

Effects of Pulsed Magnetic Field on Red Blood Cells' Aggregation and Deformability

Seunghwan Bang and Hyunsook Lee*

Department of Oriental Biomedical Engineering, Sangji University, Wonju 26339, Korea

(Received 29 July 2020, Received in final form 26 August 2020, Accepted 27 August 2020)

Imbalance of blood circulation caused by aggregation, rouleaux and morphological transform of red blood cell (RBC) influenced to cardiovascular diseases such as thrombosis, peripheral stenosis, and arteriosclerosis. This study intends to evaluate the effect of the pulsed magnetic field (PMF) on the aggregation and deformability of RBC. In hematocrit (HCT) 45% bloods diluted with phosphate buffered saline (PBS) and plasma, ESR rates were slowed by 1% and 6% after PMF stimulus of 2700 G, respectively. In addition, RBCs' sedimentation rate after 12 hrs decreased to 25% at 2700 G, 28% at 1000 G, 32% at 400 G, compared to 34% at non-PMF group. After tBHP treatment in order to observe the RBC aggregation due to hemoglobin oxidation, the RBCs sedimentation proceeded rapidly, but progressed slowly after PMF stimulus. In RBC deformability experiment using filter having a size of 5 μm smaller than the volume of RBC, the number of filtered RBCs increased by 2% at 400 G, 16% at 1000 G and 29% at 2700 G, compare with non-PMF group. For oxidative RBCs group, it also increased by more than 34% after PMF stimulus. Improvement of RBCs' aggregation after PMF stimulus could be interpreted as the instantaneous rapid flux change of PMF affecting the zeta potential of RBCs. Also it is believed that PMF also affects the Ca^{2+} ion pump which affects the hardening of RBCs' membrane, thereby increasing the RBCs' deformability. Therefore, the PMF stimulus could be used as a non-invasive treatment method for blood circulation disorder.

Keywords : pulsed magnetic field, red blood cells' aggregation, red blood cells' deformability

펄스자기장이 적혈구의 응집성과 변형성에 미치는 영향

방승환 · 이현숙*

상지대학교 보건과학대학 한방의료공학과, 강원 원주시 상지대길 84, 26339

(2020년 7월 29일 받음, 2020년 8월 26일 최종수정본 받음, 2020년 8월 27일 게재확정)

혈액내 적혈구의 응집이나 연전, 그리고 형태적 변형으로 발생하는 혈액순환의 불균형은 고혈압, 혈전증, 동맥경화와 같은 심혈관 질환에 영향을 미친다고 알려져 있다. 따라서 본 연구에서는 적혈구의 응집성과 변형성 개선에 대한 펄스자기장의 효과를 밝히고자 한다. ESR 실험에서 인산완충생리식염수(PBS)와 혈장으로 각각 희석한 HCT 45% 혈액에서 2700 G 펄스자기장 인가 시 두 혈액군 모두에서 침강 속도가 1%, 6% 느려짐을 보였다. 또한 펄스자기장 세기에 따른 ESR 실험에서 자기장 자극을 하지 않은 대조군 혈액과 비교 분석한 결과 12시간 이후 대조군은 34%, 자기장세기 2700 G에서는 25%, 1000 G는 28%, 400 G에서는 32%로 관측되었다. 헤모글로빈의 산화에 따른 적혈구 응집성 변화를 관측하기 위해 산화제인 tBHP를 처리한 후, 적혈구의 침강이 매우 빠르게 진행되었으나 펄스자기장 인가 후엔 ESR 비율이 40% 정도 개선되었다. 또한 적혈구의 변형성 실험에서 400, 1000, 2700 G의 펄스자기장을 인가한 실험군이 대조군에 비해 필터를 통과한 적혈구의 개수가 각각 2, 16, 29% 증가한 것을 볼 수 있었다. 산화스트레스를 받은 적혈구 또한 펄스자기장을 인가한 후 34% 이상 증가하였다. 적혈구의 응집성 개선은 펄스자기장의 순간적인 지속변화율이 적혈구의 zeta potential에 영향을 주는 것으로 예상되며 적혈구막 경화에 영향을 주는 Ca^{2+} 이온 펌프에 펄스자기장이 영향을 주어 변형능을 증가시켜주는 것으로 판단된다. 그러므로 펄스자기장은 혈액의 순환장애 질병 치료에 비침습적인 치료방법으로 활용될 가능성을 제시한다.

주제어 : 펄스자기장, 적혈구의 응집성, 적혈구의 변형성

I. 서 론

인체의 구성 물질 중 혈액은 당분, 아미노산, 지방질과 같은 에너지 대사의 필수적 영양소와 몸을 구성하고 있는 세포가 호흡을 하는데 필요한 기체를 전달할 뿐만 아니라 인체 내 세균 감염 시 식균 작용을 하여 인체 외부의 균과 바이러스로부터 보호하는 면역체계 역할을 한다.

