

Effects of Pulse Magnetic Field in Capillary Blood Vessel of *In-vivo* and *In-vitro*

Jinwon Mok, Seonghyun Han, Seunghwan Bang, and Hyunsook Lee*

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

(Received 10 April 2019, Received in final form 21 April 2019, Accepted 22 April 2019)

It is known that the capillary blood vessels play an important role in diagnosing blood circulation and cardiovascular disease in human body. This study aims to investigate how blood flow and morphological changes of capillary vessels are affected by pulse magnetic field (PMF) stimulus, and to identify the role of the magnetic field in prediction and treatment of diseases related to blood circulation disorders. For *in vivo* experiment, the changes in nailfold capillary morphology and capillary blood flow velocity were measured after applying PMF to the palm of the left hand for 5 min. For *in vitro* experiment, the change of the blood flow velocity in the PDMS (Polydimethylsiloxane) microchannel was measured for the various PMF intensity. The change in capillaroscopic features after PMF stimulus approached normal range in both their length and width, and the blood flow velocity also increased by 78.4% from 725 $\mu\text{m/s}$ to 1294 $\mu\text{m/s}$. In addition, the blood flow velocity in the microchannel was also improved even if PMF intensity decreases from 2700 Oe to 250 Oe. Optimal conditions for improving the morphology and blood flow in the capillary vessel could be set to PMF intensity of 250 Oe and stimulus time of 5 minutes. Therefore, steady PMF stimulus can be proposed as a non-invasive treatment for the prevention of microvascular related diseases such as hypertension, myocardial infarction and diabetes as well as the blood circulation disorder of the human body.

Keywords : capillary loop, micro-channel, pulse magnetic field, red blood cell

생체 내 및 생체 외 모세혈관에서 펄스자기장의 영향

목진원 · 한승현 · 방승환 · 이현숙*

상지대학교 보건과학대학 한방의료공학과, 강원 원주시 상지대길 84, 26339

(2019년 4월 10일 받음, 2019년 4월 21일 최종수정본 받음, 2019년 4월 22일 게재확정)

모세혈관은 인간의 신체 내에서 혈액순환 및 심혈관질환을 판단하는 중요한 역할을 하고 있기에, 본 연구에서는 모세혈관의 혈류흐름과 형태변화가 펄스 자기장 자극 시 어떤 영향을 받는지 관측하여 혈액순환장애와 관련된 질병 예측 및 치료에 자기장의 역할을 규명하고자 하였다. 생체 내 실험(*In-vivo*)으로 왼손손바닥에 펄스자기장을 5분 인가한 후 손톱 끝 모세혈관의 형태 및 혈류속도변화를 측정하였으며, 인체모세혈관을 모사한 인공 미세채널에서는 펄스자기장의 자극 세기를 조절함으로써 자기장세기에 따른 혈류속도의 변화를 확인하였다. 손톱 끝 모세혈관의 형태는 길이와 폭 모두 정상범위로 근접하였으며, 혈류속도 또한 725 $\mu\text{m/s}$ 에서 1294 $\mu\text{m/s}$ 으로 78.4% 이상 증가하였다. 또한 미세채널에서의 혈류속도는 펄스자기장세기가 250, 1000, 2700 Oe 모두에서 각각 13%, 37.6%, 80.5%으로 개선되었다. 따라서 모세혈관에서의 형태와 혈류흐름 개선을 위해 최적의 조건인 펄스자기장 자극 세기와 인가시간은 각각 250 Oe와 5분으로 설정할 수 있다. 그러므로 꾸준한 펄스자기장 자극은 인체의 혈액순환장애뿐만 아니라 고혈압, 심근경색, 당뇨병 등 미세혈관관련 질병 예방에 비침습적인 치료법으로 제안될 수 있다.

