

ASI와 적혈구 변형성 간의 상관관계 연구

김난주*, 이성식*, 안경현*, 이승종*, 선경**, Max. R. Hardemann***

1. 서 론

적혈구는 가운데가 오목한 원반 형태를 띠고 있으며, 혈류 내에서 쉽게 변형되어 늘어남으로써 혈류 내의 저항을 줄이고 물질 전달을 용이하게 한다.⁽¹⁾

이러한 적혈구의 변형성은 막 조직의 탄력성에 기인한 것으로 외부 환경에 영향을 받아 증가하거나 감소할 수 있다. 예를 들어 외부에서 강한 응력이 작용하는 경우 적혈구의 막 조직이 손상되어 변형성이 감소하게 되며, 심한 경우 기계적 용혈 현상이 발생한다. 또한 말라리아, 당뇨 등의 질병에 의해서도 적혈구의 변형성이 증가하거나 감소한다는 결과가 보고되어 있다.^(2,3)

동맥 경화 질환을 앓고 있는 경우 혈관 내에 지질이 쌓여 혈관이 좁아지면서 국부적으로 강한 응력이 발생한다. 이러한 응력이 지속적으로 작용한다면 적혈구의 막 조직에 영향을 끼쳐 결과적으로 적혈구의 변형성에 영향을 끼치리라고 예상할 수 있다.

본 연구에서는 동맥경화 발병 가능성을 나타내는 지수인 Arterial Stiffness Index(ASI)와 적혈구의 변형성과의 상관 관계를 알아보았다. 또한 비교를 위해 적혈구에 기계적으로 강한 응력을 가한 뒤 변형성의 변화를 관찰하였다.

2. 본 론

2.1 실험 장치

ASI는 CardioVision MS-2000(International Medical Device Partners, Inc.)을 이용하여 측정하였다. ASI 측정자 적혈구의 변형성을 측정하기 위해 shearing system(CSS-450, Linkam)을 광학 현미경(BX-51, Olympus)에 장착하여 사용하였다. 기계적인 응력에 대한 적혈구 변형성의 변화는 LORCA(Laser-assisted Optical Rotational Cell Analyzer, Mechatronics)를 이용하여 조사하였다.

2.2 실험 방법

혈액은 채혈 직후 K₃-EDTA 튜브에 넣어 응고를 방지하고, Polyvinyl pyrrolidone을 PBS에 녹인 고분자 용액에 분산시켰다. 각 실험에 대해 원하는 크기의 응력을 얻기 위해 두 종류의 고분자 용액을 제조하였으며, 점도는 25℃에서 각각 40cP 및 1000cP였다.

실험을 통해 얻은 적혈구의 영상은 imaging software를 이용하여 처리하였다. 변형된 적혈구의 형태를 타원형으로 가정하고 장축과 단축을 측정한 뒤, 두 값을 이용하여 적혈구의 신장비(EI, Elongational Index)를 다음과 같이 정의하였다. (A: 장축의 길이, B: 단축의 길이)

$$EI = \frac{A-B}{A+B} \quad (1)$$

2.3 실험 결과

적혈구를 고점도의 고분자 용액에 분산시킨 경우 외부에 가해진 전단 흐름의 크기에 따라 적혈구는 그림 1과 같이 변형된다.

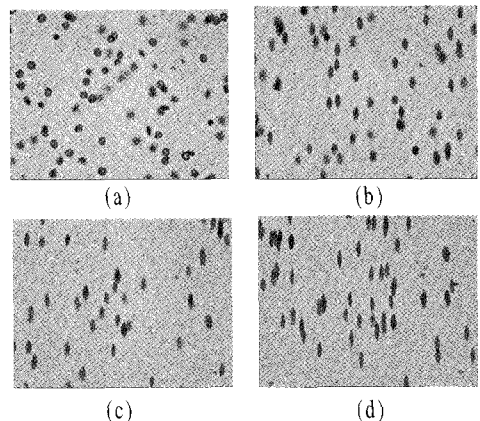


그림 1. 전단 흐름 하에서 변형된 적혈구 (a) 전단 속도 = 0.3s⁻¹, (b) 3 s⁻¹, (c) 10 s⁻¹, (d) 40 s⁻¹.

적혈구의 변형성의 변화를 알기 위해 각 샘플에 대해 전단 흐름 및 전단 응력의 크기를 일정 구간 내에서 변화시켜가며 실험하였다.

전단 응력의 크기를 변화시켜가며 적혈구의 EI를

* 서울대학교 응용화학부

** 고려대학교 한국인공장기센터

*** Academy Medical Center, The Netherlands

측정하면 그림 2와 같은 거동을 보인다. 전단 응력이 작을 때에는 응력의 증가에 따라 EI가 증가하다가, 응력이 더 증가하면 EI가 서서히 포화 되어 일정한 값을 가지게 된다.

강한 전단 응력에 의한 적혈구 변형성의 변화를 조사하기 위해 EI를 측정하기 전에 미리 강한 응력을 일정 시간 동안 가하였다(pre-shear). 그 결과 그림 2(a)에서 보듯이 pre-shear의 크기가 증가할수록 적혈구의 변형성이 감소하였다. 또, 그림 2(b)에서와 같이 pre-shear의 크기를 56.4Pa로 일정하게 두고 가해진 시간을 점점 증가시켜도 적혈구의 변형성이 큰 폭으로 감소하였다. 이것은 강한 전단 응력에 의해 적혈구의 막 조직이 탄성 한계를 초과하여 손상되었기 때문으로 생각된다.

