

펄스자기장 자극 시간에 따른 미세순환시스템 내에서 혈액의 pH변화

이보람 · 최유경 · 이현숙*

상지대학교 보건과학대학 한방의료공학과

Changes of Blood pH in Micro-circulation System on the Stimulated Time of Pulsed Magnetic Fields

Boram Lee, Yukyung Choi and Hyunsook Lee*

Department of Oriental Biomedical Engineering, Sangji University, Korea
(Manuscript received 9 June 2022 ; revised 25 July 2022 ; accepted 26 July 2022)

Abstract: The purpose of this study was to investigate the role of the PMF in the treatment of acidosis and inflammation by monitoring the pH change for the continuity of PMF effect on the blood in the micro-circulation system that mimics the capillaries in the human body. Micro-tubes and micro-channels similar in diameter to those of arteries and arterioles were fabricated using PDMS and connected to a micro-pump for blood circulation. The continuity of PMF effect was verified in a micro-circulation system in-vitro. The pH changes for the circulating blood and for persistence time of PMF stimulus effect were confirmed using the optimized PMF conditions based on the previous studies. Also pH changes were observed by continuously stimulating PMF for a set period of time. The result was observed that the pH of the blood acidified using tBHP continued to rise from immediately after stimulation of PMF to 70 minutes of stimulation, reaching a normal pH range, and then decreasing. Our study showed that PMF has a positive effect on the control of blood pH homeostasis, so it is suggested the possibility of being used as a non-invasive treatment for acidosis treatment and anti-inflammatory treatment.

Key words: Microcirculation system, PMF, pH, Blood

I. Introduction

사람의 정상 혈액의 pH는 37°C에서 histamine의 imidazole 이 완충제로 작용하여 neutral pH7.4를 유지한다. 혈액 pH는 세포 내 pH를 유지하기 위해 생합성된 수용성 중간체의 최적 보존과 최적 효소반응으로서 매우 중요한 기능을 수행한다[1]. 인체에서 혈액의 pH변화는 헤모글로빈 및 헤마토크릿 감소와 조혈세포 손상에 따른 적혈구 용해 및 감소를 유발하여 적혈구의 산소운반 능력을 저하시켜 저산소증을 유발한다[2].

인체 내에서 혈액의 pH가 감소하는 산증이 발생하게 되면 갈증흐름을 느끼게 하여 전체 갈증량을 감소시키고 적혈구 조직 내에 산소공급이 불충분해져서 전신적으로 pH뿐만 아니라 중탄산염 농도와 심근수축력이 저하된다[3]. 대사성 산증의 경우 동맥혈관을 직접적으로 확장시켜 전신적 혈관 저항의 감소를 초래하기도 한다. 산증이 심할 경우 정맥혈관에 중탄산염을 투입하는 침습적인 방법으로 산증을 치료하게 되는데 이는 모든 산증치료에 적용이 안될 뿐만 아니라 과알칼리화로 인한 부작용이 따르게 된다고 알려져 있다[4]. 또한 pH감소는 체내 염증이 발생하는 경우에도 관찰되며, 통각과민을 유발하여 질병 및 통증의 중증도와 상관관계가 있다[5]. 따라서 산-염기 평형은 인체 내에서 유지되어야 할 필수조건이다.

인체에 대한 펄스자기장(Pulsed Magnetic Field; PMF) 효과와 관련된 선행 연구에 따르면 인체에 강한 펄스자기장을

*Corresponding Author : Hyunsook Lee
Department of Oriental Biomedical Engineering, Sangji University, 83 Sangjidae-gil, Wonju, Gangwon-do, Republic of Korea
Tel: +82-33-730-0416
E-mail: hslee@sangji.ac.kr

인가할 때, 심부 깊숙이 자기장이 투과하여 자극 후 적혈구 연전현상이 호전됨을 확인하였으며, 이와 더불어 자극을 주지 않은 부위에도 연전현상이 호전되는 것을 보아 자기장 자극을 받은 부위의 적혈구들이 혈액순환을 통해 전신에 효과를 주는 점도 확인하였다[6].

또한 펄스자기장의 인체 내 pH조절 효과에 대해 *in-vitro* 실험을 진행한 결과 펄스자기장 자극이 적혈구 내의 Ca^{2+} 이온을 줄여주어 변형성을 개선하고 적혈구막 주변 이온에 영향을 준다는 점을 확인하였다[7]. 따라서 펄스자기장이 혈액의 pH조절에 관여한다는 사실을 알 수 있다. 혈관조영술 시 병증을 확인하는 지표인 손톱 끝 모세혈관의 관한 연구에서 자기장 인가 시 모세혈관의 형태가 비정상적인 루프형태에서 정상적이고 직선적인 머리핀형 혈관형태로 변화하였으며 혈류속도가 자기장 자극 전보다 개선되었음을 알 수 있었다[8]. 이로 인해 펄스자기장이 체내 혈액순환에도 긍정적인 영향을 미치는 것을 확인할 수 있다.

