

## Dynamics of Rouleaux Patterns of Red Blood Cells under Pulse Magnetic Field

Do Guwn Hwang\*

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

(Received 12 May 2017, Received in final form 10 June 2017, Accepted 13 June 2017)

It is widely known that pulsed magnetic field (PMF) is very useful tool to manipulate chemical and physiological processes in human body. The purpose of our study is to observe dynamics of rouleaux patterns of red blood cells (RBC) under PMF. The aggregation of RBCs or rouleaux formation is caused by fibrinogen in blood plasma. The maximum magnetic field intensity is 0.27 T and pulse time of 0.102 msec and pulse repetition rate was 1 Hz. PMF stimulus was applied to the palm of left hand for 5, 10, 15 and 20 min. Live blood analysis was used in vitro in order to quantitatively estimate the velocity of RBC exposed to PMF stimulus. The velocity of stacked-RBC of 10 minute PMF stimulus was increased up to  $8 \times 10^{-4}$  m/sec, but it decreased rapidly as the time passed. The results of present study have adduced that PMF stimulus on hand provide the improvement of RBC rouleaux formation, increase of RBC's moving velocity as well as low blood viscosity.

**Keywords** : pulse magnetic field, stimulus, rouleau formation, red blood cell, dynamic motion

## 강한 펄스자기장 자극에 의한 적혈구 연전현상의 활동성 조사

황도근\*

상지대학교 한방의료공학과, 강원 원주시, 26339

(2017년 5월 12일 받음, 2017년 6월 10일 최종수정본 받음, 2017년 6월 13일 게재확정)

펄스자기장을 인체에 자극했을 때 몸 안에 있는 이온성 전해물질에 의해 유도전류가 발생하며, 최근에는 이를 활용하여 자기장 치료기술이 새롭게 연구 개발되고 있다. 본 연구에서는 강한 펄스자기장을 자극했을 때, 여러 층으로 응집되어 붙어있는 적혈구 연전현상의 변화를 동역학적으로 조사 분석하였다. 적혈구의 연전현상은 여러 가지 원인에 의해 발생하는데 물리학적으로 보면 적혈구 중심에 있는  $Fe^{+3}$  이온에 의한 전기장 발생과 혈액 내에 녹아있는 음이온의 상호작용이 원인으로 고려된다. 본 연구에서 사용된 펄스자기장의 세기와 시간은 0.27 Tesla, 0.102 msec이고 펄스 반복시간은 1초이다. 인체에 가한 펄스자기장의 자극 시간은 5분에서 10분, 15분, 20분까지 증가시켰고, 이에 따라 적혈구의 연전상태 변화를 동영상으로 조사하였다. 펄스자기장을 10분 동안 가했을 때 적혈구의 연전상태는 매우 호전되어 대체로 개별로 분리되었으며 slide glass 위에서 이동속도 역시 가장 활발하게 움직여서  $8 \times 10^{-4}$  m/sec로 증가하였다. 그러나 20분까지 자기장 자극을 증가시키면 오히려 적혈구의 연전상태가 증가하고 활동성이 떨어지는 것을 확인하였다. 이에 대한 해석은 좀 더 체계적인 연구와 분석이 필요해 보인다.

**주제어** : 펄스자기장, 자극, 적혈구, 연전현상, 동적운동

### I. 서 론

자기장을 이용한 치료요법에 관한 연구는 각 질환 별로 오랜 기간 연구되어 왔으며, 자기장을 인가하면 몸 안에 들어 있는 이온물질이 유도전류를 발생시켜 신경이 자극된다는 것은 이미 잘 알려져 왔고, 최근에 이것을 이용하여 여러 치료 시스템이 개발되어왔다[1]. 펄스나 교류 자기장을 이용한 자

극치료를 물리학 분야에서 전기자극, 온열자극 등과 함께 오랫동안 많은 연구자들에 의해 수행되었으며, 특히 자기장은 투과성이 우수하여 인체 깊숙한 부분까지 자극이 가능하고, 비침습적 및 비접촉식이라는 장점이 있어서 주목받고 있다. 기존의 대표적인 대중적 자극 치료기기인 전기자극기는 접촉 단자가 피부에 직접 접촉되어야하기 때문에 위생문제와 접촉 물질로 인한 피부발진 등의 단점이 있으며, 전류가 피부표면으로만 흘러 인체의 심부 깊숙이 자극할 수 없는 문제점을 가지고 있다. 이에 반해 자기장 자극은 심부 깊숙이 자기장이 투과하기 때문에 체내에 있는 전해물질에 영향을 주어 심

부 깊숙한 조직에서 와전류를 발생시켜 자극을 줄 수 있는 장점이 있다[2].

