

젖산 농도와 관류 비를 이용한 흰쥐에서의 출혈성 쇼크의 사망 예측 지표 개발

연세대학교 대학원 생체공학협동과정¹, 연세대학교 의과대학 의학공학교실², 연세대학교 대학원 의과학과³, 연세대학교 의학전문 대학원⁴, 연세대학교 의과대학 응급의학교실⁵

최재림^{1,2} · 최준열^{2,3} · 이완형⁴ · 권민경^{2,3} · 박인철⁵ · 김덕원^{1,2,3,4}

Development of a New Index for Mortality Prediction Due to Hemorrhagic Shock using Lactate Concentration and Perfusion in S-D Rats

Jae Lim Choi, B.S.^{1,2}, Joon Yul Choi, B.S.^{2,3}, Wan Hyung Lee, B.S.⁴, Min Kyung Kwon, B.S.^{2,3}, In Chul Park, M.D., Ph.D.⁵, Deok Won Kim, Ph.D.^{1,2,3,4}

Purpose: We proposed a new index for predicting death resulting from hemorrhagic shock, which was calculated by dividing measured lactate concentration by perfusion.

Methods: Using 24 Sprague-Dawley (S-D) rats, we induced uncontrolled hemorrhage and then measured blood lactate concentration and perfusion in addition to vital signs such as heart rate, blood pressure, respiration rate and temperature. Perfusion and lactate concentration were measured by laser Doppler flowmetry and a lactate concentration meter, respectively. We collected the data for 15 min, which consisted of 3 intervals after homeostasis, and thus obtained a new index.

Results: The proposed index revealed an earlier death prediction than lactate concentration alone with the same timing as perfusion. The new index showed generally better sensitivity, specificity and accuracy than lactate concentration and perfusion. Using a receiver operating characteristic curve method, the mortality prediction with the proposed

index resulted in a sensitivity of 98.0%, specificity of 90.0%, and accuracy of 93.7%. The mortality prediction with the proposed index resulted in a sensitivity of 98.0%, specificity of 90.0% and accuracy of 93.7%.

Conclusion: This index could provide physicians, in emergency situations, with early and accurate mortality predictions for cases of human hemorrhagic shock.

Key Words: Hemorrhagic shock, Perfusion, Lactate, Mortality, Rats

The Graduate Program in Biomedical Engineering, Yonsei University, Seoul, Korea¹, Department of Medical Engineering, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea², The Brain Korea 21 Project for Medical Science, Yonsei University, Seoul, Korea³, College of Medicine, Yonsei University, Seoul, Korea⁴, Department of Emergency Medicine, Yonsei University College of Medicine, Seoul, Korea⁵

서 론

2002년 전세계적으로 상해로 인한 사망자가 약 500만 명으로 보고되었으며, 2020년에는 800만 명까지 증가할 것이라고 한다^{1,2)}. 그리고, 상해로 인한 사망자중 1/3의 직접적인 사망원인은 출혈성 쇼크이다²⁾. 이들 가운데 절반은 과다출혈로 사망 하며, 우리나라의 경우에도 최근 8년 동안 응급실에서 다발성 손상으로 사망한 환자들 중 74%는 저혈량성 쇼크로 보고되었다³⁾. 쇼크란 조직에 필요한 산소 요구량과 공급 간의 불균형에 의해 유발되는 임상 증후군을 말하며 이러한 조직의 산소 불균형 상태는 모든 형태의 쇼크에서 가장 근본적인 문제이다⁴⁾. 출혈에 의한 저혈량성 쇼크는 임상적으로 흔히 볼 수 있는 응급상황이고 지혈과 함께 신속한 수액치료 혹은 수혈이 필요하다. 출혈로 인한 혈액량의 감소는 일련의 복잡한 자율신경 및 호르몬의 반응을 유발함으로써 혈압을 유지하려 한다. 그 초기 반응은 주로 압수용체 반사를 통한 자율신경계 기전으로서 교감신경 활동이 향진되어 생명유지에 필수적인 장기로 말초혈액

책임저자: 김 덕 원

서울특별시 서대문구 신촌동 134
연세대학교 의과대학 의학공학교실
Tel: 02) 2228-1916, Fax: 02) 364-1572
E-mail: kdw@yuhs.ac

접수일: 2012년 1월 6일, 1차 교정일: 2012년 1월 21일

게재승인일: 2012년 2월 5일

- * 연구비 수혜
- * 연세대학교 의과대학 2011년도 교내연구비에 의하여 이루어 졌음(6-2011-0087)
- * 이완형: 연구 참여는 2011년도 연세대학교 의학전문대학원 학생 연구비 지원으로 이루어졌음.

을 이동시켜 효과적으로 혈류를 공급하며, 심박수 및 심근 수축력을 증가시킨다⁶⁾.

쇼크 상태가 진행된 경우에는 임상양상이 뚜렷하기에 진단에 어려움은 없으나 진행된 쇼크의 경우 주요 장기의 기능부전이 비가역적 변화를 일으킨 상태이므로 치료 효과가 좋지 못하다. 반면에, 쇼크 초기 상태에서는 뚜렷한 임상 증상이 없어 진단과 치료가 지연될 수 있다. 따라서 쇼크 환자에서 초기 및 지혈과 소생술 후에 조직의 순환 부전 상태를 정확히 평가하고 치료할 수 있는 보다 빠르고 간단한 진단법의 필요성이 대두되고 있다⁵⁻⁷⁾.

쇼크 발생 초기에 조직의 순환 부전 상태는 피부 온도, 색깔, 의식 상태 등 주관적인 판단에 따라 이루어져 객관적 판단이 어렵다. 환자의 상태를 평가하는 변수로 쓰이는 혈압과 심박수 등의 생체 징후는 쇼크 발생 초기에 보상 기전에 의해 정상 수치를 보일 수 있다. 특히 혈압의 경우 상당한 출혈에도, 혈관 수축에 의해 정상 혈압으로 측정될 수 있어 쇼크의 정도를 판단하기 어렵다^{5,8)}. 따라서 쇼크 환자의 상태를 적절히 반영해 주는 지표와 생존 예측 등에 대한 다양한 연구들이 진행되어 왔으며, 젖산 농도와 관류 상태의 평가가 환자를 평가하는 좋은 지표임이 보고되었다^{7,9-11)}.