주제어 : 모세혈관, 마이크로채널, 펄스자기장(PMF), 적혈구(RBC)

I. 서 론

생리학자인 로빈 프레우스(Robin Fhraeus)가 포유류 혈액의 흐름특성을 연구한 내용에 따르면, 혈액 유동성에 있어 적

혈구(RBC: Red Blood Cell) 응집 및 혈류속도 등 혈액순환 불균형으로 인해 여러 가지 질병이 야기된다고 보고되었다[1]. 그러므로 현대 의학에서 혈류 유변학 및 혈류 역학을 이해한다면 혈액순환 관련 질병 치료 및 예방에 큰 도움이 될 것으로 예상된다.

심혈관질환의 발생기전은 인체 내 혈액순환에 많은 영향을 받는 것으로 알려져 있는데, 혈액순환의 문제가 발생하면 고

혈압, 당뇨병, 고지혈증, 뇌졸중 등 많은 합병증이 일어난다. 이러한 혈액순환장애가 정밀 검사시 뚜렷한 원인이 발견되지 않은 이유는 동맥, 정맥과 같은 큰 혈관만을 진단하기 때문이다. 그러나 질병의 원인은 모세혈관이 막히고 변형되면서부터 시작한다. 왜냐하면 모세혈관은 동맥과 정맥을 연결하는 매우 가는 혈관이며, 인체의 각 조직에서 영양분과 노폐물을 서로 교환하는 역할을 하기 때문이다. 그러므로 모세혈관의 혈액순환은 조직의 항상성 유지 상태를 판단할 수 있는 중요한 지표가 될 수 있다[2].

우리 몸의 혈액순환계에서 손톱 끝 모세혈관 모양에 따라 혈압 및 혈액순환과 같은 여러 가지 건강 상태가 결정되며, 죽상동맥경화, 당뇨, 급성신장염 등 질병유무를 판단 및 예측할 수 있다고 알려져 있다[3,4]. 그러므로 건강 유지를 위해 모세혈관 상태를 정확히 파악하여 질병을 예방하는 것이 필요하다.

많은 연구에서 모세혈관의 모양 및 혈류속도에 관한 결과를 보고하고 있는데, 혈관의 직경이나 마이크로채널 안에서 혈액점도에 따른 적혈구의 형태 변화 및 혈류속도의 중요성이 많이 밝혀지면서[5,6], 혈액순환을 개선하는 다양한 치료법이 개발되고 있다[7].

그 중에서 인체에 직접적으로 가하지 않는 비침습적 치료인 자기장에 관한 연구도 활발히 수행되고 있다. 엘비비지(Elblbesy)에 따르면 정자기장에 노출된 적혈구는 구형이 감소되었고, 응집성이 증가되는 결과를 보여주었다[8]. 우에노(Ueno)에 따르면 교류자기장에서는 혈류량이 감소하고, 근육 수축을 동반한 통증이 나타났다[9]. 이처럼 여러 연구 결과에서 자기장이 인체에 영향을 미치는 것으로 보고되고 있다.

따라서 본 연구에서는 펄스자기장(PMF: Pulsed Magnetic Field) 자극 시 모세혈관의 혈류와 형태변화를 관측하여 혈액순환장애와 관련된 질병 예측 및 치료에 자기장의 역할을 규명하고자 한다.

이전 연구결과에 따르면, 강한 펄스 자기장 자극을 인체에 인가할 때, 심부 깊숙이 자기장이 투과하여 체내에 있는 이온전해물질에 영향을 주어서 적혈구의 연전 현상이 호전되었음을 알 수 있었다[10]. 또한 손톱 끝 모세혈관의 비정상적인 루프 형태가 펄스자기장 자극 후 정상으로 돌아오는 등 형태학적 변화 및 혈류 속도 개선에 긍정적인 영향을 미친다고 보고되었다[11].

