

# Histamine에 의한 적혈구 취약성의 변화에 관한 연구

서울대학교 의과대학 생리학교실

안승운 · 김종수 · 김기곤 · 이순재

=Abstract=

## A Study on Osmotic Fragility of the Red Blood Cell in Histamine-treated Rabbit

Seung Woon Ahn, Joong Soo Kim, Ki Kon Kim and Soon Jai Lee

*Department of Physiology, College of Medicine, Seoul National University*

Adult rabbits were anesthetized with nembutal, 30 mg/kg. Carotid artery and jugular vein were exposed surgically and cannulated with polyethylene tubing. Arterial blood pressure was recorded via pressure transducer on the physiograph and 100 µg/ml of histamine solution was infused through the jugular vein by using the constant infusion pump with a rate of 0.92 ml/min or 1.40 ml/min.

Mean arterial blood pressure was maintained at 40~70 mmHg and hypotension was kept for 2 hours. After the termination of this period, blood was taken and osmotic fragility was measured immediately. Also, every sample of normal blood and shocked blood was incubated for 1 hour or 2 hours at 37°C in order to see whether or not there was some influence of incubation.

Furthermore to clarify which component was responsible for the change on the fragility, the mixtures of normal blood cells with shocked plasma and shocked blood cells with normal plasma were also incubated at 37°C for one or two hours and fragility in such cases was measured.

The data obtained were analysed by probit-plot method and the concentration of saline solution at which the hemolysis started to occur, 50% of blood cells were hemolysed and that at which the red blood cells hemolysed completely were determined. The values for the blood of hypotension stage were compared with those of the control blood.

The results obtained were as follows:

1. Osmotic fragility of red blood cell was increased in hypotensive state induced by histamine.
2. The differences of osmotic fragility after two hours of incubation were negligible both in normal blood and in that of hypotensive state.
3. Osmotic resistance of normal red blood cell incubated in shock plasma was less than that of shock red blood cell incubated in normal plasma. It was suggested that plasma in hypotensive state caused by histamine might be primarily responsible for the alteration of red blood cell fragility.

### 서 론

적혈구의 삼투적 취약성의 변화는 병적 상태의 적혈구에서 볼 수 있는 것으로 유전질환인 유전성 구형 적

혈구증(Selwyn & Dacie, 1954; Jacob & Jandl, 1964)

일때 용혈이 쉽게 일어나고, 적혈구막의 구성물질이나 적혈구 내용물의 변화에 의해 세포의 변형이 용이하여 용혈이 잘 일어난다고 한다(Weed, 1970).

실험동물에서 급성출혈로 속을 만들었을 때 적혈구

의 취약성이 커지든가(申 및 高, 1975), 동물에 화학을 입혔을 때 적혈구의 수명이 짧아진대거나(金, 1965) 또는 혈액에 기계적 손상을 주었을 때에도 취약성이 커진다는 보고가 있다(崔, 1965).

적혈구의 생체의실험에서 용혈에 영향을 주는 요인으로는 양이온에 대한 적혈구막의 투과성이 변화하거나(Selwyn & Dacie, 1954; Jacob & Jandl, 1964; Weed & Reed, 1966), 적혈구 용적에 대한 표면적의 비율이 감소하거나 세포외액의 삼투질농도와 수소이온 농도등 세포막의 성질을 변화시킬 수 있는 물질(-SH기 억제제, 독소) 등을 들 수 있겠다(Cronkite, 1973).

본 실험에서는 모세혈관의 투과성(Douglas, 1970)과 anaphylactic shock에서 중요한 역할을 하는(Rose & Weil, 1939) histamine을 일정한 속도로 토끼에 주입하여 저혈압을 일으켰을 때 적혈구의 취약성이 어떻게 변화할 것이며 만일 취약성에 변화가 있다면 그 원인이 적혈구의 변질에 있는 것인지 또는 혈장에 있는 지를 규명하는 것에 그 목적을 두었다.

