

## 肝不全犬의 體外肝灌流에 對한 研究

### Experimental study on extracorporeal liver perfusion in dogs with hepatic failure

서울대학교 醫科大學 外科學 教室

<指導 金 洙 泰 教授>

裴 信 行

#### I. 緒 論

急性肝不全의 結果로 招來되는 肝性昏睡는 그 原因에 對해서 確實한 知識을 가지고 있지 않을 뿐 아니라 重症인 境遇에는 極히 높은 死亡率을 隨伴하게 된다. 肝性昏睡에 있어서 腦의 代謝障害를 招來하게 되는 機轉에 對해서는 그 要因으로 血中 ammonia의 增加가 誘因으로 생각되나 發生機轉에 對해서는 論議가 많다. 血中 ammonia 値를 내리기 위하여 內科의으로 多角의인 治療가 試圖되어 왔으나 아직 그 効能에 對해서는 別로 滿足할만한 것이 못된다.

肝性昏睡에 對한 一時的 補助療法으로 現今까지 實驗的으로 또는 臨床的으로 여러가지 方法이 使用되어 왔다. 여기에는 交換輸出(Abouna et al., 1972a; Abouna, 1972b), 交叉循環(Rene et al., 1963; Burnell et al 1965; Summer et al., 1970; MacDonell et al., 1973), 補助肝移植(Starzl et al., 1966; Takashi et al., 1973) 및 體外肝灌流(Eiseman et al., 1961, 1965; Abouna et al., 1969a; Condon et al., 1970; Parbhoo et al., 1971) 등이 있으나 이들은 모두가 一時的 補助療法이라는 點에서 서로 大同小異한 効果를 가지고 있다.

Mautner 와 Pick(1915)가 처음으로 摘出肝을 使用하여 肝灌流를 施行했으며 Otto et al(1968)이 Eck fistula를 만든 개에서 血中 ammonia 値를 내리기 위해 처음으로 同種體外肝灌流를 施行하였고 臨床的으로 使用하게 된 것은 Benn Eisemann(1965)이 pig liver를 使用하여 異種體外肝灌流를 처음으로 施行하였으며 그 後로부터 急進的인 發展을 가져왔다.

그러나 지금까지 그 治療効果, 技術的인 問題 및 免

疫學的인 問題가 充分히 評價되어 있지 않고있다. 急性肝不全의 經過中에 肝再生으로 回復을 얻기까지는 상당한 時間을 要하므로 一時的인 肝補助療法으로 治療効果를 얼마만큼 期待할 수 있나 하는 問題는 疑問스러운 點이다. 그러므로 現在의 目標은 反復된 體外肝灌流에 依한 血流力學的 및 生化學的 効果의 研究觀察, 體外肝灌流의 使用價値 및 範圍, 異種肝灌流로서 發生할 수 있을 것으로 豫測되는 免疫學的인 問題를 研究하는 것이다.

肝灌流 도중에 發生하는 血流力學的 및 代謝効果에 對해서는 아직도 더 詳細히 研究되어야 할 問題點이 많다.

本實驗에서는 體外肝灌流로서 惹起될 수 있는 諸問題를 研究 檢討하기 위해서 雜種犬을 使用하여 肝不全犬을 만든다음 同種體外肝灌流를 施行하여 血流力學的, 生化學的 檢査 및 組織學的 檢査를 綜合하여 報告하는 바이다.

#### II. 實驗方法

##### 1. 肝不全犬의 製作

體重 12kg 前後의 雜種犬을 使用하여 體重 1kg 當 pentothal sodium 20mg 을 靜注하고 氣管內插管으로 全身麻醉後에 腹部 正中切開로 開腹한 다음 總膽管을 十二指腸에서 가장 가까운 곳에서 分離하여 結紮切斷을 하였다.

개의 特殊한 解剖學的 및 生理學的인 面을 考慮(Aronsen, 1961)하여 總膽管을 結紮後 血清 bilirubin 및 他檢査價가 最高에 達하는 時期인 術後 10日前後에 體外肝灌流를 施行하였다.

## 2. 肝의 摘出法

肝摘出術에 對해서는 여러 學者들이(Drapanas et al., 1966; Condon et al., 1970; 中川 外., 1973) 詳細히 記術하고 있다. 이들의 方法을 따라 上記한 方法으로 全身麻醉後에 腹部切開 및 右胸部開胸을 한 다음 肝에 附着된 靱帶를 剝離切除하여 肝의 遊離를 充分히 시킨 後 膽囊管을 結紮하고 總膽管은 十二指腸 가까운 곳에서 分離切斷하여 polyethylene 管을 挿入하였다.

門脈 및 肝動脈을 充分히 分離하여 後에 挿管을 하는 데 不便이 없도록 하였다. 下空大靜脈裂孔까지 橫隔膜을 切開하고 肝의 上下部の 下空大靜脈을 分離시켜 肝切除를 할 準備를 完了한 後에 體重 1kg 當 3mg의 heparinization을 한 後에 迅速한 動作으로 肝切除를 施行하였다. 肝動脈과 門脈은 clamping 後에 切斷하고 heparinized Ringer's lactate solution으로 灌流를 開始하였다. 이와 同時에 下空大靜脈을 切斷하고 橫隔膜 附着部의 나머지 部分을 完全히 切除하여 肝摘出을 完成시켰다.

肝摘出 途中에 肝表面 周圍의 小血管의 止血을 慎重히 함으로서 後에 肝灌流 途中에 出血을 일으키지 않도록 注意를 要함은 重要한 일이다.

이 操作中에 肝灌流에서 priming 할 血液을 充分한 量을 採取한다.

## 3. 體外肝灌流方法

灌流時에 充分한 血液供給을 주기 위해서 腸骨動脈과 腸骨靜脈을 利用하여 回路에 連結을 시키는 A-V shunt를 下圖와 같이 設置하였다(圖 1).

回路를 構成하는 cannula는 各 血管의 크기와 맞게 挿管을 함으로서 血液에 障礙가 오지 않도록 하고 모든 cannula와 貯血槽는 siliconize 시키고 完全한 無菌의 處置를 하였다.

灌流前에 實驗犬은 時間的餘裕를 두고 充分한 水液供給을 시키고 灌流直前에 penicillin 200萬單位를 靜注하였다.