자기장 자극에 의한 치료효과는 1979년 골절치유에 대해 미국식품의약국(FDA) 공인 이후에 널리 사용되었는데, 최근에는 노인성 치매와 우울증 환자의 증가에 따라 경두개 자기 자극기(repetitive Transcranial Magnetic Stimulation, r-TMS)가 대형병원의 신경정신과에 도입되면서 다시금 활발해지고 있다[3]. 이처럼 자기장 자극에 대한 다양한 치료효과는 연구 발표되고 있는데 반해서 펄스자기장이 적혈구의 연전형성(連鎖形成, rouleau formation; 적혈구가 응집되는 현상) 변화에 대한 연구는 많이 부족한 실정이다.

Mayrovitz와 Larsen은 인간피부에 펄스자기장을 자극하여 모세혈관을 조사하였다[4]. 이때 가한 펄스자기장은 주파수가 27.12 MHz이었고 펄스의 개수는 600 pulses/sec의 자기장을 자극하였다. 혈류량 변화는 도플러 효과를 이용하여 측정하였는데 결과적으로 자기장 자극에 의해 대략 30%의 혈류증가 효과를 발표하였다. 국내에서는 김철성이 한방병원을 내원한 87명을 대상으로 저용량 He-Ne 레이저를 치료한 후에 생혈액 검사를 통해 적혈구의 연전형상에 대한 조사결과가 발표된 바 있다[5]. 이 연구에서 레이저를 자극시킨 결과, 변형된 적혈구의 수가 유의하게 감소되는 현상을 확인하였으며 응집된 적혈구가 유의하게 호전되는 결과를 확인하였다. 또한 권민정 등은 침습 레이저와 비침습 레이저 치료를 비교하여 생혈액 검사를 분석하였다. 치료 후 연전형성, 적혈구 및 혈소판 응집, 요산결정체 등에서 모두 호전되었고, 통계적으로 유의적인 결과를 보였다[6].

적혈구의 연전형성 변화를 확인하는 생혈액 분석은 아직 체계적이지 않으며 정확성과 안정성이 기존의 혈액검사보다 많이 부족하다. 기존의 혈액검사는 오랜 기간 연구와 임상실험을 통해 병증과 검사결과가 수치화되어 왔다. 그만큼 기존의 혈액검사는 안정성과 재현성이 매우 좋은데 반해 생혈액 검사를 통해 적혈구의 응집과 변형 등의 연전형성 관련 통계는 매우 불안정하고 정확하지 않은 수치를 가지고 있다. 그러나 이미 앞서 발표한 본 연구자의 논문에서 언급되었듯이 적혈구의 연전형성은 혈류의 속도를 떨어뜨리고 그에 따라 조직의 산소공급에 심각한 문제를 초래하는 것으로 보인다[7]. 앞으로 적혈구의 응집현상인 연전형성의 체계적인 연구가 절실한 이유이다.

본 연구팀의 선행연구결과에 따르면, 펄스자기장 자극 전 피실험자의 적혈구는 십여개 이상씩 서로 붙어있는 연전형성이 일어나서 적혈구의 움직임이 느려졌으나, 손에 10분간 자기장 인가한 후에 연전형성이 되었던 적혈구가 대부분 떨어져서 독립적인 움직임을 보이면서 운동이 활발해졌다. 또한 왼쪽 손에 펄스자기장을 10분 자극한 후에 자극받지 않은 오

른쪽 손에서 채혈했을 때에도 연전형상이 똑같이 개선되었다. 체내에 혈류흐름에 의해 손에만 자극하여도 온몸으로 적혈구의 연전형성이 개선되는지 확인한 결과 자극한 반대쪽 손에서 채혈한 적혈구의 연전형상도 호전되었음을 확인하였다. 펄스자기장이 적혈구의 연전을 개선시키는 결과를 분명히 보여주고 있다[7, 8].