하지만 기존의 연구에서는 펄스자기장의 자극세기를 2700 Oe로 고정하고, 인가시간을 10분으로 고정하여 실험한 결과를 보고하였는데, 본 연구에서는 펄스자기장의 자극세기와 자극시간을 변수로 하여 손톱 끝 모세혈관뿐만 아니라 PDMS (Polydimethylsiloxane)로 만든 인공 미세채널에서 펄스 자기장의 자극 세기와 인가시간을 최적화하여 혈류속도에 어떠한 변

화를 가져오는지 실험하고자 한다.

생체 내 실험(*In-vivo*)에서는 손톱 끝 모세혈관 관측을 통해 펄스자기장 인가시간을 최소시간으로 설정하여 모세혈관의 형태 및 혈류속도 변화가 자극시간에 따라 어떠한 영향을 미치는지 연구하고자 한다. 생체 외 실험(*In-vitro*)에서는 MEMS 공정으로 제작한 미세혈관에 펄스자기장의 세기를 다양하게 조절함으로써 자기장 유무와 자기장세기에 따른 혈류속도의 변화를 확인한다.

이와 같이 본 연구는 모세혈관에서 혈류거동 및 흐름에 대한 펄스 자기장 영향을 해석하기 위한 연구의 선행연구로서, 손톱 끝 모세혈관과 인공 마이크로 채널을 이용하여 펄스 자기장 효과를 관찰 하고자 한다. 본 연구를 통하여 얻게 되는 실험결과들은 펄스 자기장 조건마다 나타나는 특성을 연구하는데 필요한 기초자료로 활용할 수 있을 것이다.

II. 실험 방법

1. 손톱 끝 모세혈관(*In-vivo*)

손톱 끝 모세혈관 관측을 위해 Fig. 1(b)와 같이 210배 배율을 갖는 MC500S(주)인우하이텍) 현미경을 사용하였고, 이 미지 해상도를 극대화하기 위해 중지 끝에 Fig. 1(a)처럼 immersion oil 0.5 ml 바르고 실험을 진행한다. 현미경에 중지를 고정한 후, 가장 잘 보이는 모세혈관의 형태를 관찰하고, 모세혈관 내부에서 흐르는 혈류속도를 측정한다.

본 실험에서 사용된 펄스자기장 자극 시스템은 가로 12.0

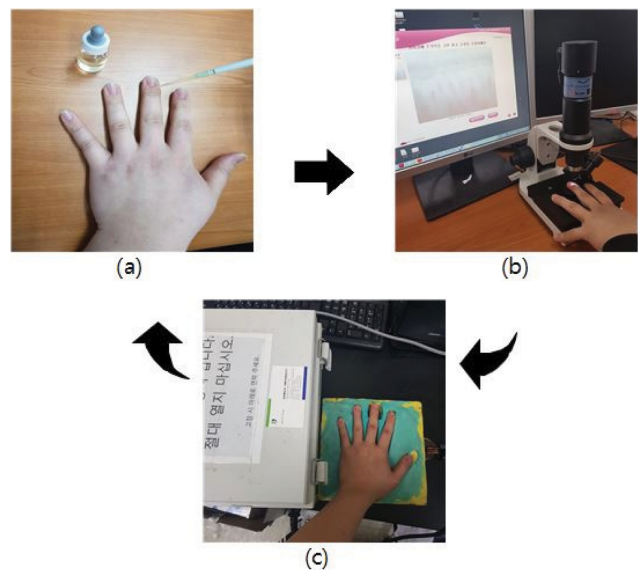


Fig. 1. (Color online) (a) Drop immersion oil of 0.5 ml to the middle fingertip for improving the image resolution. (b) Observation of nail capillary using the nailfold capillary microscopy. (c) PMF stimulus on nailfold capillary for 5 minutes.

cm, 세로 4.5 cm로 10번 감아서 제작된 긴 타원형의 코일을 사용하여 2700 Oe의 세기와 transition time이 0.102 ms이다 (Fig. 1(c)).

