

## 유정란 태아외부혈관 내부 혈액유동에 대한 혈류역학적 연구

이정엽\* · 이상준\*\*

### Hemodynamic Analysis of Blood Flows in the Extraembryonic Blood Vessels of Chicken Embryos

Jung Yeop Lee\* and Sang Joon Lee\*\*

**Keywords :** Extraembryonic blood vessel(태아외부혈관), Blood flow(혈액유동), Micro-PIV(마이크로 입자영상유속계), Pulsatile flow(맥동유동), Hemodynamics(혈류역학)

#### Abstract

Analyzing the characteristics of blood flow in the blood vessels is very important to diagnose the circulatory diseases. In order to investigate the hemodynamic characteristics *in vivo*, the measurements of blood flows inside the extraembryonic arterial and venous blood vessels of chicken embryos were carried out using an *in vivo* micro-PIV technique. The circulatory diseases are closely related with the formation of abnormal hemodynamic shear stress regions, thereby it is important to get blood velocity and vessel's morphological information according to the vessel configuration and the flow conditions. In this study, the flow images of RBCs in blood vessels were obtained using a high-speed CMOS camera with a spatial resolution of approximately  $14.6\mu\text{m}\times 14.6\mu\text{m}$  in the whole circulation network of blood vessels. The blood flows in the veins and arteries show steady laminar and unsteady pulsatile flow characteristics, respectively. The mean blood flows merged (in veins) and bifurcated (in arteries) smoothly into the main blood vessel and branches, respectively, without any flow separation or secondary flow which accompanying large variation of shear stress. Vorticity was high in the inner regions for both types of vessels, where the radius of curvature varied greatly. The instantaneous flows in the arterial blood vessels showed noticeable pulsatility due to the heart beat, and the main features of the velocity waveforms, including pulsatile shape, retrograde flow, mean velocity, maximum velocity and pulsatile frequency, were significantly dependent on the pulsatile condition which dominates the arterial blood flow. In near future, these *in vivo* experimental results of blood flow measured in various extraembryonic blood vessels would be very useful to understand the hemodynamic characteristics of human blood flows and various blood flow researches for clinically useful hemodynamic discoveries as well.

#### 1. 서론

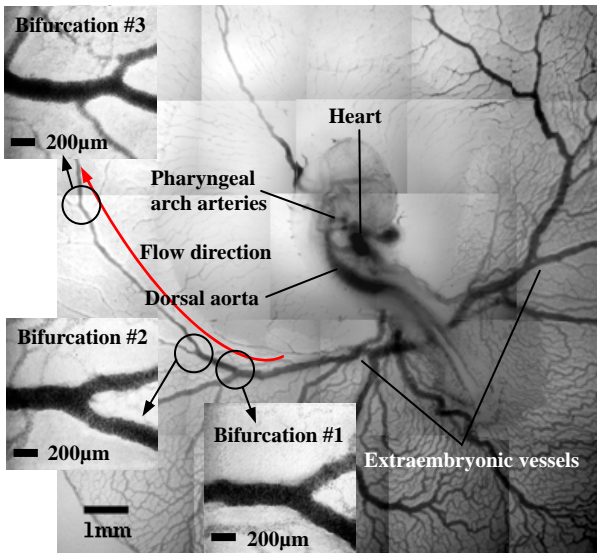
산소와 영양분을 충분히 함유하고 있는 신선한 피는 심장으로부터 동맥(artery)을 거쳐 모세혈관(capillary)을 지나면서 신체 말단까지 산소와 영양분을 공급하게 되고, 정맥(vein)을 통해 다시 심장으로 돌아오게 된다. 이러한 순환계 시스템은 주어진 유동조건에 따라 혈관 확장 및 수축을 통해서 혈류량과 압력을 조절하는 중요한 역할을 한다. 하지만 최근 중요 동맥 및 동맥 분지관(arterial bifurcation)에서의 비정상적인(abnormal) 유동조건 즉, 유동박리(flow separation) 혹은 2차유동(secondary 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 유동조건에 따라 변하게 되고, 이는 내피세포의 형상변화에 영향을 주어 혈관의 생성과 병리학적 관점에서 동맥경화 및 혈관의 협착 등에 큰 영향을 미친다는 것이 밝혀졌다[1]. 이와 같이 현재 사망률 1위를 차지하는 순환기 질환과 관련한 혈류역학의 중요성으로

인해 많은 review 논문[2~4]들이 발표되고 있으며, 다양한 관점에서의 연구에 대한 필요성이 점차 증가하고 있다. 이를 위해 혈액 유동에 대한 정량적인 측정 및 분석이 무엇보다 절실히 필요하게 되었다.