혈관 노화가 진행되면 혈관벽에 침전물이 쌓이는 협착증 및 혈관벽의 탄성도가 낮아지는 혈관 경화증이 유발되어 혈액 순환을 방해하고, 혈관내 연전이나 혈전을 생성하여 협심증, 심혈관 질환, 심근경색증과 같은 혈액순환 질환을 야기한다[1,2]. 또한 인체 내에 염증이나 암과 같은 질환이 발생하면 혈장의 농도가 증가하고 CO₂ 농도 분압이 상승하며, 또한 염증 수치가 증가하게 되어 체액의 pH가 감소된다고 알려져 있다[3,4]. 이러한 pH 농도 변화는 혈액의 산소해리도를 낮추고 혈관내 혈액의 이동을 방해한다. 그러므로 인체의 혈액순환계는 혈관 상태와 혈관의 형태학적 변화, 그리고 인체내 체액 농도변화에도 영향을 받는다.

혈액은 약 45%의 혈구와 55%의 혈장으로 되어있다. 그중 혈장은 인체 내 3500 ml이며 약 90%의 물, 7%의 혈장 단백질, 2%의 이온 물질로 구성되어 있다[5]. Na⁺가 혈장 내 이온 중 가장 많은 양을 차지하고 있으며, 전체 이온 중 약 45% 차지한다고 알려져 있다[6]. 혈장에 존재하는 양이온들은 음이온을 띄고 있는 적혈구(RBC: Red blood cell) 세포막과 전기적 인력으로 인해 적혈구막 주변에 부착된다. 따라서 양이온들 사이에는 정전기적 척력(electrostatic repulsion)이 발생하게 되는데 이를 Zeta potential이라고 한다[7]. Zeta potential의 크기가 클수록 적혈구들끼리 서로 밀어내고, 힘이 줄어들면 적혈구들끼리 붙으려는 성질이 커진다. 그러므로 적혈구의 응집성은 Zeta potential의 크기에 따라 결정될 수 있다[8].

또한 적혈구는 직경이 7~8 μm, 두께는 1~2 μm이며 세포막 안쪽의 골격 구조가 고무같이 유연하고 탄성이 있는 성질을 띤다. 이와 같은 성질은 적혈구에 가해지는 압력에 따라서 변형되는데 이를 적혈구의 변형성이라 하며 변형성이 클수록 적혈구는 미세혈관이나 협착과 같은 좁은 혈관을 원활하게 통과한다[9]. 사전 연구에 따르면 적혈구 세포내부에는 적은 양의 Ca²⁺가 존재하는데 Ca²⁺의 양이 증가할수록 적혈구막 단백질이 경화되어 적혈구의 변형성이 감소된다고 알려져 있다[10].

적혈구의 이러한 유변학적 특징인 응집성과 변형성을 객관화한다면 임상 질환 진단에 지표가 될 수 있다. 병증에 따른 혈장 단백질의 증가와 혈장 농도의 증가에 따른 혈장혈구비(HCT: Hematocrit)의 감소는 적혈구의 응집성을 높이게 되고

혈액의 응고를 촉진시킨다[11]. 혈액에 일정량의 응고 유발 물질을 첨가한 뒤 피브린이 형성되기까지의 시간을 응고 시간이라고 정의하고, 정상 응고 시간에 비해 상대적인 응고 시간을 나타내는 국제 규격화 비(International normalized ratio, INR)에 따라 병증을 진단한다[12].

또한 적혈구 응집성의 정도를 나타내는 방법 중 하나인 ESR(erythrocyte sedimentation rate)은 시간에 따른 적혈구 침전 속도를 측정하는 것으로 적혈구 응집성의 크기를 거시적으로 확인할 수 있다. 적혈구 침강 속도는 항응고제로 처리한 혈액을 일정 시간 정지시켰을 때 혈장보다 비중이 큰 적혈구가 침강 tube 내에서 침강한 거리를 mm로 표시한 것이다. 적혈구의 침강 속도가 빠를수록 응집성이 크다는 것을 의미하고 ESR의 정상 범위는 15~20 mm/h라 알려져 있다[13].

혈액순환의 불균형이 일어나면 고혈압, 당뇨병, 뇌졸중과 같은 여러 심혈관 관련 질환이 발생할 뿐만 아니라 혈관이 협소해지거나 경화되어 혈액이 침전되어 염증이 유발되는 병증이 발생할 수 있다고 알려져 있다. 이러한 혈관이나 혈액 관련 질병을 치료하기 위해서는 세균 감염에 의한 염증과 수술 후 통증을 유발하는 침습적인 치료보다는 비교적 안전하고 부작용이 적은 비침습치료방법이 각광 받고 있다. 대표적 방법 중 하나인 초음파 자극은 인체 조직의 온도를 높여주며 혈액의 연전 현상도 완화 시켜준다고 알려져 있다[14]. 전기자극 치료인 간섭전류자극법은 인체의 말단 부위의 혈관 확장을 야기하여 혈류량을 증가시켜 순환 작용에 긍정적인 효과를 준다[15].