본 연구에서는 강한 펄스자기장 자극에 의해 연전형성을 보이던 응집된 적혈구에서 독립적으로 분리된 적혈구로 변화하면서 개별적인 적혈구가 매우 활발하게 운동하는 것을 동영상 통째로 확인하였다. 이에 펄스자기장 자극에 의한 적혈구의 이동속도 변화를 측정하여 분석하였다.

## II. 실험 방법

본 실험에 사용된 펄스자기장 자극시스템은 직접 제작되었다[7]. Fig. 1에서 보여주듯이 자기장 발생 전원장치는 SCR를 이용하여 축전기에 충전된 전압의 방전시간을 조절할 수 있게 제작하였다. 고전압 펄스출력장치는 Fig. 1에서 보여주듯이 1,500 Volt의 고전압을 견디는 축전기와 SCR 제어 소프트웨어 시스템, 그리고 자기장 발생 코일시스템으로 구성되어 있다. 고전압 펄스 방출은 대략 1초에 한 번씩 방전하도록 제작하였다.

손을 자극하는 자기장 코일은 1.5 × 3.0 mm의 평면사각형 단일 코일을 사용하였으며, 코일 형태는 타원형으로 12.0 × 4.5 cm의 크기로 10번 감아서 제작하였다. 펄스 자기장의 피크 값의 최대 세기는 0.27 Tesla로 발생된 펄스의 모양은 지속적으로 급격히 감소하며 진동하는 펄스이다. 이때 처음 펄스의 한주기가 0.102 ms로 대략 10 kHz의 주파수를 갖고 있다. 또한 Fig. 1에서 보듯이 코일에서 발생하는 자기장 분포 모양이 자극하는 손바닥에 충분히 영향을 주고 있음을 확인할 수 있다. 그리고 고전류가 흐르는 코일은 많은 열을 발생시킴으로 코일과 자극하는 손을 충분히 떨어트려 펄스 자기장 자극이 손바닥에 미치는 온도 변화를 최소한으로 해야 한다. 이를 위해 자극코일에 접촉하지 않도록 손 모양 지그를 제작하여 보호하였으며 항상 같은 부위의 손을 자극하였다[7].

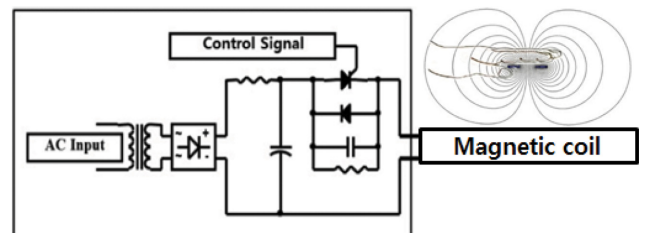


Fig. 1. (Color online) Circuit of power supply of pulse magnetic field and distribution of magnetic field generated by coil.

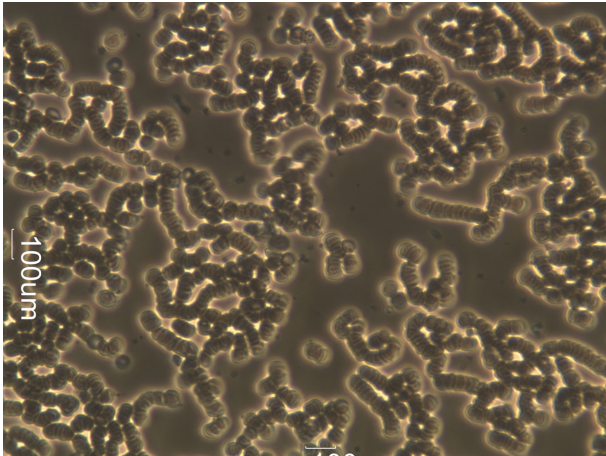


Fig. 2. (Color online) Rouleau formation of red blood cells before pulse magnetic stimulus in the hand.

