

원심성 바이오 펌프를 이용한 혈전 생성의 생체 외 검사에 관한 연구

나 명 훈* · 김 원 곤** · 김 주 현** · 김 미 형* · 유 재 현* · 임 승 평* · 이 영*

=Abstract=

A Study on the In-Vitro Test of Thrombogenesis in Centrifugal Biopump

Myung Hoon Na, M.D.*, Won Gon Kim, MD **, Joo Hyun Kim, M.D.**, Mee Hyung Kim, R.N.*,
Jae Hyeon Yu, M.D.*, Seung Pyung Lim, M.D.*, Young Lee, M.D.*

Background: Thrombus formation is a major problem in the development of cardiovascular implants and circulatory assist devices. Therefore, the evaluation of the thrombogenicity of these materials is imperative. An effective in-vitro protocol for the investigation can provide many advantages for the development of a rotary blood pump. Strict avoidance of air contact with blood has recently been emphasized for a reliable in-vitro evaluation. Using the mock circulation loop, this study will confirm the necessity for the avoidance of air contact in the in-vitro test of thrombogenicity. In addition, this study will verify, with evidence, the opinion that the method with mock circulation loop can replace animal usage in testing thrombogenesis of newly designed devices by comparing the thrombi formed in in-vitro circuit with those in in-vivo experiments. **Material and Method:** Two mock circuits with a rotary blood pump and a reservoir were prepared. In one system, blood was filled with air contact(A-loop), and the other, without air contact(B-loop). The test blood was heparinized at the dose of 1 unit per 1 ml of blood. The activated clotting time(ACT) for the heparinized blood was about 3~5 times above normal value and the tests were stopped when ACT reached 1.5 times the normal value. Hematocrit(HCT), platelet, ABGA, factor VIII, factor XII, fibrinogen, thromboxane B₂(TXB₂), and plasma free hemoglobin(fHB) were measured during the procedures. After the experiments, the results of the tests and thrombi from A-loop and B-loop were observed, measured, and compared with those formed under the in-vivo circumstances. Total of twelve tests was performed in pairs, using a parallel control. In this study, the SPSS program was used in statistical analysis, and p value less than 0.05 was considered to be significant. **Result:** The normal ACT was 186.9 ± 20.5 seconds(mean=standard deviation) and the initial ACT with heparin 982.2 ± 165.5 seconds.

*충남대학교 의과대학 흉부외과학교실

Department of Thoracic & Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Chungnam National University

**서울대학교 의과대학 흉부외과학교실

Department of Thoracic & Cardiovascular Surgery, College of Medicine, Seoul National University

† 본 논문은 1998년도 흉부외과 30차 추계학술대회에서 발표되었음

논문접수일 : 99년 6월 25일 심사통과일 : 99년 9월 1일

책임저자 : 나명훈 (301-040) 대전광역시 중구 대사동 640, 충남대학교 의과대학 흉부외과학교실. (Tel) 042-220-7378, (Fax) 042-220-7373

E-mail: Thomasna@hanbat.chungnam.ac.kr

본 논문의 저작권 및 전자매체의 지적소유권은 대한흉부외과학회에 있다.

The ACTs were decreased in time and the tests were stopped after 60 minutes to 180 minutes at an ACT of 1.5 times the normal value. The initial values of HCT, fHb, platelet, TXB₂, factor VIII, factor XII, and fibrinogen were $35.5 \pm 3.2\%$, 12.4 ± 6.5 mg/dl, $354 \pm 56 (\times 10^3) / \mu L$, 72.6 ± 15.1 mg/dL, $29.3 \pm 1.2\%$, 137.9 ± 42.1 mg/dL, and $17.7 \pm 9.7\%$, respectively. The coefficients relevant to air contact were as follows : ACT was $p=0.398$; HCT, $p=0.988$; fHb, $p=0.898$; platelet, $p=0.904$; TXB₂, $p=0.985$; factor VIII, $p=0.872$; factor XII, $p=0.489$, and fibrinogen, $p=0.973$, respectively. None of the parameters had statistical significance. The thrombi observed in both groups showed the same pathologic findings as those formed in in-vivo studies, with the exception of the multi-focal air bubbles in B-loop as seen under the microscope. The total amount of thrombi in A-loops was 8.4 ± 3.7 mL and in B-loops, 9.4 ± 3.1 mL. There was no statistical significance between the two groups($p=0.624$). **Conclusion:** This study revealed that the effect of air contact in in-vitro investigation of thrombogenicity was negligible. This in-vitro testing using mock circulation loop can be substituted for in-vivo set-up for evaluating thrombogenesis of newly designed blood-contacting cardiovascular devices.

(Korean J Thorac Cardiovasc Surg 1999;32:863-73)

Key word : 1. Thrombogenesis
2. Model, experimental
3. Cardiopulmonary bypass

서론

혈액의 손상 특히 혈전 생성은 심혈관계 삽입물이나 순환 보조장치 또는 인공심장의 발전에 있어서 중요한 문제가 되어 왔다. 따라서 이러한 장치들을 발전시키고 인체에 적용하는데 있어서 혈액과 접촉하는 물질들의 혈전성(thrombogenicity)에 대한 평가는 필수적이다.

하지만 혈전 생성에 관한 연구는 동물을 통한 생체 내 실험에서만 가능했는데 이 동물 실험은 항상 도덕적인 문제를 야기하고 비용이 많이 들기 때문에, 검사와 screening에 있어서 보다 저렴하고 신속하며, 외과적 시술에 있어서 개체간의 다양성과 변이가 적고, 혈액의 손상에 대한 보다 믿을 수 있는 자료를 제공하는 생체 외 실험의 필요성이 점차로 커지게 되었다.

기존에 행해진 생체 외 혈전 생성 실험에 대해 살펴보면, Swier 들¹⁾이 혈액과 접촉하는 여러 인공 심혈관계 장치를 시험할 때 적합한 채혈 및 혈액 준비 방식을 개발하였고, 공기와 접촉하지 않은 혈액으로 충전한 반월형 삼첨판이 달린 공기 구동형 인공심장을 이용한 혈전 생성 실험으로 혈전 생성의 호발 부위가 심실 내의 횡격막 주변과 판막의 입구와 출구라는 것을 확인하였다.

이후 생체 외 실험이 증가하자 Mueller 들²⁾은 생체 외 실험 방법과 자료 분석의 표준화를 제기하였는데 그 이유는 믿을 수 있는 결과를 얻을 수 있고 다른 검사자의 결과와 비

교가 가능하기 때문이었다. 그들은 모의 회로에는 일정한 생리적 온도(37°C), 일정한 순환 용량, 압력과 속도의 조절, 혈액 접촉면을 규정하는 것이 필요하고, 시료로는 3시간 이내에 채취한 신선한 혈액이어야 하고, 채혈 방식이 일정해야 하며, 항응고 요법이나 pH, 혈액 가스 포화도, 혈당의 조절 등이 중요하다고 하였다.

Schima 들³⁾은 모의 순환 회로(mock circulation loop)를 이용하였는데, 공기 접촉에 의한 혈액 응고 기전(coagulating mechanism)의 활성화를 피한다는 생각으로 공기 접촉을 엄밀하게 차단한 혈액을 이용하였으며, 이 모의 순환 회로에서 생성된 혈전을 기존의 생체 내에서 형성된 혈전과 육안 및 현미경 소견으로 비교한 결과 생긴 모양에 차이가 없으므로 이 모의 순환 회로를 이용한 실험이 동물 실험을 대신하거나 적어도 선행 실험이 될 수 있다고 주장하였다.