본 연구에서는 대표적인 비침습적 자기장 치료 기기 중 하나인 펄스자기장(PMF: pulsed magnetic field)을 혈액에 인가하여 적혈구의 응집성과 변형성 개선을 관측하고자 한다. 선행 연구 결과에 따르면 펄스자기장 치료 장치를 인체의 손뚱 밑 모세혈관에 인가 시 고리모양의 직선으로 혈관 형태가 변화하며 혈류 속도가 개선되었으며, 인공 모세혈관에서도 자기장 치료 기기의 자극 유무에 따라 혈관내 적혈구의 혈류 속도가 개선되었다[16,17]. 이와 같이 펄스자기장 자극은 인체내 혈액순환 개선에 긍정적인 영향을 미친다고 알려져 있다.

하지만 혈액이 혈관을 따라 흐를 때 점도, 인체의 온도, 혈액내 산소와 이산화탄소 분압과 같은 혈류 역학적 요소들의 영향이 크므로 적혈구의 혈류 속도 증가를 적혈구의 응집성 개선과 직접적으로 연결할 수 있는 객관적인 지표로 나타내는 것은 어렵다. 적혈구의 응집은 낮은 전단조건에서도 적혈구를 변형시키고, 혈액 흐름에서 유선을 변화시켜 적혈구들 사이의 마찰저항을 증가시킨다. 따라서 본 연구에서는 중력을 이용해 순수한 적혈구의 응집성만을 측정해주는 ESR을 사용하여 펄스자기장 자극 유무에 따른 혈액 속에 있는 적혈구의 응집성

변화를 거시적으로 확인하고자 한다.

한편으로 적혈구의 형태적 변형에 따라 빈혈, 유전성 타원 적적혈구증 등의 질병 진단에 필요한 정보를 얻을 수 있다 [18]. Gulati는 형태 변화가 있는 적혈구들을 현미경으로 촬영한 후 변형 적혈구의 비율을 등급으로 분류하여 병증의 척도를 나타내었다[19]. 또한 optical tweezers를 이용하여 적혈구를 위 아래로 임의적인 힘을 가해 stretching하여 측정하는 방법과 micropipette를 통해 적혈구를 흡입하는 방식으로 적혈구의 변형성을 측정한다고 알려져 있다[20]. 그리고 microfluidic ektacytometer를 이용하여 적혈구의 크기를 2차원적으로 관찰하여 변형능을 측정한 보고도 있다[21]. 하지만 입체적인 구조를 갖는 적혈구를 현미경으로 관찰하는 것과 인위적인 힘을 가해 변형능을 객관화하기엔 미흡한 것으로 판단된다. 그러므로 본 연구에서는 적혈구의 체적보다 작은 크기를 갖는 필터를 이용하여 필터를 통과한 적혈구 개수를 측정함으로써 적혈구의 변형성을 알아보하고자 한다. 또한 인위적으로 적혈구막에 존재하는 지질의 과산화작용을 유도하여 펄스자기장 자극 유무가 산화스트레스와 허혈성질환에 어떠한 영향을 미치는지에 대한 임상적 응용 가능성에 대하여 검토하고자 한다.

II. 실험 방법

실험을 위해 필요한 혈액은 상지대학교 생명윤리심의위원회로부터 IRB 면제 심의 후 대한적십자 강원혈액원으로부터 주기적인 공급을 받아 사용하였다. 공급받은 혈액을 3000 rpm를 갖는 원심분리기에 10분 동안 원심분리하여 적혈구와 혈장을 분리하였다. 원심 분리한 적혈구에는 소량의 혈장 물질이 존재하기 때문에 인산완충생리식염수(PBS: Phosphate buffer saline)를 이용하여 Washing 2회와 원심분리 2회를 시행하여 적혈구막에 있는 불순물을 제거하였다. ESR을 이용하여 적혈구 응집성을 측정하기 위해 0.3 mm 내경과 180 mm 길이를 갖는 일회용 플라스틱 Westergren 시험관(globe scientific inc)에 실험 혈액 1.2 ml를 주입하여 분석하였다. Fig. 1 각 tube의 적혈구 침강길이를 매 1시간 간격으로 12~14시간 동안 측정하였다. Tube에 혈액을 주입하였을 때의 길이와 경과된 시간에 따른 시험관 내 혈액의 침강 길이를 비율로 나타내었다.