Abramson 등은 외상 환자를 대상으로 한 연구에서 혈청 젖산 농도가 저관류 및 쇼크의 정도와 연관성이 있으며, 48 시간 동안 생존과 사망 환자의 비교 결과, 심박출 지수(cardiac index), 산소공급(oxygen delivery, DO_2), 산소소모(oxygen consumption, VO_2)는 유의한 차이가 없었지만, 혈청 젖산 농도는 유의한 차이가 있음을 확인하였다⁶⁾. 또한 Vandromme 등도 수축기 혈압보다 혈청 젖산 농도가 환자의 사망률과 수혈의 필요성을 확인하는 더 좋은 지표라고 보고하였다⁸⁾. 또한 외상 환자를 평가하는데 있어 혈류 및 관류의 감시는 중요하며, 맥박산소측정법(pulse oximetry), NIRS (near-infrared spectroscopy), 레이저 도플러 유량측정법(laser Doppler flowmetry) 등을 통한 연구들이 진행되어 왔다¹²⁾.

이를 근거로, 본 연구에서는 흰쥐를 대상으로 비제어 출혈(uncontrolled hemorrhage)을 유도한 후 생체 징후(심박수, 혈압, 호흡수, 체온)뿐만 아니라, 레이저 도플러를 이용한 관류 측정과 정맥혈의 젖산 농도 측정을 하였다. 그리고 출혈성 쇼크에서 사망/생존 예측을 위한 새로운 지표로서 두 변수의 비(젖산 농도/관류)를 제안하고 사망과 생존을 구분하는 민감도, 특이도 및 정확도에 대한 검증을 하였다.

대상과 방법

1. 실험 동물 준비

본 실험에서는 체중 320에서 400g의 수컷 흰쥐

(Sprague-Dawley rats) 24마리를 사용하였다. 개체 24마리를 임의로 세 군으로 나누고, 출혈량을 15분 간 100g 당 2.0, 2.5, 3 ml로 하여 각 군당 8마리씩 배정하였다. 흰쥐의 경우 100g 당 전혈이 6.1%이므로, 이는 전체 혈액량 중 32.8%, 41.0%, 49.2%의 출혈에 해당되는 양이며, 사람의 경우 각각 Class III, IV, IV에 해당되는 값(Class I: 10~15%, II: 15~30%, III: 30~40%, IV: 40%이상)이라 볼 수 있다⁹⁾. 실험 동물 마취는 Isoflurane 전용 호흡 마취기(RC2, VetEquip, USA)를 사용하였으며, 마취 도입 시 마취제의 농도를 5%, 유지 시 1~2%를 사용하였다. 본 실험에서 사용한 호흡마취 방법은 동물의 기관내 삽관없이 사용가능하며, 기화기 다이얼을 통해 손쉽게 마취농도 조절이 가능하였다. 또한 실험 동물에게 통증과 스트레스를 주며, 장시간 실험 시 추가 마취를 해야 하는 주사마취 방법과는 달리, 실험 동물의 스트레스를 최소화하고, 일정한 마취 심도 유지가 가능한 장점이 있다^{13,14)}.

흰쥐를 마취한 후 양외위로 고정하였다. 양쪽 서혜부와 목의 복측면에 최소한의 절개를 하였으며, 동맥혈압 측정을 위해 우측 대퇴 동맥에 24 gauge 카테터(Becton Dickinson, USA)를 삽입 하였고, 삽입 후 연결관을 통해 혈압 센서에 연결하였다. 출혈을 위해 우측 경동맥에 24 gauge 카테터를 삽입하였으며, 연결관을 거쳐 출혈 유도 펌프(Pump 11 plus, Harvard Apparatus, USA)에 연결하였다. 삽입된 카테터와 연결관은 헤파린 나트륨(Choongwae Pharma Co., Korea)과 생리 식염수를 혼합한 용액으로 채웠다. 좌측 대퇴 정맥은 혈관 분리 후 채혈을 위해 노출되었다. 실험동물과 실험은 연세대학교 의과대학의 실험동물위원회의 방침 및 동물 실험에 관한 법규를 준수하였다(계획서 번호: 2011-0116).

2. 측정 시스템

심전도, 동맥압, 호흡, 체온의 아날로그 신호를 PowerLab 8/30[®] (AD Instruments, Australia)으로 입력 받아 디지털 신호로 변환하여 개인용 컴퓨터로 전송하였다. 모든 신호는 1kHz의 샘플링 주파수로 측정하였으며 시간에 따라 연속적으로 측정하면서 저장하였다. 심전도는 침습적인 바늘 전극을 통해, Animal bio amp[®] (ML136, AD Instruments)로 증폭하였다. 동맥압은 piezo-resistive silicon 압력센서(1620 Pressure[®], MSI Sensors, Australia)와 자체 제작한 증폭기를 이용하여 측정했다. 압력센서와 증폭기에서 나오는 신호는 실험 전에 수은 혈압계를 이용하여 보정하였다. 호흡수는 쥐의 흉곽에서 겨드랑이로 이어지는 부분을 piezo respiratory belt transducer[®] (MLT 1132, AD Instruments)를 이용하여 흉곽의 단면적 변화를 이용하여 측정하였다. 체온은 rectal probe for rats[®] (MLT1403, AD Instruments)와 *t*-type pod[®]

(ML312, AD Instruments)을 이용하여 측정했다. 항문으로부터 5 cm 깊이의 직장에 온도계를 삽입하고 중심체온을 지속적으로 측정하였다⁹⁾.

관류는 상용화된 LDPM (laser Doppler perfusion monitor) 장비인 PeriFlux system 5000 (Perimed, Sweden)과 측정 프로브(Probe 407, Peimed)를 사용하여 측정하였으며, 흰쥐의 오른쪽 앞 발바닥에 프로브 홀더와 접촉 테이프를 이용하여 부착하였다. LDPM 기기를 통해 나온 780 nm 파장의 레이저 빛은 프로브의 광섬유를 통해 피부에 입사되며, 레이저 빛은 미세 혈관에 있는 혈액의 적혈구 (red blood cell)에 입사된 후 적혈구에 의해 반사되고, 이때 빛의 주파수 변화가 일어난다. 빛의 주파수 변환은 측정 깊이(피하 0.5~1.0 mm)의 혈류 내 적혈구의 개수와 속도에 따라 달라진다. 반사된 빛은 프로브의 광섬유를 통해 기기의 광선 검지기로 되돌아오게 되며, 적혈구의 개수와 속도의 곱에 비례하는 관류로 표현된다. 측정 단위는 임의 단위인 PU (perfusion unit)로 측정되었다¹⁵⁾. 32Hz의 샘플링 주파수로 측정하였으며, 전용 프로그램인 PSW (Perisoft for window)로 신호를 획득, 저장 및 분석하였다.