Nakazawa 들⁴⁾도 진동 신호 분석(vibration signal assessment)을 통해 생성된 혈전을 조기 발견하고자 하는 실험에서 일개월 동안의 동물 실험에서도 혈전이 생성되지 않아 실험을 진행시키지 못하다가, 공기와 접촉하지 않도록 충전한 같은 모의 순환 회로를 이용하여 6시간만에 실험을 끝낼 수 있었으므로, 혈전 생성에 관한 생체 외 실험에 있어서 이 모의 순환 회로의 유용성을 강조하였다.

이처럼 혈전 생성 실험에 있어서 생체 외 모의 순환 회로의 효용성이 강조되고 있으며, 채혈 및 모의 회로의 충전 과정에서 엄밀하게 혈액-공기 접촉을 피한 방식이 일반적으로

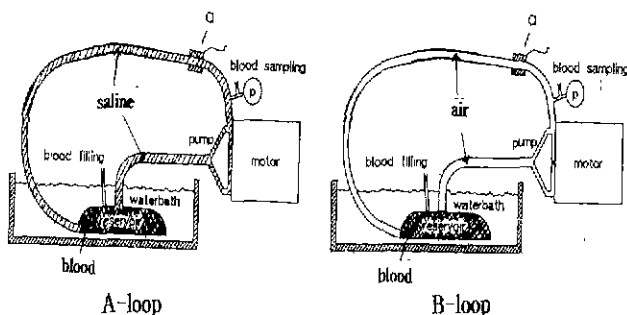


Fig. 1. Schematic drawing of an in vitro mock circulation loop for evaluation of thrombogenesis. A-loop and B-loop are identical except for the connection lines which are filled with saline and air, respectively.

P=pressure monitor probe, Q=magnetic flow probe

인정되고 있다.

본 연구에서는 모의 순환 회로를 이용한 혈전 생성 실험에 있어서 공기 접촉 여부가 혈전 생성에 어떤 차이를 보이는지를 알아보고자 두 실험군으로 나누어 실험하여, 1) 공기 접촉을 피한 채혈 및 모의 회로 충전 방식의 다양성을 공기 접촉 여부에 따른 혈액학적 인자의 변화와 형성된 혈전의 형태학적 변화의 비교 연구를 통하여 확인하고자 하였으며, 2) 본 연구에서 생성된 혈전을 기존에 알려진 생체 내에서 형성된 혈전과 비교 분석하여, Schima 등³⁾이 제기한 이 모의 순환 회로를 이용한 생체 외 검사가 새로 고안된 장치들의 혈전 형성을 평가하는데 있어서 동물실험을 대신할 수 있다는 주장을 검증하고자 하였다.

대상 및 방법

1) 모의 순환 회로의 구성

모의 순환 회로는 구성이 같은 한 쌍을 준비하여 동일 개체에서 얻은 혈액으로(A-회로: 공기 접촉 차단, B-회로: 공기 접촉) 충전시켜 동시에 실험을 진행하여 결과를 얻었다. 각 회로는 펌프 및 헤드(Bio-Medicus 550 bio-consolc 및 BP-80, Medtronic, 용적. 80 cc)와 제작한 2ℓ의 접을 수 있는(collapsible) 저장기(pesitosol bag, Baxter[®]), 자기 혈류 측정기(Medtronic Bio-probe for 3/8-inch tube)와 펌프와 저장기 사이를 각각 연결하는 1.5 m 길이의 튜브(3/8-inch, Tygon, 용적≃100 cc)로 구성하였으며 37℃를 유지하도록 온탕(waterbath: Biomedicus Bio-Cal 370)을 준비하였다. 각 회로의 혈액 저장기는 내부의 공기를 제거하기 위하여 미리 생리식염수로 채운 다음 접으면서 생리 식염수를 배출하고 공기가 들어가지 않도록 주의 깊게 약 2ℓ 혈액을 충전하였다. A-회로의 튜브는 생리 식염수로 채워 공기 접촉을 피하였고, B-회로는 튜

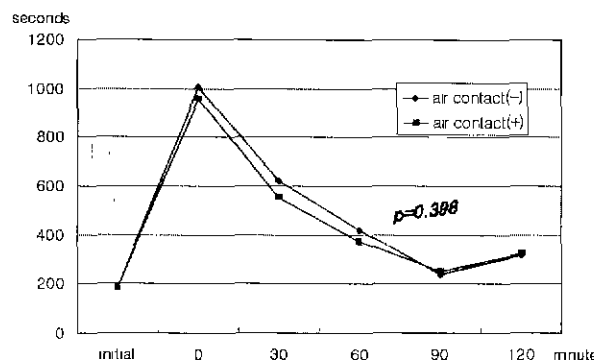


Fig. 2. Change of activated clotting time. It shows no statistical significance between air contact(-) and air contact(+), $p=0.398$

브에 공기를 채웠다(≃200 cc)(Fig. 1).

2) 채혈

채혈은 도살장(대전 오정동 소재)에서 시행하였다. 3/8-inch tube를 연결한 채혈 봉지(4ℓ 크기)를 공기를 제거하기 위하여 생리 식염수를 채우고 배출하면서 접은 후 헤파린 4000 u를 주입하였다. 3~5세 사이의 소를 뇌진탕시켜 쓰러뜨린 후 외측 경정맥을 노출시키고 먼저 activated clotting time (ACT)을 측정하였다. 노출된 경정맥에 절개를 가하고 준비된 직경 10 mm의 7자 모양의 채혈 튜브를 절개 부위를 통해 머리 쪽으로 밀어 넣고 공기가 들어가지 않도록 채혈 봉지에 잘 연결한 후 흔들면서 5분에서 7분간 약 4ℓ의 혈액을 받았다. 단일 상자에 넣어 즉시 실험실로 옮겨 미리 준비된 회로의 저장기에 충전하였으며 채혈부터 충전까지 걸린 시간은 약 1시간이었다.

3) 실험방법

A-회로와 B-회로의 준비되어 접혀있는 저장기에 약 2ℓ의 혈액을 충전한 후 37℃로 고정된 온탕에 넣어 온도를 유지시키고 각각 80~100 mEq의 NaHCO_3 를 넣어 pH를 7.35~7.45로 유지하였다. 각 저장기 혈액의 ACT를 측정하여 도살장에서 측정한 정상 ACT보다 3~5배 되도록 하였으며 적혈구 용적률(hematocrit: HCT), 혈소판(platelet), ABGA, factor VIII, factor XII, 섬유소원(fibrinogen), thromboxane B2(TXB₂), plasma free hemoglobin(fHb)을 측정하고 회로를 가동하였다. 혈류 속도를 5ℓ/min로 유지하여 회로 내의 압력이 100~150 mmHg가 되도록 하였으며, ACT가 정상 범위의 1.5배가 되면 실험을 마쳤다.