펄스자기장이 손바닥에 미치는 온도변화를 최소화하고, 자극코일에 접촉하지 않도록 손 모양으로 제작된 석고판에 실험자의 손바닥을 올려두고, 5분간 펄스자기장에 노출시킨다. 자기장 자극 후 다시 모세혈관 현미경을 사용하여 펄스자기장 자극유무에 따른 손톱 끝 모세혈관의 형태학적 변화와 혈류흐름을 관찰했다. 본 실험에서 총 10명(남: 5 여: 5, 나이: 23 ± 2세)의 피실험자가 연구에 참여하였으며, 서면동의를 얻어 펄스자기장의 자극의 지속시간에 따른 변화를 확인하기 위해 1개월 동안 주 5일 반복실험하였다.

2. 인공 마이크로채널(Micro-channel)

MEMS 공정 기술을 이용하여 PDMS로 처리한 인공 마이크로 채널은 Fig. 2(a)에서 보여준다. Slide glass 위에 채널을 고정하고, 마이크로 채널 내부로 혈액을 유입하기 위하여 Syringe Pump(NE-300)와 채널 입구를 연결하였다. 채널 중앙의 두께는 15 μm이고, 두 가지가 만나는 지점마다 두께가 2배씩 증가하도록 설계 하였다. 채널 두께 및 높이 측정은 RH-2000 NPS(주)하이룩스코리아) 스캐너를 사용하였다.

실험을 위해 필요한 혈액은 상지대학교 생명윤리심의위원회로부터 IRB면제 심의 후 대한적십자사 강원혈액원으로부터 공급을 받아 사용했다. 적혈구만을 추출하기 위하여 원심분리(3000 rpm, 10분)를 2회하여 혈장과 백혈구 및 혈소판을

제거하였다. Fig. 2(b)와 같이 원심분리 한 혈액에서 단일 적혈구의 관찰을 좀 더 효과적으로 추적하기 위해 인산완충 생리식염수(Phosphate buffer saline)를 사용하여 실험 혈액의 헤마토크릿(Hematocrit)을 최종 농도 5%로 희석하였다.

광학현미경(AE31, Motic, (x800))과 Syringe Pump를 이용하여 자기장 인가 전후 혈액의 흐름 및 속도를 관찰하였다. 유량은 1 μl/min로 설정하였다. 펄스자기장 인가시간은 3분으로 고정하였고, 자기장의 세기는 250~2700 Oe로 조절하여 자기장 세기에 따른 혈류속도를 관찰하고 측정하였다.

III. 결 과

In-vivo 실험에서는 기존 선행 연구에서 펄스자기장 자극 시간을 10분으로 고정하였던 것과 달리 최적의 펄스자기장 자극 시간을 확인하기 위하여 인가시간을 5분으로 줄이고 설정하여 수행하였다. 펄스자기장 자극을 1개월 동안 주 5회 가한 후, 모세혈관 형태변화와 혈류속도를 꾸준히 관측하여 분석하였다(Table I).

모세혈관의 형태학적 정상범위는 길이가 250 ± 10 μm, 폭이 14 ± 3 μm로 알려져 있다. Fig. 3에서는 자기장 전후의 모세혈관 형태변화를 보여주는데, 자기장 자극 전 길이 237 μm, 폭 26.3 μm이었던 모세혈관이 1개월 동안 펄스자기장 자극을 꾸준히 인가한 후, 길이와 폭이 각각 268 μm, 16.3 μm로 자기장 자극 전보다 정상범위로 접근함을 알 수

Table I. The change of width, length, and velocity in nail capillary morphology according to the stimulating time of 5 min and 10 min.

