈 손상을 가장 정확히 예견 하는 주파수를 인가 후, 같은 방법으로 허혈손상을 유도하고, 허혈 유도 30분 후에 겸자를 제거하여 재관류 시켰다. 허혈 유도 전, 유도 후 5분 간격으로 bioelectrical impedance를 측정하였다.

### 실험 3. 2시간 연속 허혈 손상 중 bioelectrical impedance의 변화 관찰 (n=5)

간의 허혈 손상을 가장 정확히 예견 하는 주파수를 인가 후, 같은 방법으로 허혈손상을 2시간 연속 유도하고, bioelectrical impedance를 5분 간격으로 측정하였다.

### 간세포의 생존율

간 조직에 2시간 연속 허혈 손상을 유도하고, 허혈 유도 후

30분 간격으로 조직을 채취, 간조직의 지방대사율을 측정 함으로서 간세포의 생존율을 간접 측정하였다. 간략히 설명하면 허혈에 노출된 간엽과 노출되지 않은 간엽을 모두 채취하여 지방산 대사율을 분석하였다. 간 조직 70 mg 정도를 절제하여 SETH buffer (260 mM sucrose, 1 mM EDTA, 10 mM Tris-HCl, pH 7.4)로 20배 희석한 후 teflon pestle을 이용하여 균질화하였다. 대사율을 알아보기 위해 14C-palmitic acid를 사용하여 대사 후 나오는 이산화탄소를 NaOH로 포집하여 액체섬광계수기 (liquid scintillation counter)로 측정하였다.<sup>11</sup>

### 조직학적 관찰

허혈손상을 2시간 연속 유도하고, 매 30분 간격으로 간 조직을 채취 통상적인 방법으로 Hematoxyline & Eosin 염색 하고 광학현미경으로 조직의 변화를 관찰하였다.

### 통계처리

본 실험에서 얻은 측정치의 통계학적 분석은 SPSS (12.0 Version)을 이용하여 반복측정에 의한 일원변량 분석을 시행하였고 p<0.05에서 통계적으로 유의하다고 판단하였다.

## 결 과

### 간의 허혈 손상을 가장 정확히 예견 하는 주파수 대역

간에 허혈 손상을 유도 후 120 Hz, 1.2 KHz, 12 KHz, 62.5 KHz 및 100 KHz을 인가하여 관찰한 bioelectrical impedance의 변화를 Fig. 1.에 나타내었다. 주파수가 높을 수록 간의 허혈 손상을 나타내는 변별력이 떨어짐을 알 수 있었고, 실험 2와 3을 위한 주파수를 120 Hz로 정할 수 있었다 (Fig. 1).

### 허혈-재관류 후 bioelectrical impedance의 변화 관찰

간 조직에 120 Hz의 교류전류를 인가하고 30분간 허혈 손상을 유도하고 재관류 후 20분 동안 연속하여 bioelectrical impedance를 측정한 변화를 Fig. 2에 도시 하였다. 허혈 유도 전, 유도 후 5, 10, 15, 20, 25 및 30분의 bioelectrical impedance는 각각  $4.13 \pm 0.22$  (Mean  $\pm$  SD; 이하 생략),  $4.57 \pm 0.22$ ,  $4.89 \pm 0.38$ ,  $5.57 \pm 0.77$ ,  $6.19 \pm 0.72$ ,  $7.18 \pm 0.65$ ,  $8.58 \pm 0.69$  k $\Omega$ 으로 점차적인 상승을 보였으며, 재관류 후 5, 10, 15 및 20분 후의 bioelectrical impedance는  $7.57 \pm 0.56$ ,  $7.02 \pm 0.45$ ,  $6.52 \pm 0.58$  및  $6.29 \pm 0.61$  k $\Omega$ 으로 감소하는 경향을 보였다 (Fig. 2).

