

高濃度の CO₂가 赤血球容積 및 血漿 Chloride 値에 미치는 影響

慶北大學校 醫科大學 生理學教室

<指導 朱 永 恩 教授>

金丞朝 · 李在福 · 李于錫 · 鄭福得

=Abstract=

Changes in the Red Cell Volume and the Plasma Chloride Level under the High CO₂ Concentration in vitro

Sung Jo Kim, M.D., Jae Bok Lee, M.D., Woo Suck Lee, M.D.
and Pock Tuck Chung, M.D.

Department of Physiology, Kyungpook National University School of Medicine

(Director: Prof. Young Eun Choo)

The changes in the red cell volume and the plasma chloride level were measured when the blood CO₂ content was altered by equilibration with the atmospheric air or pure CO₂ for 20 minutes.

The red cell volume was expressed in terms of hematocrit and mean corpuscular volume (M.C.V.).

The results obtained were as follows.

1) On equilibration with the atmospheric air, the MCV and the plasma chloride level were 91.6 ± 1.26 c. μ and 110.7 ± 6.28 mEq/L. respectively.

2) On equilibration with pure CO₂, the MCV and the plasma chloride level were 109.6 ± 2.0 c. μ and 90.7 ± 5.17 mEq/L. respectively.

3) When the blood was subjected to equilibration with the atmospheric for air 20 minutes after equilibration with pure CO₂ for the same period of time the MCV and the pasma chloride level were 89.9 ± 6.34 c. μ and 100.3 ± 5.50 mEq/L. respectively.

From the above results it can be concluded that an increase of the blood CO₂ content in the experimental condition causes definitely a decrease of the plasma chloride level and a concomitant increase of the red cell volume, and that a decrease of the blood CO₂ content in the experimental condition causes definitely an increase of the plasma chloride level and a concomitant decrease of the red cell volme.

Apparantly there exists a parallel relationship between the extent of the decrease of the plasma chloride level and that of the increase of the red cell volume when the blood CO₂ content increased in the experimental condition.

When the blood CO₂ content decreased, the extent of the decrease of the red cell volume exceeds that of the increase of the plasma chloride level.

緒 論

1918年 Hamburger⁷⁾는 靜脈血의 血漿 chloride 値는 動脈血의 그것보다 낮으며 靜脈血의 hematocrit는 動脈

血의 그것보다 증가되어 있다는 것을 보고했다. 그후 1937年 Dill等^{2,3)}은 休息狀態의 成人男子의 靜脈血과 動脈血의 CO₂ 運搬과 關係되는 여러가지 data를 測定 報告하였다. 이 報告에 依하면 靜脈血은 動脈血에 比하여

血漿 chloride 値가 1.1 mEq/L 낮으며 赤血球容積은 hematocrit 로 測定하여 0.28 ml/100 ml 낮은 것으로 報告되고 있다.

그 後 Roughton^{13,14)}은 Dill 等^{2,3)}이 發表한 data 를 分析하여 靜脈血에서 赤血球容積이 增加하는 것은 CO₂ 含量이 增加할 때 赤血球의 滲透壓이 增加함으로써 血漿으로부터 赤血球로 water shift 가 일어나기 때문이라고 結論지었다.

그러나 Du Bois 等⁹⁾에 依하면 5~8%의 CO₂를 吸入時에 動脈血의 CO₂ 含量은 增加하나 赤血球容積에는 變化가 없었다고 한다. 이것은 CO₂ 含量의 增加가 赤血球 內의 滲透壓을 增加시켜 赤血球容積을 增加시킨다는 Dill 및 Roughton¹⁴⁾의 結論과는 相反되는 것같이 보인다.

그런데 이들 研究者들은 動脈血과 靜脈血의 赤血球容積을 hematocrit 로서 測定했으므로 純粹한 赤血球容積의 變化以外的 다른 要因¹²⁾에 依한 hematocrit 의 變化가 包含되어 있을 可能性도 있다. 따라서 著者は in vitro 에서 同一血液을 CO₂ 濃도가 거의 0 인 대기와 平衡시켰을 때와 CO₂ 濃도가 95% 以上인 純粹한 CO₂ 와 平衡시켰을 때의 血漿 chloride 値를 比較하고 나아가서 赤血球容積을 比較해 보았다. 이렇게 하므로서 純粹하게 CO₂ 含量만 增加하였을 때의 血漿 chloride 値 및 赤血球容積의 變化를 觀察하였다.