본 실험에서 사용된 펄스자기장 자극 치료 기기의 코일시스템은 단면이 두께 1.5 mm, 너비 3 mm의 평면사각형의 단일 코일을 10번 감아서 제작된 가로 12.0 cm, 세로 4.5 cm의 타원형 동심 코일을 사용하였다. 자기장의 피크 세기는 권선 저항을 코일과 직렬연결하여 시스템의 고출력전압에서 나오는 전류의 값을 조절함으로써 400~2700 G로 측정되었으며, 펄스

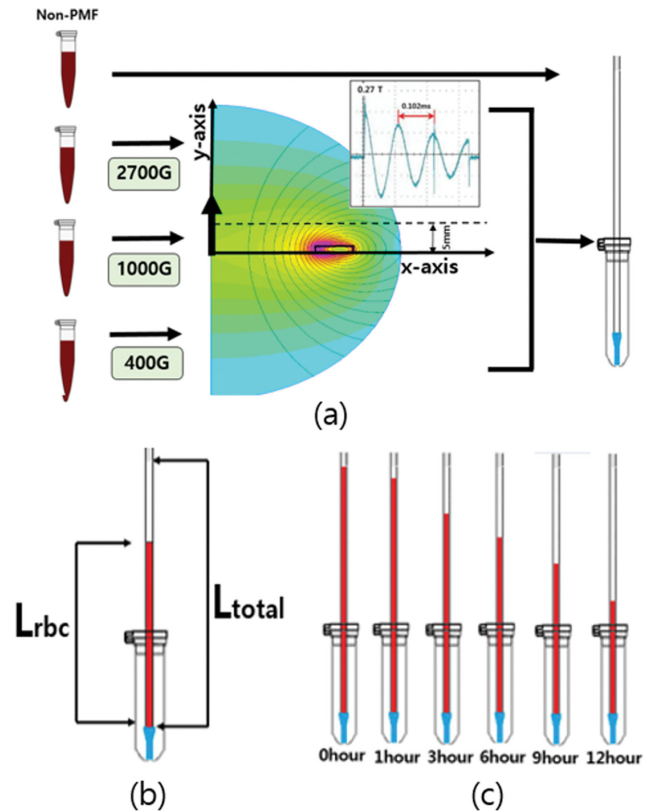


Fig. 1. (Color online) (a) Comparison with Non-PMF group and PMF stimulus of 2700 G, 1000 G, 400 G on HCT 45% blood, (b) L_{total} : initial length of blood sample in ESR kit, L_{rbc} : length of sedimented blood sample, (c) sedimented blood sample over elapsed time.

의 transition time은 0.102 ms이다. 펄스자기장 자극시간에 따른 생체신호 효과검증에 대한 사전연구의 결과에 따라 전 실험에서 자기장 자극 인가 시간은 3분으로 고정하였다[22].

적혈구 침강 속도의 중요한 영향 인자는 연전형성으로 알려져 있는데, 정상적인 적혈구막에는 음전하를 띠는 sialic acid의 carboxyl 그룹의 존재로 정전기적인 반발력(electrostatic repulsive force)을 유발해 연전이나 응집을 형성하지 않는다고 알려져 있다. 그러나 비대칭성의 거대 분자인 혈장 단백질, 적혈구세포의 특징, 그리고 기타 생리적인 요인 등이 적혈구 응집에 영향을 미치는 인자로 보고되고 있다[23]. 그러므로 본 연구에서는 분리된 적혈구에 혈장 또는 혈장 대신 인산완충생리식염수로 인체의 평균 혈장혈구비인 HCT 45%로 실험을 진행하여, 적혈구의 응집에 혈장이 미치는 영향을 연구하였다. 적혈구 응집성을 개선할 수 있는 최적 자기장 세기를 규명하고자 혈장에 희석한 HCT 45% 혈액에 400 G, 1000 G, 2700 G의 세기를 갖는 자기장을 각각 인가하였다.

혈관 내 산화 과정과 체내 면역, 항산화 방어 체계 등과 밀접한 관련이 있는 혈관염증인자 중 ESR은 비교적 간단한 방법으로 적혈구의 손상을 나타낼 수 있는 방법이다[24]. 따라서

본 연구에서는 헤모글로빈의 산화에 따른 적혈구 응집성 변화를 관측하기 위해 산화제인 tBHP(tert-Butyl hydroperoxide) 0.4 mM를 적혈구에 희석시켜 incubator에 30분 동안 반응시킨 후 ESR 실험을 시행하였다.

또한 펄스자기장 자극에 따른 적혈구 자체의 물리적 특성인 변형능을 측정하기 위해 PBS에 희석한 HCT 1% 혈액을 준비한 후 5 μm의 크기의 필터(pluriStrainer, Germany)를 사용하였다. 적혈구 크기보다 작은 필터를 통과한 적혈구는 적혈구막의 변형능에 대한 척도를 나타내기 때문에, Hematometer를 이용하여 통과한 적혈구의 개수를 측정하였다. 과도한 산화화합물과 결합한 적혈구는 메트헤모글로빈(MetHb: Methemoglobin)으로 인해 하인즈소체를 이루게 되어 적혈구막은 세포내 칼륨 유출을 촉진하고 지질의 과산화작용과 막 단백질 불안정을 초래하게 되어 적혈구의 변형능을 떨어뜨리게 된다[25]. 따라서 tBHP를 이용하여 적혈구에 산화스트레스를 유발하여 펄스자기장 자극의 효과를 확인하였으며, 변형성에 관여하는 Ca²⁺ 이온이 적혈구 세포내부에서 증가하게 되면 적혈구막이 경화하게 되는데, 적혈구 내부의 Ca²⁺ 이온을 줄여주어 변형성을 개선시키는 verapamil 0.015 mM을 적혈구에 희석시켜 incubator에 30분간 반응시킨 후 동일한 방법으로 실험을 진행하였다.