젖산 농도는 31 gauge의 인슐린 주사기(BD Ultra-Fine II, Becton Dickinson)를 대퇴정맥에 삽입하여 반복 채혈하였다. 채혈 후 측정 스트립을 통해 측정기(Lactate Pro LT-1710, ARKRAY, Japan)로 젖산 농도를 측정하였다. 측정기의 측정 범위는 0.8~23.3 mmol/L이다. 1회 측정 당 필요 혈액은 5 µl이며, 분석 시간은 60초가 소요되었다.

3. 실험 과정

실험실의 온도는 23~25°C, 습도는 40~60%로 유지하

였다. 실험 동물의 체온은 전기패드를 이용하여 카테터 삽입 등 실험 준비 기간 동안 마취 직후의 초기 체온으로 유지시켰다. 실험을 위한 준비가 끝나고, 15분간 안정기 후 우측 경동맥에서 출혈 유도 펌프를 통해 출혈을 유도하였다. 각 군에서 15분 동안 체중 100 g 당 2, 2.5, 3 ml의 출혈을 유도하였고, Fig. 1에 나타난 바와 같이 임상의 상황을 모사하기 위하여 정량적 출혈(fixed volume hemorrhage)이 시작된 1분 후에 꼬리 길이의 75%를 절단하여 비제어 출혈(uncontrolled hemorrhage)을 유도하였다¹⁶⁾. 꼬리의 절단면은 출혈 기간 중 응고를 방지하기 위해 헤파린 나트륨과 생리식염수가 혼합된 실린지에 담갔으며, 무게 변화를 통해 꼬리에서 출혈량을 계산하였다. 꼬리에서의 출혈은 정량적 출혈의 종료시점과 같은 시간에 지혈을 하였다. 젖산 농도 측정은 실험 시작 0분, 15~30분의 출혈 구간과, 지혈 후 15분까지 구간에서는 5분 간격, 그 후로는 30분 간격으로 측정하였고, 개체가 사망하는 시점이나 실험 종료 점인 150분까지 측정하였다(Fig. 1). 실험은 출혈 종료 후 120분까지 진행하였으며, 사망은 평균 동맥압이 0 mmHg로 측정되는 시점으로 규정하였다¹⁶⁾.

4. 데이터 분석

데이터 분석은 지혈 후 15분 동안 하였다(Fig. 1). 젖산 농도의 경우 채혈이 필요한 불연속적인 측정법이기에 때문에 이를 보완하기 위해서 다음과 같은 보간법을 사용하였다: 최근법, 선형, 3차 Hermit, 3차 spline 보간법¹⁷⁾. 이 중 가장 적절한 보간법을 선택하기 위해 Fig. 2와 같이 임의의 실측값을 결측값 처리한 후 결측값을 보간하여 실측값과의 RMS (root mean square) 오차(mmol/L)를 구하였다. 전

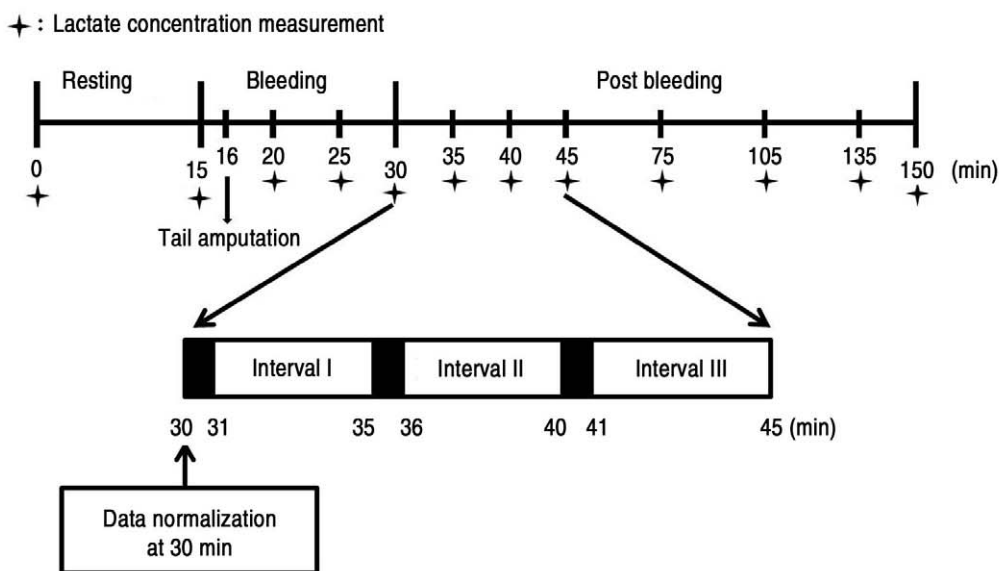


Fig. 1. Experimental and data analysis protocol.

과정은 LabVIEW 2009 (National Instruments, USA) 로 작성한 프로그램을 통해 자동으로 진행되었으며, 가장 작은 RMS 오차 값을 보인 선형 보간법을 사용하여 데이터를 보간하여 사용하였다(선형: 0.71 ± 0.47 , 3차 Hermit: 0.75 ± 0.44 , 3차 spline: 0.94 ± 0.56 , 최근법: 1.20 ± 0.75 ; 평균 \pm 표준편차, $n=24$). 젖산 농도를 제외한 생리학적인 변수들은 매 1분마다 30초 동안의 평균값을 분석에 사용하였다. 개체 차이에 의한 영향을 최소화하기 위해 실험 시작 후 30분을 기준으로 LDPM으로 측정된 관류, 젖산 농도를 100%로 정규화하여 45분까지 상대적인 변화 값을 계산하였다(Fig. 1). 정규화된 젖산 농도(%)/관류(%)의 비를 구하여, 사망 예측 지표로 제안하였다. 분석 구간을 30~45분으로 잡은 이유는 첫 째, 대부분의 개체가 45분까지 생존하였고 둘째, 응급실에서의 지혈 또는 소생술 후의 생존/사망률의 예측을 모사하기 위해서였다.

SPSS 18.0 (SPSS Inc, USA)을 이용해 각 군에서 초기(at rest) 생리학적 변수들의 차이를 Kruskal-Wallis test를 하여 비교하였고, Mann-Whitney U test를 하여 생존 군과 사망 군 간의 젖산 농도, 관류 및 제안하는 지표의 비교를 하였으며, 유의 수준이 0.05 이하인 경우 통계적으로 의미 있는 것으로 분석하였다. 제안한 지표의 평가는 Fig. 1과 같이 31분부터 45분까지 5분 간 세 구간(I: 31-

35분, II: 36-40분, III: 41-45분)으로 나눈 후, 각 분석 구간에 ROC (receiver operating characteristic) 커브 방법을 적용하여, AUC (area under curve)를 구하였다. Cut-off 값은 사망 예측의 민감도와 특이도가 최대가 되는 지점으로 결정하였다.

