

# 주기적으로 누적된 과도 전단 응력에 의한 적혈구의 경화 현상

이성식\*, Marina V. Kameneva\*\*, James F. Antaki\*\*\*, 안경현\*, 이승종\*

Red Blood Cells(RBCs) rigidification by periodically accumulated supraphysiological shear stress

Sung Sik Lee\*, Marina V. Kameneva\*\*, James F. Antaki\*\*\*,

Kyung Hyun Ahn\*, Seung Jong Lee\*

## 1. 서 론

적혈구(RBC)는 인공심장을 통하여 과도 전단 응력을 경험하게 된다. 과도 전단 응력과 기계적 용혈 현상과의 정량적 상관관계를 위한 연구가 인공 장치의 실용화를 위해서 집중적으로 진행되어왔다<sup>(1,2,3)</sup>. 전단 응력의 노출 시간 (1-10msec) 과 응력의 크기에 따른 대한 상관관계가 보고 되었다<sup>(1,2)</sup>. 또한 인공심장의 장기간 사용에 따른 영향을 보기 위하여, 오랜 기간(1-3 hr) 지속적(continuous) 으로 누적된 전단 응력이 미치는 영향이 최근 보고 된바 있다<sup>(3,4)</sup>. 실제 적혈구는 같은 크기의 전단응력을 장시간 지속적으로 경험하기보다는, 혈류가 순환하기 때문에 인공심장 내 혹은 혈관 내 특정 영역을 통과하며 주기적 (periodic)으로 전단 응력을 경험한다. 본 연구에서는 주기적으로 누적된 전단응력이 적혈구에 미치는 영향을 확인하기 위하여, 모세관을 통과하는 단순 순환계를 만들고 적혈구의 변형성 변화를 통해 그 영향을 알아보았다.

## 2. 본 론

### 2.1 실험장치

주기적인 과도한 전단응력을 유도하기 위하여 모세관, 인공심장(Bio-Medicus, BP 80), 유량계(Transonics), 압력계, 샘플 채취부로 순환계를 구성하였다(그림1). 사용한 모세관은 직경이 1mm, 길이가 70mm 이며, 연결부위를 원뿔형으로 만들어 입구효과를 최소화하였다.

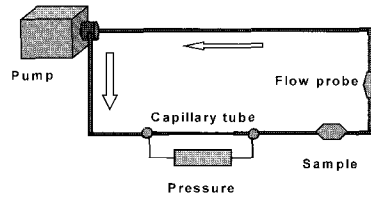


그림1 실험장치 개략도

채취된 샘플과 control 은 적혈구의 변형성을 측정하기 위해 단순 전단흐름 유발 장치(Linkam CSS450)를 광학현미경(Olympus BX51)에 부착시켜 사용하였으며, 카메라(Sony HR50)를 이용하여 전단흐름상의 변형 이미지를 얻어 분석하였다.

### 2.2 실험방법

적혈구는 Bovine 혈액을 사용하였으며, 원심분리를 통해 분리한 후 PBS에 분산시켜 순환계에 사용하였다. 전단응력에 의한 적혈구의 영향은 모세관안에서 일어난다고 가정하였다. 전단응력을 경험한 누적시간은 모세관을 지나는 체류시간의 총합으로 정의하였다. 전단흐름의 크기는 기존 연구의 계산방법과 동일하게 구하였다<sup>(5)</sup>. 유량 0.2l/min 으로 2시간 동안 순환시켰을 경우 누적시간은 288초, 이때 경험하는 전단응력은 70Pa 로 계산된다. 채취된 샘플은 변형성 측정을 위하여 poly(vinylpyrrolidone)-PBS 6.8% 용액에 재분산시켰으며, 그 용액의 점도는 31cp로 측정되었다. 30분마다 샘플을 채취하여, 과도한 전단응력을 경험하기 전(Control)과 비교하였다. 적혈구의 변형성을 정량화하기 위하여 신장비(ED)를 사용하였으며, 장축과 단축의 합에 대한 장축과 단축의 차로 정의하였다. 적혈구의 특성시간은 전단

\* 서울대학교 화학생물공학부

\*\* 피츠머그대학교 생물공학과

\*\*\* 카네기멜론 대학 의공학과

흐름을 멈추었을 때 원래 형태로 돌아가는 것을, 회귀 추세 곡선(지수함수)에 맞추어 얻어냈다<sup>(6)</sup>.

