

고혈압 동물에서 혈압변동과 적혈구변형능의 상관성

고광호 · 이명걸 · 김낙두 · 조운성 · 권석윤 · 윤재순*

서울대학교 약학대학, *이화여자대학교 약학대학

(Received June 9, 1987)

Relationship between Blood Pressure Changes and Erythrocyte Deformability in Hypertensive Rats

Kwang Ho Ko, Myung Gull Lee, Nak Doo Kim, Yun Sung Chough,
Seok Yoon Kwon and Jae Soon Yun*

College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151 and

*College of Pharmacy, Ewha Womans University, Seoul 120, Korea

Abstract—In cardiovascular disease the flow adaptation of erythrocytes can be affected by reduced shear stresses and metabolic influences on red cell fluidity as a consequence of tissue hypoxia. In addition there are indications that risk factors of cardiovascular diseases are able to decrease the intrinsic red cell deformability. Erythrocyte deformability was studied by the filtration technique of Reid et al. to investigate the relationship between blood pressure changes and erythrocyte deformability. In this experiment normotensive rats, spontaneously and DOCA-salt treated hypertensive rats were used. Erythrocyte deformability was significantly reduced by blood pressure elevation in hypertensive rats but was not fully recovered by normalization of blood pressure after antihypertensive drug treatment. Therefore other factors than blood pressure may be involved in erythrocyte deformability reduction during blood pressure elevation.

적혈구는 정지상태에서는 직경 7.5 micron 정도의 biconcave disk 상태를 유지하고 있으나 모세혈관내 혈류에서는 혈관벽으로부터 간접적으로 힘을 받아 그 형태가 변화하게 된다. 이와 같이 적혈구가 외부로부터 힘을 받아 형태가 변화되는 성질을 적혈구의 변형능(erythrocyte deformability)이라 하며, 일반적으로 모세혈관을 비롯한 미소순환(microcirculation) 영역에서 혈액의 유동성을 결정하는 데 중요한 의의를 가지고 있다.¹⁻⁴⁾

적혈구의 변형능이 갖는 생리적인 역할이 보고되었고, 특히 Dormandy 등에 의해 말초순환장애와의 관련성이 알려졌다.^{6,7)} 아울러 흡연, 동맥경화, 당뇨병, 비만, 고노산혈증(hyperuricemia), 고지방혈증(hyperlipidemia)등 심장혈관계의 위험인자들에 대한 적혈구변형능의 관련성도

보고되었다.^{8,9)}

고혈압의 경우 혈관의 긴장도가 증가하게 되고 혈관의 긴장도 증가는 적혈구의 변형능에 악영향을 미칠 가능성이 보고되어 있으나 적혈구 변형능이 혈관의 긴장도와는 상관성이 없을 것이라는 주장도 있어서 고혈압현상과 적혈구 변형능의 상관관계에 대해서는 아직 분명하지 않은 점이 많이 있다.^{11,12)}

본 연구에서는 혈압변동의 척도로서 선천성 및 후천성 고혈압을 사용하여 혈압변동에 의한 혈관긴장도의 변화가 적혈구의 변형능에 미치는 영향을 알아보고자, 정상혈압, 선천성 및 후천성 고혈압상태인 흰쥐를 사용하여 각 경우의 적혈구의 변형능을 측정하고 혈압강하제등 혈압변동을 나타내는 약물투여시에 혈압변동과 적혈구의 변형능이 갖는 상관성을 알아보고자 하였다.