麻醉는 pentothal sodium으로 輕하게 麻醉하고 氣管內挿管으로 酸素吸入을 灌流 全過程을 通하여 施行하였다.

血壓과 中心靜脈壓을 持續的으로 測定하기 위하여 血壓計 및 manometer를 設置하고 灌流하는 동안에 一定한 溫度를 維持시키기 위하여 heating coil을 使用하였고 自動溫度測定器를 設置하였다.

肝의 流入壓은 20cm H<sub>2</sub>O로 一定壓을 維持시켰다. 灌流直前에 體重 1kg 當 3mg의 heparinization을 하고 灌流回路의 priming은 採取한 heparinized blood 250cc와 生理食鹽水 150cc를 混合하여 使用하였다.

第1群 7例에서는 灌流直前에 150cc의 血液을 輸血하

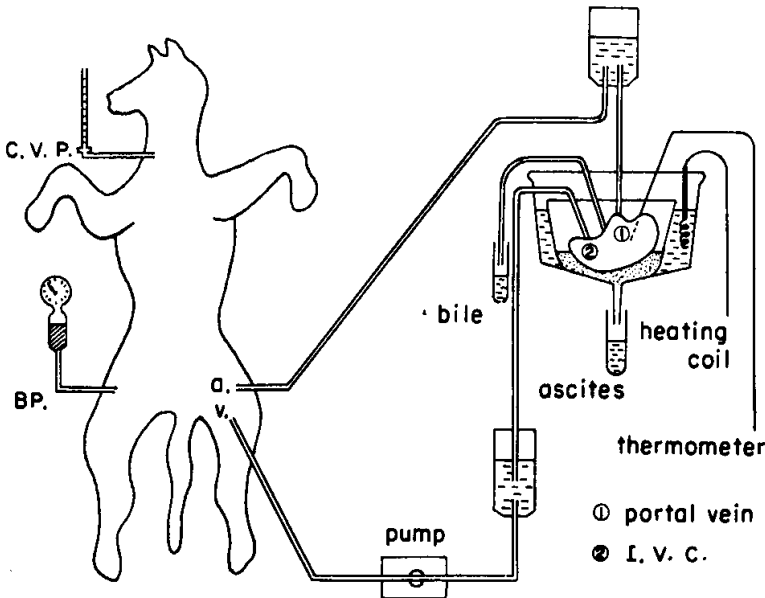


Fig. 1. Diagram of extracorporeal liver perfusion.

고 水液 200cc 와 體重 kg 당 2mEq 의  $\text{NaHCO}_3$  를 注入 하였고 灌流途中의 水分消失에 對備하여 必要에 따라 水液을 供給하였다. 灌流 1時間後에 다시 體重 kg 당 1mEq 의  $\text{NaHCO}_3$  를 補充하였다.

第2群 4例에서는 以上の 輸血 및 水液의 補充을 하지 않고 肝灌流를 施行하였다.

#### 4. 肝機能檢査

灌流直前의 肝機能檢査는 priming 또는 輸血로 因하여 血液이 稀釋되는 것을 考慮하여 灌流直前과 灌流始作後 4分에서 各各 檢査하였는데 이것은 血液이 完全히 混合되는 時間(Eiseman et al., 1961)을 考慮하여 後者를 灌流始作時의 測定値로 하였다.

血中 ammonia 는 Helen McCullough(1967)의 direct colorimetric 方法으로 測定하고 血清 transaminase 는 Reitmann 과 Frankel (1957) 法으로, alkaline phosphatase 는 Bodansky 法으로 測定하였다.

### II. 實驗成績

第1群 7例의 成績은 다음과 같다.

#### 1. 肝血流量

灌流肝의 流入壓을 20cm  $\text{H}_2\text{O}$  로 一定하게 維持함으로써 肝血流量의 測定結果는 15分後에  $0.59 \pm 0.06 \text{ ml/gm, liver/min}$ , 30分後에  $0.69 \pm 0.07 \text{ ml/gm, liver/min}$ , 60分後에  $0.71 \pm 0.06 \text{ ml/gm, liver/min}$ , 2時間後에는  $0.66 \pm 0.06 \text{ ml/gm, liver/min}$  로서 肝血流量은 灌流時間이 지남에 따라 차츰 增加하였고 灌流末에는 若干의 低下現象을 보였다.

#### 2. 膽汁排泄量

灌流 2時間동안의 膽汁排泄量은  $4.3 \pm 0.66 \text{ ml}$  로써 1時間동안의 排泄量은  $1.8 \sim 2.8 \text{ ml}$  이었다. 表 1에서 보는 바와같이 肝血流量과 膽汁排泄量은 서로 密接한 關係를 보였다.

#### 3. 肝重量의 變化

肝摘出時 測定한 肝重量은  $313 \pm 35.8 \text{ gm}$  이었고 灌流終了直後의 肝重量은  $369 \pm 28.5 \text{ gm}$  으로서  $18.3 \pm 5.92\%$  의 增加率을 보였다. 表 1에서 보면 肝血流量이 不足한 例에서 肝重量의 增加가 많고 肝血流量이 充分한 例에서는 肝重量의 增加가 적은 것을 볼 수 있다.

#### 4. 血壓과 血液의 pH

灌流 全過程을 通해 持續的計測을 한 結果 血壓은 各例마다 若干의 差異는 있으나  $155 \sim 125 \text{ mmHg}$  로 一定하게 維持되었고 pH 는  $7.35 \sim 7.45$  로 維持되었다.

#### 5. 血清 bilirubin

灌流始作時의 血清 bilirubin 은  $5.13 \pm 1.26 \text{ mg\%}$ , 60分後에  $2.87 \pm 0.73 \text{ mg\%}$ , 2時間後에는  $2.10 \pm 0.53 \text{ mg\%}$  로 顯著한 減少를 보였다 ( $P < 0.01$ ) (表 2 및 圖 2).