實驗材料 및 實驗方法

1) 血液採取

20 歲~32 歲의 健康한 6 名의 男子로부터 空腹時에 antecubital vein 으로부터 6 ml 씩 血液을 採取하였다. 抗凝劑로서는 sodium heparin (20,000 units per cc)의 原液을 No. 23 needle 의 dead space 를 채울만한 量으로 使用하였다.

일단 採取한 heparinized blood 는 容量이 15 ml 가량되는 3 個의 試驗管에 各各 2 ml 씩 分注하고 “A” “B” 및 “C” 試驗管이라 標識을 했다.

2) 氣相과의 平衡法

“A” 試驗管(“AIR” 群)은 大氣에 5 分間 露出시켜 試驗管을 비스듬이 눕혀서 회전시킴으로써 大氣와 平衡(equilibration)이 이루어지게 한 後 곧 고무마개를 단단하게 막아서 室溫(16~20°C)에서 20 分間 放置했다. 赤血球 및 白血球의 代謝作用에 依해서 發生하는 CO₂ 를 除去해 주기 위해서 5 分 間隔으로 한번씩 고무마개를 열어주었다. 大氣中의 CO₂ 濃도는 micro Scholander gas analyzer¹⁷⁾로서 分析이 不可能할 程度였으므로 0.05 vol % 以下の CO₂ 를 가지고 있다. 따라서 大氣의 CO₂ 濃도는 0 으로 看做해도 좋다(本 實驗에 使用한 micro

Scholander gas analyzer 는 信賴度 ±0.05 Vol % 이다). “B” 試驗管(“CO₂” 群)에는 Na₂CO₃ 에 濃黃酸을 加해서 發生시킨 氣體(95 Vol % 以上の CO₂)에 5 分間 露出시킨 後(空氣의 流出이 없도록) 고무마개*를 단단히 막아서 室溫에 20 分 동안 放置했다. 間歇적으로 氣相의 CO₂ 와 平衡이 되도록 비스듬이 세워서 부드럽게 흔들어 주었다.

“C” 試驗管(“CO₂-AIR” 群)은 “B” 試驗管에서와 꼭 같은 조작으로 純粹한 CO₂ 에 20 分間 露出시킨 후 고무마개를 열어서 大氣中에 20 分間 露出시켜 大氣와의 平衡이 이루어지게 하였다. 이것은 血液의 CO₂ 含量이 增加했을 때 即 純粹한 CO₂ 에 露出시킨 경우 나타났던 變化가 다시 CO₂ 含量을 처음 狀態대로 恢復시킴으로써 消失되는지를 보기 위한 것이었다. 위에서와 같은 조작으로 各各 25 分間 氣相과 平衡이 이루어지게 한 血液을 注射器로 可能한 限 anaerobic 하게 採取한 後(約 0.5 ml) 곧 hematocrit, 赤血球數 및 hemoglobin 濃度を 測定하였다. 나머지 血液은 고무마개를 그대로 둔채로 遠沈(3,000 r.p.m 10 分間)한 後 그 上清液(血漿)을 採取하여 chloride 를 測定하였다.

3) 測定方法

Hematocrit 의 測定¹⁸⁾은 hematocrit capillary 를 各各의 血液으로 채운 後 兩端을 sealing 하여 Adams capillary hematocrit centrifuge 로서 遠沈하였다. 兩端을 다 sealing 한 것은 遠沈되는 동안 可能한 限 大氣에 露出되는 것을 막기 爲해서였다. Reading 은 Adams micro hematocrit reader 를 使用했으며 duplicate 로 測定하여 그 平均値를 擇했다.

同一한 試料로서 4 回 反復測定時의 信賴도는 ±3.0% 였다. 赤血球算定은 Hyem's 溶液을 稀釋液으로 하여 hemocytometer 로서 算定하였으며 同一한 試料를 4 回 反復算定時의 信賴도는 ±8.5% 였다.

