

유정란 태아외부혈관의 단계적으로 분기되는 동맥 분지관 내부 혈액 유동특성의 *in-vivo* 측정

이정엽* · 이상준†

In-vivo Measurements of Blood Flow Characteristics in the Arterial Bifurcation Cascade Networks of Chicken Embryo

Jung-Yeop Lee and Sang-Joon Lee

Abstract

The arteries are very important in cardiovascular system and easily adapt to varying flow and pressure conditions by enlarging or shrinking to meet the given hemodynamic demands. The blood flow in arteries is dominated by unsteady flow phenomena due to heart beating. In certain circumstances, however, unusual hemodynamic conditions cause an abnormal biological response and often induce circulatory diseases such as atherosclerosis, thrombosis and inflammation. Therefore quantitative analysis of the unsteady pulsatile flow characteristics in the arterial blood vessels plays important roles in diagnosing these circulatory diseases. In order to verify the hemodynamic characteristics, *in-vivo* measurements of blood flow inside the extraembryonic arterial bifurcation cascade of chicken embryo were carried out using a micro-PIV technique. To analyze the unsteady pulsatile flow temporally, the flow images of RBCs were obtained using a high-speed CMOS camera at 250fps with a spatial resolution of $30\mu\text{m}\times 30\mu\text{m}$ in the whole blood vessels. In this study, the unusual flow conditions such as flow separation or secondary flow were not observed in the arterial bifurcations. However, the vorticity has large values in the inner side of curvature of vessels. In addition, the mean velocity in the arterial blood vessel was decreased and pulsating frequency obtained by FFT analysis of velocity data extracted in front of the each bifurcation was also decreased as the bifurcation cascaded.

Key Words : Arterial bifurcation(동맥 분지관), Pulsatile flow(맥동성 유동), Chicken embryo(유정란 태아)

1. 서 론

최근 들어 식생활, 환경 등의 변화에 기인한 순환기 질환(circulatory disease)에 의한 사망률은 급속히 증가하여 대부분의 선진국에서 사망률 1위를 차지하고 있으며, 이에 따라 순환기 질환의 진단과 예방에 대한 관심이 증가되고 있는 실정이다. 임상적 관점에서 순환기 질환의 주요 원인으로는 LDL(low density lipoprotein), 고혈압(hypertension), 비만(obesity), 흡연(smoking), 그리고 과도한 스트레스(stress) 등으로 보고되고 있다. 하지만 최근 중요 동맥(arterial blood vessel) 및 동맥 분지관

(arterial bifurcation)에서의 비정상적인(abnormal) 유동조건 즉, 유동박리(flow separation) 혹은 2차유동(secondary flow)이 발생하여 순환기 질환을 발병시키는 메커니즘이 부각되면서⁽¹⁾ 임상과 유체역학을 융합한 관점에서 순환기 질환의 발생기전을 규명하고자 하는 연구가 활발히 이루어지고 있다. 주요 동맥을 흐르는 혈류(blood flow)에 의해 혈관 내벽에 작용하는 전단응력(shear stress)은 내피세포의 형상변화에 영향을 주어, 혈관의 생성(angiogenesis)과 병리학적 관점에서 동맥경화 및 혈관의 협착 등에 큰 영향을 미친다는 것이 밝혀졌다⁽¹⁾. 이와 같이 순환기 질환과 관련한 혈류역학의 중요성으로 인해 많은 review 논문⁽²⁻⁴⁾들이 발표되고 있으며, 다양한 관점에서의 연구도 시도되고 있다.

Zarins⁽⁵⁾ 등은 동맥 분지관에서의 유동특성을 실험적으로 분석하여 분지관 외벽에 유동박리 및 2차유동이 발생하고 이에 따라 전단응력의 변화와

† 포항공과대학교 기계공학과

E-mail : sjlee@postech.ac.kr

* 포항공과대학교 기계공학과 대학원

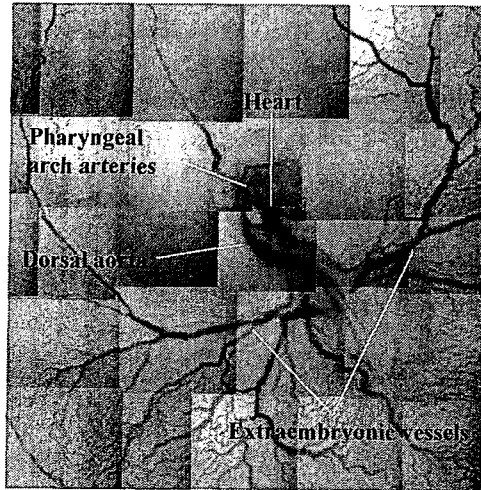


Fig. 1 Chicken embryo sample after approximately 72 hours of incubation.