검사는 도살장에서 ACT와 ABGA를 측정하고 펌프를 가동하기 전, 가동 후 30분, 60분 그 후는 매 30분 또는 60분마다

Table 1. Data of parameters (I)

	air contact	ACT(seconds)		Hematocrit(%)		free Hb(mg/dL)	
		N	Mean±S.D.	N	Mean±S.D.	N	Mean±S.D.
at slaughter	(-)	12	186.9±20.5	-	-	-	-
0 min	(-)	12	1001.5±171.3	12	35.5±3.2	12	12.8±7.6
	(+)	12	962.8±164.6	12	35.5±3.3	12	12.0±5.5
30 min	(-)	11	602.6±248.5	12	32.5±3.3	11	40.9±56.9
	(+)	11	566.7±214.0	12	32.7±3.3	11	28.8±21.7
60 min	(-)	11	409.5±218.3	11	32.5±3.6	12	56.8±78.9
	(+)	11	382.5±160.7	11	32.4±3.2	12	62.7±69.4
90 min	(-)	4	237.8±23.9	-	-	3	30.8±18.2
	(+)	4	250.4±27.8	-	-	3	100.6±74.8
120 min	(-)	4	318.0±109.9	9	33.3±3.6	6	61.8±47.3
	(+)	4	323.0±108.7	9	33.1±2.7	6	81.1±49.4
150 min	(-)	3	215.7±25.9	2	34.1±4.5	-	-
	(+)	3	238.0±44.0	2	34.9±2.5	-	-
180 min	(-)	-	-	2	29.9±4.0	1	20.8
	(+)	-	-	2	30.3±2.8	1	50.3
p value*		0.398		0.988		0.898	

N, number of tests, S.D.; Standard Deviation

*p value by Generalized Linear Model-repeated measures define factor(s)

측정하였다.

ACT는 2대의 Hemochron 401(hemochron test tube C8FTE 031, 측정 오차: ±15초)을 이용하여 즉시 측정하였으며, factor XII는 ACL 3000(USA), factor VIII은 ELECTRA 900™(USA), 섬유소원은 SYSMEX CA-1000(KOBE, Japan), fHB은 spectronic 601(USA), 혈소판은 Platelet aggregometer(560 VS), TXB₂는 Biotrak™ assay system(code RPA 516)을 이용하였다.

실험이 끝난 후 모의 회로는 생리식염수로 잘 헹군 후 열어서 펌프의 헤드, 헤드와 각 튜브의 연결 부위, 튜브, 튜브와 저장기의 각 연결 부위, 저장기 등으로 나누어 생성된 혈전의 형태와 크기 및 전체 혈전의 양을 검사하였으며 필요한 경우 사진으로 기록하고, A-회로와 B-회로 각각의 혈전을 생체 내에서 생성된 혈전과 육안과 현미경으로 비교 분석하였다.

펌프의 헤드는 흐르는 물로 충분히 세척하여 대체로 다시 사용하였으며 세척제는 가급적 사용하지 않았다.

총 12마리의 소에서 채혈을 하고 12쌍의 짝을 이룬 회로를 구성하여 매 실험을 동시에 진행하였으며 공기-혈액 접촉 유무에 따른 혈액 응고 인자들의 변화와 각 회로에서 생성된 혈전의 형태상 차이를 확인하고자 하였다.

본 연구의 자료분석은 개인용 컴퓨터 용 SPSS 통계 프로그램(version 7.5)을 이용하여 t-Test, 상관관계분석(Correlation), GLM-repeated measures ANOVA 등을 시행하였으며, 유의수준 0.05를 기준으로 유의도를 판단하였다.

결 과

도살장에서 얻어진 혈액가스 분석상 base excess는 -1과 +1의 정상 생리 범위이지만 약 1시간 후 실험실에서 저장기에 혈액을 충전한 후 측정된 base는 -5에서 -8사이로 산성화가 심했으며 37°C에서 NaHCO₃를 80~100 mEq를 투여하였을 때 pH 7.35~7.45를 유지할 수 있었다. 회로 가동 후 1시간마다 측정하여 부족할 때마다 20~30 mEq씩 보충하였다.

시간에 따른 각 측정치는 Table 1, 2, 3에 있다.

정상 ACT는 186.9±20.5 초(평균±표준편차)이었고, 헤파린이 섞인 초기 ACT는 982.2±165.5 초이었는데, 초기 ACT의 표준편차가 큰 이유는 채혈 봉지에 채혈된 혈액량이 각각 차이가 있기 때문이다. 실험 동안 ACT는 서서히 감소하여 실험시간은 보통 60분에서 180분 사이였다. ACT가 초기에 크게 상승하거나 실험 동안 갑자기 감소하는 경우는 채

Table 2. Data of parameters (II)

	air contact	Factor XII(mg/dL)		Factor VIII(%)		Fibrinogen(%)	
		N	Mean ± S.D.	N	Mean ± S.D	N	Mean ± S.D.
0 min	(-)	9	17.6 ± 9.4	12	28.3 ± 1.9	12	135.2 ± 38.5
	(+)	9	17.8 ± 10.6	12	28.4 ± 2.9	12	140.6 ± 47.0
30 min	(-)	9	22.4 ± 13.2	12	30.5 ± 7.2	12	120.4 ± 30.9
	(+)	9	21.3 ± 12.0	12	29.1 ± 2.5	12	116.1 ± 27.8
60 min	(-)	9	31.0 ± 17.8	11	28.4 ± 2.2	11	119.7 ± 32.4
	(+)	9	28.6 ± 14.7	11	29.1 ± 2.8	11	119.4 ± 32.8
90 min	(-)	3	51.0 ± 2.6	5	27.5 ± 2.0	4	113.8 ± 30.1
	(+)	3	52.3 ± 6.5	5	26.8 ± 1.6	4	111.9 ± 32.3
120 min	(-)	3	17.7 ± 10.0	5	29.9 ± 2.5	4	100.8 ± 30.5
	(+)	3	22.3 ± 17.9	5	31.6 ± 3.6	4	103.7 ± 35.0
150 min	(-)	-	-	-	-	-	-
	(+)	-	-	-	-	-	-
180 min	(-)	1	27.0	3	34.0 ± 9.7	1	139.5
	(+)	1	19.0	3	34.9 ± 9.7	1	142.1
p value*		0.489		0.872		0.973	

N ; number of tests, S.D. ; Standard Deviation

*p value by Generalized Linear Model-repeated measures define factor(s)

Table 3. Data of parameters (III)

	air contact	Platelet ($\times 10^3/\mu^l$)		TXB ₂ (mg/dL)	
		N	Mean ± S.D	N	Mean ± S.D
0 min	(-)	12	359 ± 52	12	72.6 ± 15.3
	(+)	12	349 ± 61	12	72.7 ± 15.5
30 min	(-)	12	284 ± 60	-	-
	(+)	12	280 ± 52	-	-
60 min	(-)	11	266 ± 73	12	92.1 ± 12.9
	(+)	11	251 ± 90	12	93.5 ± 13.9
90 min	(-)	-	-	-	-
	(+)	-	-	-	-
120 min	(-)	8	276 ± 55	9	135.9 ± 30.8
	(+)	8	252 ± 77	9	132.2 ± 24.0
150 min	(-)	-	-	-	-
	(+)	-	-	-	-
180 min	(-)	3	263 ± 65	-	-
	(+)	3	231 ± 82	-	-
p value*		0.904		0.985	

N ; number of tests, S.D. ; Standard Deviation. TXB₂ ; Thromboxane B₂

*p value by Generalized Linear Model-repeated measures define factor(s)

혈할 때나 저장기에 충전할 때 조작의 문제가 있었기 때문 이라고 생각되며 공기 접촉에 따른 차이는 없었다(p=0.398, Fig. 2).