결 과

1. 출혈에 의한 생리학적 변수의 변화

Kruskal-Wallis test를 통해 비교한 결과, 2, 2.5, 3 ml 군 간 체중과 초기 모든 생리학적 변수들의 차이는 없었다 ($p>0.05$). 전체 24마리 중 2 ml군은 모두 생존, 3 ml군은 모두 사망하였다. 2.5 ml군의 경우 4마리는 생존, 4마리는 사망하였다. 2, 2.5, 3 ml군의 순서대로 꼬리 출혈량이 많았으며 이는 정량적 출혈량이 적을수록 꼬리에서의 출혈량이 많을 수 밖에 없기 때문이다. 정량적 출혈과 꼬리 절단을 통한 비제어 출혈을 통한 전체 출혈 비율은 2 ml군이 전혈의 평균 42.1%, 2.5 ml군 중 생존 군의 경우 46.1%, 사망 군의 경우 48.6%, 그리고 3 ml군은 54.5%였다(Table 1).

사망 군의 경우 출혈 구간에서 심박수, 혈압, 호흡수, 관

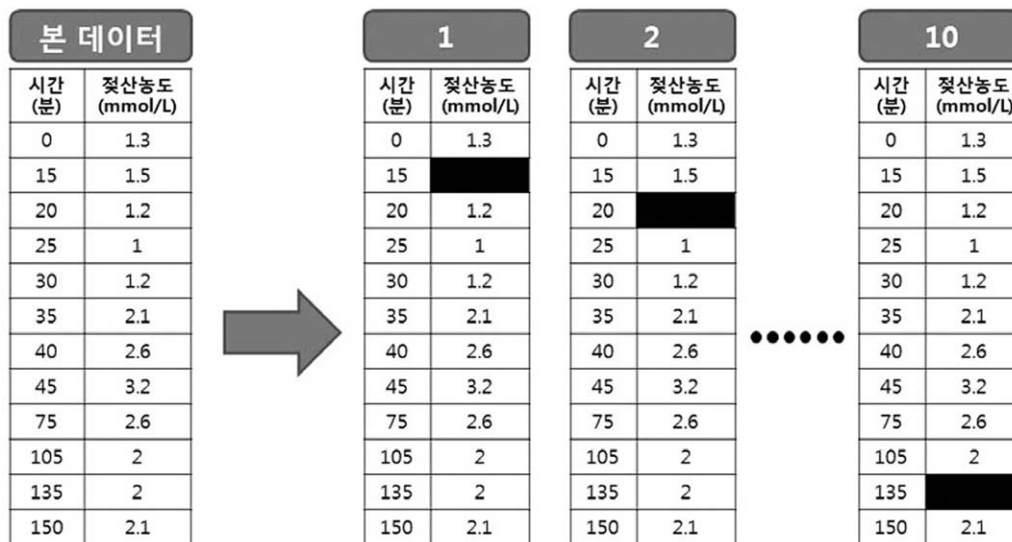


Fig. 2. Protocol for testing to determine the best interpolation method among four ones with the sample data set.

Table 1. Mean \pm standard error of the experimental results for the three groups

Group	Tail bleeding (ml/100 g)	Total hemorrhagic rate (%)	Shock class
2 ml (Survival; n=8)	0.47 ± 0.05	41.2 ± 0.88	III (n=4) & IV (n=4)
2.5 ml (Survival; n=4)	0.26 ± 0.09	46.1 ± 1.4	IV
2.5 ml (Death; n=4)	0.42 ± 0.13	48.6 ± 2.1	IV
3 ml (Death; n=8)	0.27 ± 0.05	54.5 ± 0.9	IV

Total hemorrhagic rate (%) = volume controlled hemorrhage (%) + tail bleeding (%)

류 모두 감소하였으며, 젖산 농도는 서서히 증가 하였다 (Fig. 3). 지혈(30분) 후 심박수와 호흡수는 출혈 전 상태로 회복되는 듯 보이지만, 다시 감소하였고, 혈압과 관류는 회복되지 않았으며, 젖산 농도는 지혈(30분) 후에도 큰 폭으로 꾸준히 증가하였다(Fig. 3). 생존 군(Fig. 4)은 출혈 동안 심박수, 혈압, 호흡수, 관류의 감소는 사망 군과 같은 경향을 보였으나, 지혈 후 심박수, 혈압, 호흡수, 관류가 모두 회복되는 것이 보이고, 젖산 농도의 경우 증가하는 경향을 보이지만 일정 시간 후(지혈 후 10분) 일정하게 유지되는 것을 확인할 수 있었다. 체온의 경우 사망 군과 생존 군 모두 천천히 감소하였다.

2. 지혈 후 사망 예측 지표의 변화

지혈 시점인 30분을 100% 기준으로 한 젖산 농도의 경우 생존 군과 사망 군 모두 증가하였지만, 사망 군이 더 급격하게 증가하였으며, 38분부터 생존 군과 사망 군 간 젖산 농도 변화의 유의한 차이가 있음을 확인하였다(Fig. 5A). 관류의 경우 사망 군은 분석 구간 I (31~35분)에서 감소한 후, 분석 구간 II (36~40분)에서 증가 후 일정하게

유지되었다. 관류는 젖산 농도보다 5분이나 빠른, 33분부터 생존 군과 사망 군 간의 차이가 유의하였다(Fig. 5B). 젖산 농도/관류로 구한 사망 예측 지표의 경우 사망 군에서 크게 증가하였고, 생존 군의 경우 지표의 변화는 거의 없었다(Fig. 6). 생존 군과 사망 군의 차이는 33분부터 유의하였으며 ($p < 0.01$), 37분부터는 그 차이가 극명하였다 ($p < 0.001$). 위 결과를 종합해 보면 본 연구에서 제안한 지표가 젖산 농도보다는 빠르고 관류와는 같으며, 생존 군과 사망 군과의 지표 차이의 유의성이 젖산 농도와 관류에 비해 대부분 훨씬 크다는 것을 확인할 수 있었다.

3. 사망 예측 지표의 유용성 검증

각 분석 구간에서, 젖산 농도, 관류, 그리고 제안한 새로운 지표가 생존과 사망을 반영하는 좋은 지표인지 객관적으로 확인하기 위해 ROC 커브를 그려 변수 간의 비교를 수행하였다. ROC 커브의 AUC, 민감도, 특이도와 정확도를 평가하여 제안하는 사망 예측 지표의 유용성을 검증하였다. 정확도는 민감도와 특이도를 평균한 값이다.