Hemoglobin 의 測定은 Cyanmethemoglobin 法⁵⁾에 依했으며 hemophotometer 로서 바로 濃度を gm/100 ml 로서 읽었다. 血漿 chloride 의 測定은 Schales 및 Schales 의 方法¹⁶⁾에 依했다. 即 diphenyl carbazone 을 指示藥으로 하여 mercuric nitrate 로서 滴定했다.

實驗成績 및 考察

위에서 說明한 바와 같이 實驗群은 3 個로 나누어져 있다. 即 大氣속에 露出시킨 群(“AIR” 群이라 略함), 純粹한 CO₂ 에 露出시킨 群(“CO₂” 群), 純粹한 CO₂ 에 露

* 고무마개를 막은 후, 주사기를 사용하여 약간 陽壓으로 CO₂ 를 加注해 주므로서, CO₂ 가 혈액에 용해하므로서 생기는(氣相의 negative pressure 때문에)혈액의 증발을 막을 수 있었다.

Table 1. Effect of high CO₂ concentration on blood data in vitro

	Hematocrit (ml/100 ml)	Red cell count (million/mm ³)	Hemoglobin concentration (gm/100ml blood)	Plasma chloride (mEq/L)
Exposure to AIR for 20 min.	47.6±2.37	5.21±0.41	15.31±0.28	110.7±6.28
Exposure to CO ₂ for 20min.	53.4±1.98	4.89±0.42	15.08±0.39	90.7±5.17
Re-exposure to AIR for 20 min.	50.5±1.55	5.77±0.37	15.47±0.23	100.3±5.50

Table 2. Effect of high CO₂ concentration on Hct, MCV, MCHC and plasma chloride level

	Hematocrit (ml/100 ml.)	MCV (c.μ)	MCHC (%)	Plasma chloride (mEq/L)
Exposure to AIR for 20 min.	47.6±2.37	91.6±1.26	32.2±1.11	110.7±6.28
Exposure to CO ₂ for 20 min.	53.4±1.98	109.6±8.20	28.3±1.11	90.7±5.17
Re-exposure to AIR for 20 min.	50.5±1.55	89.9±6.34	31.9±0.23	100.3±5.50

출시켰다가 다시 大氣속에 露出시킨 群("AIR-CO₂"群)의 3群이다.

이 3個群에 대해서 그 實驗結果를 mean±S.D. 로 表示하면 第 1 表와 같다.

即 hematocrit 値를 보면 全實驗群에서 各各 다르며, 이 差異가 赤血球容積의 變化에 依한 것인지 아니면 大氣나 CO₂에 露出, 平衡시키는 過程中에 나타날지도 모르는 血液濃縮(hemoconcentration)에 依한 것인지를 알기 위해서 赤血球數와 hemoglobin 濃度를 測定하였다. 만일 大氣나 CO₂에 露出, 平衡시키는 過程中에 蒸發에 依한 血液濃縮이 없었다면 全實驗群에 있어서의 赤血球數와 hemoglobin 濃度は 理論上으로 同一해야 할 것이다. 그런데 赤血球數 및 hemoglobin 濃度를 보면 各各 다른 數値를 나타내고 있다. 그러나 이것이 有意義한 差異인지의 如否를 알기 爲해 Two-tailed T test¹¹⁾를 한 結果 "AIR"群과 "CO₂"群 사이의 赤血球數 및 hemoglobin 濃度の 差異는 有意義하지 않으나(各各 P<0.2, P<0.4) "AIR"群과 "CO₂-AIR"群 사이에는 有意義한 差異가 나타났다(赤血球數에 對해서는 P<0.01, hemoglobin 濃도에 對해서는 P<0.05). 이것은 "CO₂"群에서는 有意義한 血液濃縮이 없었으나 "CO₂-AIR"群에서는 相對的인 血液濃縮이 있었다는 것을 의미한다. 따라서 "CO₂"群에서는 hematocrit 의 증가가 赤血球容積의 增加에 依한 것임을 알 수 있으나, "CO₂-AIR"群에서 나타난 hematocrit 의 增加는 赤血球容積의 增加에 依한 것인지 상대적인 血液濃縮에 依한 것인지 分明치 않다. 따라서 Mean Corpuscular Volume(MCV)를 計算하여 赤血球容積의 變化를 보았다. 同時에 Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration (MCHC)를 計算하여 比較하였다. 이 計算의 結果는 第 2 表에서 보는 바와 같다.