펄스자기장 자극 실험은 본 연구자(50대, 키 174 cm, 체중 65 kg)를 대상으로 직접 실시하였다. 펄스자기장 자극을 받기 직전 자극할 손에서 채혈을 하여 자극 전 적혈구의 연전상태를 현미경을 이용해 우선 조사하였다. Fig. 2는 연구대상자의 손에서 채취한 혈액의 적혈구 연전 상태를 보여주고 있다. 대체로 10~15개의 적혈구가 응집되어 연전형성이 좋지 않은 상태임을 알 수 있다. 일반적으로 젊은 청년들의 경우에서 적혈구가 모두 분리되어 연전상태가 없는데 반해, 대체로 50대 남성의 경우에는 10개 내외의 적혈구가 응집된 연전형성을 보이는 것이 일반적인 증상이다. 이런 적혈구의 연전형성은 혈류속도를 떨어트린다.

본 연구에서 손 부위에 펄스자기장을 인가한 후 혈액을 채혈하여 적혈구의 연전상태를 확인하는 연구과정은 이미 발표한 논문에서 상세하게 확인할 수 있다[7, 8]. 단지 본 연구에서는 채취된 혈액의 적혈구 움직임을 동영상으로 추가해서 조사하였다. 적혈구의 동영상 실험은 우선 채취한 혈액을 슬라이드 글라스 위에 한 방울 떨어뜨리고 빨리 커버글라스를 덮는다. 이를 현미경으로 적혈구의 상태를 확인한 후 부착된 동영상 카메라로 촬영하였다. 펄스자기장 자극하기 전에 10~15개 이상 적혈구가 응집된 연전상태로 있는 혈액에서는 적혈구의 움직임을 거의 확인할 수 없었다. 반면에 펄스자기장 자극을 5분, 10분, 15분, 20분 동안 손바닥에 자극한 후에 적혈구 움직임을 동영상으로 확인한 결과 적혈구의 움직임이 매우 활발하여 이동속도를 동영상으로 측정하여 분석하였다.

### III. 결과 및 고찰

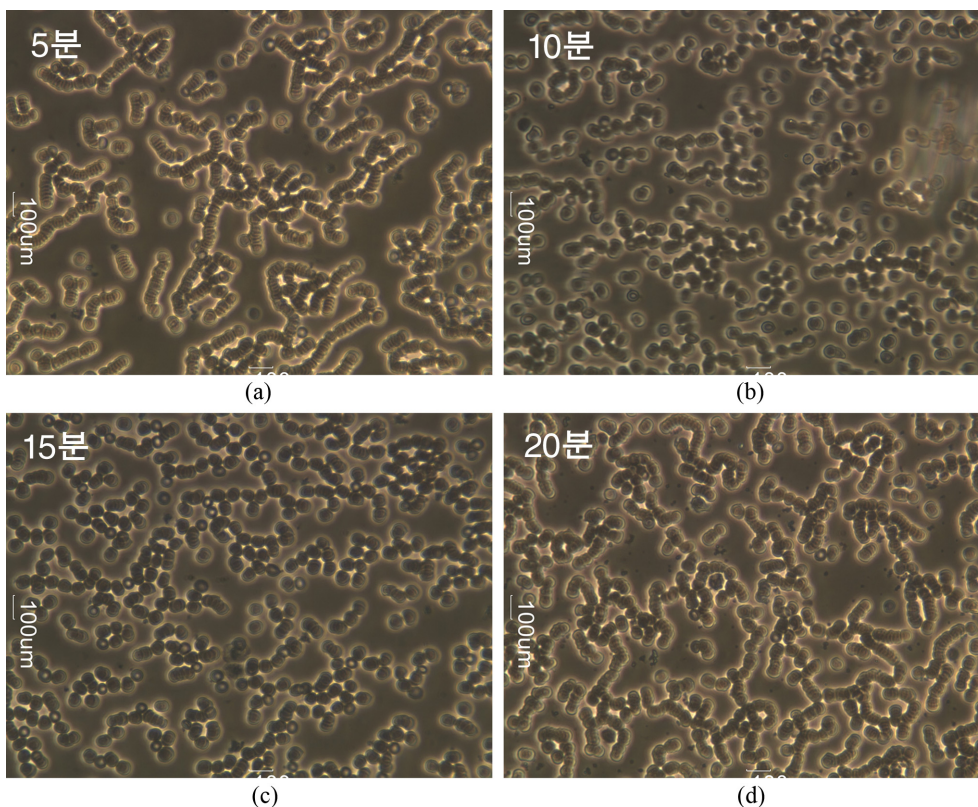
Fig. 2에서 보여주듯이 연구대상자의 적혈구 연전상태는 매우 단계가 높은 것으로 볼 수 있다. 본 연구자의 선행연구에