함께 혈전이 혈관벽에 침착됨을 보였다. Yang⁽⁶⁾은 수치해석적 기법을 이용하여 경동맥(carotid)에서의 혈류유동을 계산하여 경동맥 분지관에서의 재순환 유동을 나타내는 유선의 형태를 보여주었으며, Jou⁽⁷⁾ 등도 수치해석적 방법을 통해 경동맥 분지관에서의 혈류 유속의 분포 및 전단응력을 계산하였다. 이외에도 혈액유동의 복잡한 유체역학적 특성을 파악하기 위해 많은 연구자들이 살아있는 생체를 대상으로 하는 연구도 수행하고 있다. Hove⁽⁸⁾ 등은 zebrafish에 PIV(particle image velocimetry) 속도장 측정기법을 적용하여 심장 내부의 전단응력과 심장발달 사이의 상관관계를 연구하였다. Sugii⁽⁹⁾ 등은 쥐의 장간막에 있는 세동맥(arteriole)에서의 혈류유동을 PIV 기법으로 측정한 연구결과를 발표하였다. Vennemann⁽¹⁰⁾ 등은 micro-PIV system을 이용하여 유정란에서 발생한 태아의 심장 내부유동을 관찰하여, 심장박동 주기에 따른 유동변화를 관찰하였다. Hogers⁽¹¹⁾ 등은 병리학적인 관점에서 조류의 알을 이용하여 태아외부혈관에 혈류장애물을 설치하고, 가시화를 통해 태반의 혈류유동의 변화가 심장의 기형발생에 미치는 영향에 대해 연구하였다.

본 연구에서는 순환기 질환과 관련하여 비정상 맥동(unsteady pulsatile) 유동특성을 보이는 단계적으로 분기되는 분지관(arterial bifurcation cascade) 내부의 유동특성을 규명하기 위해 유정란에서 발생한 태아의 외부혈관 (extraembryonic blood vessel)을 생체시료로 이용하여 *in-vivo* 측정을 실시하였다. 유정란의 경우 다른 생체시료와 달리 관찰하고자 하는 혈관을 적출하거나, 혈관 내부로 염료(dye)나 추적입자(tracer particle) 등의 이물질 투여할 필요가 없으므로 생체조직의 대사활동에 영향을 주지 않고 혈류유동의 유체역학적 특성을 자세히 관찰할 수 있다. 본 연구에서와 같이 비정상 맥동 유동 특성을 분석하기 위해서는 높은 시간분해능을 가지는 측정기법이 요구된다. 따라서 시간분해능이 높은 정량적 유동정보를 얻기 위해 고속의 CMOS 카메라를 이용한 dynamic PIV 측정기법과, 혈액중의 적혈구를 추적입자로 사용하는 *in-vivo*

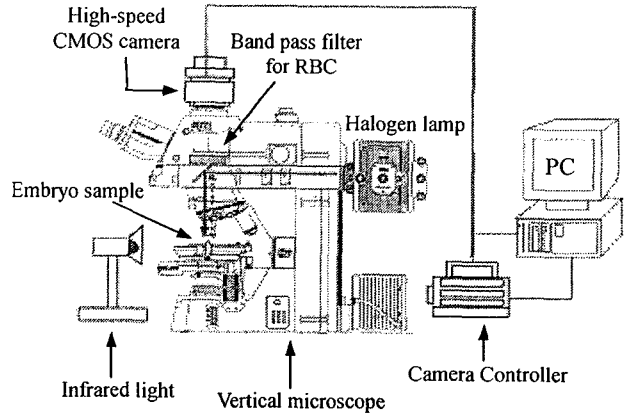


Fig. 2 Schematic diagram of a micro-PIV system for *in-vivo* measurements.

micro-PIV 혈류유동 측정기법을 접목하여 동맥 분지관에서의 맥동류(pulsatile flow)에 대한 정량적 유동정보를 획득하고, 주파수 분석을 통해 분지단계에 따른 맥동특성의 변화를 관찰하고자 하였다.