#### 6. 血清 transaminase

SGPT 는 灌流始作時에  $689 \pm 199.8 \text{ unit}$ , 60分後에  $669 \pm 187.2 \text{ unit}$ , 2時間後에는  $687 \pm 178.6 \text{ unit}$  였으며 SGOT 는 灌流始作時에  $343 \pm 100.1 \text{ unit}$ , 60分後에  $326 \pm 86.3 \text{ unit}$ , 2時間後에는  $331 \pm 90.4 \text{ unit}$  로서 各例마다 差異가 많고 灌流로서 血清 transaminase 의

Table 1. Various findings during liver perfusion in group I.

| Animal No. | Liver blood flow (ml/gm, liver/min) |      |      |         | Liver wt. (gm) |       |      | Bile flow | pH                      | BP                                |
|------------|-------------------------------------|------|------|---------|----------------|-------|------|-----------|-------------------------|-----------------------------------|
|            | 15                                  | 30   | 60   | 120 min | pre-           | post- | %    | ml/2 hrs  | /                       | mmHg                              |
| 1          | 0.55                                | 0.55 | 0.68 | 0.65    | 280            | 342   | 22   | 3.8       | maintained<br>7.35~7.45 | maintained<br>155~125<br>systolic |
| 2          | 0.60                                | 0.65 | 0.75 | 0.70    | 345            | 390   | 13   | 4.5       |                         |                                   |
| 3          | 0.50                                | 0.50 | 0.65 | 0.60    | 265            | 320   | 21   | 4.2       |                         |                                   |
| 4          | 0.65                                | 0.67 | 0.77 | 0.72    | 345            | 390   | 13   | 4.5       |                         |                                   |
| 5          | 0.55                                | 0.58 | 0.62 | 0.58    | 285            | 365   | 28   | 3.6       |                         |                                   |
| 6          | 0.60                                | 0.67 | 0.70 | 0.68    | 320            | 382   | 19   | 4.0       |                         |                                   |
| 7          | 0.65                                | 0.70 | 0.74 | 0.72    | 352            | 395   | 12   | 5.6       |                         |                                   |
| Mean       | 0.59                                | 0.69 | 0.71 | 0.66    | 313            | 369   | 18.3 | 4.3       |                         |                                   |
| S. D       | 0.06                                | 0.07 | 0.06 | 0.06    | 35.8           | 28.5  | 5.92 | 0.66      |                         |                                   |

**Table 2.** Serum bilirubin levels during liver perfusion in group I.

| Perfusion time |                   |      |       |        |
|----------------|-------------------|------|-------|--------|
| Animal No.     | Pre-              | *On  | 60min | 120min |
| 1              | 7.80 <sup>+</sup> | 5.72 | 3.10  | 2.46   |
| 2              | 7.75              | 5.40 | 3.05  | 2.26   |
| 3              | 6.57              | 4.75 | 2.58  | 2.06   |
| 4              | 4.45              | 3.38 | 1.74  | 1.25   |
| 5              | 7.38              | 5.25 | 3.05  | 2.55   |
| 6              | 10.25             | 7.26 | 4.12  | 2.62   |
| 7              | 5.50              | 4.14 | 2.46  | 1.50   |
| Mean           | 7.10              | 5.13 | 2.87  | 2.10   |
| S. D.          | 1.86              | 1.26 | 0.73  | 0.53   |

<sup>+</sup> mg%

\* On perfusion, dilution occurred from transfusion and priming on perfusion system.

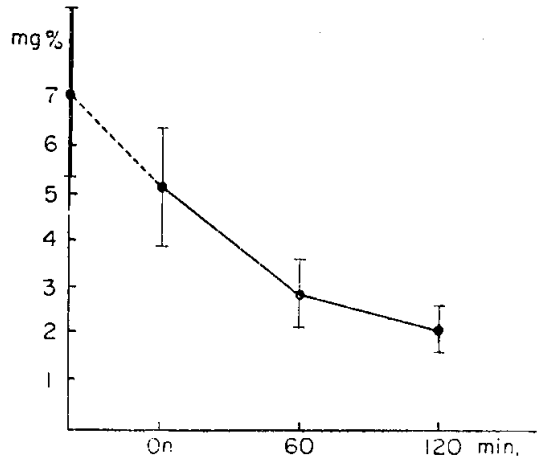
變化는 顯著하지 않다 ( $P > 0.05$ ) (表 3 및 圖 3).

### 7. 血清 alkaline phosphatase

表 4 및 圖 4에서 보는바와 같이 灌流始作時에 108.4 ± 40.9 unit, 60分 後에 91.0 ± 35.7 unit, 2時間後에는 82.8 ± 28.4 unit 로서 若干의 減少를 보였다 ( $P > 0.05$ ).

### 8. 血中 ammonia

表 5 및 圖 5에서 보는바와 같이 灌流始作時에 158.9



**Fig. 2.** Serum bilirubin levels during liver perfusion.

± 29.85 μg%, 30分後에 94.7 ± 12.71 μg%, 60分後에 78.2 ± 9.40 μg%, 2時間後에는 74.2 ± 7.89 μg% 로서 灌流初期에 顯著한 減少를 보였다 ( $P < 0.01$ ).

### 9. BSP 排泄試驗

BSP 를 體重 kg 當 5mg 을 靜注한 後에 45分 동안의 排泄試驗은 肝不全犬의 灌流直前에 行한 4例에서 29.0 ± 4.97% retention 이었고 灌流中에는 12.0 ± 2.06% retention 으로 顯著한 濃度の 減少를 보였다 ( $P < 0.01$ ) (表 6).

### 10. 血清 總蛋白 및 albumin

正常犬의 4例에서 總蛋白 및 albumin 은 6.22 ± 0.34

**Table 3.** Serum SGPT and SGOT levels during liver perfusion in group I.

| Perfusion time | Pre-  |       | On    |       | 60min |      | 120min |      |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|------|--------|------|
|                | SGPT  | SGOT  | SGPT  | SGOT  | SGPT  | SGOT | SGPT   | SGOT |
| Animals No.    |       |       |       |       |       |      |        |      |
| 1              | 875*  | 418   | 695   | 345   | 695   | 267  | 680    | 280  |
| 2              | 590   | 382   | 520   | 307   | 487   | 305  | 572    | 291  |
| 3              | 485   | 247   | 417   | 204   | 405   | 217  | 405    | 205  |
| 4              | 1076  | 672   | 886   | 515   | 814   | 472  | 827    | 485  |
| 5              | 938   | 516   | 847   | 423   | 849   | 408  | 847    | 402  |
| 6              | 1276  | 475   | 915   | 316   | 887   | 315  | 924    | 342  |
| 7              | 650   | 380   | 540   | 290   | 543   | 296  | 595    | 309  |
| Mean           | 841   | 444   | 689   | 343   | 669   | 326  | 687    | 331  |
| S. D.          | 283.2 | 121.0 | 199.8 | 100.1 | 187.2 | 86.3 | 178.6  | 90.4 |

\* unit.