서 생혈액 검사에서 가장 중요한 적혈구의 형태(morphology of red blood cells)에서 연전의 응집도 상태를 4 단계로 정의했다[7]. 즉 연전 1 단계는 2개 이하로 적혈구가 붙어있을 경우, 2 단계는 3~6개 정도가 붙어있을 경우, 3 단계는 7~12개 정도가 붙어있을 경우, 4 단계는 13개 이상 붙어있을 경우로 분류하였다. 본 연구대상자는 펄스자기장 자극 전에 적혈구의 연전상태는 3 단계 상태임을 알 수 있다.

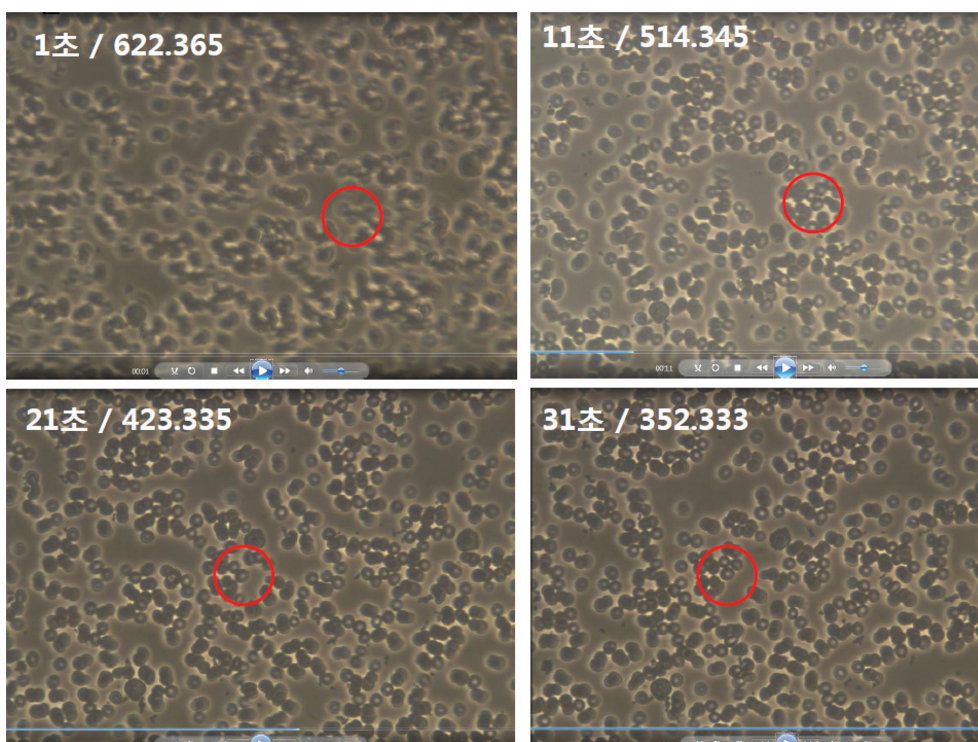
연구대상자의 손에 펄스자기장 자극을 가했을 때 자극시간에 따라 적혈구 연전형성의 상태가 변화하는 것을 확인하였다. 본 연구에서는 5분에서 20분까지 자극시간을 변화시킨 후에 바로 채혈하여 적혈구의 연전상태를 확인하였다. Fig. 3은 펄스자기장의 자극시간을 (a) 5분, (b) 10분, (c) 15분, (d) 20분 변화시킨 후에 적혈구의 연전상태를 확인하기 위해 측정한 morphology 사진이다. 펄스자기장 자극을 5분 한 후에는 적혈구의 연전형성 상태가 자기장을 자극하기 전 상태인 Fig. 2와 별로 변화하지 않고 3단계를 그냥 유지되고 있음을 확인할 수 있었다. 그러나 10분 자극한 후 연전상태는 Fig. 3(b)에서 볼 수 있듯이 적혈구가 대체로 떨어져 있음을 확인할 수 있었다. 거의 1단계로 향상되었음을 확인할 수 있었고, 이에 따라 적혈구의 움직임도 매우 빨랐다. 그러나 15분으로 펄스자기장 자극을 증가시켰을 때는 적혈구의 연전상태가 다시 나빠져서 2단계인 5~6개씩 붙어있는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 20분까지 자극시간을 늘리면 적혈구의 연전상태는 3단계 이상으로 증가하여 자기장 자극하기 전 상태와 비슷한 결과를 보였다.