III. 결 과

Fig. 2는 혈장과 PBS가 각각 적혈구의 응집성에 미치는 영향을 확인하기 위해 적혈구의 침강 속도를 tube의 길이와 시간에 따른 침강 길이의 비인 Lrbc/Ltotal로 표시한 것으로 혈장에 희석한 HCT 45% 혈액(○)이 혈장 대신 PBS로 희석한 HCT 45% 혈액(△)보다 12시간 후 약 52 mm

더 침강하는 것을 보여준다. 이 결과로 혈장이 적혈구 침강 속도에 영향을 준다는 것을 알 수 있다. 혈장이 제거된 상태(—△)에서도 12시간 이후 9% 정도 적혈구의 침강이 발생하였다는 것은 혈장인자뿐만 아니라 적혈구 세포 자체에 의해서도 서로 영향을 받는다는 것을 시사한다. 또한 혈장 처리군에서 2700 G의 펄스자기장을 인가한 실험군(—●)은 자기장을 인가하지 않은 실험군(—○) 보다 6% 적게 침강하였다. 같은 조건의 PBS 처리군에서도 미비하지만 자기장을 인가한 PBS 처리군(—▽)의 침강이 더디게 나타났다. 이처럼 펄스자기장 자극은 혈장내 적혈구의 응집성 개선뿐만 아니라 적혈구 자체의 응집성에도 영향을 주어 적혈구의 침강을 느리게 해주는 것으로 보인다.

Fig. 3는 펄스자기장 자극 세기에 따른 적혈구의 침강 비율을 나타낸 결과이다. 혈장에 희석한 HCT 45% 혈액에 서로 다른 자기장의 세기 400 G, 1000 G, 2700 G를 인가하고 자기장 자극을 하지 않은 대조군 혈액과 시간에 따른 적혈구 침강 비율을 비교분석 하였다. 12시간 이후 34% 침강한 대조군(—●)에 비해 자기장세기가 2700 G(—●)에서는 25%, 1000 G(—●)는 28%, 400 G(—●)는 32%로 적혈구의 침강 길이가 줄어든 것을 확인할 수 있었다. 적혈구의 침강이 천천히 일어나는 현상은 혈장에서 응집되어 있던 적혈구가 자기장 자극으로 인해 응집이 개선되었다는 것을 의미하며 본 연구의 실험조건에서 적혈구의 연진 및 응집성 개선을 위한 자기장의 최적 세기는 2700 G라는 것을 알 수 있었다.

Fig. 4는 혈장에 희석한 HCT 45% 혈액에 tBHP를 이용하여 적혈구에 산화스트레스를 유발하여, 하인즈소체가 결합되어 손상된 적혈구막의 응집성 변화에 대한 펄스자기장 자극의 효과를 확인하기 위한 ESR 실험 결과이다. 산화스트레스를 가진 적혈구와 비교하기 위해 대조군은 2700 G의 펄스

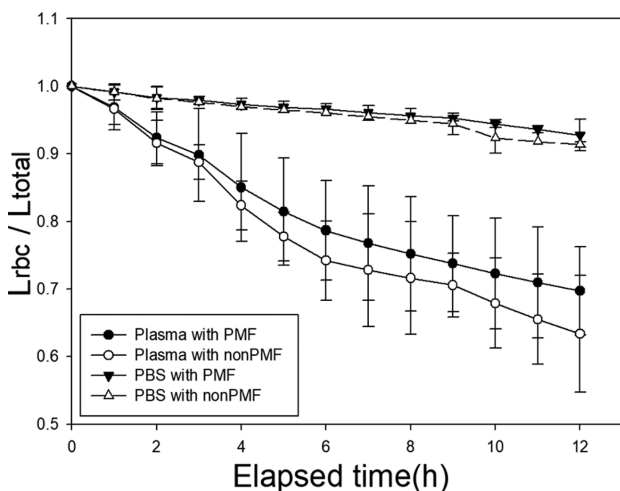


Fig. 2. Erythrocyte sedimentation rate with Plasma and PBS solution of HCT 45% under PMF stimulus of 2700 G.