실험 방법

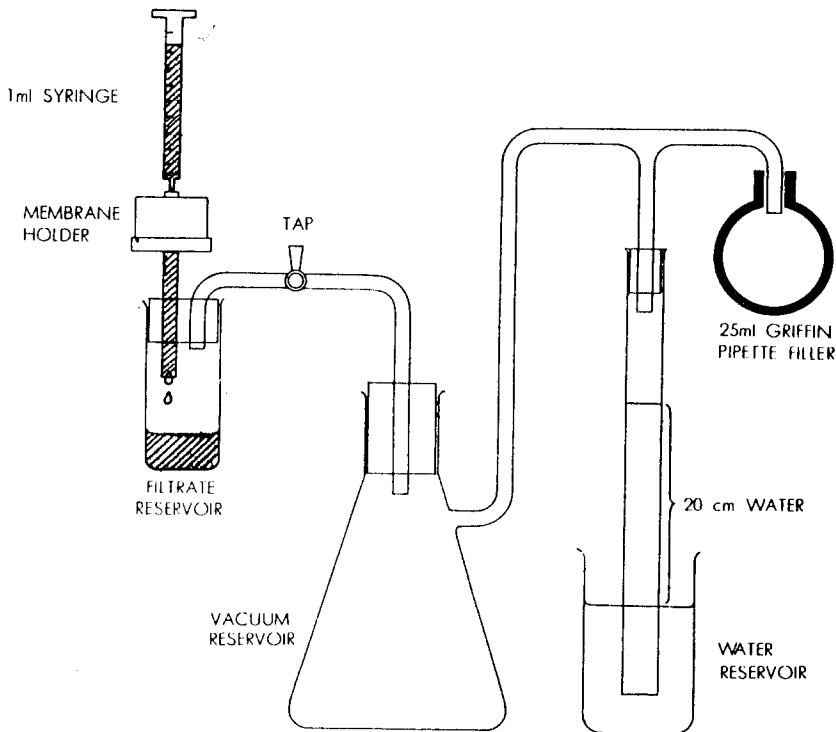
실험동물 및 시약—실험동물은 선천성 고혈압 쥐(SHR: spontaneously hypertensive rat)와 정상 혈압을 유지하는 쥐(WKY rat)를 대상으로 하였으며, 어느 경우나 생후 4~5주에 이유시킨 뒤 충분한 물과 사료로 사육시켰다. 시약은 투여약물로서 sodium chloride, pentoxifylline, clonidine, deoxycorticosterone acetate (DOCA)를 사용하였으며, 항응고제로서는 Na_2EDTA , 혈장단백으로는 bovine serum albumin을 사용하였다. 기타 pH를 조절하기 위한 시약들로서는 Tris, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , NaOH 등을 사용하였다.

고혈압 유발—선천성 고혈압쥐(SHR)의 경우는 생후 7주에서부터 자연적으로 나타나는 혈압 상승을 기준으로 하였으며, 후천성 고혈압쥐의 경우는 정상쥐(WKY rat)에게 cotton oil에 용해시킨 deoxycorticosterone acetate를 3일에 한번씩

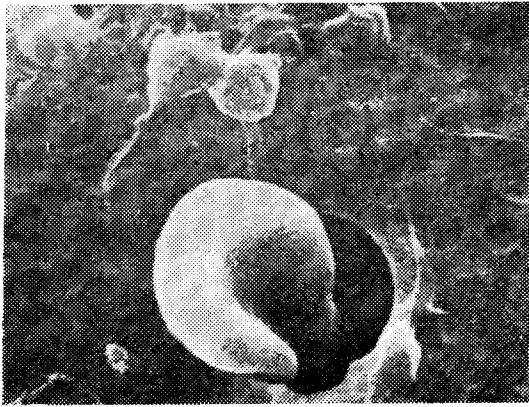
12.5mg/kg씩 피하주사로 투여하고 물대신 1% 소금물을 주어 유발시킨 고혈압을 기준으로 하였다.

혈압측정—실험동물을 혈압 측정전에 온도조절장치가 부착된 housing holder (Narco, Biosystem)에 40°C에서 10분간 고정시켜 꼬리정맥이 완전히 확장되게 한 후 Pfeffer¹³⁾ 등의 indirect tail-cuff법에 의해 혈압을 측정하였다. 그 방법 으로서는 Programmed Electrosphygmomanometer PE-300 (Narco, Biosystem)에 연결된 occlusion cuff를 통하여 일정압력을 걸어준 후 Korotkoff Sounds microphone으로 측정된 혈압을 physiograph (Narco Trace TM-80)에 기록하였으며, 이때 처음 맥박이 나타나는 점을 수축기혈압으로 하였다. 혈압은 각 동물당 5회 반복한 평균치를 채택하였다.