Factor XII, Factor VIII, 그리고 섬유소원의 초기 검사치는 각각 29.3 ± 1.2%, 137.9 ± 42.1 mg/dL, 17.7 ± 9.7%였으며, 실험 이 진행됨에 따라 공기 접촉에 따른 유의한 차이는 없었다

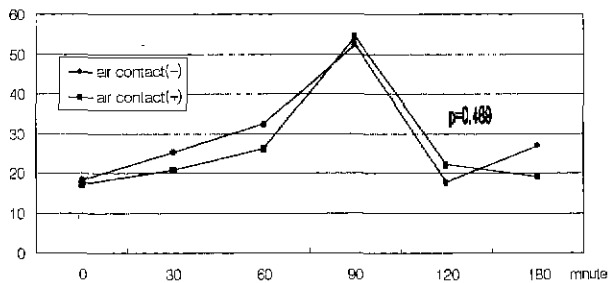


Fig. 3. Change of factor XII. It shows no statistical significance between air contact(-) and air contact(+), p=0.489

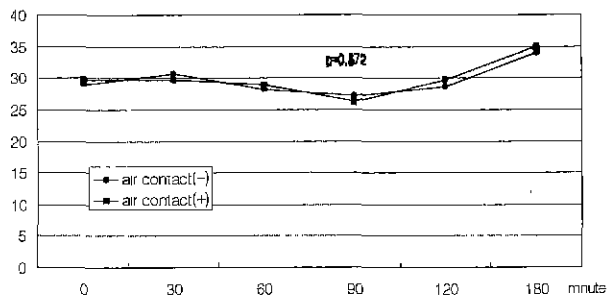


Fig. 4. Change of Factor VIII. It shows no statistical significance between air contact(-) and air contact(+), p=0.872

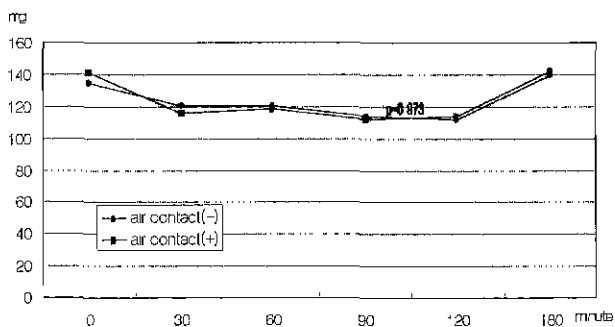


Fig. 5. Change of Fibrinogen. It shows no statistical significance between air contact(-) and air contact(+), p=0.973

(Fig. 3, p=0.489 ; Fig. 4, p=0.872 ; Fig. 5, p=0.973).

초기 혈소판의 수는 $354 \pm 56 (\times 10^3) / \mu\text{L}$ 로 시험 시작 30분 내에 서서히 감소하고 그 이후는 큰 변화를 보이지 않았으며, 혈소판 활성화도의 변수인 TXB_2 는 초기에 $72.6 \pm 15.1 \text{ mg/dL}$ 였는데 시간이 지남에 따라 지속적으로 증가되는 양상을 보였고 공기 접촉에 따른 유의한 차이는 없었다(Fig. 6, p=0.904 ; Fig. 7, p=0.985). 혈소판의 수와 TXB_2 의 변화를 보면 혈소판이 감소함에 따라 TXB_2 가 증가하기는 하지만 통계적 의의는 없었다(Fig. 8 ; r=-0.477, p=0.085).

초기 HCT는 $35.5 \pm 3.2\%$ 였으며 처음 30분 동안에 급격히

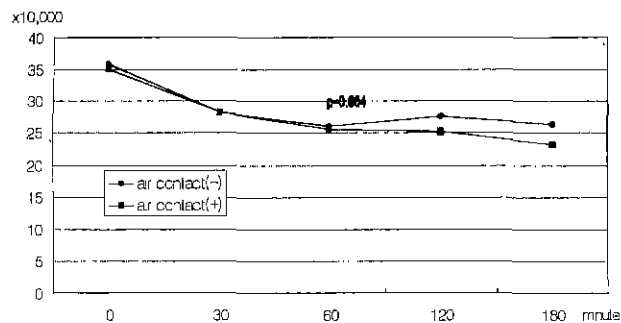


Fig. 6. Change of platelet. It shows no statistical significance between air contact(-) and air contact(+), p=0.904

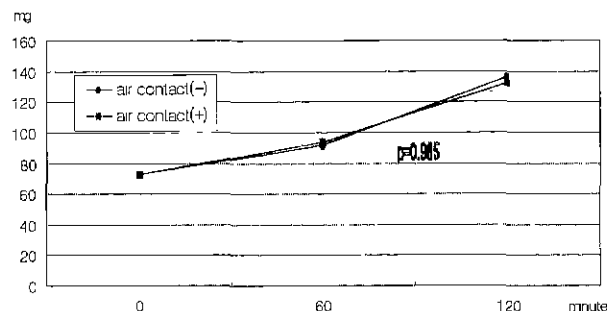


Fig. 7. Change of thromboxane B_2 (TXB_2). It shows no statistical significance between air contact(-) and air contact(+), p=0.985

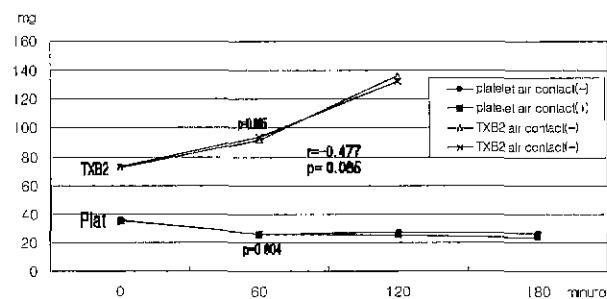


Fig. 8. Correlation of platelet and thromboxane B_2 . It shows reverse correlation but no statistical significance, r=-0.447 and p=0.085

감소하고 이후 변화가 적다가 150분 이후 다시 감소하는 양상을 보였으며, 적혈구의 손상을 나타내는 Hb은 초기에 $12.4 \pm 6.5 \text{ mg/dL}$ 였으며 시간이 지남에 따라 지속적으로 증가하는 양상을 보였고 공기 접촉에 따른 차이를 보이지 않았다(Fig. 9, p=0.988 ; Fig. 10, p=0.898).