## 실험 방법

### 저혈압 상태 :

체중 2 kg 이상의 성숙토끼에 nembutal 30 mg/kg을 귀정맥에 주사하여 마취한 후 경동맥과 경정맥을 박리하여 카놀을 삽입하고 heparin을 500 units/kg로 정맥주사하였다. 혈압은 경동맥에 삽입한 카놀을 통하여 pressure transducer(Narco Co.)에 연결하여 physiograph 상에 계속 기록하였으며 대조혈액을 채취한 후 경정맥을 통하여 생리적 식염수로 만든 100 µg/ml 농도의 histamine (Histamine diphosphate, Pfanstiehl Lab. Inc. 제품)을 constant infusion pump (Sage Model 341)를 이용하여 0.92 ml/min 또는 1.40 ml/min의 속도로 주입하여 평균동맥혈압이 50~70 mmHg 사이에 있도록 하였으며 이 상태를 2시간 동안 유지한 후 동맥혈을 채취하여 삼투적 취약성 검사에 사용하였다.

### 가검물 :

Histamine 주입으로 저혈압을 일으키기 전에 채혈한 정상동맥혈과 저혈압 상태에서 2시간 방치한 후에 채혈한 혈액에서 채혈 즉시 취약성 검사를 시행하였고 시간경과에 따르는 취약성의 변화를 관찰하고자 37°C 항온수조에 1시간 및 2시간을 보존한 후에 취약성 검사를 실시하여 서로 비교하였다.

한편 정상혈액과 저혈압상태에서 뽑은 혈액을 3000

r.p.m.에서 20분간 원심침전하여 혈장을 분리하였으며 분리된 적혈구는 생리적 식염수로 각각 2회 세척한 후 정상적혈구와 저혈압시의 혈장을, 또 저혈압시의 적혈구와 정상혈장을 각각 혼합하여 37°C 항온수조에서 1시간 및 2시간 동안 배양한 후 취약성 검사를 실시하였다.

### 취약성 검사 :

통상 사용하는 제단식 회석법을 이용하여 측정하였다. 0.52% 식염수용액에서부터 0.02% 간격으로 회석한 7개의 시험관을 준비하였으며 가장 농도가 낮은 것은 0.40% 식염수용액이었다. 각 시험관에 5 ml의 용액을 넣고 0.1 ml의 혈액을 첨가하여 가볍게 흔든 다음 20분간 방치한 후 spectrophotometer, 파장 625 mµ에서 optical density를 읽어서 용혈되지 않고 남아 있는 적혈구의 비율을 계산하였다.

### 분석방법 :

취약성 검사에서 산출한 용혈되지 않고 남아 있는 적혈구의 비율을 probit-plot법을 채택하여 분석하였다(Riggs, 1963). 즉 종축은 probability scale로 표시하고 횡축은 식염수농도를 대수척도로 표시된 용지에 점을 찍어서 직선을 얻은 후 이 그래프상에서 50% 용혈점을 구하고 용혈이 시작되는 농도 및 완전용혈이 일어나는 식염수 농도는 보외법(extrapolation)으로 추정할 수 있었다. 이때 용혈이 시작되는 농도는 직선이 잔존적혈구 비율이 99.9%인 선과 교차할 때 값을 택하였고 완전용혈점은 0.1%와 교차할 때의 농도로 표시하였다.

## 실험 성적

경정맥을 통하여 histamine 함유액을 주입하여 평균동맥혈압을 68 mmHg 정도로 내릴 수 있었으며 2시간 동안 유지할 수 있었다.

저혈압을 유발하기 전의 정상혈액과 저혈압상태에서 채혈한 혈액의 용혈시작 식염수 농도, 50% 용혈을 일으킨 농도와 완전용혈점을 제 1표에 표시하였다. 저혈압 상태에서 얻은 혈액의 삼투적 저항은 정상혈액보다 저하되어 있음을 보였고 혈액을 37°C에서 1시간 또는 2시간 동안 보존하여도 정상혈액과 저혈압시의 혈액에서 모두 취약성의 변화가 크지 않아 시험관에서 2시간 정도 방치하는 것은 적혈구의 삼투적 취약성 변화에 큰 영향을 주지 못함을 나타내었다.

저혈압 상태에서 2시간 지난 후에 채혈하여 분리한 혈장에 정상 적혈구를, 또 정상혈장에 저혈압 시의 혈

Table 1. Osmotic fragility of red blood cell of rabbit after histamine infusion. The concentration of hypotonic saline solution at which hemolysis started, 50% hemolysed and completely hemolysed were shown. Hypotension was brought by infusion of histamine solution.