적혈구변형능의 측정—적혈구의 변형능 측정은 Reid⁵⁾등에 의한 "A simple method for measuring erythrocyte deformability"의 방법을 사용



A Schematic representation of the filtration apparatus.



Scanning electron microscopy: red cell (8μ diameter) passing through a filter (5μ diameter)

하였다. 혈액의 여과시에 사용한 nucleopore filter (pore diameter $5\mu\text{m}$, pore density $4 \times 10^5/\text{cm}^2$, thickness $13\mu\text{m}$, effective filtrative area 0.8cm^2)와 Filter holder는 General Electric회사 (Pleasantown California 94566, USA) 제품을 사용하였다.

유의성 검정—One tailed student t-test에 의하여 실험치 사이의 유의성 검정을 실시하였다. 그리고 모든 실험치들은 평균치 \pm 표준편차로 표시하였다.

실험디자인—혈압측정과 적혈구 변형능 측정은 생후 7주, 10주, 14주에서 선천성 및 후천성 고혈압쥐에서 실시하였으며, 약물투여 전후의 혈압측정과 적혈구 변형능 측정도 7주, 10주, 14주에서 실시하였다.

실험 결과

연령증가에 따른 혈압변화—정상쥐의 경우 연령증가에 따라 혈압상승은 거의 나타나지 않았다. 그러나 선천성 및 후천성 고혈압쥐에서는 연령증가에 따라 유의성 있게 혈압상승이 관찰되었다. 한편 선천성 및 후천성 고혈압쥐 사이의 혈압은 거의 차이가 없었다(Fig. 1).

연령증가에 따른 적혈구의 변형능 변화—정상쥐의 적혈구 변형능은 연령증가에 따라 다소 감소되는 경향을 나타내었으며, 이와 같은 경향은

선천성 및 후천성 고혈압쥐에서도 관찰되었다. 약물을 투여받지 않은 선천성 고혈압쥐와 후천성 고혈압쥐의 적혈구 변형능은 모두 정상쥐에 비해 유의성 있게 저하되었는데 특히 선천성 고혈압쥐에서 현저하였다(Fig. 2).

선천성 고혈압쥐에서 약물 투여 후의 혈압변화—선천성 고혈압쥐에 생리식염수, clonidine, pentoxifylline 등의 약물을 2주 동안 투여한 후 혈압변화를 관찰하였는데 생리식염수는 vehicle로 투여하였다. Clonidine 투여에 의해서는 7주, 10주, 14주에서 모두 유의성 있는 혈압강하를 나타내었으며, 적혈구 변형능 개선제인 pentoxifylline에 의해서는 유의성 있는 혈압강하를 나타내지 못하였다(Fig. 3).

선천성 고혈압쥐에서 약물투여 후의 적혈구 변형능 변화—선천성 고혈압쥐에 생리식염수, clonidine, pentoxifylline 등의 약물을 2주 동안 투여한 후 적혈구 변형능을 관찰하였다. Clonidine

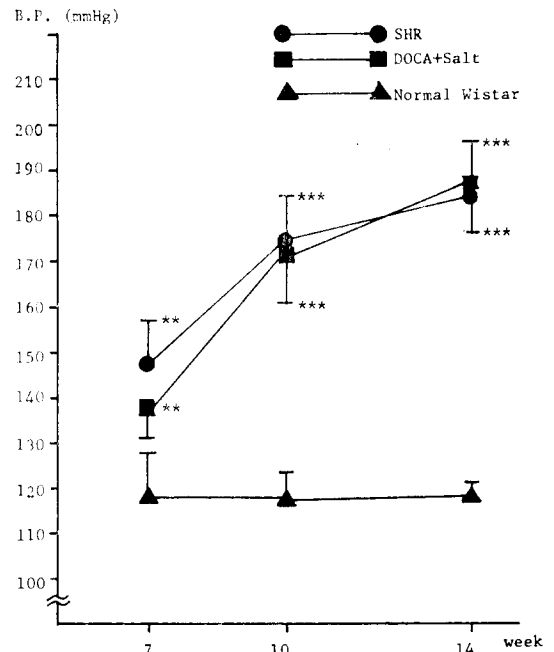


Fig. 1—Blood pressure of each group at 7, 10 and 14 weeks after birth. Each bar indicates Mean \pm SD from at least 5 animals. *, **, *** indicate significant differences from normal Wistar. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