계산은 다음의 公式¹²⁾에 依했다.

$$MCV(c. \mu) = \frac{\text{vol. packed red cells, ml/100 ml}}{\text{red cell count, millions/mm}^3}$$

$$MCHC(\%) = \frac{\text{hemoglobin, gm/100 ml} \times 100}{\text{vol. packed red cells, ml/100 ml}}$$

"AIR"群에서는 MCV는 91.6 c.μ를 나타내고 있으나 "CO₂"群에서는 ±18.0 c.μ이 증가된 109.6 c.μ를 나타내고 있다. 다시 "CO₂-AIR"群에서는 89.9로서 "AIR"群에서 보다 약간 낮은 値를 보이고 있다. 그러나 이것은 有意義한 差異가 아니다(P<0.1). 이러한 MCV의 變化는 1圖에서 보는 바와 같다. MCHC를 計算한 結果는 "AIR"群에서 32.2%를 나타내고 있으나 "CO₂"群에서는 28.3%로서 hemoglobin이 稀釋된 것을 보여주고 있다. 다시 "CO₂-AIR"群에서는 31.9%로서 거의 "AIR"群에 接近함을 보이고 있다. MCV의 變化가 water shift에 依한 것이라면 MCHC는 그에 따라 變化할 것이 豫想되며 實際 測定된 結果는 이 關係를 잘

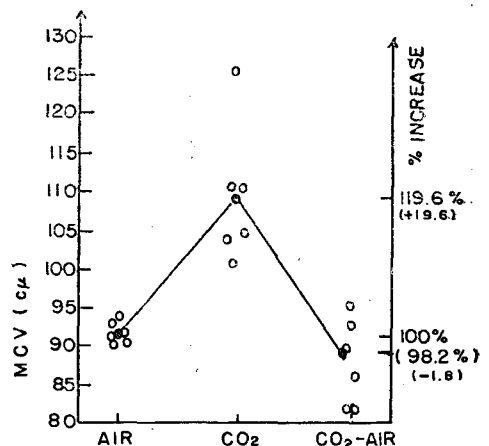


Fig. 1. Effect of high CO₂ concentration on MCV.

말해주고 있다. 即 MCV가 增加한 “CO₂”群에서는 MCHC는 減少되어 있으며 MCV가 CO₂에 露出되기 前의 값으로 거의 회복되고 있는 “CO₂-AIR”群에서는 MCHC도 거의 회복되고 있다.

血漿 chloride의 測定結果는 第 1과 第 2表 및 2圖에서 보는 바와 같다. 即 “AIR”群에서는 110.7 mEq/L를 나타내고 있으나 “CO₂”群에서는 90.7 mEq/L로서

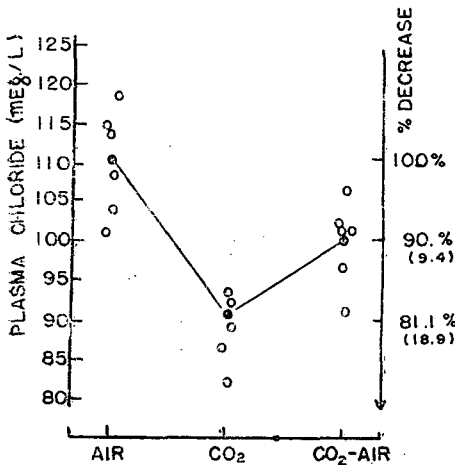


Fig. 2. Effect of high CO₂ concentration on plasma chloride level.

20 mEq/L의 減少를 보이고 있다. 다시 “CO₂-AIR”群에서는 “AIR”群으로의 接近을 보이고 있으나 여전히 10.4 mEq/L라는 有意義한 差異(P<0.01)를 나타내고 있다. “CO₂”群에서 MCV가 增加한 것은 血漿 chloride 値의 減少가 20 mEq/L인 것으로 미루어 chloride shift에 依한 赤血球內의 滲透壓 增加로서 충분히 可能하다. 그러나 赤血球가 너무 高濃度の CO₂에 露出되므로서 energy 生成 mechanism의 결함 및 ATP의 減少로 因한 Na pump의 不完全한 作用⁹⁾이 MCV를 增加시킬 可能性도 考慮될 수 있으나 아직 高濃度の CO₂가 赤血球의 energy 生成 mechanism에 미치는 影響에 對해서는 거의 研究가 없으므로 단지 推測에 不遇하다.