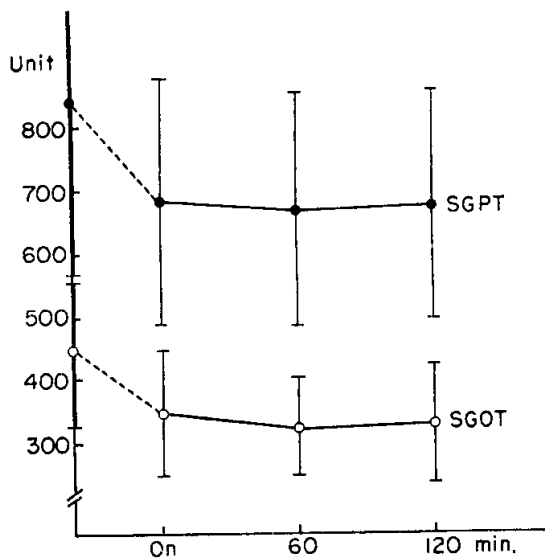


Fig. 3. Serum SGPT and SGOT levels during liver perfusion.

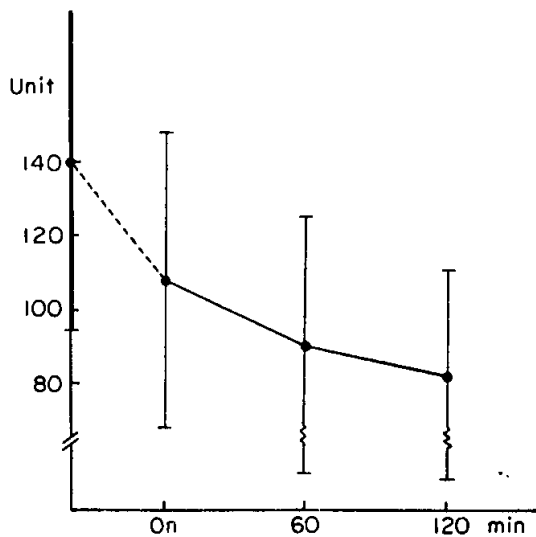


Fig. 4. Serum alkaline phosphatase during liver perfusion.

Table 4. Serum alkaline phosphatase levels during liver perfusion in group I.

| Perfusion time | Pre-   | On    | 60min | 120min |
|----------------|--------|-------|-------|--------|
| Animal No.     |        |       |       |        |
| 1              | 205.0* | 165.7 | 140.4 | 121.6  |
| 2              | 165.7  | 120.5 | 98.5  | 92.5   |
| 3              | 132.5  | 102.5 | 90.7  | 86.5   |
| 4              | 108.8  | 90.2  | 85.6  | 79.5   |
| 5              | 87.6   | 57.1  | 44.4  | 44.0   |
| 6              | 187.4  | 154.0 | 127.4 | 107.0  |
| 7              | 78.0   | 69.0  | 50.0  | 48.6   |
| Mean           | 140.7  | 108.4 | 91.0  | 82.8   |
| S. D.          | 45.9   | 40.9  | 35.9  | 28.4   |

\* Bodansky unit.

gm% 및  $2.84 \pm 0.24$ gm%이었고 總膽管結紮 10日後의 血清値는  $6.10 \pm 0.39$ gm% 및  $2.33 \pm 0.09$ gm%로서 總蛋白質量은 뚜렷한 變化가 없으나 albumin은 顯著한 減少를 보였다 ( $P < 0.05$ ).

그러나 肝灌流에 依한 總蛋白質量 및 albumin은 表 7에서 보듯이 뚜렷한 變化가 없다 ( $P > 0.05$ ).

Table 5. Blood ammonia levels during liver perfusion in group I.

| Perfusion time | Pre-   | On    | 30min | 60min | 120min |
|----------------|--------|-------|-------|-------|--------|
| Animal No.     |        |       |       |       |        |
| 1              | 185.0* | 165.7 | 95.3  | 75.5  | 70.4   |
| 2              | 205.6  | 192.4 | 85.5  | 80.7  | 80.2   |
| 3              | 174.5  | 157.5 | 108.7 | 87.5  | 75.2   |
| 4              | 189.7  | 168.0 | 97.2  | 74.9  | 68.5   |
| 5              | 159.3  | 130.5 | 85.5  | 70.7  | 70.5   |
| 6              | 216.5  | 185.9 | 112.7 | 92.4  | 88.7   |
| 7              | 147.4  | 112.0 | 78.1  | 65.5  | 65.5   |
| Mean           | 179.7  | 158.9 | 94.7  | 78.2  | 74.2   |
| S. D           | 42.48  | 29.85 | 12.71 | 9.40  | 7.89   |

\*  $\mu\text{g}\%$ .

### 11. 灌流後 摘出肝의 組織學의 所見

灌流後 摘出肝의 組織所見은 輕度の 鬱血 및 少數의 肝小葉에서 洞狀血管周圍에 炎症細胞浸潤과 輕微한 星芒細胞의 mobilization을 보인다. 그러나 대체적으로 肝小葉의 構造는 잘 保存되어 있고 肝細胞의 變性과 壞死는 볼 수 없었다(圖 6).

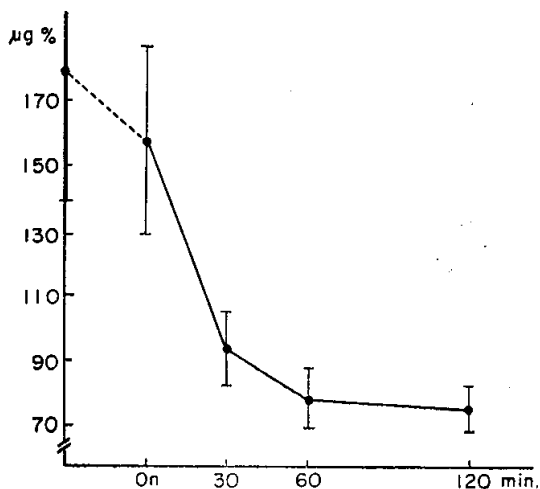


Fig. 5. Blood ammonia levels during liver perfusion

Table 6. BSP retention, pre- and during liver perfusion in group I.

| Animal No. | 5   | 6  | 7  | 8  | Mean | S. D. |
|------------|-----|----|----|----|------|-------|
| Pre-       | 23* | 32 | 27 | 34 | 29   | 4.97  |
| During     | 12  | 15 | 10 | 12 | 12   | 2.06  |

\* %/45min.