Zarins[5] 등은 동맥 분지관에서의 유동특성을 실험적으로 분석하여 분지관 외벽에 유동박리 및 2차유동이 발생하고 이에 따라 전단응력의 변화와 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 심장주위 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. Vennemann[9] 등은 micro-PIV 시스템을 이용하여 유정란에서 발생한 태아의 심장 내부유동을 측정하여 심장 박동 주기에 따른 유동변화를 관찰하였다. 또한 임상적 판단을 유용하게 하기 위해 동맥류를 가시화하고, 혈관질환에 대한 정량적 정보를 얻기 위해 다양한 동맥류 측정기법도 제시되었다[10].

\* 포항공과대학교 대학원, federex@postech.ac.kr

\*\* 포항공과대학교 기계공학과, sjlee@postech.ac.kr



**Fig. 1** HH-stage 18 chicken embryo sample after approximately 72 hours of incubation.

본 연구에서는 순환기질환의 발생기전을 이해하는데 기초가 되는 다양한 혈류역학적 유동 정보를 얻기 위해 유정란에서 발생된 태아의 외부혈관(extraembryonic blood vessel)을 생체 시료로 이용하여 비정상 맥동(unsteady pulsatile) 유동특성을 보이는 동맥 분지관(arterial bifurcation cascade) 및 정상상태의 유동장이 형성되는 정맥 내부의 혈액유동을 *in vivo* 상태에서 가시화 하고, 분석 하였다.

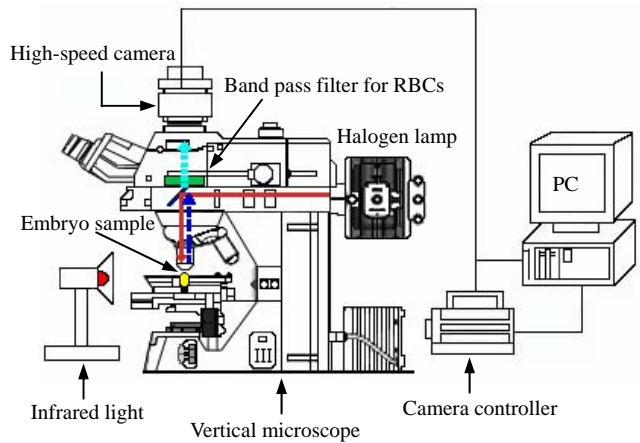
본 연구에서와 같이 시간에 따라 변화하는 비정상 맥동성 유동의 특성을 분석하기 위해서는 높은 시간분해능을 가지는 측정기법이 요구된다. 따라서 고속의 CMOS 카메라를 이용한 dynamic PIV 측정기법과, 혈액중의 적혈구를 추적입자로 사용하는 *in vivo* micro-PIV 혈류유동 계측기법을 접목하여 동맥 분지관에서의 맥동류(pulsatile flow)에 대한 정량적 유동정보를 획득하고, 주파수 분석을 통해 분지 단계에 따른 맥동특성의 변화를 관찰하고자 하였다. 또한 복잡한 정맥 network 에서의 혈액유동을 높은 공간분해능으로 측정하여 본 연구에서 구축한 *in vivo* micro-PIV 시스템의 성능과 유용성을 확인하였다.

## 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[11]이 분류한 유정란의 발달단계(developing stage)에 따르면 72시간의 배양은 발달단계 18(HH-stage 18)에 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 접근이 용이하였다. 측정이 이



**Fig. 2** Schematic of a micro-PIV system for *in vivo* measurement of arterial and venous blood flows.

루어진 동맥 분지관 역시 Fig. 1에 나타나 있는데, 하나의 주혈관(main lumen)을 따라 단계적으로 분기되고 있다.