실험 후 생성된 혈전은 Schima 등이 기술했던 바와 같이 펌프의 헤드와 각 튜브 사이의 거친 연결 부위, 펌프 안의

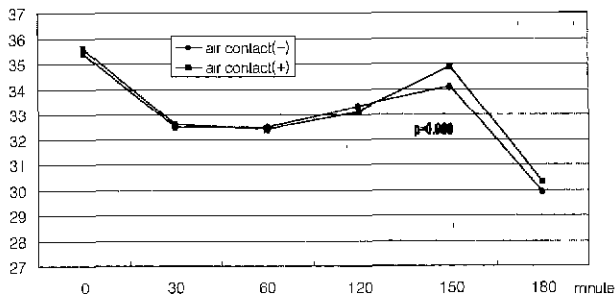


Fig. 9. Change of hematocrit. It shows no statistical significance between air contact(-) and air contact(+), p=0.988

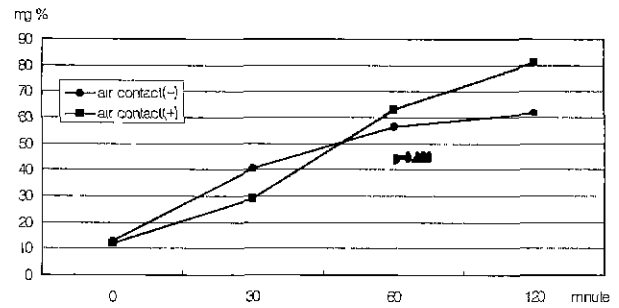


Fig. 10. Change of plasma free hemoglobin(fHb). It shows no statistical significance between air contact(-) and air contact(+). p=0.898

회전하는 나선 부위의 공간, 저장기 내부에 주로 생겼다. 각 부위에 생긴 혈전의 크기와 형태는 다양하였지만 색깔은 별 차이가 없었고, 현미경 소견은 대체로 혈소판, 적혈구, 섬유소, 그리고 변성된 백혈구의 농축된 체 모양을 하고 있었으며, B-회로의 저장기의 혈전에는 여러 군데 공기 방울이 관찰되는 것 이외에 생성된 혈전의 모양은 차이가 없었다(Fig. 11). 생체에서 생성된 혈전⁹⁾과는 그 양상이 같았다.

2 cc의 microtube와 10 cc 주사기로 측정된 A-회로와 B-회로에서 생성된 혈전의 총량은 각각 8.4 ± 3.7 mL와 9.4 ± 3.1 mL로 통계적 유의성은 없었다(p=0.624).

고찰

실험 펌프에 인간의 혈액을 사용하는 것은 그 펌프의 최종 적용이 인체이기 때문에 실제적 가치가 가장 높을 수 있으나 실험 회로를 채우고 실험을 수행할 만한 충분한 신선 혈액을 한 개체에서 얻는 것은 불가능하다. 저장 혈액인 경우 혈소판 검사에는 사용할 수 없으며, 채혈 연령에 따라 검사 결과에 차이가 생길 수 있다. 신선한 혈액들을 모아 사용할 수는 있으나 정확한 교차 반응 검사(crossmatch)를 필요로 하므로 현실적이지 않다. 따라서 혈전 생성 연구를 위해서는 정선된 실험 동물의 혈액을 이용하여야 하며 채혈 한 지 3 시간 이내의 동종 및 동일 개체에서 얻은 충분한 신선 혈액을 이용하여야 한다²⁾.

정확하고 표준화된 채혈 방식은 결과의 신뢰성에 커다란 영향을 미치고 있다. 적정량의 항응고제, 포도당 과 전해질이 들어 있는 규격화된 채혈 봉지를 이용하고, 직접 정맥 절개를 가하는 가급적이면 혈액의 기계적 손상을 최소로 하는 채혈 방식이 추천되고 있다. 소 혈액의 정상 초기 fHb이 4 mg/dL 이하인데 도살장 혈액의 경우 자연 용혈 때문에 2~10배 정도 높게 측정된다⁹⁾. 저자의 경우도 회로의 저장기에 충전 후 측정된 fHb이 평균 12.4 mg/dL로 채혈 및 운반 그리

고 저장기에 충전 시 용혈이 발생하였음을 알 수 있다.

이 모의 순환 회로를 통한 실험은 실험 장치의 여러 부위에서 생기는 용혈의 정도를 측정하는 실험에도 적합하다. 혈장의 fHb이 세망내피계(reticuloendothelial system)에서 계속해서 제거되는 생체 내와는 달리 시간이 지남에 따라 지속적으로 증가하며¹⁾, 본 실험에서도 같은 결과를 보이고 있다(Fig. 4). 소 혈액의 적혈구는 직경이 인간 혈액보다 작기 때문에 용혈이 덜하리라고 생각된다⁷⁾.

생체 외 실험에서 어떠한 항응고제가 적절한가에 대한 논의가 계속되고 있는데 일반적으로 사용되는 항응고제인 heparin과 citrate가 제기되고 있다. 헤파린이 platelet factor 4 (PF-4)의 분비를 초래하고 citrate를 사용한 혈액과 비교했을 때 혈소판의 활성도를 증가시킨다는 보고가 있지만, 또 한편으로는 혈소판의 분비 작용은 특히 Ca^{++} 에 의존하기 때문에 citrate의 생리학적 부작용도 보고되고 있다⁸⁾. 사용할 수 있는 Ca^{2+} 이 부족한 경우 세포의 부착 및 단백질의 흡착과 활성화에 영향을 주어 혈액 성분-특히 응고인자와 인공 장치와의 접촉 면에서의 반응이 심각하게 영향을 받을 수 있다⁹⁾. 헤파린도 여전히 해결되지 않은 많은 문제점을 가지고 있지만 생체에서도 사용할 수 있고, 대개 미리 헤파린이 투여된 혈액이 펌프에 사용되기 때문에 헤파린의 사용이 추천되고 있다²⁾. 적정량의 헤파린 투여를 결정하기 위하여 ACT를 정상 값의 3배로 조절하여야 한다²⁻⁴⁾. 본 실험의 초기 ACT는 정상 값의 3~6배 정도가 되었다. ACT의 값이 높아진 이유는 예비 실험에서 protamine을 사용했을 때 정상 값의 3배로 정확히 조절하는 것이 어려웠는데 헤파린과 푸로타민의 음이온-양이온 복합체(anion-cation complex)가 보체 활성화와 thromboxane 분비를 초래했기¹⁰⁾ 때문이라고 생각되며, 예비 실험에서 ACT를 엄격히 3배로 유지한 경우 ACT의 수치 감소가 현저하여 실험이 너무 빨리 끝나는 경향이 있었기(60분 이내에) 때문이었다. 초기 ACT의 표준편차가 큰 이유는 채혈 봉지에 채혈된 혈액량이 각각 차이가 있기 때문이다.



Fig. 11. Microscopic findings of thrombus in A-loop(A) and B-loop(B) C shows thrombus with multifocal air bubbles(arrow) formed in reservoir of B-loop. There is no microscopic differences among A and B and C(H&E, ×100).

모의 회로의 용적은 작게 유지하여야 하는데 혈액을 보존하고 펌프를 지나는 혈액의 빈도를 증가시켜 측정된 메개변수의 변화를 보다 정확하게 얻을 수 있기 때문이다. 하지만 너무 적을 경우는 세포의 파편이나 대사산물이 축적되어 부정적인 효과가 나타날 수 있다. 따라서 박동성(pulsatile) 모의 순환 회로의 경우 대동맥의 탄성을 모방하기 위하여 2 ℓ의 용적이 필요하다²⁾.

온도가 하강하는 경우 적혈구의 변형으로 용혈 정도에 변화가 일어나고 혈소판의 분비나 기능도 영향을 받기 때문에 전 실험을 통하여 일정한 온도(37℃)를 유지하는 것이 바람직하다^{2,3)}.