Table 7. Serum protein levels, pre- and during liver perfusion in group I.

| Animal No. | *Control               | Pre-      | 60min     | 120min    |
|------------|------------------------|-----------|-----------|-----------|
| 5          | 6.30/2.75 <sup>†</sup> | 6.20/2.25 | 6.10/2.52 | 5.90/2.47 |
| 6          | 5.90/2.87              | 5.70/2.42 | 5.70/2.42 | 5.60/2.25 |
| 7          | 6.62/2.90              | 6.60/2.90 | 6.60/2.25 | 6.40/2.08 |
| 8          | 6.10/2.85              | 5.90/2.38 | 5.75/2.47 | 5.60/2.47 |
| Mean       | 6.22/2.84              | 6.10/2.33 | 5.99/2.37 | 5.83/2.37 |
| S. D.      | 0.34/0.24              | 0.39/0.09 | 0.49/0.26 | 0.29/0.12 |

\* Normal dog, just prior to common bile duct ligation. Total protein/albumin (electrophoresis)

† gm%.

12. 第2群 4例에서의 血流力學的 및 血液의 pH 變化

灌流始作後에 곧 血壓의 下降이 招來되고 肝血流量이 急激히 低下함과 同時에 酸血症現象을 誘發하게 되었다.

Table 8. Hemodynamic changes with blood pH in group I.

(pH)

| Animal No. | On   | 30min | 60min | 120min |
|------------|------|-------|-------|--------|
| 1          | 7.42 | 7.28  | 7.23  | 7.24   |
| 2          | 7.38 | 7.25  | 7.20  | 7.22   |
| 3          | 7.37 | 7.25  | 7.18  | 7.22   |
| 4          | 7.39 | 7.20  | 7.19  | 7.20   |
| Mean       | 7.39 | 7.25  | 7.20  | 7.22   |
| S. D.      | 0.02 | 0.03  | 0.02  | 0.02   |

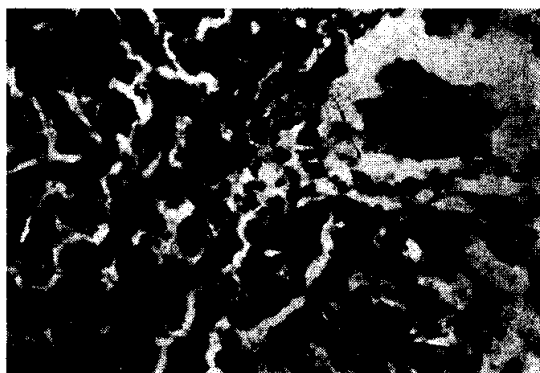
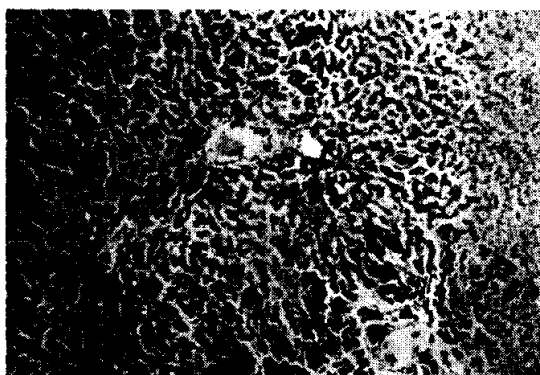


Fig. 6. Pathological findings on perfused liver. After 2 hours of liver perfusion, areas of mild to moderate congestion are noted within some hepatic lobules and scattered foci of mild inflammatory cells infiltration. But hepatic lobules were well preserved. Upper, H-E,  $\times 100$ . Lower, H-E,  $\times 450$ .

(BP)

| Perfusion time | On   | 30min | 60min | 120min |
|----------------|------|-------|-------|--------|
| Animal No.     |      |       |       |        |
| 1              | 140  | 92    | 90    | 95     |
| 2              | 155  | 90    | 85    | 95     |
| 3              | 145  | 82    | 80    | 90     |
| 4              | 140  | 80    | 75    | 85     |
| Mean           | 145  | 86    | 83    | 91     |
| S. D           | 7.07 | 5.89  | 6.46  | 4.79   |

(Liver blood flow. ml/gm/min)

| Perfusion time | On   | 30min | 60min | 120min |
|----------------|------|-------|-------|--------|
| Animal No.     |      |       |       |        |
| 1              | 0.62 | 0.60  | 0.45  | 0.65   |
| 2              | 0.60 | 0.52  | 0.30  | 0.50   |
| 3              | 0.65 | 0.45  | 0.25  | 0.45   |
| 4              | 0.57 | 0.45  | 0.27  | 0.30   |
| Mean           | 0.61 | 0.50  | 0.32  | 0.45   |
| S. D           | 0.03 | 0.07  | 0.09  | 0.11   |

血壓는 灌流初에  $145 \pm 7.07 \text{ mmHg}$  에서 最下  $83 \pm 6.46 \text{ mmHg}$  까지 下降되어 shock 狀態에 빠지고 肝血流量은 灌流初에  $0.61 \pm 0.03 \text{ ml/gm, Liver/min}$  에서 最下  $0.32 \pm 0.09 \text{ ml/gm, Liver/min}$  까지 떨어지고 血液의 pH 도  $7.39 \pm 0.02$  에서 最下  $7.20 \pm 0.02$  까지 떨어져 灌流 2時間까지 正常回復이 不可能했다(表 8 및 圖 7).

#### IV. 考 按

體外肝灌流를 成功的으로 成就하기 爲해서는 低灌流 抵抗과 適切한 肝血流的 維持가 가장 重要하다.