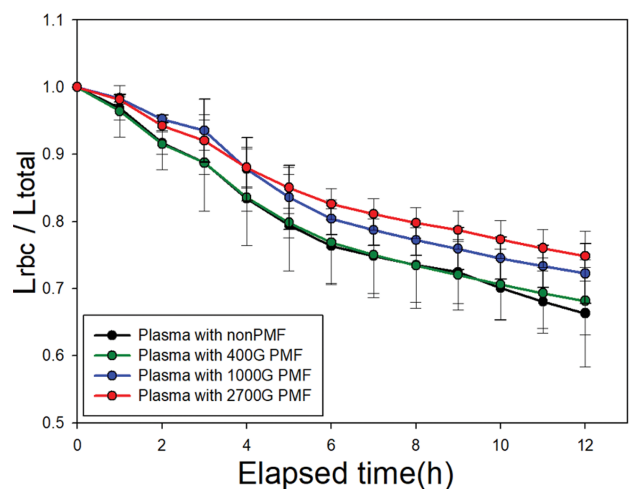


Fig. 3. (Color online) ESR of HCT 45% plasma solutions under PMF stimulus of 400, 1000 and 2700 G.

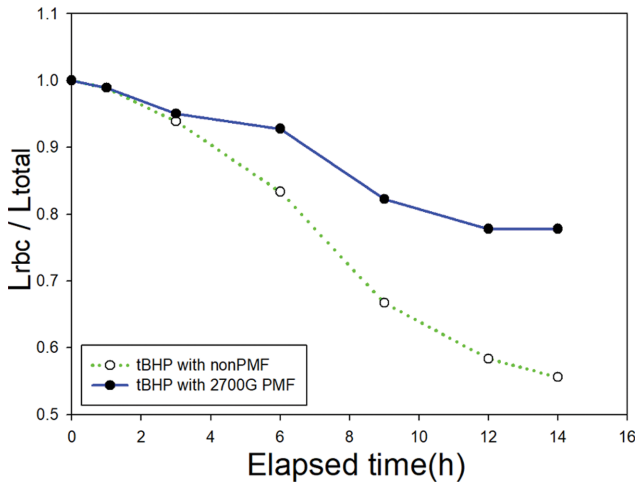


Fig. 4. (Color online) ESR of tBHP treated group and control group under PMF stimulus of 2700 G.

자기장으로 자극 후 자극 유무에 따른 변화를 관찰하였다. 적혈구막이 산화되면 적혈구 사이의 zeta potential이 줄어들어 적혈구의 응집성이 증가되므로 예상한 바와 같이 ESR 비율이 급격히 감소함을 보여주었다. 하지만 tBHP 처리 후 펄스 자기장 자극을 한 혈액(●)에서는 14시간 후 ESR은 tBHP 처리군(○)에 비해 40% 정도 적혈구의 침강 길이가 감소하는 것으로 보아 적혈구막이 산화스트레스로 인해 손상이 되었더라도 펄스자기장 자극이 적혈구의 응집성을 개선시킨다는 것을 알 수 있었다. 12시간 이후에도 tBHP 처리 후 펄스자기장 자극을 한 혈액(●)의 침강 비율이 유지되는 것으로 보아 펄스자기장 자극이 zeta potential을 유지시켜 산화된 적혈구에 치료효과를 주는 것으로 해석할 수 있다.

Fig. 5(a)는 정상 적혈구와 산화가 되어 변형능이 떨어진 적혈구가 필터를 통과하는 모습을 가상적으로 그린 그림이다. 적혈구막의 변형이 일어날 경우 필터를 통과하기가 어려울 것으로 예상된다. Fig. 5(b)는 자기장 자극 세기와 산화 처리, 그리고 환원처리 한 혈액을 각각 5 μm의 크기를 갖는 필터에 주입 후 필터를 통과한 적혈구의 개수를 분석한 그래프이다. HCT가 클수록 혈액내 적혈구의 응집이 커져서 체적보다 작은 필터를 통과하기가 어려우므로, 단일 적혈구의 변형성을 확인하기 위해서 본 연구에서는 PBS로 희석한 HCT 1%의 혈액으로 실험을 진행하였다.

400 G, 1000 G, 2700 G의 자기장 세기에 따른 필터를 통과한 적혈구의 개수는 대조군에 비해 각각 4%, 16%, 29% 증가하였으며, 이 결과는 자기장의 세기에 따라 적혈구막 내부의 Ca²⁺ 방출이 증가하여 적혈구의 변형성을 개선시키는 것으로 해석할 수 있다. 또한 이러한 결과는 Fig. 3에서의 적혈구의 침강 속도가 자기장세기가 증가함에 따라 느려지고 적혈구의 응집성 개선에 최적의 세기가 2700 G라는 결과와 일