Exp. No.	Hemolysis started						50% Hemolysis						Hemolysis Completed					
	control			Incubation at 37°C			control			Incubation at 37°C			control			Incubation at 37°C		
	Nor- mal Blood	Hypo- tensive Blood	Hypo- tensive Blood	1 Hr	Nor- mal Blood	Hypo- tensive Blood	Nor- mal Blood	Hypo- tensive Blood	Nor- mal Blood	Hypo- tensive Blood	Nor- mal Blood	Hypo- tensive Blood	Nor- mal Blood	Hypo- tensive Blood	Nor- mal Blood	Hypo- tensive Blood	Nor- mal Blood	Hypo- tensive Blood
			2 Hr						2 Hr						2 Hr			
1	0.525	0.575	0.530	0.635	0.520	0.610	0.415	0.440	0.410	0.460	0.415	0.470	0.325	0.325	0.310	0.330	0.315	0.370
2	0.525	0.550	0.520	0.550	0.520	0.530	0.410	0.455	0.415	0.465	0.430	0.455	0.325	0.370	0.330	0.390	0.350	0.390
3	0.550	0.580	0.540	0.560	0.540	0.580	0.430	0.450	0.430	0.460	0.440	0.460	0.340	0.350	0.340	0.375	0.330	0.365
4	0.550	0.545	0.535	0.560	0.545	0.540	0.470	0.460	0.440	0.455	0.435	0.450	0.365	0.385	0.360	0.375	0.350	0.380
5	0.575	0.580	0.540	0.600	0.580	0.535	0.455	0.460	0.465	0.470	0.460	0.470	0.360	0.375	0.340	0.370	0.305	0.375
6	0.565	0.555	0.550	0.580	0.570	0.595	0.480	0.480	0.470	0.480	0.480	0.490	0.380	0.395	0.380	0.375	0.370	0.370
7	0.535	0.560	0.530	0.560	0.530	0.540	0.455	0.480	0.450	0.470	0.455	0.460	0.360	0.390	0.355	0.385	0.365	0.365
8	0.555	0.565	0.540	0.540	0.555	0.545	0.435	0.445	0.435	0.445	0.455	0.460	0.340	0.375	0.345	0.365	0.370	0.390
9	0.560	0.565	0.535	0.540	0.545	0.535	0.435	0.450	0.435	0.450	0.440	0.460	0.330	0.380	0.355	0.375	0.360	0.390
10	0.545	0.560	0.530	0.540	0.540	0.550	0.460	0.495	0.455	0.465	0.460	0.470	0.380	0.370	0.395	0.400	0.390	0.400
11	0.540	0.580	0.570	0.580	0.570	0.595	0.435	0.480	0.470	0.480	0.470	0.470	0.355	0.395	0.375	0.395	0.370	0.370
12	0.530	0.535	0.530	0.540	0.560	0.560	0.460	0.480	0.460	0.475	0.470	0.485	0.400	0.420	0.375	0.420	0.400	0.425
Mean	0.546	0.565	0.540	0.565	0.547	0.563	0.445	0.464	0.444	0.464	0.456	0.466	0.355	0.377	0.355	0.379	0.356	0.382

**Table 2. Concentration of saline solution at which 50% of red blood cells were hemolysed when mixtures were incubated at 37°C for 1 hour or 2 hours.**

Exp.No.	Normal RBC with Hypotensive Plasma		Hypotensive RBC with Normal Plasma	
	1 Hr	2 Hr	1 Hr	2 Hr
1	0.435	0.465	0.405	0.415
2	0.430	0.440	0.400	0.430
3	0.450	0.455	0.450	0.440
4	0.460	0.480	0.450	0.470
5	0.465	0.485	0.470	0.470
6	0.440	0.500	0.470	0.465
7	0.470	0.470	0.460	0.460
8	0.460	0.485	0.450	0.445
9	0.445	0.450	0.450	0.445
10	0.460	0.465	0.460	0.450
11	0.465	0.455	0.470	0.465
12	0.485	0.490	0.455	0.470
Mean	0.455	0.469	0.449	0.452