2. 실험장치 및 구성

2.1 유정란

본 연구에서는 *in-vivo* 방식의 생체 혈액유동 측정대상으로 유정란을 이용하였는데, 유정란의 경우 태아 및 태아외부혈관이 난황 위 표면 근처에 주로 분포하여 *in-vivo* micro-PIV 기법을 이용한 혈류유동의 가시화가 용이하다. 유정란은 신진대사가 이루어지는 살아있는 생체이며, 혈액은 내피세포가 존재하는 실제의 혈관을 따라 흐르고 있다.

Fig. 1은 유정란을 부화기에서 72시간 동안 배양시킨 후 4배 배율의 대물렌즈를 사용하여 촬영한 태아와 태아외부혈관의 영상이다. Hamburger와 Hamilton⁽¹²⁾이 분류한 유정란의 발달단계(developing stage)에 따르면 72시간의 배양은 발달단계 18에 해당한다. 발생 초기단계이므로 태아와 태반의 크기는 작지만 내부에서는 심장 그리고 태아에게 산소와 영양을 공급하는 동맥과 정맥이 태아를 중심으로 난황 전반에 걸쳐 넓게 분포하고 있는 것을 확인할 수 있으며, 본 연구에서 관찰하고자 하는 대부분의 혈관이 난황 위쪽 표면 가까운 부분에 위치하고 있어 광학적 접근성이 용이하였다.

2.2 실험장치 및 방법

Fig. 2는 본 연구에서 사용된 micro-PIV 속도장 측정시스템의 개략도를 나타내고 있다. 그림에서 보이는 바와 같이 micro-PIV 시스템은 현미경, CMOS 고속카메라, 할로겐 램프, 제어용 컴퓨터 등으로 이루어져 있다.

실험시 혈액속의 적혈구 입자영상을 1280×1024 픽셀 해상도로 유동조건에 따라 초당 250 프레임씩 취득하였다. 이는 250samples/sec의 샘플링에 해당하며, 유정란 태아의 심장의 맥동주파수

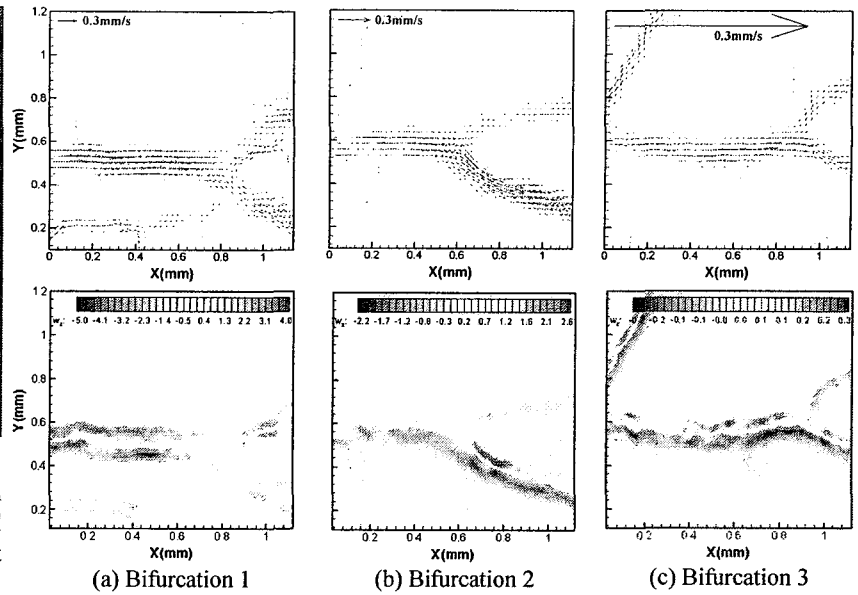
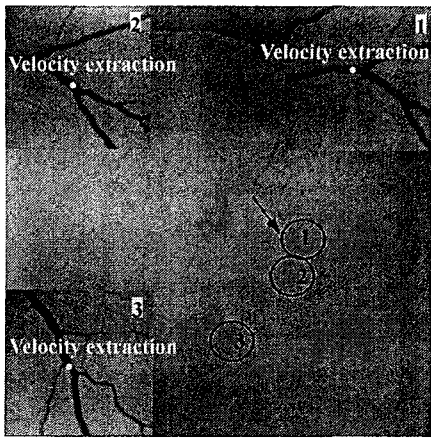