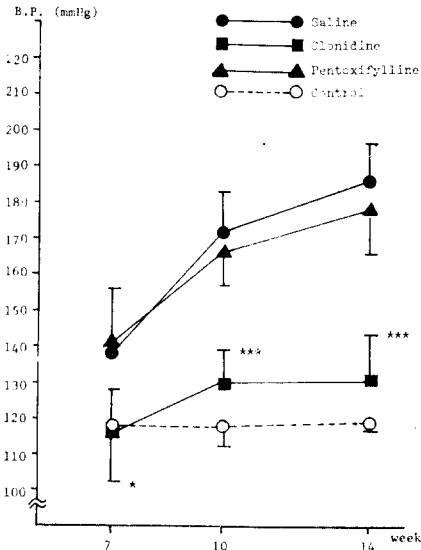


Fig. 2—Filtrability of each group at 7, 10, and 14 weeks after birth. Each bar indicates Mean±SD from at least 5 animals. *, **, *** indicate significant differences from normal Wistar. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

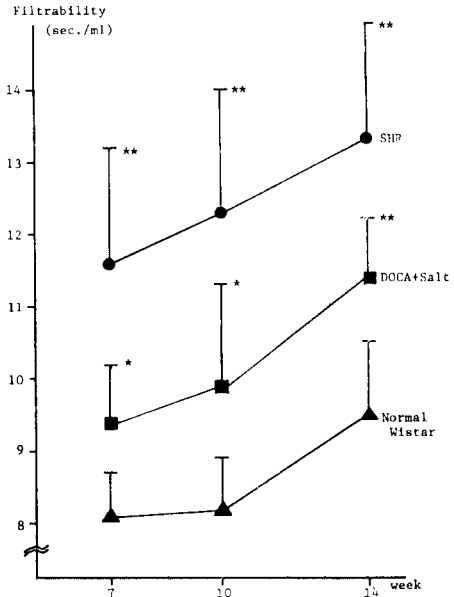


Fig. 3—Blood pressure variations of SHR after drug-treatment at 7, 10 and 14 weeks after birth. Each bar indicates Mean±SD from at least 5 animals. *, **, *** indicate significant differences from saline treated group. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

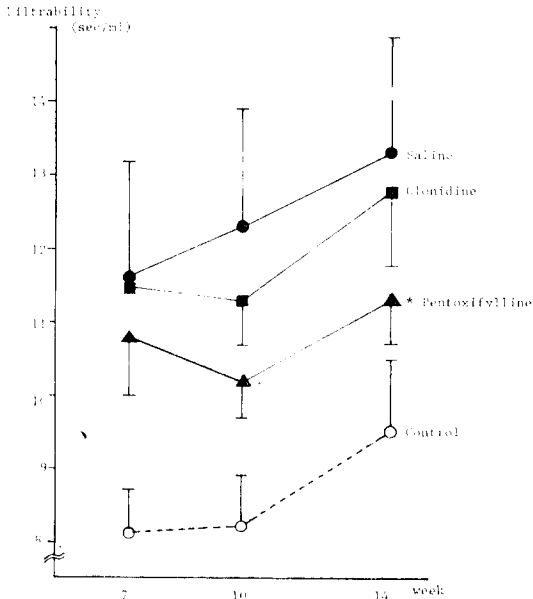


Fig. 4—Filtrability variations of SHR after drug-treatment at 7, 10 and 14 weeks after birth. Each bar indicates Mean±SD from at least 5 animals. *, **, *** indicate significant differences from saline treated group. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

투여군에서는 생리식염수(Vehicle) 투여군에 비해 약간 개선되었으나 유의성은 없었으며, pentoxifylline 투여군에서는 생리식염수 투여군보다 10주, 14주에서 유의성 있는 변형능 개선을 나타내었다. Clonidine와 pentoxifylline 투여군 중에서 예외적으로 생후 10주된 군에서 생후 7주된 군보다 적혈구 변형능이 개선되어 있는 것으로 나타났으나 통계적 유의성은 없었다(Fig. 4).