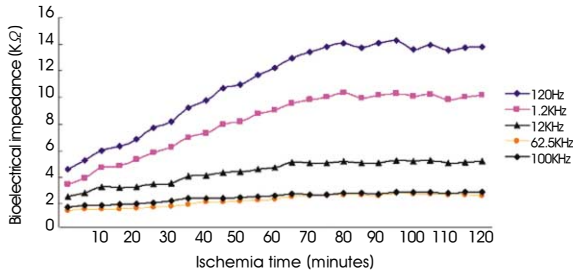


Fig. 1. Changes of bioelectrical impedance in liver during ischemia according to frequency 120 Hz to 100 KHz (n=5)

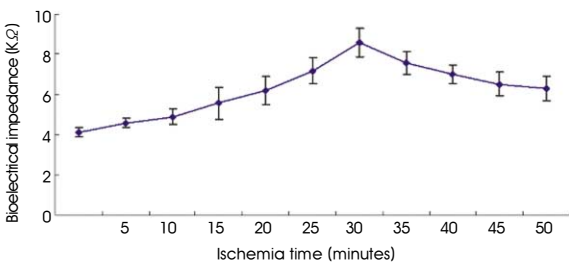


Fig. 2. Change of bioelectrical impedance in liver during 30 minutes ischemia and 20 minutes reperfusion at 120 Hz. Bars represent means values  $\pm$  SD (n=5)

### 2시간 연속 간의 허혈 손상을 유도 중 bioelectrical impedance 변화 관찰

간 조직에 120 Hz의 교류전류를 인가하고 2시간 동안 허혈 손상을 유도한 후 연속하여 bioelectrical impedance를 관찰한 결과 허혈 유도 후 50분간은 bioelectrical impedance의 지속적인 상승이 관찰되었으나, 1시간을 전후 하여 plateau를 형성하는 경향을 보였다.(Fig. 3).

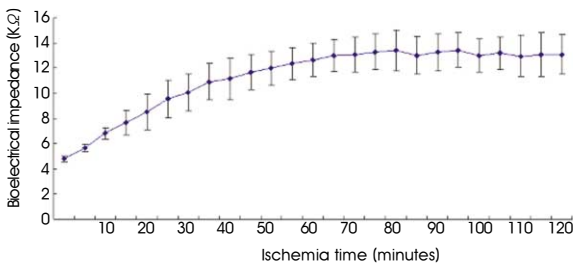


Fig. 3. Change of bioelectrical impedance in liver during 120 minutes ischemia. Bars represent means values  $\pm$  SD (n=5)

### 간세포의 생존율

허혈손상(pringle maneuver)후 간조직의 지방대사율(Palmitic acid metabolic rate)은 정상 간에 비해 약간 감소하는 경향이 있으나 통계학적으로 의미 있는 감소는 없었다(Fig. 4).

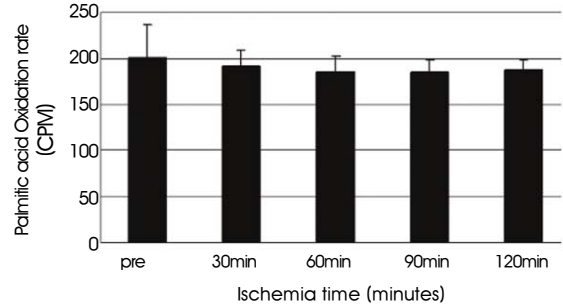


Fig. 4. Measurement of palmitic acid oxidation rate in liver tissue after pre, 30, 60, 90, and 120 minutes of ischemia without reperfusion. Bars represent means values  $\pm$  SD (n=5)

### 조직학적 관찰

허혈유도 2시간동안 매 30분 간격으로 채취한 조직을 광학현미경으로 관찰한 결과 뚜렷한 차이점을 발견 할 수 없었다(Fig. 5).

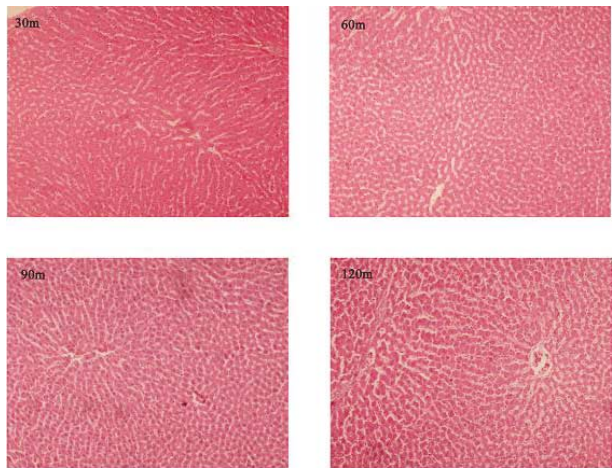


Fig. 5. Pathological change in liver after 30 to 120 minutes ischemia (H&E staining original magnification  $\times$  200)