분석 구간 I (31~35분)의 생존과 사망을 가장 민감하게

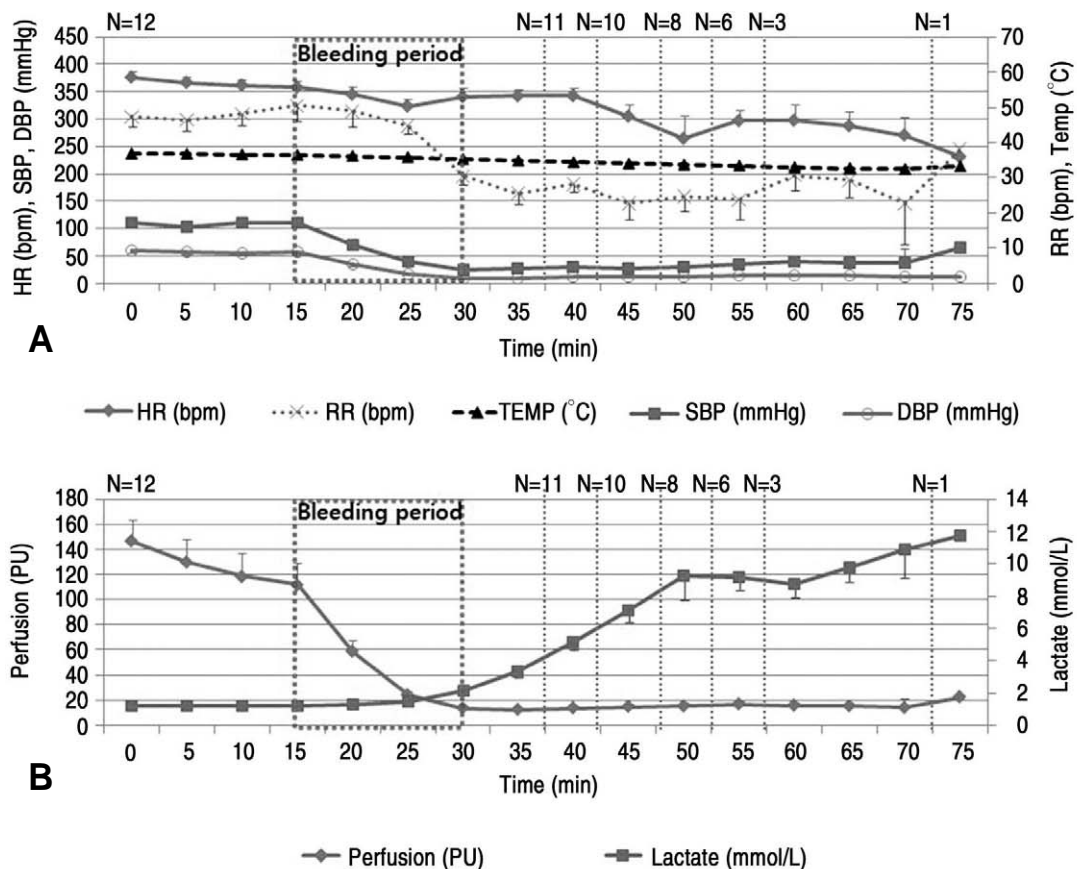


Fig. 3. Changes of vital signs (A), perfusion and lactate (B) in the death group, Error bars indicate standard errors. HR: heart rate, RR: respiration rate, TEMP: temperature, SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure.

구분하는 것은 관류로서, 가장 높은 AUC(0.804)와 76.7%의 정확도를 보여주었다(Table 2). 젓산 농도의 경우 분석 구간 I에서 AUC가 0.5 미만으로 생존과 사망을 구분하는 적절한 변수가 아니었다. 분석 구간 II에서는 제안한 지표가 가장 높은 AUC(0.949)와 정확도(90.4%)를 보여주었다. 젓산 농도의 경우 분석 구간 I보다 AUC는 증가했으나, 정확도가 71.3%에 그쳤다. 분석 구간 III에서는, 분석 구간 II

와 마찬가지로 제안한 지표가 가장 높은 AUC(0.980)와 정확도(93.7%)를 보여주었다. 구간 III을 제외하고는 관류가 젓산 농도에 비해 더 빠르고 정확한 결과를 보여 주었다.

고 찰

Lee 등은 흰쥐를 출혈량에 따라 체중 100 g당 2 ml,

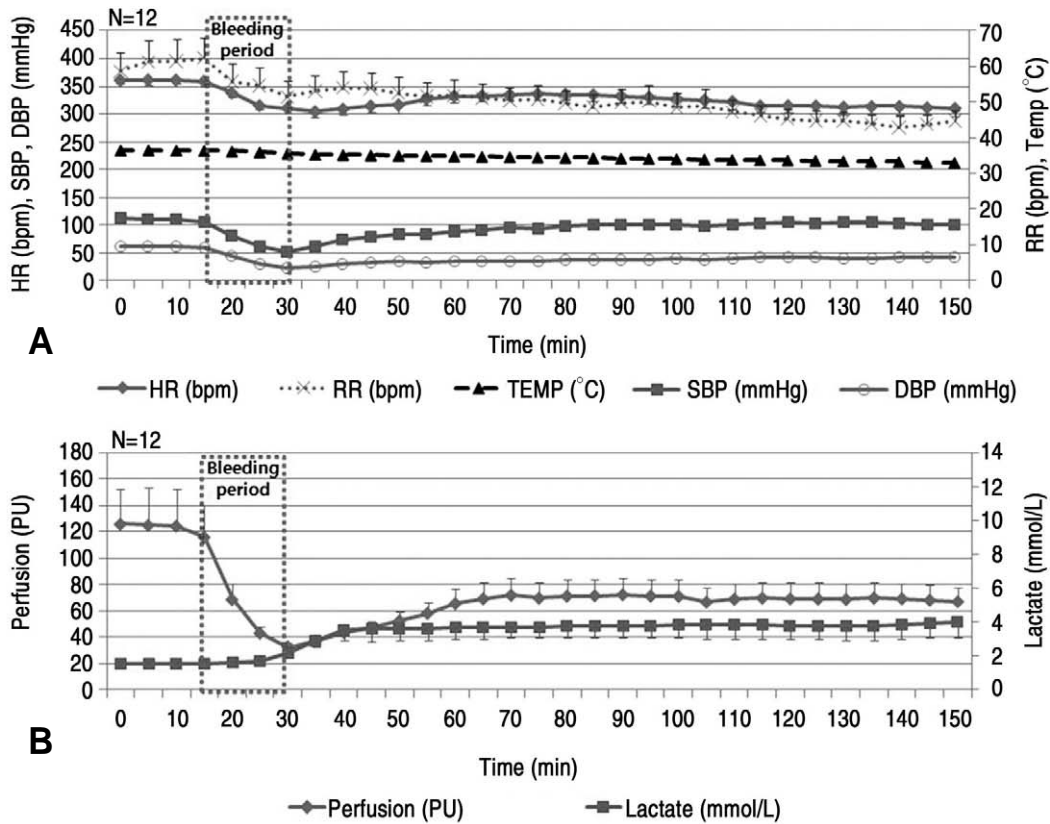


Fig. 4. Changes of vital signs (A), perfusion and lactate (B) in the survival group, Error bars indicate standard errors. HR: heart rate, RR: respiration rate, TEMP: temperature, SBP: systolic blood pressure, DBP: diastolic blood pressure.