Fig. 3 Arterial bifurcations (left) and mean velocity vector fields (upper) and vorticity distributions (lower) at each cascade.

($\approx 2.43\text{Hz}$; Hu and Clack⁽¹³⁾)보다 훨씬 높은 시간분해능으로 속도정보를 획득할 수 있다. 그리고 연속광인 할로겐 램프를 광원으로 사용하였으며, 초당 획득되는 프레임 수를 제어함으로써 시간간격(Δt)을 조절하였다. 관찰영역(field of view)의 크기는 $1.561 \times 1.249\text{mm}^2$ 이고, 공간해상도는 $1.219\mu\text{m}/\text{pixel}$ 이다. 입자영상에서 속도성분을 추출하기 위해 FFT(fast Fourier transform)에 기초한 상호상관(cross-correlation) 기법을 이용하여 순간속도장을 추출하였으며, 이때 미소조사구간의 크기는 $24 \times 24\text{pixels}$ 이고, 50% 중첩하였다. 연속적으로 얻어진 1000장의 순간속도장을 평균하여 평균속도장과 와도장을 구하였으며, 시간에 따라 얻어진 속도성분을 바탕으로 동맥 분지관에서의 맥동주파수를 구하기 위해 FFT 분석도 수행하였다.

3. 결과 및 고찰

Fig. 3은 유정관 태아 외부혈관이 단계적으로 분기되는 동맥 분지관의 실제 형상과 각 분지관에서의 평균속도장 및 와도분포를 보여주고 있다. 각각의 속도장은 관측영역에 보이는 분지관을 흐르는 유동에 대한 속도정보를 잘 보여주고 있으며, 속도벡터는 혈관을 따라 부드럽게 분포하고 있다. 일반적으로 동맥 분지관에서는 혈관 벽면에 작용하는 전단응력의 큰 변화를 수반하는 유동박리 혹은 2차유동 등의 비정상적인 유동이 발생한다고 알려져 있으나⁽²⁾, 본 연구에서는 이러한 비정상적인 유동이 관찰되지 않고 유선이 깨끗이 흘러가며 부드럽게 분기되는 것을 볼 수 있다. 이것은 혈구를 포함하고 있는 혈액이 낮은 레이놀즈 수(Re)에서 보여주는 비뉴턴 유체(non-Newtonian fluid)의 유동특성과 점성의 영향에 기인한 것으로 판단되어진다. 하지만 평균속도장에 표시된 scale bar의 크기를 통해 알 수 있듯이 혈관이 분기됨에 따라 평균속도는 크게 감소하는데, 이는 혈관이 분기되면서 전체 혈관의 단면적의 합은 더 증가하기 때문이다.

Fig. 3의 와도분포를 살펴보면 혈관 벽면근처에

서 높은 와도값을 가지며, 특히 혈관의 굴곡이 크게 변화하는 부분의 inner curvature에서 보다 큰 와도값이 관찰된다. 이것은 벽면 근처나 굴곡이 있는 부분에서 유동이 지니는 큰 속도구배가 와도에 지배적인 영향을 미치기 때문이다. 그러나 혈관이 분기됨에 따라 와도값이 크게 감소하게 되는데, 이는 속도장 결과에서 보여진 바와 같이 평균속도의 감소로 인해 공간에 따른 속도구배의 크기 역시 감소하기 때문인 것으로 생각되어진다.

Fig. 4는 동맥 분지관에서 시간에 따라 변화하는 혈액의 속도분포를 고속의 CMOS 카메라를 이용한 dynamic PIV 기법(250samples/sec.)으로 측정 한 후, Fig. 3에 표시된 혈관 중심부의 U -velocity 성분을 추출하여 얻은 시간에 따라 변화하는 무차원 속도신호(Fig. 4(a))와 이를 FFT 분석한 결과(Fig. 4(b))를 보여주고 있다.