후천성 고혈압쥐에서 약물투여 후의 혈압 변화—후천성 고혈압쥐에서도 생리식염수, clonidine, pentoxifylline 등의 약물을 2주간 투여한 후 혈압변화를 관찰하였다. Clonidine을 투여한 경우에는 7주, 10주, 14주에서 모두 유의성 있는 혈압강하를 나타내었으며, 적혈구 변형능 개선제인 pentoxifylline을 투여한 경우에는 유의성 있는 혈압강하를 나타내지 못했다(Fig. 5).

후천성 고혈압쥐에서 약물투여후의 적혈구 변형능 변화—후천성 고혈압쥐에 생리식염수,

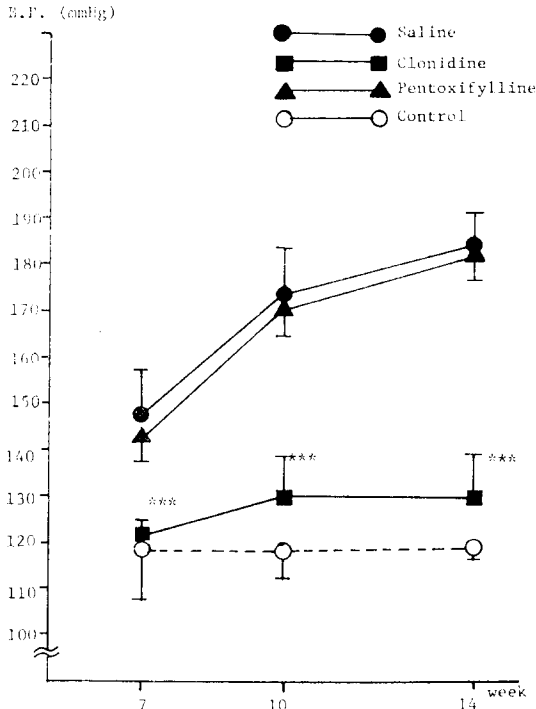


Fig. 5—Blood pressure variations of DOCA-salt rats after drug-treatment at 7, 10 and 14 weeks after birth. Each bar indicates Mean±SD from at least 5 animals. *, **, *** indicate significant differences from saline treated group. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

clonidine, pentoxifylline 등의 약물을 2주간 투여한 후의 적혈구 변형능은 혈압강화제인 clonidine 투여군에서는 생리식염수 투여군에 비해 약간 개선되었으나 유의성은 없었다. 적혈구 변형능 개선제인 pentoxifylline을 투여한 군에서는 생리식염수 투여군보다 적혈구 변형능이 많이 개선되었으나 7주, 14주에서만 유의성이 있었고 10주에서는 유의성이 없었다(Fig. 6).

고 찰

본 실험의 결과는 혈압이 상승됨에 따라 선천성 고혈압쥐(SHR)나 후천성 고혈압쥐(DOCA-Salt rat) 모두에서 적혈구의 변형능이 저하됨을 나타내고 있다. 이것은 혈압상승과 적혈구의 변형능 저하와의 상관성이 있을 수 있다는 것을

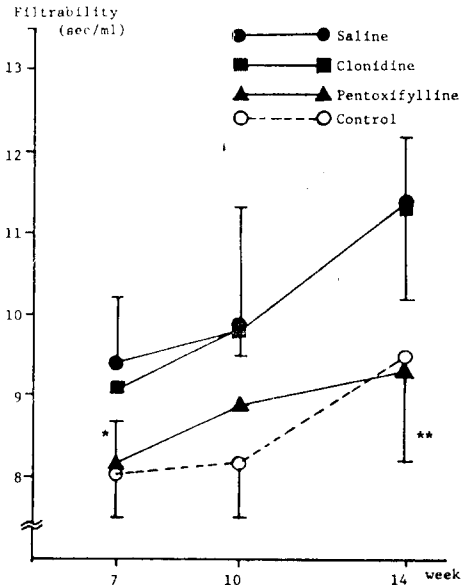


Fig. 6—Filtrability variations of DOCA-salt rat after drug-treatment at 7, 10 and 14 weeks after birth. Each bar indicates Mean±SD from at least 5 animals. *, **, *** indicate significant differences from saline treated group. (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$)