이런 이유를 설명하기는 매우 간단한 문제는 아닐 듯하다. 물리학적으로 강한 펄스자기장을 가했을 때 응집된 적혈구가 분리되는 것은 적혈구 중심에 있는  $Fe^{2+}$  이온이 외부의 강한 자기장으로 Lorentz force가 순간적으로 작용하여 흩어지는 것으로 설명할 수 있는 듯한데, 오히려 펄스자기장을 10분 이상 가하면 적혈구가 다시 응집되는 것은 물리적 관점으로는 이해되기 어렵기 때문이다. 단지 생물학적으로 또는 의학적으로 외부의 자극에 대한 생물학적 반응이 보호본능에 따른 항상성(homeostasis) 유지를 위해 최적조건이 있다는 발표들이 있어 다른 관점의 이해와 해석이 필요해 보인다. 임상실험을 임한 연구대상자의 느낌으로는 10분 이상 펄스자기장을 손에 가했을 때 피로도가 높아짐을 감각적으로 느낄 수 있어서 자기장 자극시간에 따른 체계적인 임상실험이 요구된다. 이에 대한 연구는 많은 연구대상자를 대상으로 체계적인 방법으로 진행해야 할듯하여 본 연구에서는 가능성만 제시하고자 한다.

본 연구에서는 펄스자기장 자극시간에 따라 적혈구의 응집된 연전형성이 분리되고, 그에 따라 적혈구의 활동성을 동영상으로 확인하였다. 즉, 자기장 자극시간에 따른 적혈구의 이동속도를 알아보기 위해 펄스자기장을 손바닥에 5분, 10분,



**Fig. 3.** (Color online) Change of rouleau state of red blood cells with the increase of magnetic stimulus time in the hand: (a) rouleau state of red blood cells after pulse magnetic stimulus during 5 minute in left hand, (b) after 10 minute stimulus, (c) after 15 minute stimulus, and (d) after 20 minute stimulus.



**Fig. 4.** (Color online) Dynamic image of red blood cells after pulse magnetic stimulus during 15 minute in left hand. The images of 1, 11, 21 and 31 sec were captured from the dynamic video to trace the dynamic motion of red blood cells after magnetic stimulus.

15분, 20분 동안 자극한 후 손가락 끝에서 10 μL 정도를 채혈하여 슬라이드 글라스에 떨어뜨린 후 동영상을 촬영하여 적혈구의 이동속도를 측정하였다. Fig. 4는 펄스자기장을 15분 자극한 후 채혈한 혈액을 slide glass에 떨어뜨린 후 현미경으로 관찰된 동영상 사진을 10초 간격으로 적혈구의 움직임을 추적하여 이동속도를 확인하였다. 그림에서 보여주듯이 원 안에 들어있는 적혈구의 위치를 추적하여 계산하였다. 펄스자기장을 10분 동안 가했을 때 적혈구의 활성도가 가장 크지만 워낙 빠른 움직임으로 동영상의 정지화면을 잡기가 어려웠고 캡처한 사진의 상태가 복잡하여 본 논문에서는 15분 자극시간에 대하여 보여주고자 했다.