不適當한 動脈의 挿管은 血流供給을 低下시키고 血壓 下降은 肝血流量을 減少시키는 重要한 要因이며 酸血症과 低温灌流(Eiseman et al., 1963)는 肝血管抵抗을 增加시키고 따라서 血流量을 減少시키는 現象을 招來하게 된다. 體外灌流 途中에는 體血液容量이 顯著하게 減少된다. Yasher(1971)는 體外循環을 함으로서 體液의 細胞內移動으로 因하여 3時間의 體外循環으로 總血液容量

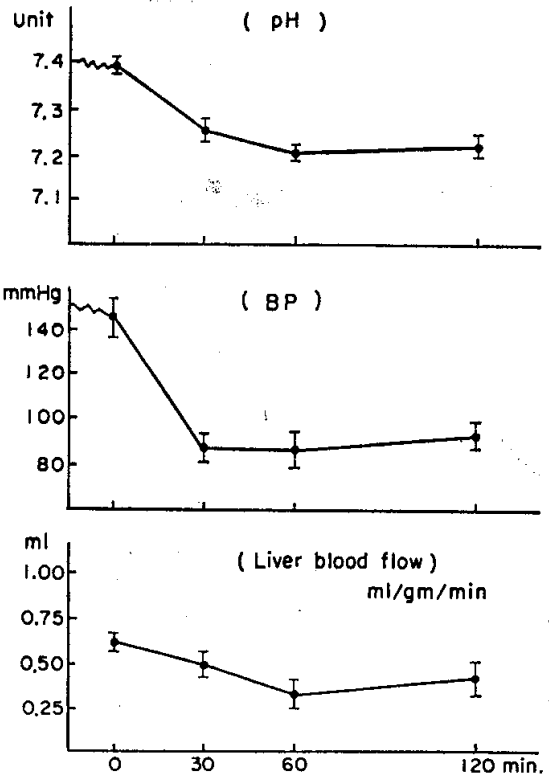


Fig. 7. Hemodynamic changes with blood pH, in group I.

의 25%가 減少된다고 하였다. 이 結果 血壓의 下降이 오는것은 明白한 事實이다. Drapanas(1966)는 개의 體外肝灌流後에 모든 組織에서 間質性浮腫이 생긴다는 것을 報告하였다. 그러므로 體外肝灌流前에 充分한 水液供給과 體血液容量의 補充을 하여야 하고 灌流中에 中心靜脈壓 및 血液의 pH를 持續的으로 點檢하여 矯正시키고 灌流溫度를  $38^{\circ}\text{C}$ 로 一定하게 維持시켜야 한다.

犬種에서는 毛細肝靜脈 周圍에 筋性括約筋이 特히 發達되어(Walker, 1960; Eiseman et al., 1963) 있어서 肝灌流 途中에 가끔 outflow block syndrome(Walker, 1960; Kestens et al., 1961; Eiseman et al., 1963)이 일어난다. 이러한 現象은 他動物의 肝에서는 매우 드물다. 이 症狀은 灌流始作後 곧 나타나서 대개 10分 乃至 40分後에 正常으로 回復되는데 肝은 腫脹되며 斑點形成이 생기고 靑褐色으로 變하며 肝血流量은 急激히 減少한다. 이에 對한 原因은 灌流液內에 毒性要素가 있거나 또는 一種의 過敏反應에 依해 誘發된다는 說이 있으나 實質的인 根據은 全缺 없다고 한다.

本 實驗에서는 이 現象을 觀察하지 못하였다.

灌流始作後에 一時的으로 招來되는 輕度の 血流量의 減少現象은 本實驗에서도 볼 수 있었는데 이 現象을 Eisemann(1963)은 다음과 같이 說明하였다. 即 低溫狀態에 있는 摘出肝을 灌流回路에 連結시켜 灌流하면 低體溫症으로 因하여 血液의 粘度가 增加하고 血管痙縮이 생기며 이것은 肝血管抵抗을 增加시키는 結果를 招來하게 되어 肝血流量이 減少하게 된다고 하였다. Winch(1972)는 肝摘出時에 灌流液을 注入할 때에 低溫液과 38°C의 灌流液을 使用한 結果 肝灌流時에 膽汁排泄量과 BSP 負荷實驗에서 後者에서 훨씬 좋은 結果를 얻었다는 報告를 미루어 볼 때에 低溫이 肝血管抵抗에 미치는 影響이 크다는 것은 明白한 事實이다.

長時間의 肝灌流를 施行하면 肝血流量이 徐徐히 減少된다. Abouna(1969b)는 5時間의 肝灌流로서 肝血流量이 20%가 減少하였다고 하였고 中川(1973)은 2~3時間의 肝灌流로서 5%가 減少하였다고 하였다.

本實驗에서도 2時間의 肝灌流로서 若干의 減少現象을 나타내었다. 이러한 現象은 確實한 原因을 알 수 없고 Abouna(1969b)는 變性된 蛋白質의 微細血栓의 蓄積에 依한다고 했으나 組織檢査上으로 이러한 現象은 發見할 수가 없었다. 誘因으로서 酸素缺乏症, 血液濃縮 또는 H-ion의 增加를 생각할 수 있으나 以上の 原因이 發見되지 않은 例에서도 이 現象은 온다고 하였다.

肝血流量은 灌流 route 와도 密接한 關係가 있다. Eisemann(1965)과 Drapanas(1966)는 門脈과 肝動脈에 同時에 灌流한 例에서 門脈에 單獨으로 灌流한 例보다 肝血流量 및 膽汁排泄量이 顯著히 높으나 灌流時間이 지남에 따라서 兩者 共히 適切한 肝血流量을 維持하게 되고 肝機能檢査에서도 비슷한 結果를 보이게 된다.

膽汁排泄은 肝血流量의 減少, 灌流壓의 增加 및 灌流溫度의 下降에 依해서 急激히 低下되며 이러한 點에서 膽汁排泄量은 體外肝機能의 가장 좋은 指標가 된다고 하였다.

本實驗에서도 肝血流量이 적은 例에서 膽汁排泄量이 적은 것으로 볼때 肝血流量과 膽汁排泄量은 서로 密接한 關係가 있음을 알 수 있다.

肝血流量이 0.5ml/gm, liver/min 以下로 減少되면 膽汁排泄의 減少는 물론 酸素消耗도 急激히 減少하고 모든 生化學的 機能의 障蔽가 招來된다(Bibler et al., 1966). 이는 cellular level 에서의 tissue perfusion 의 減少를 意味한다(Abouna et al., 1969b). 本實驗의 第2群의 4例가 이 境遇에 屬한다고 볼 수 있다.