### 2.2 실험장치 및 방법

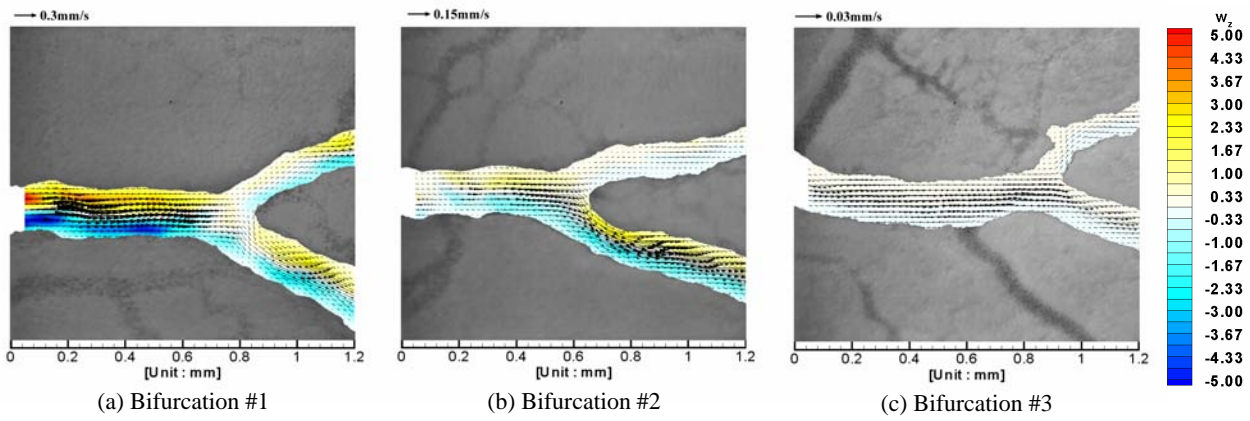
Fig. 2는 본 연구에서 사용된 micro-PIV 속도장측정시스템의 개략도를 나타내고 있다. 그림에서 보이는 바와 같이 micro-PIV 시스템은 현미경, CMOS 고속카메라, 할로겐 램프, 제어용 컴퓨터 등으로 이루어져 있다.

실험시 혈액속의 적혈구 입자영상을 1280×1024 픽셀 해상도로 초당 250 프레임씩 취득하였다. 이는 250samples/s의 샘플링에 해당하며, 유정란 태아의 심장의 맥동주파수( $\approx 2.43\text{Hz}$ ; Hu and Clack[12])보다 훨씬 높은 시간분해능으로 속도정보를 획득할 수 있었다. 그리고 연속광인 할로겐 램프를 광원으로 사용하였으며, 초당 획득되는 프레임 수를 제어함으로써 시간간격( $\Delta t$ )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 계산하였으며, 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 유정란 태아외부혈관의 단계적으로 분기되는 동맥 분지관의 실제 형상과 각 분지관에서의 평균속도장 및 와도분포를 보여주고 있다. 본 연구에서 사용된 측정기법은 혈액유동에 대한 정량적 속도장 뿐 아니라, 측정된 혈관의 기하학적 정보도 동시에 얻을 수 있으므로, 기하학적 형태에 따른 유동특성에 대한 상관관계를 연구하는데 많은 도움이 된다.

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



**Fig. 3** Mean velocity vector fields and vorticity contours at arterial bifurcations.

(Re)에서 보여주는 비뉴턴 유체(non-Newtonian fluid)의 유동특성과 점성의 영향에 기인한 것으로 판단되어진다. 하지만 평균속도장에 표시된 scale bar를 통해 알 수 있듯이 혈관이 분기됨에 따라 평균속도는 크게 감소하는데, 이와 같은 평균속도의 감소는 일정한 유량에 비해 혈관이 분기될수록 전체 혈관의 단면적의 합은 크게 증가하기 때문이다.