액에서 분리한 적혈구를 넣고 37°C에서 1시간 또는 2시간 동안 보존한 후 삼투적 취약성을 검사한 결과 50% 용혈을 나타내는 식염수 농도를 제 2표에 표시하였다. 저혈압 상태의 혈액에서 분리한 혈장속에 배양한 정상 적혈구는 시간이 경과함에 따라 취약성은 더욱 증가하여 50% 용혈되는 식염수 농도는 2시간 방치하는 1시간에 비하여 0.014%의 증가를 보이고, 정상혈액을 1시간 또는 2시간 배양하였을 때 50% 용혈되는 식염수 농도가 각각 0.444%, 0.450%에 비하여 심한 삼투적 저항의 감소를 보이고 있다. 정상혈장과 함께 배양한 저혈압(속)시 적혈구의 취약성은 1시간에 비하여 2시간 후에는 약간 증가하였으나 그 정도는 미미하였다. 그러나 속혈액을 시험관에 방치하였을 때의 50% 용혈 농도가 0.454%, 0.466%인데 비하면 정상혈장 속에 배양한 속 적혈구의 삼투적 저항은 많이 회복되었다.

## 고 활

Histamine 이 순환기 계통에 미치는 영향은 동물의 종류에 따라 다르나 일반적으로 혈압을 하강시키고 혈장의 소실로 헤마토크리트를 현저히 증가시키는 작용 등이 있으며 어떤 원인에서 인지는 확실치 않으나 토끼에서는 혈압의 상승을 나타낸다고 한다. 또 평활근

세포에서 K<sup>+</sup>의 투과성을 증가시켜 혈장 포타슘농도를 증가시키고 그의 수축성을 변화시키는 등 조직에 대한 반응도 다양하다(Douglas, 1970). 본실험에서는 실험 기간 중에 토끼의 혈장량보다 더 많은 용액을 정맥내로 주입하여도 혈압의 심한 하강을 관찰할수 있었는데 이는 주입된 histamine에 의하여 모세혈관에서의 물 질투과성이 증가됨으로써 혈장이 손실되어 예컨대 소화관 내로의 체액소실이 증가된 것에(염, 1974) 그 원인이 있을런지도 모른다.

Histamine의 정맥내 주사로 유발된 저혈압 상태가 2시간 경과한 후의 적혈구 취약성 변화는 여러 면에서 검토될 수 있다. 즉 histamine이 평활근 세포에서처럼 K<sup>+</sup>의 투과성을 증가시켜 세포내 K<sup>+</sup>이 혈장으로 확산되어 나오고 대신 Na<sup>+</sup>이 세포내로 들어가면 물이 적혈구내로 따라 들어가서 용적이 증가하여 biconcave한 형태를 상실하기 때문에 용혈이 쉽게 일어날 가능성이 있다. 이와같은 K<sup>+</sup>투과성의 변화에 의하여 용혈이 용이하게 일어난다는 사실에 대하여 많은 보고가 있으나 (Maizels, 1949; Selwyn & Dacie, 1954; Cronkite, 1973) histamine이 조직내로 쉽게 확산하여 들어가고 또 대사과정이 빠른 사실로 (Douglas, 1970) 보아 혈압을 하강시키기 위하여 주입한 양이 적혈구막의 투과성을 변화시킬 수 있는 충분한 혈장농도를 유지할른지는 의문이다.

정상적혈구를 저혈압상태에서 채혈한 혈액에서 분리한 혈장과 혼합하여 시험관에서 배양할 경우 정상혈액을 배양한 것보다 삼투적 취약성이 증가하였고 또 속 적혈구를 정상혈장에 혼합하여 배양한 경우 저혈압시의 혈액보다 삼투적 저항이 회복된 것으로 보아 적어도 적혈구의 삼투적 저항을 저하시키는 요인이 혈장에 있다는 사실은 급성실혈로 인하여 저혈압을 일으켰을 때와 일치하는 현상이다(申 및 高, 1975).

Histamine 주입에 의한 저혈압상태에서 적혈구의 삼투적 취약성이 증가하였으나 토끼혈액의 histamine 농도가 다른 동물이나 사람에 비하여 현저히 높고(Porter & Mitchell, 1972) 대사과정이 신속하다는 것으로 보아 삼투적 저항의 감소는 histamine의 직접효과 이외에 다른 물질이 관여하였을는지도 모른다.