Abouna(1969b)는 灌流後의 肝重量의 增加率이 12~20%, Drapanas(1966)는 平均 20%의 增加率을 보였다.

本實驗에서는 18.3±5.92%의 增加率을 보였다. 肝血流量이 不充分한 例에서 肝重量의 增加率이 높은 것은 肝灌流가 不適合하다는 것을 말하여 주고 이것은 肝血管抵抗의 增加로 말미암아 肝組織의 浮腫 및 鬱血에 起因하는 것이다.

最近에 體外肝灌流에서 異種肝을 使用했을 때에 생기는 免疫學的反應이 問題가 되고 있는데 異種肝灌流時에 摘出肝에서 蛋白質合成이 이루어지며 事實上 immunoelectrophoresis 上에서 異種蛋白質을 發見할 수 있었다.(Bibler et al., 1966; Norman et al., 1966; Norman et al., 1966). 그러나 Miller(1964)는 灌流肝이  $\gamma$ -globulin은 生成하지 못한다고 하였다.

事實上 지금까지 肝灌流 途中에서 또는 反復된 體外肝灌流에서도 免疫學的反應은 뚜렷하게 發見된 것이 없다(Abouna et al., 1970).

Condon(1970)은 摘出肝의 機能이 適合한지를 4가지 指針으로서 提示하였다. 첫째로 總肝血流量이 0.5ml/gm, liver/min 以上이어야 하고 두번째로 血管抵抗이 門脈이 0.6P.R.U, 肝動脈이 1.0P.R.U. 以下이어야 하고 세번째로 門脈과 肝靜脈의 potassium 值의 差異가 없어야 하며 끝으로 外觀上으로 正常肝의 色을 보여야 한다고 하였다. 以上에서 어느 한가지라도 不足하면 不適合한 肝灌流를 招來한다고 하였다.

急性肝不全으로 招來되는 肝性昏睡의 死亡率은 매우 높다. Hollander(1971)와 Zieve(1966)는 肝性昏睡의 死亡率을 85~95%로 推定하고 있다.

Abouna(1972a, 1972c)와 Parbhoo(1971)는 肝性昏睡患者를 體外肝灌流로 長期間의 生存을 얻는데 成功함으로써 向後 體外肝灌流를 施行하여 良好한 結果를 얻을 것으로 期待된다.

Eisemann(1965)은 아래의 境遇에서 體外肝灌流가 適應될 수 있다고 하였다. 첫째로 急性肝炎이나 壞死性肝炎으로 因한 肝性昏睡患者로 reversible 한 境遇이고 둘째로 肝硬變이 있으면서 marginal liver reserve 를 가진 患者가 肝性昏睡에 빠졌을 때에 一次의 昏睡에서 後에 回復할 수 있는 患者에서, 세번째로 肝移植前後의 一時的인 補助로서 患者狀態를 좋게하기 위하여 이 方法을 使用함으로 有益한 結果를 얻을 수 있다고 하였다.

## V. 結 論

體外肝灌流로서 招來되는 諸般問題를 檢討하기 爲하여 肝不全犬의 同種體外肝灌流를 2時間동안 施行하여 血流力學的檢査, 肝機能檢査 및 組織學的檢査를 施行하여 다음과 같은 結論을 얻었다.



I. 灌流直前に 輸血과 水液補充 및  $\text{NaHCO}_3$ 로서 酸鹽基 平衡狀態를 矯正하면서 肝灌流를 施行한 第1群에서는,

1) 肝灌流 全過程을 통하여 充分한 肝血流量을 維持하였고 血壓 및 酸鹽基의 平衡은 正常으로 維持되었으며 適合한 肝灌流를 얻을 수 있었다.

2) 血清 bilirubin 및 血中 ammonia는 灌流初부터 顯著的한 減少를 보였다.

3) SGPT, SGOT 및 總蛋白量과 albumin은 血清值의 變動이 一定하지 않았다.

4) BSP 排泄試驗은 實驗犬의 灌流前보다 灌流途中에서 顯著的한 排泄을 보였다.

5) 肝血流量이 增加하면 膽汁排泄量도 增加하여 相互密接한 關係를 보였다.

6) 肝灌流後 體外灌流肝의 重量은 12~28%의 增加率을 보였으며 肝血流量과 肝重量의 增加間에는 相互密接한 關係를 나타내었다.

7) 肝灌流後 體外灌流肝의 組織所見은 輕度の 鬱血 및 炎症細胞浸潤을 보였고 肝小葉은 비교적 잘 保存되어 있으며 肝細胞의 變性 및 壞死는 볼 수 없었다.

II. 灌流直前に 輸血과 水液補充 및  $\text{NaHCO}_3$ 로서 酸鹽基 平衡狀態를 矯正하지 않았던 第2群에서는 體外肝灌流 途中에 全例에서 血壓下降 및 酸血症의 傾向을 보였으며 肝血流量이 顯著히 低下되어 不適合한 肝灌流를 招來하였다.

## ABSTRACT

### Experimental study on extracorporeal liver perfusion in dogs with hepatic failure

Shin Heng Bae, M.D.

Department of Surgery, College of Medicine,  
Seoul National University

(Directed by Prof. Soo Tae Kim, M.D.)

A variety of extracorporeal hepatic support in recent years have been used in patient with hepatic coma due to acute hepatic necrosis. This procedure is probably the available method of treatment of hepatic coma, but its therapeutic effectiveness, immunological implication and technical problem have not been fully evaluated.

Homologous extracorporeal liver perfusion was per-

formed in dogs, weighing about 12kg, of hepatic failure incuced by carryng out a common bile duct ligation, and their hemodynamic, biochemical and pathological findings were studied.

The results were as follows;

1) In most cases there was a tendency to develop acidosis and hypotension. A group which was not treated with fluid and blood volume replacement prior to perfusion, liver blood flow diminished markedly and inadequate liver perfusion was obtained.

2) In the group of adequate liver perfusion, serum bilirubin and blood ammonia levels decreased rapidly the course of liver perfusion. But SGPT, SGOT and protein levels were not changed efficiently.

3) Liver weight increased from 12 to 28% during two hour period of liver perfusion.