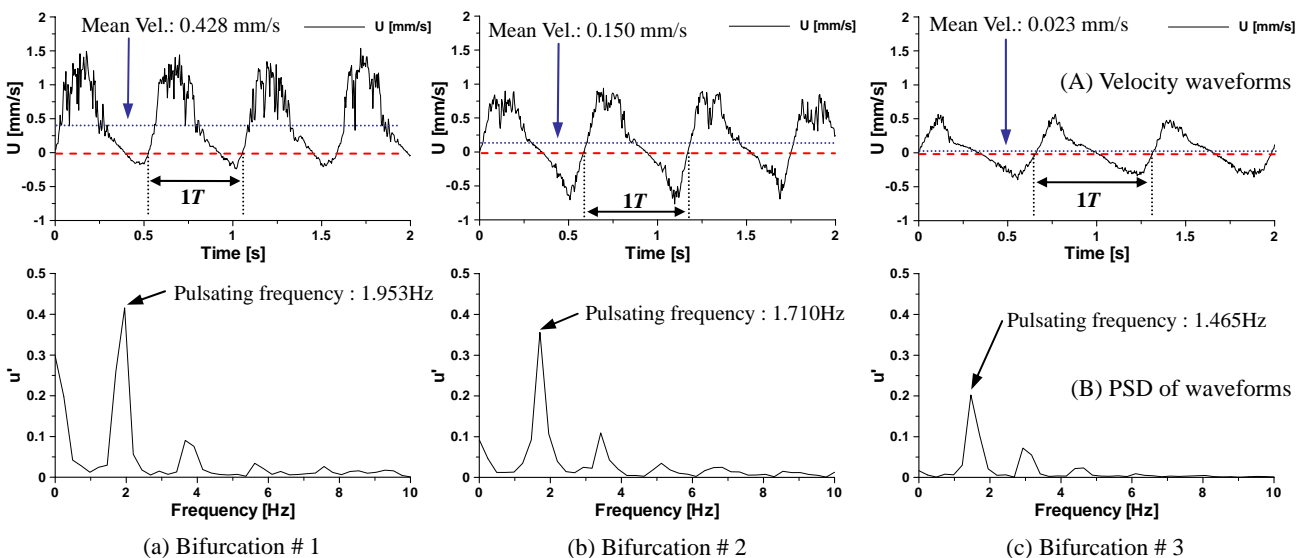
Fig. 3의 와도분포를 살펴보면 혈관 벽면근처에서 높은 와도값을 가지며, 특히 혈관의 굴곡이 크게 변화하는 부분의 inner curvature에서 보다 큰 와도값이 관찰된다. 이것은 벽면 근처나 굴곡이 있는 부분에서 유동이 지나는 큰 속도구배가 와도에 지배적인 영향을 미치기 때문이다. 그러나 혈관이 분기됨에 따라 와도값이 크게 감소하게 되는데, 이는 속도장 결과에서 보여진 바와 같이 평균유속의 감소로 인해 공간에 따른 속도구배의 크기 역시 감소하기 때문이다.

Fig. 4는 동맥 분지관에서 시간에 따라 변화하는 혈액의 속도분포를 고속의 CMOS 카메라를 이용한 dynamic PIV 기법(250samples/s)으로 측정된 후, Fig. 3에 보이는 혈관이 분기되기 직전 각각의 혈관 중심부에서  $U$ -velocity 성분을 추출하여 얻은 시간에 따라 변화하는 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,  $U$ -velocity 성분이 0보다 작은 값을 가지는 역류(retrograded flow)현상도 잘 나타나 있다. Velocity waveform의 진폭은 혈관이 분기됨에 따라 감소하며, 이에 따른 평균속도 역시 크게 감소하는 것을 알 수