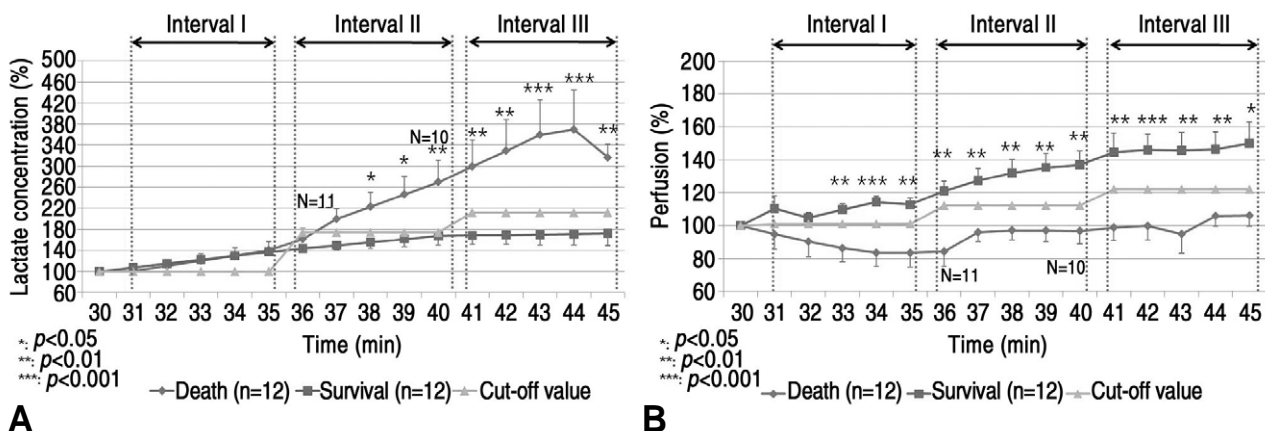


Fig. 5. Relative changes (%) in lactate concentration (A) and perfusion (B) after the hemostasis, with the beginning of the hemostasis (30 min) set at 100 %, Error bars indicate standard errors.

2.5 ml, 3 ml군으로 나누어 정량적 출혈을 유도하였고 2 ml군은 모두 생존하였고, 2.5 ml군은 생존과 사망이 나뉘었으며, 3 ml군은 모두 사망하였다⁹⁾. 본 연구에서는 사전 실험을 통해 꼬리에서의 출혈이 정량적 출혈보다 적은 것을 확인하였다. 경험적 사례를 근거하여 생존과 사망 예측에 제안한 지표를 검증하기 위하여 선행연구를 참고하여 출혈군을 2 ml, 2.5 ml, 3 ml군으로 나누었다.

정량적 출혈의 경우 임상적으로 적용하기에 한계가 있으므로 Lee 등¹⁸⁾은 흰쥐를 이용한 출혈성 쇼크 실험에서 정량적 출혈을 유도하고 5분 후 꼬리를 절단하여, 비제어 출혈을 유도하였으나, 본 연구에서는 선행 연구들을 참고하여, 정량적 출혈 유도 후, 1분 후에 꼬리를 절단하였다^{16,18-20)}. 꼬리에서의 출혈량은 정량적으로 유도한 출혈량에 비해 적은 양이었지만, 실제 조직 손상을 입혀 임상적 상황을 모사하기 위해 비제어 출혈을 유도한 것에 의의가 있다. 또한 출혈 상황에서 생체 신호 및 젖산 농도와 관류를 동시에 측정하였다.

본 연구에서 사용한 레이저 도플러 유량 측정법은 비관혈적이고 연속적으로 관류를 측정할 수 있는 방법이며, 신경, 근육, 피부, 뼈, 장을 포함한 많은 조직에서의 미세 혈류 측정에 사용되어왔다¹²⁾. Pestel 등²¹⁾은 돼지를 대상으로

정량적 출혈을 유도한 실험에서, 레이저 도플러 유량 측정법을 통해 미세혈류를 측정된 결과, 전혈의 20%가 출혈된 후 빈창자 점막(jejunal mucosa)에서의 미세 혈류가 유의하게 감소했다고 하였다. 또한, Kaiser 등²²⁾은 레이저 도플러 이미지를 이용하여, 출혈을 일으킨 돼지의 하복부 표피에서 관류의 측정이 맥박, 수축기 혈압, 평균 동맥압과 혈액 검사(젖산 농도, 염기 과다, 헤모글로빈농도)보다 출혈 상태를 더 민감하고 빠르게 반영한다고 하였다. 그러나 선행 연구들에서 사용한 레이저 도플러 유량 측정법의 경우 내장, 근육 등에 프로브를 직접 부착하여 측정하였기 때문에 비침습적인 측정이라고 할 수 없다. 레이저 도플러 이미지 장비를 통한 관류 측정은 레이저 도플러 유량 측정법보다 더 넓은 지역의 측정이 가능하나 측정을 위한 1회 검사 시간이 90초가 소요되고 장비를 다루기가 불편하며, 조사 장치를 환자 위에 위치해야만 하는 등 사용에 불편함이 있다²²⁾. Lima 등¹²⁾은 출혈 발생 시 시급성이 작은 조직(피부, 피하, 근육)으로의 혈류는 줄어들며, 이러한 조직에서 혈류 감시는 저관류 상태를 조기 진단할 수 있다고 하였다. 이를 바탕으로, 본 연구에서는 측정 프로브 부착 위치를 앞 발바닥으로 정하여, 말초에서의 관류를 비침습적으로 측정하였다. 그 결과 출혈에 민감하게 반응하여 지혈 후 환자의 상