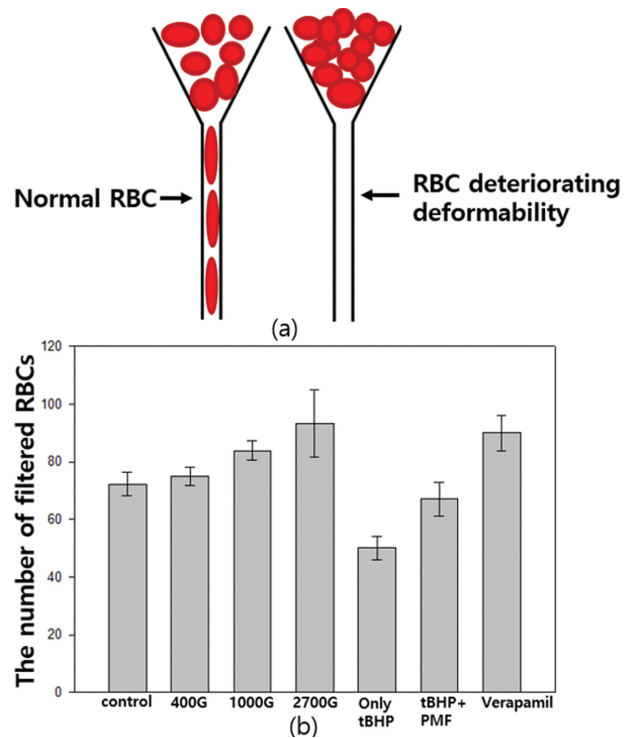


Fig. 5. (Color online) (a) Schematic diagram of RBCs passing through a filter (b)The number of filtered RBCs for the blood groups of HCT 1% treated with PMF stimulus of 400, 1000, 2700 G and treated with tBHP and verapamil.

치함을 알 수 있다. tBHP를 이용하여 적혈구에 산화스트레스를 가한 후 필터를 통과한 적혈구의 개수는 대조군에 비해 약 30% 감소하였다. 그러나 산화스트레스로 인해 손상된 적혈구에 2700 G 세기의 자기장을 인가하였을 때 tBHP 처리 후 자기장을 인가하지 않은 실험군 보다 34% 더 적혈구가 필터를 통과하였음을 알 수 있었다. 이 결과는 펄스자기장 자극이 적혈구 내의 Ca²⁺ 이온의 이동을 조절하여 변형성을 개선시키는 것으로 해석할 수 있다. 또한 환원을 통해 적혈구막 변형을 개선하는 verapamil를 처리한 혈액에서는 대조군 혈액에 비해 필터 된 적혈구의 개수가 약 28% 증가하였다. 이러한 결과를 통해 2700 G 펄스자기장 자극은 적혈구막을 환원처리하는 verapamil과 거의 유사하게 적혈구막 내부로부터 Ca²⁺ 이온을 방출함으로써 적혈구막의 변형성 개선에 효과를 가진다는 것을 알 수 있다[10].

IV. 결론 및 고찰

본 연구에서는 고혈압, 혈전증, 말초혈관 협착증, 동맥경화와 같은 심혈관 질환에 영향을 미치는 적혈구의 응집성과 변형성에 펄스자기장의 역할을 규명하였다.

응집성을 측정하기 위해 ESR에 PBS와 혈장을 이용하여

HCT 45%로 맞춘 혈액을 서로 비교하였을 때 혈장처리군이 PBS 처리군 보다 52 mm 더 침강하였다. 그리고 혈액내 혈장의 비율이 커질수록 적혈구의 응집성이 증가하는 것을 알 수 있었다. 또한 PBS와 혈장으로 희석한 혈액에 자기장자극을 인가하지 않았을 때보다 2700 G의 펄스자기장을 인가하였을 때 ESR 비율인 Lrbc/Ltotal이 더 커지는 것이 관찰되었는데, 이러한 결과는 펄스자기장 자극이 혈장뿐만 아니라 PBS에 존재하는 적혈구에도 영향을 주는 것으로 판단된다. 또한 펄스자기장의 세기에 따른 실험군의 ESR 비율이 대조군에 비해 개선되는 것을 확인하였으며, 이번 연구의 실험조건에서 최적 자기장 세기는 2700 G로 판단되지만 자기장세기와 ESR의 상관관계를 고려하면 2700 G 이상의 세기에서도 응집성 개선 효과를 예상할 수 있다. 그리고 tBHP를 이용하여 산화스트레스를 가해 손상된 적혈구에 자기장을 인가한 혈액에서는 자기장을 인가하지 않은 tBHP 혈액에 비해 ESR 비율이 개선되었음을 알 수 있었다.

이처럼 펄스자기장을 인가한 후 적혈구의 응집성을 설명할 수 있는 ESR 비율이 개선되는 것으로 보아 펄스자기장의 순간적인 가속변화율이 적혈구막 주변의 음전하에 영향을 주어 연전이나 응집으로 인해 적혈구들 사이의 감소된 zeta potential를 증가시킴으로써 적혈구의 응집성을 개선시키는 것으로 판단된다.