2.3 실험결과

주기적으로 누적된 전단응력에 의한 적혈구의 경화 현상이 확인되었다. 전단변형율을  $750s^{-1}$  로 고정하고, 적혈구를 관찰하였을 때, 모세관을 통한 전단응력을 경험 적혈구의 경우, 변형성이 현저하게 감소하는 경화 현상이 나타났으며, 그 정도는 전단응력의 강도와 누적시간이 늘어날수록 더욱 증가하였다. (그림2) 적혈구의 경화현상은 특성시간의 변화를 통해서도 확인할 수 있었다. 경화도가 커질수록 특성시간이 감소하였으며 이는 적혈구 막의 손상을 의미한다<sup>(6)</sup>.

적혈구의 주기적인 전단응력에 의한 경화 현상을 지속적인 전단응력에 의한 현상과 비교하기 위하여 감소한 변형성을 누적시간에 따라 도시하였다. 지속적인 전단응력에 의한 경우는 기존의 연구 결과<sup>(5)</sup>를 사용하였다. 지속적으로 누적된 경우(56.4Pa) 그 크기가 주기적으로 누적(70Pa)된 것에 비해 그 크기가 더 작음에도 불구하고 경화 현상이 더욱 급격히 진행됨을 보였다 (그림3). 이것은 전단응력에 의해 지속적으로 전단응력을 경험하게 되는 경우 적혈구 막 현상이 지속적으로 진행되는 데 비해, 주기적으로 누적되는 경우 모세관을 통과한 후에 적혈구 막 손상이 완화되기에 나타나는 현상으로 설명할 수 있다.

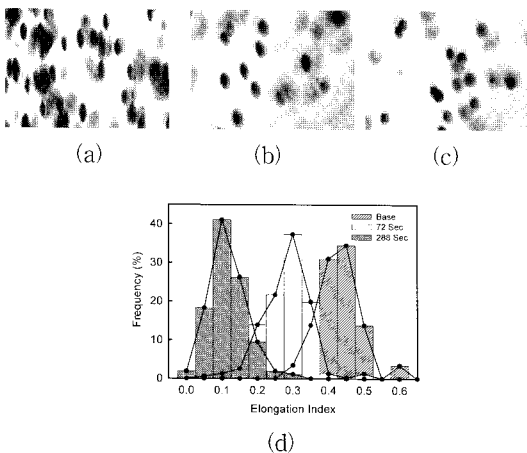


그림2 누적 전단응력(140Pa)이 적혈구 변형성에 미치는 영향 (각각의 사진은 변형성측정 조건 shear rate  $750s^{-1}$ 에서 얻어진 이미지) (a) 전단응력의 누적시간 0초 (b) 전단응력의 누적시간 72초 (c) 전단응력의 누적시간 288초 (d) 전단 응력의 누적 시간에 적혈구 변형의 분포도

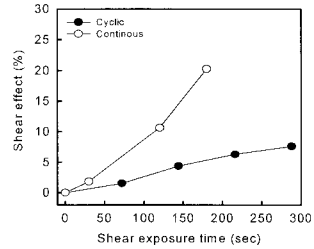


그림3 전단응력의 효과 비교: 지속적으로 누적된 경우와 주기적으로 누적된 경우

3. 결론

본 연구를 통하여 주기적으로 누적된 전단응력을 통해서 적혈구가 경화되며 그 정도는 지속적으로 누적된 경우보다 현저히 적음을 보였다. 지속적인 전단응력에 의한 결과만 고려할 경우, 인공심장 내 전단응력에 의한 적혈구 경화 현상이 과도하게 예측할 수 있다. 실제 체순환계의 주기(1-2Hz)와 유사한 순환계를 사용한 본 연구의 결과는 인공심장을 통해 유발되는 적혈구 경화현상을 보다 정확히 얻어내었다는 데 그 의의가 있다.

후기

본 연구는 유변공정연구센터 (한국과학재단 ERC)의 연구지원에 의해 수행되었으며, 이에 깊이 감사드립니다.

참고 문헌

- (1) Paul, R. et al, 2003, "Shear stress related blood damage in laminar couette flow,," Artificial Organs 27, 517
- (2) Klaus S. et al, 2001, "Investigation of flow and material induced hemolysis with a Couette type high shear system," Mat.-wiss.u. Werkstofftech. 32 922.
- (3) Mizuno T et al, 2002, "Ultrastructural alterations in red blood cell membranes exposed to shear stress," ASAIO J 48 668
- (4) Lee S. S. et al, 2004, "Shear induced damage of red blood cells monitored by the decrease of their deformability," Korea-Aust Rheol J 16 141
- (5) Kameneva M.V. et al, 2004, "Effects of turbulent stresses upon mechanical hemolysis: experimental and computational analysis," ASAIO J 50 418
- (6) Hochmuth R. M. et al, 1979, "Red cell extensional recovery and the determination of membrane viscosity,," Biophys. J. 26 101