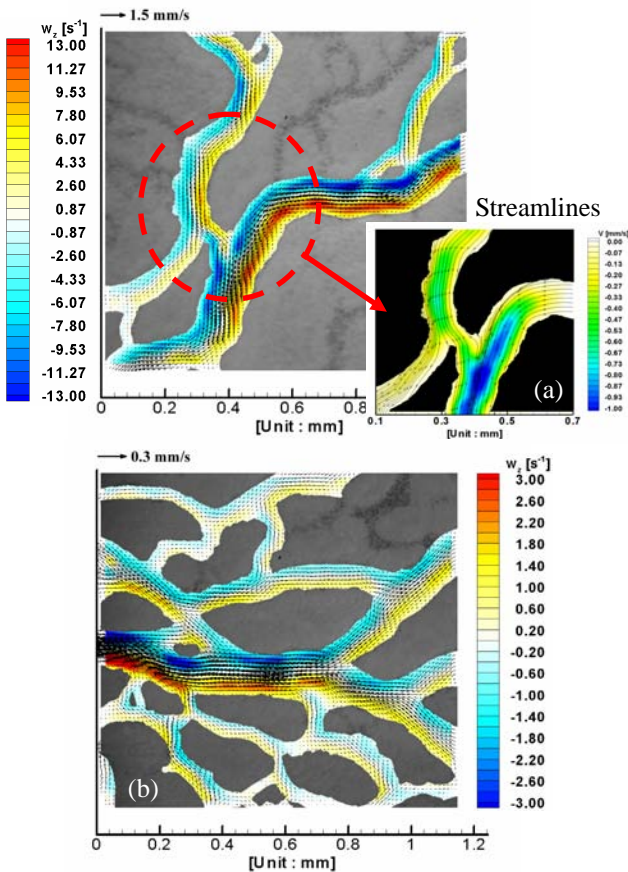
있다. 심장의 수축기동안 나타나는 velocity peak에서의 고주파수 변동성분은 혈관이 분기될수록 감소하며, waveform역시 점차 삼각과 형태로 변하게 되면서 역류가 나타나는 시간이 증가하게 된다. 이처럼 velocity waveform은 혈관의 분기에 따른 맥동류의 특성변화를 잘 나타내주며, 맥동성의 감소에 따른 유동특성도 잘 보여준다. 또한 Fig. 4(B)에 보이는 바와 같이 맥동주파수 역시 혈관이 분기됨에 따라 감소하는 경향을 보여주고 있다. 이러한 맥동주파수의 변화는 혈관벽의 compliance, 혈액 속에 포함된 다양한 혈구, non-Newtonian 유체의 점성, 분지관의 형태 등의 요인에 기인한 것으로 판단되어지며, 특히 분기에 의한 유동손실 및 전체 혈관의 단면적 변화에 따른 속도변화가 주요 원인이라고 생각되어진다. 이러한 결과를 통해 맥동주파수가 감소할수록 그 영향은 보다 증가할 것으로 예측된다[2]. 그리고 해당 맥동주파수에서의 속도성분의 변동량( $u'$ ) 역시 평균속도의 감소에 따라 점차 감소하고 있다. 이것은 Fig. 4(A)에 보이는 바와 같이 velocity waveform의 진폭이 감소하는 것에 기인한다. 즉, 맥동성의 감소를 보여주고 있는 것이다.

Fig. 5는 정맥을 흐르는 혈류유동의 평균속도장을 보여주고 있는데, 혈관 내부 속도벡터의 공간분포를 잘 나타내고 있다. 혈관이 합쳐지는 위치에서의 유동장을 보다 자세히 관찰하기 위해, 수직 방향 속도성분( $V$ )의 크기를 등고선(contour)으로 표시하고, 속도성분을 접선방향으로 이은 유선(streamline)을 나타내었다(Fig. 5(a)). Fig. 3에 보이는 동맥의 경우와 같이 정맥에서도 혈관이 합쳐지는 부분에서 상대적으로 높은 유속에도 불구하고 유동박리(flow separation)나 혈관의 막힘 현상 없이 유



**Fig. 4** Temporal variation of the velocity waveform and its PSD distribution at each arterial bifurcation.





**Fig. 5** Mean velocity fields and vorticity contours in the complicated venous blood vessel network.

선이 혈관을 따라 깨끗이 흘러가며 부드럽게 합쳐지는 현상을 볼 수 있다. 이것 역시 낮은 레이놀즈 수, 혈구를 포함하고 있는 비뉴턴 유체(non-Newtonian fluid)인 혈액의 유동특성과 점성의 영향에 기인한 것으로 생각되어진다. Fig. 5(b)는 복잡하게 연결되어 있는 정맥 network에서 측정된 평균 속도장 및 와도장을 보여주고 있다. 본 연구에서 사용한 측정기법의 높은 공간분해능으로 인해 미세한 혈관 내부의 유동정보도 자세히 얻을 수 있었으며, 이를 통해 *in vivo* micro-PIV 측정기법의 성능과 유용성을 확인할 수 있었다.

유정란에서 발생한 태아는 신진대사가 이루어지는 살아있는 생체이며 태아의부혈관을 흐르는 혈액은 내피세포가 존재하는 실제의 혈관을 따라 흐르므로, 본 연구를 통해 얻어지는 혈류유동의 정보는 인공적인 혈관이나 미세채널을 흐르는 혈류의 유동정보에 비해 보다 큰 의미를 가진다.