4) Pathological findings on perfused liver revealed mild perisinusoidal congestion and focal inflammatory cell infiltration but hepatic lobule was well preserved. There were no degenerative changes or necrosis of liver cells.

## REFERENCES

- 1) Abouna, G. M., Kirkley, J. R., and Keer, D. M. : *Treatment of hepatic coma by extracorporeal pig liver perfusion. Lancet. 1:64, 1969a.*
- 2) Abouna, G. M., Ashcroft, T., and Young, J. R. : *Transhepatic vascular resistance during prolonged isolated liver perfusion. Brit. J. Surg. 56:921, 1969b.*
- 3) Abouna, G. M., Ashcroft, T., and Hull, C. J. : *Heterologous extracorporeal hepatic support; hemodynamic, biochemical and immunological observation. Brit. J. Surg. 57:213, 1970.*
- 4) Abouna, G. M., Fisher, L. M., Still, W. J., and Hume, D. M. : *Acute hepatic coma sucessfully treated by extracorporeal baboon liver perfusion. Brit. Med. J. 1:23, 1972a.*
- 5) Abouna, G. M. : *Improved technique of exchange transfusion for hepatic coma. Surg. Gynec. Obstet. 134:658, 1972b.*
- 6) Abouna, G. M., Cook, S. S., Still, W. J., and Hume, D. M. : *Treatment of acute hepatic coma by ex-vivo baboon and human liver perfusion. Surgery. 71:537, 1972c.*
- 7) Aronsen, K. F. : *Liver function studies during and after complete extrahepatic biliary obstruction in the dog. Acta. Chir. Scand. Suppl. 275, 1961.*

- 8) Bibler, D. D., Condon, R. E., and Nyhus, L. M.: *Temporary use of ex-vivo heterologous liver for hepatic insufficiency; metabolic effect and sensitivity to perfused protein in dog.* *Ann. Surg.* 164:61, 1966.
- 9) Burnell, J. M., and Thomas, E. D.: *Observation on cross circulation in man.* *Am. J. Med.* 38:832, 1965.
- 10) Condon, R. E., and Bombeck, C. T.: *Liver perfusion in hepatic coma.* *Surg. Clin. North Amer.* 50:257, 1970.
- 11) Drapanas, T., Ziemel, R., and Vang, J. O.: *Hemodynamics of the isolated perfused pig liver; metabolism according to route of perfusion and rate of flow.* *Ann. Surg.* 164:522, 1966.
- 12) Eiseman, B., Knipe, P., and Orloff, M. J.: *Isolated liver perfusion for reducing blood ammonia.* *Arch. Surg.* 83:44, 1961.
- 13) Eiseman, B., Knipe, P., Koh, Y., and Spencer, F. C.: *Factor affecting hepatic vascular resistance in the perfused liver.* *Ann. Surg.* 157:532, 1963.
- 14) Eiseman, B., Liem, D. S., and Raffucci, F.: *Heterologous liver perfusion in treatment of hepatic failure.* *Ann. Surg.* 162:329, 1965.
- 15) Helen McCullough.: *The determination of ammonia in whole blood by a direct colorimetric method.* *Clin. Chim. Acta.* 17:297, 1967.
- 16) Hollander, D., and Osteen, R. T.: *Human-baboon cross circulation for treatment of hepatic coma.* *J. A. M. A.* 218:67, 1971.
- 17) Kestens, P. J., and McDermott, W. V.: *Perfusion and replacement of the canine liver.* *Surgery.* 50:197, 1961.
- 18) MacDonell, R. C., Patterson, J. H., and Behren, B. L.: *Cross circulation between children in hepatic coma and chimpanzees.* *J. Pediatrics.* 82:593, 1973.
- 19) Mautner, H., and Pick, E. P.: *Über die durch "Schockgifte" erzeugten Zirkulations Störungen.* *Munchner Medizin Wchnschrift Bd.* 62:S1141, 1915. cited from <sup>13)</sup>.
- 20) Miller, L., Hanavan, A.: *Dominant role of the liver in biosynthesis of the plasma protein with special references to the plasma mucoprotein.* *Advance. Chem.* 44:17, 1964.
- 21) 中川, 外: *體外肝灌流に關する研究(VI). 移植.* 8: 52, 1973.
- 22) Norman, J. C., Saravis, C. A., and McDermott, W. V.: *Immunochemical obserbation in clinical heterologous liver perfusion.* *Surgery.* 60:179, 1966.
- 23) Otto, J. J., Pender, J. C., and Welch, S.: *Surgery. St. Louis.* 43:301, 1968. cited from <sup>23)</sup>.
- 24) Parbhoo, S. P., Chalstrey, L. J., and James, L. M.: *Extracorporeal perfusion of pig liver in the treatment of acute liver failure.* *Brit. J. Surg.* 58:746, 1971.
- 25) Reitmann, S., and Frankel, S.: *A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminase.* *Am. J. Chem. Pathol.* 28:56, 1957.
- 26) Rene Joyeuse., and Maloney, J. V.: *The treatment of experimental hepatic coma by parabiotic cross circulation.* *Surg. Gynec. Obstet.* 117:129, 1963.
- 27) Starzl, T. E., and Marchioro, T. L.: *Avenues of future research in homotransplantation of the liver with particular reference to hepatic supportive procedure.* *Am. J. Surg.* 112:391, 1966.
- 28) Summers, R. W., Curtis, S. J., and Harford, C. E.: *Acute hepatic coma treated by cross circulation with irreversibly comatose donor.* *J. A. M. A.* 214:2297, 1970.
- 29) Takashi, M., Blackburn, G. L., and McDermott.: *A life supporting heterotopic autotransplant of canine liver without portal blood.* *Surg. Gynec. Obstet.* 136:951, 1973.
- 30) Walker, W. F.: *Hepatic vein sphincter mechanism in the dog.* *Brit. J. Surg.* 48:218, 1960.
- 31) Winch, J. R., and Hague.: *Pig liver perfusion; a comparison of function with porcine or human blood, with and without hypothermia.* *Brit. J. Surg.* 59:307, 1972.
- 32) Yasher, J. J., and Hallmen, G. L.: *Cardiac output and blood volume changes after open heart surgery.* *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 61:724, 1971.
- 33) Zieve, L.: *Pathogenesis of hepatic coma.* *Arch. Intern. Med.* 118:211, 1966.