또한 적혈구의 자발적인 변형 능력을 확인하기 위해 적혈구보다 작은 크기를 갖는 필터를 이용하여 필터를 통과한 적혈구의 개수를 측정한 결과 펄스자기장을 처리한 실험군이 대조군에 비해 증가한 것을 볼 수 있었다. 산화스트레스를 받은 적혈구 또한 펄스자기장을 인가한 후 필터를 통과한 적혈구의 개수가 증가한 것으로 보아 이는 펄스자기장이 적혈구막 경화와 변형 개선에 효과가 있는 것으로 판단된다. 또한 펄스자기장은 적혈구를 환원시켜 적혈구막을 유연하게 해주는 verapamil과 유사한 결과를 보여주었다. 적절한 펄스자기장 자극은 적혈구막의 변형성을 결정하는 이온인 Ca²⁺의 적혈구 이온 통로에 영향을 주어 적혈구의 변형성이 개선되는 것으로 판단된다.

이처럼 펄스자기장은 적혈구의 응집성과 변형성 개선에 긍정적인 영향을 주기에 혈액의 순환 장애와 같은 질병 치료에 비침습적인 치료방법으로 활용될 가능성을 제시한다. 앞으로 본 연구의 확장을 위해서 마이크로센서를 이용하여 펄스자기장에 따른 적혈구막 전하의 변화를 직접적으로 측정할 뿐만 아니라 적혈구의 탄성도도 확인할 필요가 있다고 본다.

감사의 글

이 논문은 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단의 이

공분야기초연구사업(NRF-2017R1D1A1B03034105)의 지원으로 수행한 결과이다.

References

- [1] A. N. Nicolaidis, T. Horbourne, R. Bowers, P. H. Kidner, and E. M. Besterman, *The Lancet*. **310**, 943 (1977).
- [2] J. S. Stroud, S. A. Berger, and D. Saloner, *J. Biomech.* **33**, 443 (2000).
- [3] F. Hirschhaeuser, U. G. Sattler, and W. Mueller-Klieser, *Cancer Res.* **71**, 6921 (2011).
- [4] I. Cicha, Y. Suzuki, N. Tateishi, and N. Maeda, *J. Physiol Heart Circ Physiol.* **284**, H2335 (2003).
- [5] D. Basu and R. Kulkarni, *Indian. J. Anaesth.* **58**, 529 (2014).
- [6] F. Brunicaudi, D. Andersen, T. Billiar, D. Dunn, J. Hunter, L. Kao, J. Matthews, and R. Pollock, *Schwartz's principles of surgery*, McGraw-Hill Education, New York (2014), pp. 67~68.
- [7] H. P. Fernandes, C. L. Cesar, and M. D. L. Barjas-Castro, *Rev. Bras Hematol Hemoter.* **33**, 297 (2011).
- [8] W. Pollack and R. P. Reckel, *Int. Archs Allergy Appl. Immun.* **54**, 29 (1977).
- [9] O. K. Baskurt and H. J. Meiselman, *Seminars in Thrombosis and Hemostasis.* **29**, 435 (2003).
- [10] M. H. Seo and H. S. Lee, *J. Magn. Magn. Mater.* **505**, 166726 (2020).
- [11] B. McKenzie and Shirlyn, *Clinical laboratory hematology*, Pearson (2014), pp. 797~798.
- [12] L. A. Silvestri, *Saunders Comprehensive Review for the NCLEX-RN*, Saunders. St. Louis (2014), pp. 116~117.
- [13] H. C. Sox and M. H. Liang, *Ann. Intern. Med.* **104**, 515 (1986).
- [14] G. Ter Haar, *Eur. J. Ultrasound.* **9**, 3 (1999).
- [15] A. R. Ward and N. Shkuratova, *Phys. Ther.* **82**, 1019 (2002).
- [16] K. H. Shin, S. H. Bang, H. J. Ahn, and H. S. Lee, *J. Magn.* **24**, 118 (2019).
- [17] J. W. Mok, S. H. Han, S. H. Bang, and H. S. Lee, *J. Korean Magn. Soc.* **4**, 68 (2019).
- [18] M. Bessis, L. S. Lessin, and E. Beutler, *Williams hematology*, McGraw-Hill, New York (2006), pp. 377~382.
- [19] G. Gulati, *Blood cell morphology grading guide*, American Society for Clinical Pathology, Chicago (2009), pp. 1~33.
- [20] M. Musielak, *Clin. Hemorheol. Microcirc.* **42**, 47 (2009).
- [21] Y. K. Kim, J. R. Park, D. H. Kim, E. H. Kwon, E. J. Kim, D. I. Won, S. Shin, and J. S. Suh, *Korean J. Blood Transfusion.* **18**, 129 (2007).
- [22] H. S. Lee, S. W. Kim, and D. G. Hwang, *IEEE* **47**, 10 (2011).
- [23] E. Ernst, *J. Intern Med.* **227**, 365 (1990).
- [24] A. Natali, A. L'Abbate, and E. Ferrannini, *Eur. Heart J.* **24**, 639 (2003).
- [25] D. H. Kim, Y. K. Kim, D. I. Won, S. Shin, and J. S. Suh, *Korean J. Lab. Med.* **28**, 325 (2008).