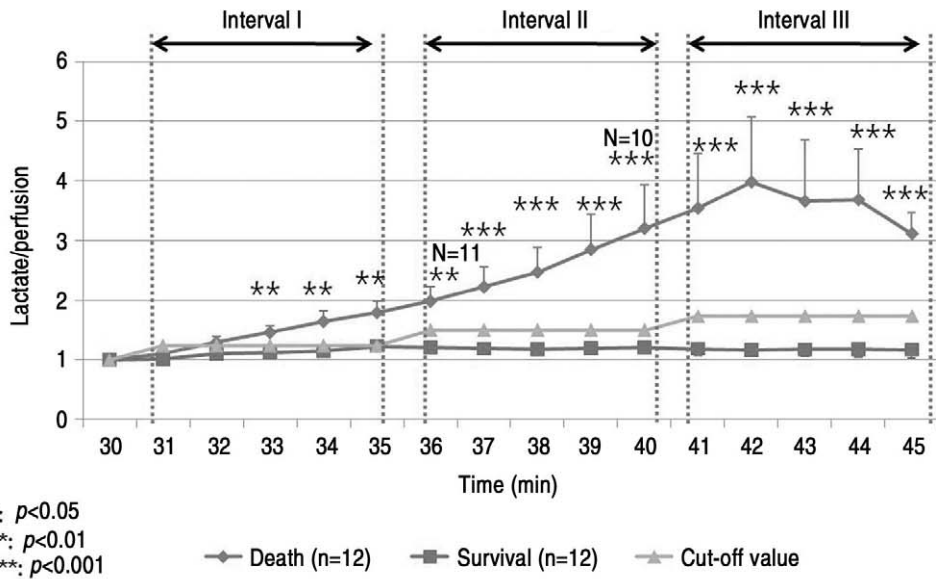


Fig. 6. Changes of proposed index, Error bars indicate standard errors.

Table 2. ROC-AUC, sensitivity, specificity, and accuracy of the three intervals for the three variables

Variables	ROC-AUC	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Accuracy (%)
Lactate/perfusion	0.748/0.949/0.980	65.0/90.9/98.0	80.0/90.0/90.0	72.5/90.4/93.7
Perfusion	0.804/0.875/0.875	75.0/81.8/82.4	78.3/78.3/76.7	76.7/80.0/79.3
Lactate	0.411/0.764/0.887	-/67.3/90.2	-/75.0/76.7	-/71.3/82.9

ROC-AUC: receiver operating characteristic -area under the curve
The data show the values of the intervals I/II/III, respectively

태를 반영해 줄 수 있는 좋은 지표로 사용될 수 있음을 확인하였다.

흰쥐의 경우 혈액량이 적어 반복적인 동맥혈 가스 분석을 할 수 없어, 젖산 농도 측정은 휴대용 젖산 농도 측정기를 사용하였다. 측정을 위한 채혈은 대퇴정맥에서 인슐린 실린지를 사용하여 이루어졌으며, 소량의 혈액 샘플을 반복적으로 획득하는 것이 가능하였다. 흰쥐의 경우 보통 꼬리, 경정맥, 눈뒤 공간(retro-orbital sinus), 두렁 정맥(saphenous vein)에서 채혈이 이루어진다^{23,24)}. 그러나, 반복적인 채혈이 어려우며, 말초의 경우 출혈 후 혈류가 급격히 줄어들어 채혈이 쉽지 않았기 때문에 본 연구에서는 적합하지 않았다.

Richard 등⁷⁾은 출혈성 쇼크 환자의 접근과 처치에 대해 최초 접촉시의 정보를 기준으로 지혈과 동시에 혈류량을 보충하는 소생을 시도한다고 하였다. 이러한 일련의 출혈성 쇼크에 대한 접근과 처치의 과정에서 생체 지표가 변동되고 사망률과 생존율 또한 영향을 받게 된다. 출혈성 쇼크 환자의 생존과 사망에 영향을 미칠 것이라 사료되는 소생 시도에 의한 효과와 출혈 중인 상태에서의 생체 지표의 불안정성을 배제하고, 출혈성 쇼크 환자에서 생존과 사망에 미치는 영향을 출혈 자체로 제한하여 새롭게 제안한 지표로 확인하고자 하였다. 이를 위해 출혈이 멈추어 출혈량이 한정된 지혈 후의 구간을 분석 범위로 선정하였으며, 사망하는 개체가 주로 지혈 후 45분 이후부터 발생되므로 분석 구간은 지혈 직후부터 45분까지로 한정하였다.

사망 군의 경우 출혈로 인한 저관류 상태의 유지와 이로 인한 체내 혐기성 대사의 증가로 젖산 농도가 증가하는 것을 보여주었고, 생존 군의 경우 젖산 농도가 증가하지만, 관류 상태의 호전으로 일정 시간 후 거의 일정하게 유지되거나 감소하는 경향을 보여주었다. 지혈 후 초기 5분인 분석 구간 I의 경우 관류가 생존과 사망을 구분할 수 있는 가장 좋은 지표였고, II와 III에서는 젖산 농도/관류의 비가 가장 좋은 지표였다. 관류의 경우 출혈과 동시에 반응하여 급격하게 감소하고 지혈 후 일정하게 유지되는 경향을 보였으며, 젖산 농도의 경우 출혈 기간보다 지혈 이후에 급격하게 증가하는 것을 확인하였다. 두 지표가 출혈에 대한 반응을 나타내는 시간대가 다르기 때문에, 관류와 젖산 농도를 따로 분석하는 것보다 비를 사용하는 것이 쇼크 상태를 더 빠르고, 정확하게 반영해준 것으로 생각된다. 레이저 도플러를 이용하여 피부에서 측정한 관류의 경우 출혈에 민감하게 반응하는 결과를 보여주어, 앞으로 응급상황에서 환자의 저관류 상태를 평가하는 방법으로서의 사용이 기대된다. 그러나, 레이저 도플러 유량측정법의 경우 동잡음에 민감하고, 측정 위치에 영향을 많이 받으며, 측정 단위인 PU는 절대 단위가 아닌 임의의 단위이기 때문에 기준점이 필요한 단점이 있다¹⁵⁾. 본 연구에서는 호흡마취를 통하여 고정된 상태에서 실험이 진행되었으므로 동잡음이나 측정 위치

에 따른 영향을 최소화하였고, 절대 단위의 부재와 개체 간 차이는 지혈 시점을 100%로 하여 상대적인 변화 값을 통해 보완하였다. 그러나 호흡마취는 생체지표에 영향을 줄 수 있고, 실제 긴박한 임상 상황에서는 지혈 시점의 데이터의 획득이 쉽지 않기 때문에 임상 적용을 위해서는 측정 위치, 분석 방법 등에서의 추가 연구가 필요하다.