모의 회로의 압력과 펌프 속도와 혈류는 도표화하여 펌프의 적정 수행 정도를 측정하는 것이 좋다. 압력은 심장 보조 장치의 경우 100~150 mmHg이고 산화기(oxygenator)는 적어도 250 mmHg까지 유지하여야 한다. 혈액의 손상 정도와 혈류와 압력의 하강과는 직접적인 관련이 없으며⁷⁾, 혈류 속도는 5 ℓ/min에서 모의 순환 회로의 내의 압력 차가 100 mmHg

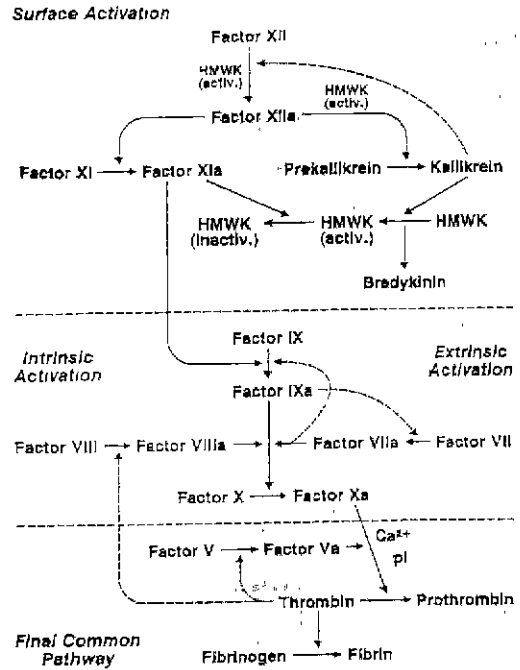


Fig. 12. Diagram of the coagulation cascade from surface activation to the final common pathway. Solid lines indicate activation; dotted lines show pathways of positive and negative feedback(HMWK: high molecular weight kinnogen).

~150 mmHg 유지하도록 모의 순환 회로를 구성한다^{3,4)}.

혈액과의 접촉면은 주의 깊게 선택되어야 한다. 우리는 혈소판 응집과 혈액 응고 계를 활성화시키기 때문에 피하여야 하며 불가피하게 사용되는 경우 그 표면을 silicone이나 polyurethane으로 피복해야 한다²⁾.

모든 효소(enzymes)의 활성도는 pH에 의존하기 때문에 대사를 잘 조절하기 위해서는 일정한 pH를 유지하는 것이 중요하다. 따라서 전 실험과정 동안 pH를 생리적 범위인 7.4(7.35~7.45)를 유지하여야 한다. 용혈만을 측정할 때에는 pH를 조절하지 않으나 적혈구의 membrane elasticity는 pH 변화에 따라 영향을 받을 수 있으므로 고려하여야 한다¹¹⁾.

혈관 내막이 없는 이물질이 혈관 내에 존재하여 혈액과 접촉하게 되면 혈액응고기전(clotting mechanism)이 활성화되어 혈전이 형성되게 된다.

섬유소원(fibrinogen)은 주요 혈장 단백질의 하나로 먼저 혈액과 접촉하는 이러한 인공 표면에 침착하게 되는데 이 섬유소원 층이 생기면 혈소판이 이 섬유소원에 달라붙을 수 있다. 각각의 표면에서 혈전이 생기는 정도는 다양하지만 그것들이 먼저 섬유소원에 노출된다면 각 물질에 대한 혈액 반응성이 상당히 증가 될 수 있다¹²⁾. 일단 혈소판이 단백질 층에 부착하여 인공 표면으로 퍼지면 혈소판 내의 과립(granule)에 존재하는 물질들이 분비되는데, 그것들은 β

-thromboglobulin(β -TG, prostacyclin 생산 억제), PF-4(혈관 내막에서 heparin sulfate를 중화), serotonin, adenosin triphosphate, adenosine diphosphate(ADP) 등이다. 또한 prostaglandin E와 F가 합성되는데, 이는 endoperoxide metabolism이 일어나 혈소판 아라키돈산(arachidonic acid)에서 thromboxane A_2 (TXA₂)가 형성되고 있음을 시사하는 것이다. Serotonin, TXA₂와 endoperoxide는 강력한 혈관 수축 인자이며 혈소판 자극 인자이다¹³. 섬유소원과 TXA₂가 이 단계에서 중추적 역할을 하며, 마지막으로 혈소판 부착(adhesion)에 이어 부착된 혈소판에서 분비된 ADP와 serotonin에 의해 혈소판 응집(aggregation)이 일어나게 된다.

혈액 응고의 폭포상 반응(Fig. 12)은 인공 표면에 혈장 단백질이 반응하여 Factor XII와 같은 효소성 활성 성분을 형성하거나(내인성 계통 : intrinsic system) 혈관 내막 하 조직의 노출로 생긴 thromboplastin이 인공 표면과 접촉하여(외인성 계통 : extrinsic system) 시작된다¹⁴.

Factor XIIa와 XIa의 활성화는 활성화된 factor Xa를 형성하는 내인성계를 일으킨다. 활성화된 Factor XIIa는 또한 Kininogen-Kallikrein계를 일으키고 Kallikrein은 접촉에 의한 활성화의 양성 피드백(positive feedback)로 Factor XII를 Factor XIIa로 전환시켜 접촉 활성화를 가속화시킨다. Bradykinin은 Kallikrein이 high-molecular-weight-Kininogen(HMWK)를 분해할 때 분비된다. 활성화된 HMWK는 더 많은 prekallikrein과 Factor XII를 활성화된 표면에 결합시켜 반응을 더욱 증가시킨다. 최종 공통 단계에서 prothrombin은 thrombin으로 전환되고 섬유소원은 섬유소로 전환되는데 thrombin은 더 많은 혈소판을 모아 들여 부착과 응집을 증가시켜 섬유소-혈소판 혈병(clot)이 형성되고 혈전증이 일어난다¹⁵.

Factor XII, Kallikrein과 plasmin은 보체계(complement system)와 호중구(neutrophil)를 활성화시키고, 생성된 kinin은 혈관 확장, 혈관의 투과성과 백혈구의 이동을 일으킨다. 정상 상태에서 이 두 혈액응고계와 보체계 사이에 미묘한 조화가 유지되어 통제할 수 없는 혈액 응고나 출혈이 발생하지 않는 것이다.

섬유소원 농도의 정량화는 특히 생체의 실험에서 중요하다. 섬유소원 분해산물(fibrinogen degradation product : FDP)과 fibrinopeptide A가 혈액 응고와 혈전증의 정도에 대한 실마리를 제공하지만 혈전 용해 경로(lytic pathway)의 활성화가 가능하기 때문에 소를 이용한 혈전 형성 실험에 있어서 FDP는 변수로서 유용하지 않을 수 있다¹⁶.

혈액의 외적 손상을 평가하는데 있어서 흔히 사용되고 믿을 수 있는 인자는 혈장의 fHb의 농도이지만, 혈소판 활성화 인자들은 인공펌프의 생체 적합성(biocompatibility)을 평가하는데 있어서 적혈구 손상의 인자보다 더 예측성이 높다¹⁷.