Fig. 4(a)는 심장 박동에 따라 주기적으로 변화하는 동맥에서의 맥동유동 특성을 잘 보여주고 있으며, 무차원 속도성분($U/U_{c,mean}$)이 0보다 작은 값을 가지는 역류현상도 보여주고 있다. 무차원 속도성분의 크기는 혈관이 분기됨에 따라 점차 증가하였다. 이것은 Fig. 3에서 언급된 바와 같이 순간속도의 감소에 비해 평균속도의 감소가 훨씬 크기 때문에 나타나는 현상이라고 생각되어진다. Fig. 4(b)에 보이는 바와 같이 맥동주파수 역시 혈관이 분기됨에 따라 감소하는 경향을 보여주고 있다. 이러한 맥동주파수의 변화는 혈관벽의 compliance, 혈액 속에 포함된 다양한 혈구, non-Newtonian 유체의 점성, 분지관의 형태 및 직경 등의 요인에 기인한 것으로 판단되어지며, 맥동주파수가 감소할수록 그 영향은 보다 증가할 것으로 예측된다⁽²⁾. 또한 맥동주파수에 해당하는 속도성분의 무차원 변동량($u'/U_{c,mean}$) 역시 평균속도의 감소에 따라 점차 증가하고 있다.

4. 결론

본 연구에서는 동맥의 분지관에서 시간에 따라 변화하는 맥동유동 특성을 분석하기 위해 높은 시

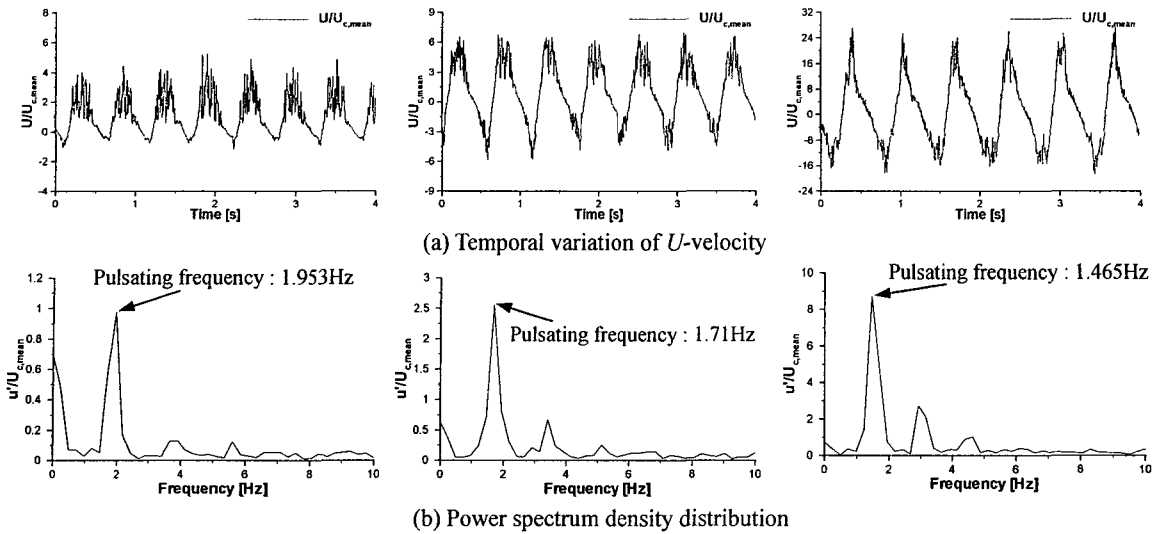


Fig. 4 Temporal variation of U -velocity (a) extracted at the central location of vessel and its power spectrum density distribution (b) at each bifurcation cascade.