#### 4. 결론

본 연구에서는 동맥 분지관에서의 맥동유동 및 정맥에서 나타나는 정상유동의 유동특성을 분석하기 위해 높은 시간분해능을 가지는 *in vivo* micro-PIV 속도장 측정기법을 이용하여 유정란 태아의부혈관 내부 혈액유동의 정량적인 속도정보를 획득하였다. 본 속도장 측정기법은 정량적인 유동정보뿐 아니라, 측정된 혈관의 기하학적 정보를 동시에 제공하므로 혈관의 형태학적 특성에 따른 혈류의 유체역학적 특성변화를 쉽게 예측할 수 있었다. 동맥의 경우, 낮은 레이놀즈 수(Re)의 비뉴턴 유체의 유동특성과 점성의 영향에 기인하여 분지관에서 유동박리나 2차유동의 발생 없이 분지관을 따라 유선이 깨끗이 흘러가며 부드럽게 분기되는 것을 관찰할 수 있었다. 하지만 심

장 박동에 따라 주기적으로 변화하는 맥동 특성에 기인하여 속도 값이 0보다 작은 역류현상도 관찰되었다. 그리고 혈관이 분기됨에 따라 평균속도 및 와도는 크게 감소하였으며, 맥동 주파수 역시 감소하는 경향을 보여주었다. 정맥 역시 낮은 레이놀즈 수에 기인하여 혈관의 형태나 복잡성에 관계없이 속도 벡터가 모든 영역에서 부드럽게 분포하였으며, 높은 공간분해능으로 인해 미세한 혈관에서도 높은 신뢰도로 혈액유동에 대한 정량적인 정보를 얻을 수 있음을 확인할 수 있었다. 향후 이러한 측정기법을 통해 *in vivo* 상태에서의 순환기질환 발생 기전 규명 및 혈액유동 database 구축에 대한 임상응용으로의 사용 가능성을 기대할 수 있었다.

#### 후 기

이 논문은 과기부(과학재단)에서 지원한 시스템바이오다이어나 믹스연구센터의 연구 결과물입니다(No. R15-2004-033-06002-0).

#### 참고문헌

- [1] Malek, A. M., Alper, S. L. and Izumo, S., "Hemodynamic Shear Stress and Its Role in Atherosclerosis," J. American Medical Association, Vol. 282 (1999), pp. 2035-2042.
- [2] Ku, D. N., "Blood Flow in Arteries," Annu. Rev. Fluid Mech., Vol. 29 (1997), pp. 399-434.
- [3] Wootton, D. M. and Ku, D. N., "Fluid Mechanics of Vascular System, Diseases, and Thrombosis," Annu. Rev. Biomed. Eng., Vol. 01 (1999), pp. 199-329.
- [4] Popel, A. S. and Johnson, P. C., "Microcirculation and Hemorheology," Annu. Rev. Fluid Mech., Vol. 37 (2005), pp. 43-69.
- [5] Zarins, C. K., Zatina, M. A., Giddens, D. P., Ku, K. D. and Glagov, S., "Shear Stress Regulation of Artery Lumen Diameter in Experimental Atherogenesis," J. Vasc. Surg., Vol. 5 (1987), pp. 413-420.
- [6] Yang, W. J., Biothermal Fluid Science, Principles and Applications, Hemisphere (1989), New York.
- [7] Jou, L. D., van Tyen, R., Berger, S. A. and Saloner, D., "Calculation of the Magnetization Distribution for Fluid Flow in Curved Vessels," Magn. Reson. Med., Vol. 35 (1996), pp. 577-584.
- [8] Hove, J. R., Köster, R. W., Forouhar, A. S., Acevedo-Bolton, G., Fraser, S. E. and Gharib, M., "Intracardiac Fluid Forces Are an Essential Epigenetic Factor for Embryonic Cardiogenesis," Nature, Vol. 421 (2003), pp. 172-177.
- [9] 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., "In Vivo Micro Particle Image Velocimetry Measurements of Blood-plasma in the Embryonic Avian Heart," Journal of Biomechanics, Vol. 39 (2006), pp. 1191-1200.
- [10] Semmlow, J. and Rahalkar, K., "Acoustic Detection of Coronary Artery Disease," Annu. Rev. Biomed. Eng., Vol. 9 (2007), pp. 449-469.
- [11] Hamburger, V. and Hamilton, H., "A Series of Normal Stages in the Development of the Chick Embryo," J. Morphology, Vol. 88 (1951), pp. 49-92.
- [12] Hu, N. and Clark, E. B., "Hemodynamics of the Stage 12 to Stage 29 Chick Embryo," Circ. Res., Vol. 65 (1989), pp. 1665-1670.