하지만 혈소판은 외부 영향에 매우 민감하기 때문에 섬세한 채취 및 조작 기술이 정확한 결과를 얻는데 필요하다. 혈소판 수를 측정하는데 있어서 Coulter counter가 믿을 수 있지만 위상 차 현미경(phase contrast microscopy)을 이용하여 확인하여야 하는데 소의 혈소판은 인간의 혈소판보다 작기 때문이다¹⁸. 혈소판의 활성화를 보기 위한 몇몇의 분석 방법에는 PF-4, β -TG, TXB₂, prostacyclin(PG I₂) 그리고 혈소판 표면 단백질인 CD 62와 당단백인 CD 63 등²²이 있다. PF-4와 β -TG를 측정하기 위한 방사선면역측정법(radioimmunoassay) 장비는 인간에 독특하기 때문에¹⁹ 소 혈액에는 작용하지 않는다. TXB₂는 소에서 측정이 가능한데 TXA₂의 대사 산물로 안정하며 가장 강력한 혈소판 응집 인자로 알려져 있고 prostaglandin(PG)의 합성 과정에서 생성된다. 이 물질은 생성되어 혈소판 내에 저장되지 않고 분비되는데, 이 물질의 증가는 단순한 혈소판의 용해가 아니라 혈소판 활성화에 따른 혈소판 내의 활발한 PG의 합성과 분비를 의미하기 때문에 혈소판 활성화 반응의 지표로 사용할 수 있으며¹⁹, 이것은 또한 혈액과 혈액 접촉 인공 표면의 반응을 평가하는데 있어서 대단히 민감하여 인공 표면의 혈액 적합성(hemocompatibility)과 크게 관련되어 있다²⁰ Thromboxane의 생리학적 길항물질(antagonist)인 PG I₂도 또한 방사선면역측정법으로 소에서 측정할 수 있으며, PG I₂는 생체 내 실험에서도 사용할 수 있다²¹.

새롭고 멸균이 된 장비를 사용하는 것이 바람직하다. 하지만 대체로 비용이 많이 들고 멸균 작업이 부정적 영향을 초래할 수 있으며 또한 시험의 초기 단계에는 사용할 수 있는 장비가 제한되어 있어 단 한번 사용하고 장비를 버릴 수 없다. 더욱이 펌프와 도관의 인공 표면에 생물학적 물질이 모여 표면 장력을 친수성(hydrophilic) 또는 소수성(hydrophobic)으로 변화시키고, 표면이 도톰도톨하게 되어 각각의 층에 독특한 항원성을 만들며²³, 여러 세척제에 의하여 화학적 구조나 물리적 안정성이 변하기 때문에²³ 실험 후 장비의 적절한 세척 작업이 중요하다. 세척 방법의 한 가지는 단백질 용해제를 쓰는 방법인데 다음에 사용할 때 특히 연결 부위나 밀봉 부위에 남아 있는 모든 용해제를 제거하기 위하여 반복적인 세척을 해야 한다. 또 다른 방법은 세척제가 완전히 제거되었다고 보장할 수 없기 때문에 단순히 반복적으로 헹구어 내는 것이다. 이 경우 인공 표면이 단백질 층으로 덮여 있어 보호 효과를 낼 수 있으나 일련의 실험 동안 인공 표면의 성질이 변할 수 있다²³.

실험 장비를 다시 사용하는 경우 오염되어 세균이 자랄 수 있다. 따라서 배양 검사를 시행하여야 한다. 세균이 오염된 경우 산소 소모가 증가하고 CO₂ 생성이 늘어나 완충액(buffer solution)을 씌어도 심한 산성화가 생길 수 있으며 이

문제는 시험 혈액에 gentamicin(10 mg/ml)을 첨가함으로써 해결할 수 있다²⁾.

모의 순환 회로를 통한 실험에서 혈액과 공기와의 접촉으로 발생한다고 생각된 혈액응고기전 중의 내인성 경로의 활성화를 보기 위한 Factor XII, Factor VIII, 그리고 섬유소원의 측정은 양군에 유의한 차이가 없었으며, 공기 접촉에 따른 혈액의 손상 정도를 보기 위한 fHb과 TXB₂의 측정도 유의성이 없었다.

생성된 혈전의 형태학적 변화를 보면 육안적 소견은 다양하였으나 비슷했으며, 현미경 소견은 회로 내에서 실험 도중 공기가 많이 모였던 B-회로의 저장기에서 생성된 혈전에서 포획된 공기가 관찰되는 것 외에는 A-회로에서 형성된 혈전과 같았고, 생체에서 형성된 혈전³⁾과 비교한 결과 차이가 없었다. 생성된 혈전의 전체 량에 있어서도 통계적 유의성은 없었다.

모의 순환 회로를 이용한 실험은 혈전이 잘 생성되지 않는 생체 실험과는 달리 혈전을 생성하기 위한 실험이다^{3, 6)}. Nakazawa 등⁴⁾도 CIE3 펌프를 이용한 혈전의 조기 생성을 확인하기 위한 진동 신호 분석(vibration signal assessment) 실험에서 일 개월 동안의 동물 실험에서도 혈전이 생성되지 않았으나 모의 순환 회로를 이용하자 혈전 생성이 가속화되어 6시간에 실험을 수행할 수 있었다. 모의 순환 회로에서의 혈전 생성 속도는 동물을 이용한 실험과 비교했을 때 10~20배 빠르며³⁾, 채혈과정이 주의 깊게 이루어진다면 근본적으로 간단하고 믿을 수 있는 결과를 제공하기 때문에 새롭게 고안된 펌프를 체계적으로 평가하거나 혈액과 접촉하는 인공 장치의 개발에 있어서 중요한 도구가 될 수 있다.

결 론

1. 모의 순환회로를 위한 혈액의 채취 및 회로 충전에 있어서 공기와의 접촉 여부는 혈액 응고 기전의 활성화에 차이를 보이지 않으며, 혈전 생성에 있어서 그 양과 형태에도 영향을 미치지 않는다.
2. 모의 순환 회로에서 형성된 혈전과 문헌에 있는 인체 내에서 형성된 혈전을 비교한 결과 그 형태가 일치하므로 이 모의 순환 회로를 이용한 실험이 동물실험을 대신할 수 있다고 판단된다.

참 고 문 헌

1. Swier P, Bos WJ, Mohammad SF, Olsen DB, Kolff WJ. An in vitro test model to study the performance and thrombogenicity of cardiovascular devices. ASAIO Trans 1989;35:683-7.