시사하고 있으며, 이러한 결과는 Lagrue¹¹⁾ 등의 인체에 대한 실험 결과와도 일치한다. 동일한 동물들에서 상승된 혈압이 clonidine을 투여하여 유의성 있게 저하되었을 때 적혈구 변형능은 유의성 있는 증가를 나타내지 않았다. 이 사실은 고혈압에서 정상 혈압 상태로 변화하는 현상이 적혈구 변형능의 개선과 상관성이 없음을 시사한다고 해석할 수도 있다. 그리고 동물에서 나타나는 고혈압 현상이 적혈구 변형능의 감소와 연관성을 나타낸 사실과 약물투여에 의해 고혈압이 정상혈압으로 회복될 때 적혈구 변형능의 감소가 정상으로 회복되지 않은 사실은 상호 모순된 해석을 가능하게 한다. 이러한 모순은 다음의 이유들에 기인할 가능성이 있다. 적혈구 변형능은 한가지 특정 요인에 의해 결정되는 것이 아니라 여러가지 요인들의 평형에 의해 정해진다는 사실이다.⁵⁾ 즉 적혈구의 표면적/용적비율, 내용물의 유동성, 세포내 대사, 헤모글로빈 농도 등의 내인성 요인과 혈액의 pH, 삼투압,

산소분압 및 세포내 유리지방산의 농도등의 외인성 요인들이 적혈구의 변형능에 영향을 미치며, 이 요인들의 영향은 가역적인 것으로 알려져 있다.^{14,15)} 또 한가지는 적혈구 변형능 측정방법의 다양성이다. 본 실험에서는 Reid 등이 고안한 whole blood filtration 방법을 사용하였는바 이때 혈액의 여과시간을 결정하는 요인은 적혈구 변형능이 주된 것이나 그외에 fibrinogen, polymorphonuclears, cholesterol 등이 부수적인 영향을 미칠 가능성도 있다.⁶⁾ 이 문제점은 low hematocrit, washed red cell 사용 및 자체 혈장액에의 혈탁 등의 조건을 검색하여 그 관련성 여부를 결정해야 하므로 후속실험이 추가되어야 할 필요성이 있다. 이상의 해석상의 어려움에도 불구하고 본 실험의 결과에서 추측할 수 있는 것은 첫째, 적혈구의 변형능 저하는 고혈압 유발요인일 가능성이 있거나 또는 고혈압 현상에 의해 결과적으로 발생한 현상일 수 있다. 둘째, 고혈압에서 정상혈압 상태로의 변화현상이 적혈구 변형능과 상관성이 없다는 점을 완전히 증명할 수는 없으나 적어도 clonidine에 의한 고혈압 치료 효과는 적혈구 변형능의 증가에 기인하는 것은 아님을 나타낸다. 따라서 선천성 및 후천성 고혈압 동물의 경우 혈압상승시에 나타나는 적혈구 변형능의 저하는 혈압상승 이외의 다른 요인이 개재되어 있다고 생각해 볼 수 있음을 의미한다 하겠다.

결 론

선천성 및 후천성 고혈압쥐에서 고혈압 상태와 정상혈압 상태를 유도하여 적혈구 변형능을 측정하여 다음의 결과를 얻었다.

1) 선천성 및 후천성 고혈압쥐에서 혈압상승에 따라 적혈구의 변형능은 저하되었으며, 이러한 상관성은 선천성 고혈압쥐에서 후천성 고혈압쥐보다 유의성 있었다.