채혈 후 혈액을 slide glass에 떨어뜨리면 적혈구가 활발하게 움직이다가 어느 시간이 경과한 후에는 정지한다. 즉 최종적으로는 정지하게 되는데 이를 적혈구의 활동시간으로 정의했을 때 펄스자기장을 자극하기 전에 채혈된 혈액의 경우에는 6초 후에 움직임이 사라졌다. 즉 혈액을 slide glass에 떨어뜨리고 나서 거의 움직임을 확인할 수 없었다. 5분 자극한 경우에도 다소 움직임이 증가하였지만 큰 차이는 없었고 대략 12초 후에 정지하는 것을 확인하였다. 그러나 10분 자극하는 경우에는 개별적으로 분리된 적혈구가 최고로 활성성을 보여주며 158초까지 급격히 활동시간이 증가함을 확인하였다. 적혈구의 움직이는 속도가 매우 빨라서 동영상으로 촬영시 높은 해상도가 요구된다. 15분 자극의 경우에는 40초로 감소하였고, 20분 자극의 경우에는 원래 자기장의 자극 이전의 적혈구 활동시간과 비슷하게 7초를 보였다. 이 결과는 앞에서 설명했듯이 적혈구의 연전형성 상태와 비슷한 결과를 보임을 확인하였다.

Fig. 5는 적혈구의 활동성을 좀 더 정확히 보여주기 위해 10분과 15분 자기장을 자극한 경우 특정한 적혈구의 이동

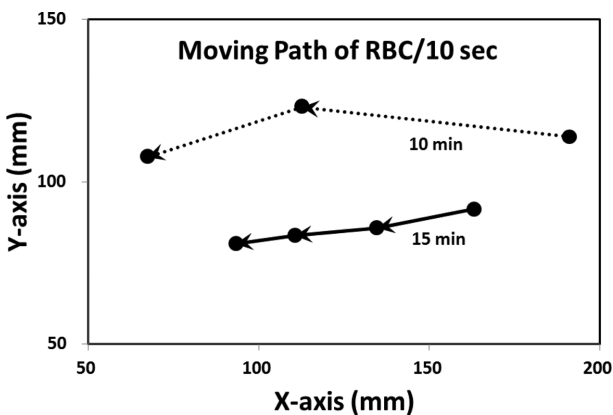


Fig. 5. Schematic diagram for the dynamic motion of red blood cells after pulse magnetic stimulus during 10 and 15 minute in the hand. The points show the change of red blood cells in the interval of 10 second.

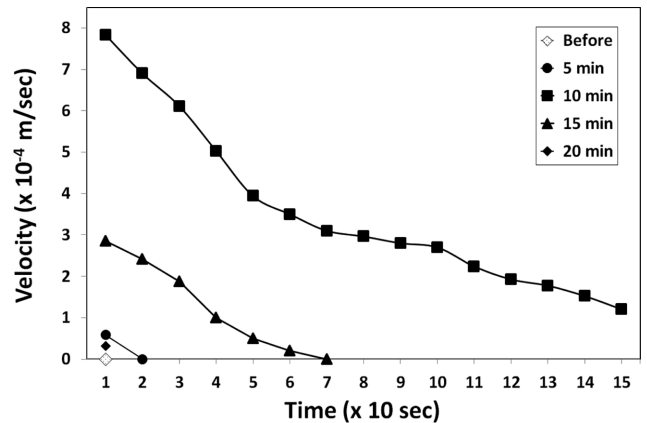


Fig. 6. The moving velocity of red blood cells as a function of magnetic stimulus time: ◇ before stimulus, ● 5 minute stimulus, ■ 10 minute stimulus, ▲ 15 minute stimulus, and ◆ 20 minute stimulus.