결론

일반적인 생체 징후는 보상기전으로 인하여 출혈성 쇼크의 정도를 적절히 반영하지 못하는 경우가 많다. 또한 최근 치료의 개념은 비정상 상태의 생체 징후보다 조직의 허혈 상태를 진단하는데 초점을 맞추고 있다. 따라서 본 연구는 흰쥐를 대상으로 임상과 비교적 흡사한 비제어 출혈을 유도하고, 관류와 젖산 농도를 동시에 측정하여, 젖산 농도/관류를 구하였다. 또한, 이를 통해 조직의 저관류 상태와 대사산증을 감시하여, 생존/사망 예측 지표로 제시하였다. 제안한 지표의 증가는 좋지 못한 예후를 보여주며 사망할 가능성이 높음을 보여주었고, 감소하거나 일정하게 유지되는 것은 생존할 가능성이 높음을 보여주었다. 분석 구간(지혈 후 15분)에서 제안한 지표의 사망과 생존 예측 정확도는 최고 93.7%였고, 생존 군과 사망 군의 유의한 차이도 젖산 농도보다 빠른 시간대에 보여주었다.

추후 소생술을 시행하여, 치료 방법에 따른 제안하는 지표의 경향 변화, 또한 제안한 지표와 혈청 사이토카인(cytokine)과 연관성을 확인하는 등의 임상과 연관성을 더욱 강화하는 연구가 필요하며, 궁극적으로는 인체 적용에 대한 연구가 필요하다.

레이저 도플러 측정 장비는 크기가 크지 않고 사용법이 간단하므로 응급 카트에 설치 및 운용이 가능할 것이라 판단된다. 그러나 응급실에서의 환자 측정은 환자 움직임에 의한 잡음 발생을 최소화하는 프로브 고정법을 추후 연구해야 한다.

제안한 사망 예측 지표의 임상 적용이 가능하다면, 기존의 생체 징후 등이 간과할 수 있는 조직의 저산소 상태를 적절하게 반영하여 출혈성 쇼크 환자의 사망을 예측하는 지표로서의 사용이 기대된다. 또한, 기존의 생체 징후의 주관적 판단과 본 연구에서 제안한 객관적 방법을 종합적으로 분석하여 출혈성 쇼크 환자의 상태를 평가하고 응급 환자의 생존/사망 예측, 지혈 및 소생술의 치료 효과 판단 등에 도움이 될 것으로 사료된다.

참고문헌

1. World Health Organization. World Health Statistics 2008. 1st ed. Geneva: World Health Organization Press; 2008. p. 46-7.

2. Murray CJ, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. *Lancet* 1997;349:1498-504.
3. Deakin CD, Hicks IR. AB or ABC: pre-hospital fluid management in major trauma. *J Accid Emerg Med* 1994;11:154-7.
4. Markovchick VJ, Pons PT. *Emergency medicine secrets*. 4th ed. Philadelphia, PA: Mosby; 2006. p. 28-32.
5. Wilson M, Davis DP, Coimbra R. Diagnosis and monitoring of hemorrhagic shock during the initial resuscitation of multiple trauma patients: a review. *J Emerg Med* 2003;24:413-22.
6. Abramson D, Scalea TM, Hitchcock R, Trooskin SZ, Henry SM, Greenspan J. Lactate clearance and survival following injury. *J Trauma* 1993;35:584-8.
7. Dutton RP. Current concepts in hemorrhagic shock. *Anesthesiol Clin* 2007;25:23-34.
8. Vandromme MJ, Griffin RL, Weinberg JA, Rue LW, Kerby JD. Lactate is a better predictor than systolic blood pressure for determining blood requirement and mortality: Could prehospital measures improve trauma triage? *J Am Coll Surg* 2010;210:861-7.
9. Lee JH, Choi JL, Chung SW, Kim DW. A survival prediction model for rats with hemorrhagic shock using an artificial neural network. *J Korean Soc Emerg Med* 2010;21:321-7.
10. Kim DW, Choi JL, Park YS. Survival prediction in rats with fixed-volume hemorrhage using a logistic regression equation. *Shock* 2010;33 Suppl 1:14.
11. Choi JL, Kim DW, Park YS. Prediction of blood loss in rats during fixed volume hemorrhage using a regression model. *Shock* 2010;33 Suppl 1:14.
12. Lima A, Bakker J. Noninvasive monitoring of peripheral perfusion. *Intensive Care Med* 2005;31: 1316-26.
13. Deckardt K, Weber I, Kaspers U, Hellwig J, Tennekens H, van Ravenzwaay B. The effects of inhalation anesthetics on common clinical pathology parameters in laboratory rats. *Food Chem Toxicol* 2007;45:1709-18.
14. Davis JA. Mouse and rat anesthesia and analgesia. *Curr Protoc Neurosci* 2008;Appendix 4: Appendix 4B.
15. Leahy MJ, de Mul FFM, Nilsson GE, Maniewski R. Principles and practice of the laser-Doppler perfusion technique. *Technol Health Care* 1993;7:143-62.
16. Takasu A, Sakamoto T. Effect of induction rate for mild hypothermia on survival time during uncontrolled hemorrhagic shock in rats. *J Trauma* 2006;61:1330-5.
17. Goodrich C. Endpoint of resuscitation: what should we be monitoring? *AACN adv Crit Care* 2006;17:306-16.
18. Lee KR, Chung SP, Park IC, Kim SH. Effect of induced and spontaneous hypothermia on survival time of uncontrolled hemorrhagic shock rat model. *Yonsei Med J* 2002;43:511-7.
19. Capone A, Safar P, Stezoski SW, Peitzman A, Tisherman S. Uncontrolled hemorrhagic shock outcome model in rats. *Resuscitation* 1995;29:143-52.
20. Kentner R, Rollwagen FM, Prueckner S, Behringer W, Wu X, Stezoski J, et al. Effects of mild hypothermia on survival and serum cytokines in uncontrolled hemorrhagic shock in rats. *Shock* 2002;17:521-6.
21. Pestel GJ, Fukui K, Kimberger O, Hager H, Kurz A, Hildebrand LB. Hemodynamic parameters change earlier than tissue oxygen tension in hemorrhage. *J Surg Res* 2010;160:288-93.
22. Kaiser ML, Kong AP, Steward E, Whealon M, Patel M, Hoyt DB, et al. Laser Doppler imaging for early detection of hemorrhage. *J Trauma* 2011;71:401-6.
23. Arnold M, Langhans W. Effects of anesthesia and blood sampling techniques on plasma metabolites and corticosterone in the rat. *Physiology Behav* 2010;99:592-8.
24. Diehl KH, Hull R, Morton D, Pfister R, Rabemampianina Y, Smith D, et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes. *J Appl Toxicol* 2001;21:15-23.