Stimulating time (min)	Length (μm)		Width (μm)		Velocity (μm/s)	
	Before	After	Before	After	Before	After
10	245	275	16.25	17.25	430	505
5	237	268	26.25	16.3	725	1294

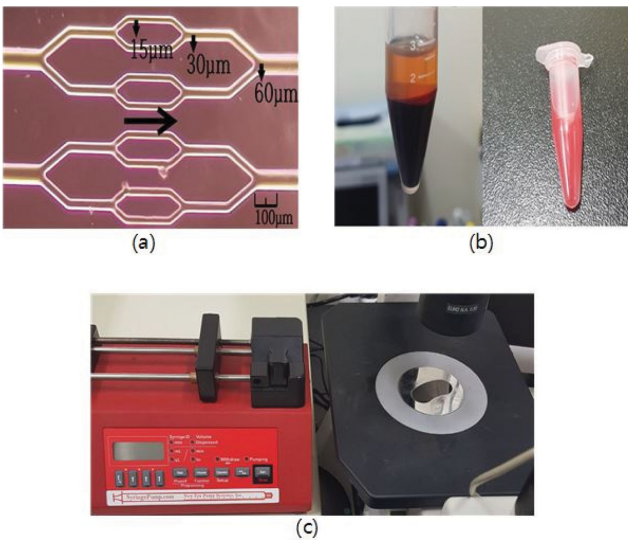


Fig. 2. (Color online) (a) Artificial micro-channels using PDMS with MEMS process. (b) After centrifugation to remove plasma and buffy coat, hematocrit (Ht) of 5% was obtained using PBS. (c) Observation of artificial micro-channels using a microscope with syringe-pump of 1 μl/min flow rate.

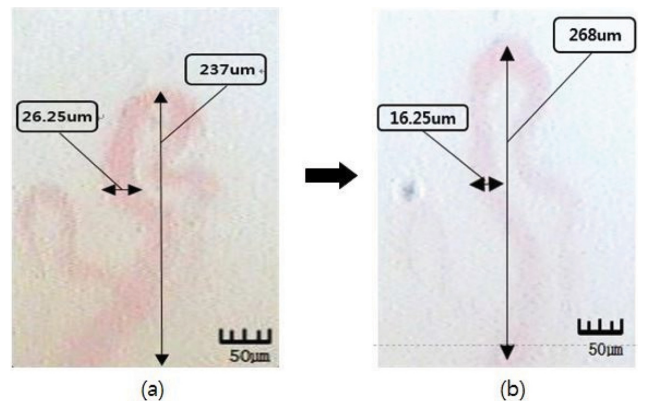


Fig. 3. (Color online) Nail capillary morphology. (a) before (b) after PMF stimulus of 5 min for 1 month.

있었다. 혈류속도 또한 시간에 따른 연속 저장된 이미지에서 혈류의 움직인 거리를 측정하여 계산하였는데, 자기장 자극 전에는 725 $\mu\text{m/s}$, 자극 후에는 1294 $\mu\text{m/s}$ 로 혈류속도가 증가하였다.

Table I에서는 자기장 인가시간이 10분이었던 기존의 연구와 비교하여 모세혈관의 형태학적 변화인 길이 및 폭, 그리고 혈류흐름의 속도를 비교하였다. 이 연구결과에 의하면 펄스자기장 인가시간을 10분에서 5분으로 줄여도 모세혈관의 형태나 혈류속도가 모두 개선되었음을 알 수 있었다. 그러나 자기장 인가시간의 최적화를 확인하기 위해서는 다양한 혈관 질환을 가진 피실험자를 대상으로 1개월보다 더 긴 기간 동안 펄스자기장 자극실험을 진행하여 모세혈관의 형태나 속도 변화를 관찰해야 할 수 있을 것으로 판단된다.

마이크로채널을 이용한 *In-vitro* 실험에서는 펄스자기장 자극세기의 최적조건을 확인하기 위해 자극 세기를 1000 Oe로 낮추어서 실험을 하였다. 가능한 인체의 모세혈관을 모사하기 위해 가지치기 모양의 마이크로채널을 PDMS로 사용하여 제작하였다.