2. Mueller MR, Schima H, Engelhardt H, Salat EA, et al. Thoughts and Progress. In vitro hematologic testing of rotary blood pumps. Remarks on standardization and data interpretation. Artif Organs 1993;17:103-10
3. Schima H, Siegl H, Mohammad SF, Huber L, Mueller MR, Losert U, Thoma H, Wolner E. In vitro investigation of thrombogenesis in Rotary blood pumps. Artif Organs 1993;17(7):605-8.
4. Nakazawa T, Tayama E, Takami Y, Glueck J, Nose Y. In vitro thrombogenesis in the Gyro CIE3 for vibration assessment. Artif Organs 1997;21(7):714-9.
5. Cotran RS, Kumar V, Robbins SL. Robbins Pathologic Basis of Disease. 5th ed. Philadelphia, W.B. Saunders, pp 105-10, 1994.
6. Schima H, Schiusch C, Jeremejev BV, Schor I, et al. Influence of centrifugal blood pumps on the elasticity of erythrocytes. ASAIO trans 1991;37(4):658-61.
7. Schima H, Mueller MR, Tsangaris S, Gheiseder G, et al. Mechanical blood traumatization by tubing and throttles in In Vitro Pump tests: Experimental results and implications for Hemolysis theory. Artif Organs 1993;17(3):164-70.
8. Wurzingler LJ, Schmid-Schonbein H. Species differences in platelet aggregation and the influence of curate and heparin anticoagulation thereon. J Am Soc Artif Intern Organs 1981;4:149-56.
9. Smith JB, Dangelmaier C, Selak MA, Daniel JL. Facile platelet adhesion to collagen requires metabolic energy and actin polymerization and evokes intracellular free calcium mobilization J Cell Biochem 1991;47:54-61
10. Morel DR, Lowenstein E, Nguyenduy T, Robinson DR, Repine JE, Chenoweth DE, Zapol WM. Acute pulmonary vasoconstriction and thromboxane release during Protamine reversal of heparin anticoagulation in awake sheep. Cur Res 1988;62:905-15.
11. Stuart J. Erythrocyte deformability. In: Lowe GDO, Ed. Clinical blood rheology. Boca Raton, Florida: CRC Press 1986.
12. Salzman EW, Merrill EW. Interaction of blood with artificial surfaces. In: Coleman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW(eds) Hemostasis and Thrombosis. Philadelphia, JB Lippincott, 1987.
13. Mehta P, Mehta J. Effect of aspirin in arterial thrombosis: Why don't animals behave the way humans do? J Am Col Cardiol 1993; 21: 511.
14. Ware JA, Lewis J, Salzman EW. Antithrombotic therapy. In: Rutherford RB (ed). Vascular Surgery. 3rd ed. Philadelphia, W.B. Saunders, 1989
15. Coleman RW, Marder VJ, Salzman EW, Hirsh J. Overview of hemostasis. In: Coleman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW(eds) Hemostasis and Thrombosis. 2nd Ed. Philadelphia, JB Lippincott, 1987.
16. Mohammad SF, Sanossian S, Swien P, et al. Early hemotological Changes in calves with paracorporeal left ventricular assist device. ASAIO abstracts 1989

17. Wurzinger LJ, Opitz R, Eckstein H. *Mechanical blood trauma* In : Affeld K, Yaganathan A(cds) *Summary of the workshop on Centrifugal pumps* 1985 Berlin · Hermann Foiting Inst, 1986.

18. Maxie MG *Evaluation of techniques for counting bovine platelet*. Can J Comp Med 1977;41:409-15.

19. Moncada S, Vane JR. *Unstable Metabolites of arachidonic acid and their role in hemostasis and thrombosis*. Br Med Bull 1978;34:129-36

20. Mantovani E, Marconi W, Cebo b, et al. *A native whole blood test for the evaluation of blood-surface interaction* *Determination of thromboxane production*. Int J Artif Organs 1984;7:147-50.

21. Hardwick RA, Gritsman HN, Stromberg RR, Friedmann LI. *The biochemical mechanism of shear-induced platelet aggregation*. Trans Am Soc Artif Organs 1983;29:448-53.

22. Chac SL, Cha YJ, Park AJ *Changes in platelet activation Markers by leucocyte-removal filters* Korean J Blood Transfusion 1996.7(1):65-70.

23. Chenoweth DE. *Complement activation produced by bio-materials*. Trans Am Soc Artif Intern Organs 1986;32: 228-32.

=국문초록=

배경: 혈전 생성은 심혈관계 삽입물이나 순환 보조장치의 발전에 있어서 중요한 문제이므로 이러한 장치들의 혈전성에 대한 평가는 필수적이다. 따라서 이러한 장치들의 혈전성 연구를 시행하기 위한 효과적인 생체 외 실험 방식이 개발되어 원심성 순환 펌프의 발전에 큰 도움이 되고 있으며, 최근 엄밀하게 혈액과 공기의 접촉을 차단하는 방식이 믿을 수 있는 생체 외 실험 방식으로 강조되고 있다. 본 논문에서는 모의 순환 회로를 이용하여 기존에 행해진 연구 방법 상의 공기 접촉에 따른 혈액 응고 기전의 활성화 여부를 알아보기 위하여 공기 접촉 여부에 따른 혈액 인자의 변화를 관찰하여 확인하고, 또한 회로 내에서 생성된 혈전을 생체 내에서 형성된 혈전과 비교 분석하여 이 모의 순환 회로를 이용한 생체 외 검사가 새로 고안된 심혈관계 장치들의 혈전성을 평가하는데 있어서 동물실험을 대신할 수 있다는 기존의 주장을 검증하고자 하였다. **연구재료 및 방법:** 바이오펌프를 이용한 같은 모의 순환 회로 한 쌍을 준비하고 동일 개체에서 얻은 헤파린을 첨가한(1u/ml) 신선한 혈액을 공기와 접촉시키지 않도록 한 A-회로와 공기와 접촉시킨 B-회로에 충전시켜 실험을 동시에 진행하여 결과를 얻었으며 총 12번 시행하였다. 회로에 충전한 혈액의 activated clotting time(ACT)은 정상치의 3~5배였으며 ACT가 정상 범위의 1.5배가 되면 실험을 끝냈고, Hematocrit(HCT), 혈소판, 동맥혈가스분석(ABGA), factor VIII, factor XII 섬유소원, thromboxane B₂(TXB₂), free hemoglobin(fHb) 등을 측정하였다. 실험이 끝난 후 A-회로와 B-회로에서 얻은 각 검사를 평가하고 분석하였으며 생성된 혈전을 생체 내에서 생성된 혈전과 조직 검사로 비교하였다. 본 연구의 자료분석은 SPSS 통계 프로그램을 이용하였고 유의수준 0.05를 기준으로 유의도를 판단하였다. **결과:** 정상 ACT는 186.9±20.5초(평균±표준편차)이었고, 헤파린을 넣은 초기 ACT는 982.2±165.5초이었으며, 실험시간은 보통 60분에서 180분 사이였다. HCT, fHb, 혈소판, TXB₂, factor VIII, factor XII 섬유소원의 초기값은 35.5±3.2%, 12.4±6.5 mg/dL, 354±56(×10³)/μL, 72.6±15.1 mg/dL, 29.3±1.2%, 137.9±42.1 mg/dL, 그리고 17.7±9.7%이었다. 공기 접촉에 따른 차이를 보았을 때 ACT(p=0.398), HCT(p=0.988), fHb(p=0.898), 혈소판(p=0.904), TXB₂(p=0.985), factor VIII(p=0.872), factor XII(p=0.489), 섬유소원(p=0.973)으로 전 예에서 통계적 유의성이 없었다. 실험 후 양 군에서 생성된 혈전의 현미경 소견은 B-회로의 혈전에 여러 군데 공기 방울이 관찰되는 것 이외에 A-회로에서 생성된 혈전과 차이가 없었고, 생체에서 생성된 혈전과 비교했을 때 그 양상이 같았다. A-회로와 B-회로에서 생성된 혈전의 총량은 8.4±3.7 mL와 9.4±3.1 mL로 통계상 유의성은 없었다(p=0.624). **결론:** 모의 순환 회로를 이용한 혈전성 평가를 위한 생체 외 실험에 있어서 공기와의 접촉 여부는 혈액 응고 기전의 활성화나 혈전 생성에 별다른 영향을 미치지 않는다. 모의 순환 회로에서 형성된 혈전과 문헌에 있는 인체 내에서 형성된 혈전을 비교한 결과 그 형태가 일치하므로 이 모의 순환회로를 이용한 실험이 동물실험을 대신할 수 있다고 판단된다.

중심단어 : 1. 혈전 생성
2. 생체 외 실험
3. 모의 순환 회로