## 총괄 및 결론

체중이 2 kg 이상인 성숙토끼를 nembutal 30 mg/kg로 마취하여 경동맥과 경정맥을 박리하고 카뉘를 삽입하여 동맥혈압을 기록하였으며 경정맥을 통하여 100

μg/ml 농도의 histamine 을 09.2 ml/min 내지 1.40 lm/i in 의 속도로 주입하여 동맥혈압을 40~70 mmHg (평균 68 mmHg) 사이로 하강시키고 이 상태를 2시간 유지하였다. 이와같은 저혈압상태에서 동맥혈을 채취하여 삼투적 취약성을 검사하여서 대조혈액과 비교하였다.

정상혈액과 저혈압시의 혈액을 채혈 즉시 삼투적 취약성을 검사하고 37°C에서 1시간 또는 2시간 방치하여 시간경과에 따른 취약성 변화를 비교하는 한편 정상혈구를 저혈압상태에서 채혈한 혈액에서 분리한 혈장속에, 또 저혈압상태에서 분리된 적혈구를 정상혈장속에 넣고 1시간 혹은 2시간 동안 37°C 항온수조에서 배양하였다가 적혈구의 삼투적 저항을 서로 비교하였다.

잔존하는 적혈구의 비율을 probit-plot 법으로 분석하여 용혈시작농도, 50%용혈농도 및 용혈이 완료되는 식염수 농도를 측정하여 서로 비교한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. Histamine 에 의한 저혈압이 지속된 상태에서 채취한 혈액의 삼투적 취약성은 정상혈액에 비하여 상당히 증가하였다.

2. 정상혈액과 저혈압 상태에서 채혈한 혈액을 시험관에서 배양하였을 때 2시간 경과까지는 취약성의 변화가 미미하였다.

3. 저혈압시에 채취한 혈액에서 분리한 혈장속에 배양한 정상 적혈구의 삼투적 저항이 정상혈장속의 속 적혈구보다 저하하여 그 원인이 histamine 에 의한 저혈압동물의 혈장속에 있는 것으로 보였다.

REFERENCES

1) 김원태 : 화상을 입은 흰쥐의 적혈구수명. 서울대 석사신청논문, 1965.  
 2) 신동훈 · 고재평 : 급성 실험동물의 적혈구 삼투적 취약성의 변화. 서울의대잡지, 16:71, 1975.  
 3) 엄대용 : 장관에서의 액체이동에 미치는 히스타민의 작용에 관한 연구. 서울대 석사신청논문,

1974.  
 4) 최덕경 : 수분의 반복된 삼투이동에 의한 적혈구 깨질성의 변화. 수도의대잡지, 2:85, 1965.  
 5) Cronkite, E.P.: *Hemolysis and suspension stability of the blood, cited from Best and Taylor's Physiological Basis of Medical Practice, p. 4~57, Brobeck Ed., Williams & Wilkins, Baltimore, 1973.*  
 6) Douglas, W.W.: *Histamine and antihistamines, cited from The Pharmacological Basis of Therapeutics, p. 621, Goodman, L.S. & A. Gilman Ed., Macmillan, London, 1970.*  
 7) Jacob, H.S. and J.H.Jandl: *Increased cell membrane permeability in the pathogenesis of hereditary spherocytosis. J. Clin. Invest. 43: 1704, 1964.*  
 8) Maizels, M.: *Cation control in human erythrocytes. J. Physiol. 108:247, 1949.*  
 9) Porter, J.F. and R.G. Mitchell: *Distribution of histamine in human blood. Physiol. Rev. 52: 361, 1972.*  
 10) Riggs, D.S.: *The mathematical approach to physiological problems, p. 294, Williams & Wilkins, Baltimore, 1963.*  
 11) Rose, B. and P. Weil: *Blood histamine in the rabbit during anaphylactic shock. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 42:494, 1939.*  
 12) Selwyn, J.G. and J.V.Dacie: *Autohemolysis and other changes resulting from the incubation in vitro of red cells from patients with congenital hemolytic anemia. Blood, 9:414, 1954.*  
 13) Weed, R.I. and C.F. Reed: *Membrane alterations leading to red cell destruction. Amer. J. Med. 41:681, 1966.*  
 14) Weed, R.L.: *The importance of erythrocyte deformability. Amer. J. Med. 49:1411, 1970.*