## 고 찰

간 절제술 중이나 간 이식술 중에는 전술 한 바와 같이 허혈 및 재관류 손상이 필연이 발생하게 되고, 술 후 간 기능 부전과 연계되어, 수술의 예후를 결정하는 큰 예후 인자가

된다. 그러나 현재 사용 중인 간 예비능 측정법(ICG test, RTI, ABT etc)들은<sup>1-4</sup> 술 중 시시각각 변화는 허혈 및 재관류 손상을 실시간으로 측정하기에는 문제점이 있어, 현재 간 수술은 경험에 의한 자료에 근거하여 진행되고 있다. 저자들은 간에서 허혈 및 재관류 손상을 유도하고, 간 조직 내에 미세교류 전류를 인가하여 bioelectrical impedance를 측정하고, 조직의 괴사 및 viability 여부와와의 상관관계를 알기 위하여 본 실험을 실시하였다.

여러 가지 주파수(120 Hz ~ 100 KHz)중, bioelectrical impedance는 저주파 영역에서 고주파 영역 보다 허혈 손상을 변별력 있게 나타내어 주었으며(Fig. 1.), 이는 타 연구자들의 관찰과 일치하였다.<sup>6</sup> 허혈 손상에 관계하는 인자에는 ATP(adenosine triphosphate)의 부족, 자가 용해 기전의 활성화, 세포의 산성화, 과산화에 의한 세포막 투과성의 증가, 미토콘드리아의 기능 부전 등이 원인으로 거론되고 있으나, 아직까지 허혈손상 시 bioelectrical impedance의 상승에 관한 기전은 확실히 알려져 있지 않다.<sup>12-14</sup>

그러나, 저주파가 가지는 생체 조직 내의 흐름, 즉 저주파는 세포막을 통과하지 못하고 굴절하여 세포조직 외액을 따라 흐른다는 이론에 근거하고,<sup>15</sup> bioelectrical impedance 측정을 위해 간 조직 내에 삽입한 전극의 끝이 세포 외액에 위치한다 하는 점에 착안하면, 허혈 손상 후의 간 조직 bioelectrical impedance의 증가는 세포외액내의 전해질(이온)의 감소에 기인한다고 유추 할 수 있겠다. 세포막의 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> pump는 ATP를 소모하면서 3개의 Na<sup>+</sup>을 세포 외로 보내고 2개의 K<sup>+</sup>을 세포 안으로 유입하여, 세포 내외의 삼투압을 조절하는 기능을 한다고 알려져 있다.<sup>16</sup> 허혈 손상 중 간 세포 내의 ATP의 감소가 세포막 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> pump의 기능 이상을 초래하여, 세포외 액의 Na<sup>+</sup> 이온 농도를 감소시키고, 이로 인해 간 조직의 bioelectrical impedance가 상승한다고도 추론 할 수 있겠으나, 이를 증명할 수 있는 추가적인 실험이 필요 할 것으로 사료된다.

조직이 허혈 상태에 빠지면 미세 혈관벽 평활근의 수축, 혈관 내피 세포의 변성, 혈소판과 백혈구의 용질 및 혈전의 생성, vasoactivity mediators의 생성에 의해 미세 순환 장애가 일어나며 세포내 구조물의 변성이 일어나 조직은 손상을 받게 된다.<sup>13,14</sup> 그러나 본 실험에서는 2시간 동안의 허혈 손상 중 30분 간격으로 관찰한 광학현미경 소견에서 뚜렷한 차이점을 발견 할 수가 없었으며(Fig 5.), 30분 간격으로 측정된 지방 대사율에서도 큰 차이점을 발견 하지 못하였다(Fig. 4.). 이를 미루어 보아 간 조직은 허혈 손상에는 비교적 잘 견딜 수 있는 것으로 결론 내릴 수도 있겠다.

수술 중에 간의 손상 여부 및 간 조직의 viability를 실시간으로 조기에 확인할 수 있다면, 적절한 처치로 수술의 성공률

을 높일 수 있을 것으로 사료된다.