Fig. 4는 마이크로 채널내의 혈류속도를 나타내는 영상으로 여러 데이터 중 하나의 데이터를 선택하여 보여준다.

일정한 유량으로 혈류를 흐르게 하여 빨간색으로 표시된 단일 적혈구의 이동속도를 추적하여 펄스자기장 자극 전, 후의

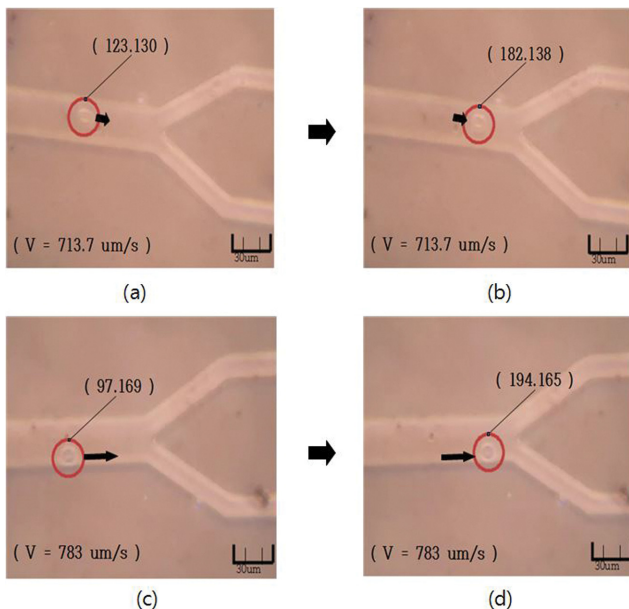


Fig. 4. (Color online) Continuously captured microscopic images to measure RBC flow velocity in one selected micro-channel. (a) and (b) before PMF, (c) and (d) after PMF. The time interval and moving distance of red circle between images (a) and (b) were 50 ms, 35 μm , respectively. The correspondings to the images (c) and (d) were 50 ms and 39 μm . 1 pixel corresponds to 0.337 μm .

혈류속도를 계산한다. Fig. 4(a)와 (b)는 자기장 자극 전 적혈구의 이동경로를 보여주는데, 두 이미지의 시간간격은 50 ms 이고 이동거리는 35 μm 로, 속도가 713.7 $\mu\text{m/s}$ 이었다. Fig. 4(c)와 (d)는 자기장 자극 후의 적혈구 이동경로를 보여주는데, 두 이미지의 시간간격 또한 50 ms이고, 이동거리는 39 μm 로, 속도가 783 $\mu\text{m/s}$ 이었다. 1000 Oe의 펄스자기장 자극 후 혈류속도가 9.7% 증가하였음을 알 수 있었다.

1000 Oe 펄스자기장 자극에 노출된 적혈구의 혈류속도가 증가한 것으로 보아, 자기장 세기를 감소시켜도 미세혈관의 혈류속도가 개선되었을 확인하였다. 혈류속도를 개선하기 위한 최적의 펄스자기장의 세기를 조사하기 위하여, 250 Oe에서도 반복실험 하였다.