ASI는 상완 혈압을 측정하여 얻는 수치이다. 피실험자 40명의 혈액을 시간에 따른 혈압 그래프의 패턴에 따라 정상(A 그룹)과 비정상(non A 그룹)으로 분류하고, 측정된 ASI가 80 이하인 경우를 동맥 경화 발병 가능성 낮음(risk none), 80 이상인 경우를 가능성 존재함(risk moderate)으로 분류하였다.

이런 분류에 대해 전단 응력의 변화에 따른 적혈구의 변형성을 측정된 결과, 그림 3과 같이 두 경우 모두 비정상 그룹의 EI가 유의한 차를 보이며 ($p < 0.05$) 정상 그룹의 EI보다 높았다. 동맥 경화 지점에서 발생하는 비정상적인 과다 응력의 영향을 받아 EI가 더 낮아질 것으로 기대하였으나, 반대의 결과를 얻었다.

이러한 결과의 차이를 in vivo/in vitro의 차이로 설명하는 것이 가능하다. ASI 비정상 그룹의 경우 적혈구가 동맥 경화 지점의 과다 응력을 반복하여 경험하면서 적응을 하게 되어 변형성이 증가하였으나, 체외에서 기계적인 응력을 가한 경우에는 그러한 적응 과정을 거치지 못하므로 변형성이 감소하였고 추측된다.

이러한 가정을 증명하기 위해서는 각 경우에 대해 적혈구 막 조직의 손상 정도를 알 수 있는 실험이 필요하다. 막 조직의 특정 단백질을 분석하는 것도 그 하나의 방법이 될 수 있을 것이다.^{(4), (5)}

3. 결론

ASI 수치를 통해 동맥 경화 발병 가능성이 높은 피실험자의 혈액을 정상 혈액과 분류하여 그 변형성을 비교하였다. 또한 동맥 경화 지점의 강한 응력이 적혈구의 변형성에 영향을 미칠 것으로 예상하여, 체외에서 기계적으로 적혈구에 강한 응력을 가한 뒤 변형성을 측정한 뒤 비교하였다.

그 결과, 체외에서 기계적으로 강한 응력을 가한 경우의 적혈구의 변형성은 그렇지 않은 경우보다 감소하였으나, 동맥 경화 발병 가능성이 높은 피실험자의 혈액은 정상 혈액보다 오히려 적혈구의 변형성이 증가하였다. 이러한 결과의 차이는 적혈구가 각각 체외와 체내에서 강한 응력을 받아 적응 과정을 거쳤느냐의 여부에 의해 나타난다고 추측된다

참고문헌

- (1) Fung, Y.C., 1993, "Biomechanics: mechanical properties of living tissues 2nd ed.", Springer-Verlag, pp.121
- (2) P. N. Ljubitzenko *et al.*, 1997, "Blood viscosity, deformability and morphologic types of RBC in vibration disease", *Meditsina truda i promyshlenniaa ekologiia*, v.1, pp.11-13
- (3) G. Cicco *et al.*, 1999, "Red blood cell (RBC) deformability, RBC aggregability and tissue oxygenation in hypertension", *Clinical hemorheology and microcirculation*, 21, pp.169-178
- (4) Norihito Kawai *et al.*, 2003, "Molecular damage to membrane proteins induced by ultrasound", *Ultrasound in Med. & Biol.*, 29, pp.609-614
- (5) S. Chakrabarti *et al.*, 1995, "Erythrocyte membrane protein damage by oxidation products of phenylhydrazine", *Biochemistry and molecular biology international*, 35, pp.255

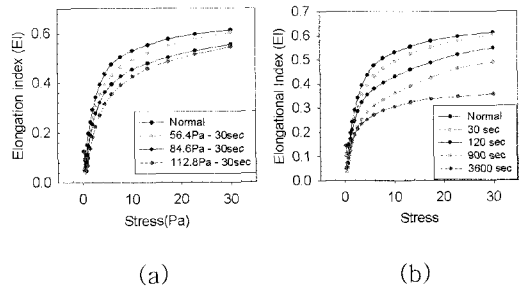


그림 2. Pre-shear의 증가에 따른 적혈구 변형성의 감소 (a) Pre-shear의 크기 변화 (b) Pre-shear를 가해진 시간 변화

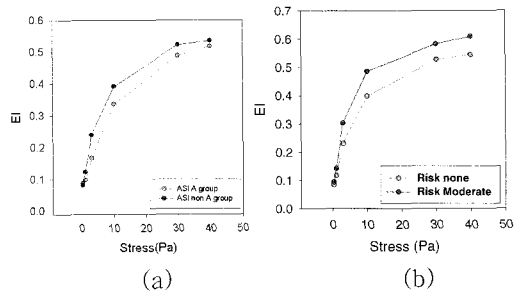


그림 3. ASI 그룹 분류에 따른 적혈구 변형성의 차이 (a) 혈압 측정 패턴에 따른 분류 (b) ASI 수치에 따른 분류