저자의 시도가 성공하여 간조직의 bioelectrical impedance 변화를 이용하여 간 조직의 viability를 추정할 수 있다면, 이는 최소한의 침습적인 방법으로 간 이식 및 경화 간의 절제술 중 간조직의 허혈 및 재관류 손상정도를 실시간 모니터 할 수 있는 방법이 될 수 있을 것으로 사료된다.

본 실험에서 허혈 유도 후 bioelectrical impedance의 지속적인 상승, 재관류 후의 감소 및 1시간 전후의 plateau를 형성하는 경향으로 미루어 보아, 허혈시 간 조직 내의 bioelectrical impedance의 측정은 술 중 간세포의 손상정도를 추정 할 수 있는 지표로 응용 될 수 있을 것으로 판단되며, 이를 증명할 지속적인 연구가 필요 할 것으로 생각 된다.

## 참 고 문 헌

1. Conn HO. A peak at the Child-Turcotte Classification. *Hepatology* 1981; 1:673-6.
2. Pelton JJ, Hoffman JP, Eisenberg BL. Comparison of liver function tests after hepatic lobectomy and hepatic wedge resection. *Am Surg* 1998;64:408-14.
3. Shoup M, Gonen M, D'Angelica M, Jarnagin WR, DeMatteo RP, Schwartz LH, Tuorto S, Blumgart LH, Fong Y. Volumetric analysis predicts hepatic dysfunction in patients undergoing major liver resection. *J Gastrointest Surg* 2003;7:325-30.
4. Zoli M, Marchesini G, Melli A, Viti G, Marra A, Marrano D, Pisi E. Evaluation of liver volume and liver function following hepatic resection in man. *Liver* 1986;6:286-91.
5. Imamura H, Sano K, Sugawara Y, Kokudo N, Makuuchi M. Assessment of hepatic reserve for indication of hepatic resection : decision tree incorporating indocyanine green test. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2005;12:16-22.
6. Haemmerich D, Ozkan R, Tungjitkusolmun S, Tsai JZ, Mahvi DM, Staelin ST, Webster JG. Changes in electrical resistivity of swine liver after occlusion and postmortem. *Med Biol Eng Comput* 2002;40:29-33.
7. Eisaku Sasaki, Hajie Hirose, Hideo Ito, Michiya Bando and Shoushi Senga. Dielectric spectrogram for instantaneous evaluation of ischemic injury of the liver. *ASAIO J* 1995;41:M356-M359.
8. Jens Harms, Armin Schneider, Markus Baumgarner, Julia Henke, Raymonde Busch. Diagnosing acute liver graft rejection: experimental application of an implantable telemetric impedance device in native and transplanted porcine livers. *Biosens Bioelectron* 2001;16:169-177.
9. Gheorghiu M, Gersing E, Gheorghiu E. Quantitative Analysis of Impedance Spectra of Organs during Ischemia. *Ann N Y Acad Sci* 2000;20:65-71.

10. Faes TJ, van der Meij HA, de Munck JC, Heethaar RM. The electric resistivity of human tissues (100Hz–10MHz): a meta-analysis of review studies. *Physiol Meas* 1999;20:R1–R10.
11. Guo, Z., S. Nielsen, B. Burguera, and M. D. Jensen. Free fatty acid turnover measured using ultralow doses of [U-13C]palmitate. *J Lipid Res* 1997;38:1888–95.
12. Champion HR, Jones RT, Trump BF. A clinicopathologic study of hepatic dysfunction following shock. *Surg Gynecol Obstet* 1976;142:657–63.
13. Kaiho T, Miyazaki M, Ito H, et al. Reduced hepatic functional reserve in cirrhosis and obstructive jaundice with special reference to histological morphometric analysis and galactose elimination capacity. *Eur Surg Res* 1996;28:333–40.
14. Nauta RJ, Tsimoyiannis E, Uribe M, Walsh DB, Miller D, Butterfield A. The role of calcium ions and calcium channel entry blockers in experimental ischemia–reperfusion–induced liver injury. *Ann Surg* 1991;213:137–42.
15. Grimnes S, Martinsen OG. Bioimpedance and bioelectricity basics. Academic Press: New York; 2000. p. 99–101.
16. Arthur C. Guyton, John E. Hall. Textbook of medical physiology. 10th ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 2000. p. 874–5.