상태를 10초 간격으로 추적하여 도식적으로 표시하였다. 10분 자극한 경우에는 앞선 결과에서 보여주듯이 이동속도가 빨라서 20초 후에 화면에서 사라진 것을 확인하였다. 그러나 15분 자극한 경우에는 10초 간격으로 추적했을 때 이동속도가 떨어진 것을 Fig. 5의 아래 표시에서 확인할 수 있었다.

최종적으로 모든 자극시간(0분, 5분, 10분, 15분, 20분)에 따른 적혈구의 활성성을 여러 적혈구를 통해 확인하여 평균적인 이동속도를 계산하여 Fig. 6에서 종합적으로 보여주고 있다. 펄스자기장을 10분 자극한 경우가 가장 속도가 빨라서 처음에는  $8 \times 10^{-4}$  m/sec로 시작해서 150초 지난 후에는  $1.5 \times 10^{-4}$  m/sec 이하로 떨어졌다. 그러나 15분 자극한 경우에는  $3 \times 10^{-4}$  m/sec로 시작해서 70초 후에 움직임이 정지된 것을 확인할 수 있었다. 5분의 경우에는  $0.5 \times 10^{-4}$  m/sec에서 시작해서 10초 후에는 바로 정지했고, 자극 전과 20분 자극 경우에는 거의 비슷하게 처음부터 움직임이 없었다.

지금까지 결과를 종합해보면 적혈구의 응집에 의한 연전상태는 적혈구의 활성성과 분명히 관련이 깊은 것으로 확인할 수 있었다. 적혈구가 많이 응집되어 덩어리가 커지면 활성성이 떨어지고 그에 따라 속도가 느려지는 것은 당연한 결과라 볼 수 있다. 단지 본 연구에서 적혈구의 연전상태와 혈관에서 혈액의 속도를 정확히 관련짓기 위해서는 체내에 있는 혈액의 속도를 측정해야 하지만 이를 측정하기 위해서는 Doppler 초음파 측정기를 사용해야한다. 이 경우에는 의학 분야의 전문가들과 공동의 연구가 필요하여 다음에 논문으로 정리해야 할 예정이다. 또한 앞에서 언급했듯이 자기장 자극시간이 10분 이상일 경우에 적혈구의 연전상태가 다시 나타나는 경우에 대한 해석은 생물학적으로 다양한 연구를 통해 가능한 것으로 또 다른 과제로 남겨야 할 것이다.

#### IV. 결 론

강한 펄스자기장 자극시스템을 이용하여 손에 인가한 후에 현미경을 이용한 생혈액 분석한 결과, 적혈구의 연전현상이 분명하게 호전됨과 동시에 적혈구의 이동속도도 빠르게 증가하는 것을 동영상을 통해 확인하였다. 특히 펄스자기장의 자극시간에 대한 적혈구의 연전상태와 활성도는 최적의 시간이 있음을 확인하였다. 최종적으로 펄스자기장은 적혈구의 연전을 개선시키는 결과를 분명히 보여주고 있다.

#### 감사의글

본 논문은 2014년도 상지대학교 교내연구비 지원을 받아 수행되었으며, 실험은 연구책임자가 직접 참여하여 실험하였다. 보조적으로 박혜지 학생이 도와주었으며 이에 감사드립니다.

#### References

- [1] D. G. Hwang and J. Y. Lee, Korea patent 1015118720000 (2015).
- [2] J. Malmivuo and R. Plonsey, *Bioelectromagnetism*, Oxford university press, (1995) chapter 1.
- [3] B. Pleger, F. Janssen, P. Schwenkreis, B. Volker, C. Maier, and M. Tegenthoff, *Neuroscience Lett.* **356**, 87 (2004).
- [4] H. N. Mayrovitz and P. B. Larsen, *Wounds* **4**, 197 (1992).
- [5] C. S. Kim, *Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society* **18**, 23 (2001).
- [6] M. J. Kwon, M. K. Kim, W. T. Shin, J. E. Heo, H. M. Youn, S. M. Kim, and W. I. Kim, *Korean J. Acupuncture* **24**, 91 (2007).
- [7] D. G. Hwang, *J. Kor. Magn. Soc.* **24**, 1 (2014).
- [8] J. Y. Lee, Ph D. Thesis, Sangji University, Korea (2012).