2) 선천성 고혈압쥐에서 혈압강하제인 Clonidine을 투여한 경우에 혈압은 유의성 있게 감소되었으나 적혈구 변형능의 개선은 나타나지 않았다.

3) 후천성 고혈압쥐에서도 혈압강하제인 Clonidine을 투여하여 혈압은 유의성 있게 감소되었으나 적혈구 변형능 개선은 나타나지 않았다.

4) 위의 사실들은 고혈압 동물의 경우 혈압상승에 따르는 적혈구 변형능의 저하에는 혈압 이외의 다른 요인이 개재할 가능성을 시사한다.

본 연구는 부분적으로 한국과학재단 및 서울대학교 약학대학 부설 종합약학연구소의 연구비 지원에 의해 수행되었다.

문 헌

- 1) Bagge, U., Braenemark, P., Karlson, R. and Skalak, R.: Three dimensional observations of red blood cell deformation in capillaries. *Blood Cells* 6, 231 (1980).
- 2) Faehraeus, R. and Lindquist, T.: The viscosity of blood in narrow capillary tubes. *Am. J. Physiol.* 96, 562 (1981).
- 3) Gaehtgens, P.: Flow of blood through narrow capillaries; Rheological mechanisms determining capillary hematocrit and apparent viscosity. *Biorheology* 17, 183 (1980).
- 4) Schmid-Schonbein, H. and Wells, R.: Fluid drop-like transmission of erythrocytes under shear. *Science* 165, 288 (1969).
- 5) Reid, H.L., Barnes, A.J., Lock, P.J., Dormandy, J.A. and Dormandy, T.L.: A simple method for measuring erythrocyte deformability. *J. Clin. Path.* 29, 855 (1976).
- 6) Dormandy, J.A., Hoare, E., Colley, J., Arrowsmith D.E. and Dormandy, T.L.: Clinical, haemodynamic, rheological, and biochemical findings in 126 patients with intermittent claudication. *Brit. Med. J.* iv, 576 (1973).
- 7) Dormandy, J.A., Hoare, E., Dhatab, A.H., Arrowsmith, D.E. and Dormandy, T.L.: Prognostic significance of rheological and biochemical findings in patients with intermittent claudication, *Brit. Med. J.* iv, 581 (1973).
- 8) Ehrly, A.M.: Rheologically induced impairment of the vascular microcirculation: A new pathophysiological concept of intermittent claudication.

- In: IXth Int. Congr. Angiology. Florence 1, 410 (1974).
- 9) Ehrly, A.M. and Köhler H.J.: Altered deformability of erythrocytes from patients with chronic occlusive arterial disease. *Vasa* 5, 319 (1976).
 - 10) Reid, H.L., Dormandy, J.A., Barnes, A.J., Lock, P.J. and Dormandy, T.L.: Impaired red cell deformability in peripheral vascular disease, *Lancet* i, 666 (1976).
 - 11) Lagrue, G., Marcel, G.A., Faucher, G., Gallais, M. and Branellec, A.: Deformabilite erythrocytaire: Influence du tabagisme et des facteurs de risque vasculaire. *Nouv. Presse Med.* 8, 4079 (1979).
 - 12) C. Isles, G.D.O. Lowe, M.M. Drummond, C.D. Forbes, A.C., Kennedy, and A.F. Lever: Blood rheology in malignant phase hypertension. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 41, Suppl. 156 (1981).
 - 13) Pfeffer, J.M., Pfeffer, M.A. and Frohlich, E.D.: Validity of an indirect tail-cuff method for determining systolic arterial pressure in unanesthetized normotensive and spontaneously hypertensive rats. *J. Lab. Clin. Med.* 78, 957, (1971).
 - 14) Schubotz, R. and Mühlfellner, O.: The effect of pentoxifylline on erythrocyte deformability and on phosphatide fatty acid distribution in the erythrocyte membrane. *Curr. Med. Res. Opin.* 4, 609 (1977).
 - 15) Stefanovich, V.: Effect of pentoxifylline on erythrocyte adenine nucleotide levels in rats. *Int. Res. Commun. Sci.* 26, 1882 1975.