總 6 回의 實驗中 1 回에 限해서 血漿 CO₂ 含量을 測定한 結果는 第 3 表와 같다.

第 2 表에서 “CO₂-AIR”群의 血漿 chloride 値가 “AIR”群에 比해 10.4 mEq/L나 低值를 나타내는 것은 第 3 表에서 血漿의 CO₂ 含量이 “AIR”群의 그것에 比해 10.5 mEq/L나 高值를 나타내고 있는 것과 有關한 것 같이 보인다. 即 “CO₂-AIR”群이 大氣 속에 20 分間 露出되어 있었는데도 不拘하고 血漿의 CO₂ 含量이 “AIR”群의 level 까지 減少하지 않았으며 이것은 chloride-bicarbonate 交換이 完全히 일어나지 않았다는 것을 意味한다. 그러나 이것은 defibrinated red cell suspension에서 chloride-bicarbonate 交換이 1.3 sec 內에 90% 完全히 일어났다는 Dirken과 Mook⁴⁾의 報告와는 相異한 것 같이 보인다. 그 이유로서는 두가지를 추측해 볼 수 있으나 앞으로 證명을 요하는 것으로 생각된다. 即

- 1) 血漿과 大氣와의 接觸面積이 制限되어 있었기 때문에 空氣中の CO₂ 擴散이 充分하지 못했을 可能性과
- 2) 高濃度の CO₂ 下에 20 分間이나 노출되었기 때문에 代謝장애(代謝障病—metabolic derangement)에 依한 細胞膜 透過性(membrane permeability)이 變했을 可能性이다.

끝으로 血漿 chloride의 變化와 MCV 變化 사이의 關

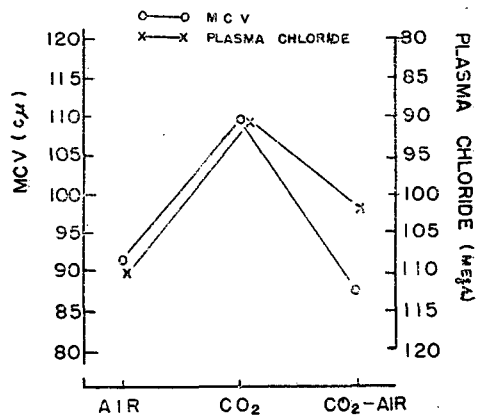


Fig. 3. Effect of high CO₂ concentration on MCV & plasma chloride level.

Table 3. Effect of high CO₂ concentration on Hct, MCV, plasma chloride level and plasma CO₂ content

	Hematocrit (ml/100 ml)	MCV (c.μ)	Plasma chloride (mEq/L)	Plasma CO ₂ content (m M/L)
Exposure to AIR for 20 min.	48.2	89.6	106.4	27.0
Exposure to CO ₂ for 20 min.	54.5	104.8	95.8	° 57.0
Re-exposure to AIR for 20 min.	53.1	90.8	102.5	37.5

계는 3圖에 나타나 있다. "CO₂"群에서는 血漿 chloride 減少를 보이며 MCV 는 증가를 보이고 "CO₂-AIR"群에서는 血漿 chloride 는 增加 卽 회복됨을, MCV 는 減少 卽 회복됨을 보이고 있다. 그리고 "CO₂"群에서 血漿 chloride 의 減少率과 MCV 의 增加率 사이에는 parallel 한 關係가 成立하며 "CO₂-AIR"群에서 血漿 chloride 의 增加率은 MCV 의 減少率에 比較 적은 것을 나타내고 있다. 이것은 生體內의 動脈血과 靜脈血에서 CO₂含量이 變化時에 나타나는 現象과는 若干의 差異를 나타내고 있으며 그것은 앞으로 계속 추구해 볼 필요가 있을 것 같다.