Fig. 5는 각 자기장의 세기마다 11개의 실험 데이터를 수집하여 평균화하고 분석한 결과로 펄스자기장의 세기에 따른 마

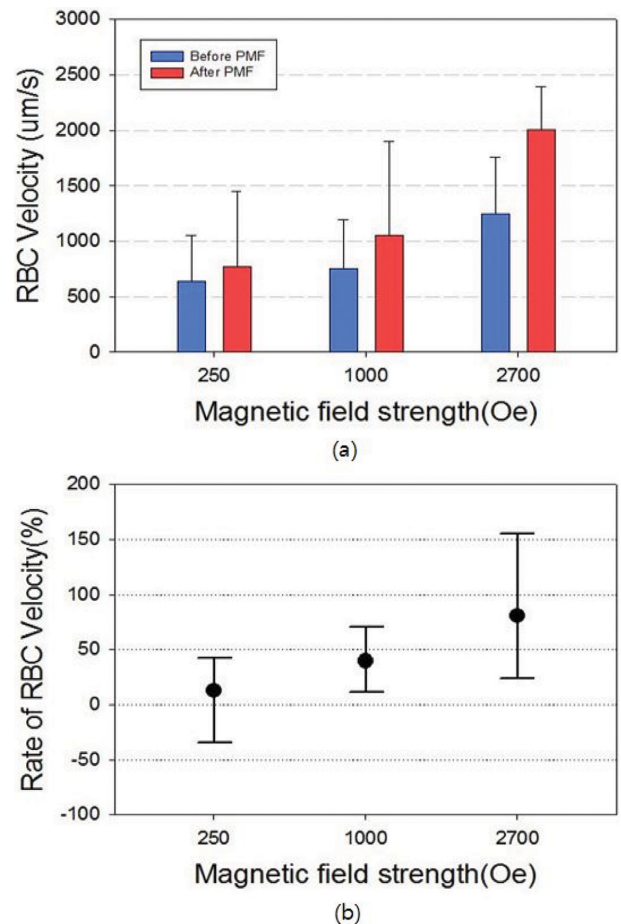


Fig. 5. (Color online) (a) The comparison of RBC flow velocity in micro-channel before and after PMF stimulus vs. PMF intensity of 250 Oe, 1000 Oe, and 2700 Oe. (b) Rate of RBC flow velocity after PMF stimulus, compared to before PMF. For the PMF intensity decreasing to 250 Oe, RBC flow velocity was improved than before PMF stimulus, even though it was smaller than one in 1000 Oe and 2700 Oe.

이크로 채널 내에서의 적혈구의 혈류속도를 보여준다. 2700 Oe에서는 혈류 속도가 자극 후 평균 1.6배 개선이 되었고, 1000 Oe로 낮추었을 때에도 혈류속도가 평균 1.4배 증가한 것으로 측정되었다. 그리고 250 Oe까지 자기장세기를 낮추었을 때에도 혈류속도가 1.2배 증가한 것이 관측되었다(Fig. 5(a)).

Fig. 5(b)에서는 펄스자기장 자극 전, 후의 속도증가비율을 표준 분포도로 확인할 수 있게 나타낸 것이며, 2700 Oe, 1000 Oe 펄스자기장의 세기로 자극한 결과는 각각 80.5%, 37.6%로 혈류속도가 증가하였고, 250 Oe로 자극하였을 때에도 13%로 혈류속도가 증가함을 볼 수 있었다.

250 Oe와 같은 미세자기장으로 인가하였을 때에도 혈류속도가 2700 Oe, 1000 Oe와 같이 크게 증가하지는 않았지만 마이크로 채널 내부에서 적혈구의 혈류속도 개선 효과를 볼 수 있었다. 그러므로 본 연구의 실험조건에서는 모세혈관의 혈류속도 개선을 위한 최적의 자기장 자극세기는 250 Oe로 판단된다.

IV. 결론 및 고찰

혈관과 조직 사이에서 기체, 대사물을 포함한 액체와 노폐물 등을 교환하는 역할을 하는 모세혈관은 인체내 혈액순환에 중요한 역할을 하고 있기에, 본 연구에서는 *In-vivo*, *In-vitro* 실험에서 펄스 자기장 자극 시 모세혈관의 혈류흐름 및 형태 변화에 어떤 영향을 받는지 관측하여 혈액순환장애와 관련된 질병 예측 및 치료에 자기장의 역할을 규명하고자 하였다.

In-vivo 실험에서 자기장 인가시간을 5분으로 낮추어 설정하여도 모세혈관의 길이와 폭 변화가 정상범위인 길이 $250 \pm 10 \mu\text{m}$, 폭 $14 \pm 3 \mu\text{m}$ 로 근접함을 알 수 있었다.