간분해능을 가지는 *in-vivo* micro-PIV 속도장 측정 기법을 이용하여 유정란 태아 내부 유동의 정량적인 속도정보를 획득하였다. 낮은 레이놀즈 수(Re)의 비뉴턴 유체의 유동특성과 점성의 영향에 기인하여 분지관에서는 유동박리나 2차유동의 발생 없이 분지관을 따라 유선이 깨끗이 흘러가며 부드럽게 분기되는 것을 관찰할 수 있었다. 반면 근처나 혈관의 굴곡이 크게 변화하는 부분과 같이 위치에 따른 속도구배가 큰 곳에서는 높은 와도값을 가지는 것으로 나타났다. 또한 동맥의 경우 심장 박동에 따라 주기적으로 변화하는 맥동 특성에 기인하여 속도 값이 0보다 작은 역류현상도 관찰되었다. 하지만 혈관이 분기됨에 따라 평균속도 및 와도는 크게 감소하며, 맥동주파수 역시 감소하는 경향을 보여주었다. 이를 통해 동맥 분지관의 혈액유동 특성은 혈관 및 혈액이 가지고 있는 다양한 특징에 따라 변화함을 알 수 있다.

후 기

본 연구는 과기부(과학재단)에서 지원한 특정기초연구(R01-2004-000-10500-0)와 시스템 바이오다이나믹스 국가핵심연구센터의 지원으로 수행되었으며, 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- 1) Malek, A. M., Alper, S. L. and Izumo, S., 1999, "Hemodynamic Shear Stress and Its Role in Atherosclerosis," *J. American Medical Association*, Vol.282(21), pp.2035~2042.
- 2) Ku, D. N., 1997, "Blood Flow in Arteries," *Annu. Rev. Fluid Mech.*, Vol.29, pp.399-434.
- 3) Wootton, D. M. and Ku, D. N., 1999, "Fluid Mechanics of Vascular System, Diseases, and Thrombosis," *Annu. Rev. Biomed. Eng.*, Vol.01, pp.199~329.

- 4) Popel, A. S. and Johnson, P. C., 2005, "Microcirculation and Hemorheology," *Annu. Rev. Fluid Mech.*, Vol.37, pp.43~69.
- 5) Zarins, C. K., Zatina, M. A., Giddens, D. P., Ku, K. D. and Glagov, S., 1987, "Shear Stress Regulation of Artery Lumen Diameter in Experimental Atherosclerosis," *J. Vasc. Surg.*, Vol.5, pp.413~420.
- 6) Yang, W. J., 1989, *Biothermal Fluid Science, Principles and Applications*, Hemisphere, New York.
- 7) Jou, L. D., van Tyen, R., Berger, S. A. and Saloner, D., 1996, "Calculation of the Magnetization Distribution for Fluid Flow in Curved Vessels," *Magn. Reson. Med.*, Vol.35, pp.577~584.
- 8) Hove, J. R., Köster, R. W., Forouhar, A. S., Acevedo-Bolton, G., Fraser, S. E. and Gharib, M., 2003, "Intracardiac Fluid Forces Are an Essential Epigenetic Factor for Embryonic Cardiogenesis," *Nature*, Vol.421, pp.172~177.
- 9) Sugii, Y., Nishio, S., and Okamoto, K., 2002, "Measurement of a Velocity Field in Microvessels Using a High Resolution PIV Technique," *Annals of The New York Academy of Sciences*, Vol.972, pp.331~336.
- 10) Vennemann, P., Kiger, K. T., Lindken, R., Groenendijk, B. W., Stekelenburg-de Vos, S., ten Hagen, T. M., Ursem, N. C., Poelmann, R., Westerweel, J., and Hierck, B., 2006, "In Vivo Micro Particle Image Velocimetry Measurements of Blood-plasma in the Embryonic Avian Heart," *Journal of Biomechanics*, Vol.39, pp.1191~1200.
- 11) Hogers, B., DeRuiter, M. C., Gittenberger-de Groot, A. C., and Poelmann, R. E., 1999, "Extraembryonic Venous Obstructions Lead to Cardiovascular Malformations and Can Be Embryo-lethal," *Cardiovascular Research*, Vol.41, pp.87~99.
- 12) Hamburger, V. and Hamilton, H., 1951, "A Series of Normal Stages in the Development of the Chick Embryo," *J. Morphology*, Vol. 88, pp. 49~92.
- 13) Hu, N. and Clark, E. B., 1989, "Hemodynamics of the Stage 12 to Stage 29 Chick Embryo," *Circ. Res.*, Vol.65, pp.1665~1670.