結 論

In vitro에서 血液을 純粹한 CO₂에 露出 平衡시켰으로써 CO₂含量을 增加시켰을 때 血漿 chloride 의 變化 및 赤血球容積의 變化를 測定하였던 바 다음의 結果를 얻었다.

1) 血漿 chloride 는 "AIR"群에서 110.7±6.28 mEq/L 이던 것이 "CO₂"群에서는 90.7±5.17 mEq/L, 다시 "CO₂-AIR"群에서는 100.3±5.50 mEq/L 를 나타냈다.

2) 赤血球容積은 MCV 로 計算해서 "AIR"群에서는 91.6±1.26 c.μ 이던 것이, "CO₂"群에서는 109.6±8.20 c.μ 다시 "CO₂-AIR"群에서는 89.9±6.34 c.μ 를 나타냈다.

1, 2)에서 볼 수 있는 바와 같이 血液의 CO₂含量의 增加는 明確하게 血漿 chloride 의 減少와 赤血球容積의 增加를 招來하며 反對로 CO₂含量의 減少는 明確하게 血漿 chloride 의 增加 및 赤血球容積의 減少를 招來한다. 그리고 實驗條件下에서 血液의 CO₂含量增加時의 血漿 chloride 의 減少率과 赤血球容積의 增加率 사이에는 parallel 한 關係가 成立되며 血液의 CO₂含量의 減少時에는 上記 實驗條件下에서 血漿 chloride 의 增加率이 赤血球容積의 減少率에 比較 적은 것으로 나타났으며 그 理由에 對해서는 앞으로의 研究가 必要한 것 같다.

REFERENCES

1) Davenport, H.H.: *The ABC of Acid-Base Chemistry (4th ed.) Chicago Univ. Chicago Press, 1958.*
 2) Dill, D.B., H.J. Edwards, and W.V. Consolazio: *Blood as a physicochemical system. Man at Rest.*

J. Biol. Chem. 118:635-648, 1937
 3) Dill, D.B., J.H. Talbot, and W.V. Consolazio: *Blood as a physicochemical system. Man at High Altitudes. J. Biol. Chem. 118:649-666, 1937.*
 4) Dirken, M.M.J., and H.W. Moor: *The rate of gas exchange between blood cells and serum. J. Physiol., London, 73:349-360, 1931.*
 5) Drabkin, D.L.: *Medical Physics, 2:1072, 1950.*
 6) Guyton, A.C.: *Textbook of Medical Physiology(3rd ed.) W.B. Saunders Company, Philadelphia & London. 1966.*
 7) Hamburger, H.J.: *Anionenwanderungen in serum und Blut unter dem Einfluss von CO₂, Säure und Alkali. Biochem. Z. 86:309-324, 1918.*
 8) Hawk, P.B., B.L. Oser, and W.H. Summerson: *Practical Physiological Chemistry. The Blakiston Company, Inc, 1966.*
 9) Himwich, H.E., W.F. Gildea, H. Rakietsen, and D. du Bois: *The Effects of Inhalation of CO₂ on the CO₂ Capacity of Arterial Blood. J. Biol. Chem. 113:383-9, 1936.*
 10) Henderson, L.J.: *Blood, A study in general physiology, New Haven, Yale Univ. Press, 1928.*
 11) Mode, Elmer B.: *Elements of statistics (3rd ed.) Prentice-Hall, Inc. pp. 107.*
 12) Mollison, P.L.: *Blood Transfusion in Clinical Medicine (3rd ed.) F.A. Davis Company, Philadelphia, pp46-49.*
 13) Roughton, F.J.W.: *Recent work on CO₂ transport by the blood. Physiol. Rev. 15:241-296, 1935.*
 14) Roughton, F.J.W.: *Transport of CO₂ and O₂. Handbook of Physiology. Section 3. Vol. 1. American Physiological Society, 1964.*
 15) Ruch, T.C., and H.D. Patton: *Medical Physiology and Biophysics. W.B. Saunders Company, 1966.*
 16) Schales & Schales: *J. Biol. Chem. 140:879, 1941.*
 17) Scholander, P.F., and F.J.W. Roughton: *Microgasometric estimation of the blood gases. J. Biol. Chem. 148:551-563, 1943.*
 18) Wintrobe, M.M.: *Clinical Hematology. Lea & Febiger Company pp. 363-415. 1966,*