또한, *In-vitro* 실험인 인공 마이크로 채널내에서 펄스자기장 자극세기를 2700 Oe에서 1000 Oe, 250 Oe까지 낮추며 실험을 진행 한 결과, 적혈구의 혈류 흐름이 개선되었음을 보았다. 따라서 마이크로채널에서 자기장의 세기와 혈류속도증가 상관관계를 고려하면 250 Oe보다 작은 세기에서도 혈류개선의 효과를 예상할 수 있다.

본 연구를 통해 생체 내 및 생체 외에서 펄스자기장이 혈류개선에 긍정적인 영향을 주는 것을 확인하였고, 자극 시간, 자기장 세기를 최적화할 수 있음을 증명하였다. 이러한 결과를 이용하여 앞으로 당뇨병, 급성신장염 등 여러 모세혈관 관련 질병들을 진단하고 모니터링 하거나, 동맥경화, 고혈압, 심근경색 등 혈액순환 관련 질병예방을 예방하는 시스템에 있

어서 펄스자기장이 매우 중요한 도구 및 지표로 활용 될 가능성을 제시한다.

또한 앞서 말한 듯이, 혈액순환장애를 진단할 시, 모세혈관의 형태학적인 변화 및 혈류흐름속도가 큰 역할이 되기 때문에 자기장 치료를 진행하는 곳에 있어서 자기장의 세기, 주파수, 인가시간, transition time 등 최적 조건이 필요하다. 특히, 여러 가지 질병을 가진 환자 및 연령에 따른 자기장의 최적조건을 확립할 필요가 있다.

앞으로 연구결과를 좀 더 확장시키기 위하여 복잡한 모세혈관을 모사하기 위해 다양한 모양의 마이크로 채널을 제작하여 혈류학적 유변학 연구가 필요하며, 이를 결정하는 적혈구 변형성(Deformability), 혈액 점성도(Viscosity) 등 생물학적으로 펄스자기장이 인체에 끼치는 영향을 확인하고자 한다.

감사의 글

이 논문은 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단의 이공분야기초연구사업(NRF-2017R1D1A1B03034105)의 지원으로 수행한 결과이다.

References

- [1] H. L. Goldsmith, G. R. Cokelet, and P. Gaetgens, *Am. J. Physiol.* **257**, H1005 (1989).
- [2] K. C. Kim and W. D. Hwang, *J. Physiol. Psthol. Kor. Med.* **18**, 789 (2004).
- [3] T. F. Antonios, D. R. Singer, N. D. Markandu, P. S. Mortimer, and G. A. MacGregor, *Hypertension* **33**, 998 (1999).
- [4] L. Schumann, G. Korten, B. Holdt, and M. Holtz, *Peritoneal Dialysis International* **16**, 412 (1996).
- [5] E. Yeom, Y. J. Kang, and S. J. Lee, *Biomicrofluidics* **8**, 034110 (2014).
- [6] J. H. Jeong, Y. Sugii, M. Minamiyama, and K. Okamoto, *Microvasc. Res.* **71**, 212 (2006).
- [7] M. Y. Kim, J. Y. Ahn, S. Y. Choi, D. S. Hwang, J. M. Lee, J. B. Jang, K. S. Lee, and C. H. Lee, *J. Oriental Gynecol.* **26**, 94 (2013).
- [8] M. A. Elblbesy, *J. Biomed Sci. Eng.* **3**, 300 (2010).
- [9] S. Ueno, P. Lövsund, and P. A. Öberg, *Medical & Bio-logical Engineering & Computing* **24**, 57 (1986).
- [10] D. G. Hwang, *J. Korean Magn. Soc.* **23**, 1 (2014).
- [11] Y. Jo, H. Ahn, K. Shin, and H. Lee, *IEEE Trans. Magn.* **99**, 1 (2018).