일반적으로 산증을 진단할 때는 혈액을 손목의 요골동맥에서 채취하여 혈액pH 및 이산화탄소를 측정한다. 산증 이외에 심혈관질환에서도 정맥혈을 이용하여 염증반응검사(C-Reactive Protein; CRP)를 통해 혈관 속 염증상태를 확인하기도 하고, 저밀도지단백질(Low Density Lipoprotein-Cholesterol; LDL-C)수치를 확인하여 동맥경화를 진단하는 지표로 이용하는 등 동맥과 정맥을 통해 진단 및 치료하는 경우가 많다[9,10]. 따라서 인체의 혈액순환시스템에서 펄스자기장 자극에 따른 pH 항상성조절을 확인하기 위해 *in-vitro* 미세순환시스템을 설계 및 제작할 필요가 있다. 본 연구에서는 정맥 및 미세혈관의 순환을 고려하여 0.1~0.5 mm의 직경을 갖는 혈관을 제작하였다[11].

침습적인 방법에 비해 펄스자기장과 같은 비침습적인 치료방법의 경우 자극세기와 시간을 고정하더라도 자극 후 시간에 따라 효능이 미세하게 변화가 드러나는 특성을 보인다.

펄스자기장 관련 선행연구에서 생혈액을 이용하여 펄스자기장 자극조건에서 세기와 시간을 변수로 하여 최적화된 조건을 확인하였다. 하지만 순환하는 혈액에 대한 펄스자기장 자극 효능 및 pH모니터링을 통한 효과의 지속성 관찰에 대한 연구가 미흡한 상황이다.

따라서 본 연구에서는 생체를 모방한 *in-vitro* 실험으로, 선행연구와 달리 직접 제작한 미세순환시스템 내에서 순환하는 혈액에 펄스자기장을 인가하여 인체 내 펄스자기장 자극 효과의 지속성을 pH변화를 통해 모니터링 하고자 한다. 선행연구에 사용되었던 펄스자기장 자극 최적조건과 순환하는 혈액을 이용하는 이번 연구를 통해 얻게 되는 최적조건을 비교하여 혈액순환 시 펄스자기장 자극조건의 차이를 살펴보고자 한다. 본 연구를 통해 얻게 되는 실험 결과는 비침습적인 방법인 펄스자기장을 이용하여 인체 내 산증 및 항

염증 치료효능 및 인체 내 펄스자기장 자극 최적조건을 구체적인 바탕이 마련될 것이라고 제시한다.

II. Materials & Method

1. 펄스자기장 자극시스템

본 연구에서 사용된 펄스자기장 자극 시스템에 사용된 코일은 직사각형의 단면적(3.0×1.0 mm)을 가진 코일을 10번 감아서 가로 120 mm, 세로 45 mm의 크기로 제작된 긴 타원형의 모양으로 제작하여 사용하였다. 펄스자기장 시스템의 사양은 2700Oe의 세기와 transition time이 0.102 ms이다. 첫 번째로 진행되는 실험에서 펄스자기장의 세기와 시간은 선행연구결과에 따라 2700G와 3분으로 고정하여 실험을 진행하였으며, 순환하는 혈액에 최적자극조건 마련을 위한 실험에서는 시간을 고정하지 않고 세기만 2700G로 고정한 채 실험하였다[6,7].

2. 미세순환시스템

미세순환시스템을 순환하는 혈류속도가 너무 빠르면 미세채널 내의 혈류저항으로 인해 플라즈마를 이용하여 polydimethylsiloxane (PDMS)로 제작한 채널이 붕괴될 우려가 있으며, 반대로 속도가 너무 느리면 혈액 응고로 인하여 순환이 불가능하다. 따라서 산증진단 및 치료 시 이용되는 정맥혈의 pH 변화를 관찰한다는 가정하에 세정맥-정맥-세정맥의 굵기를 모방하여 미세튜브-미세채널-미세튜브를 제작하여 실험을 진행하였다.

인체내 세동맥을 모방하기 위해 PDMS를 이용하여 100 μ m의 크기를 갖는 인공모세혈관을 제작하고, 인체의 세정맥과 크기가 유사한 내경 500 μ m의 micro-tube를 이용하여 인공모세혈관을 구성하였다[11]. 혈류순환은 0.1~40 μ l/min의 유량을 갖는 micro-pump (TAKASA-GO ELECTRIC, RP-TX)를 연결하여 미세순환시스템을 구축하였다. micro-pump는

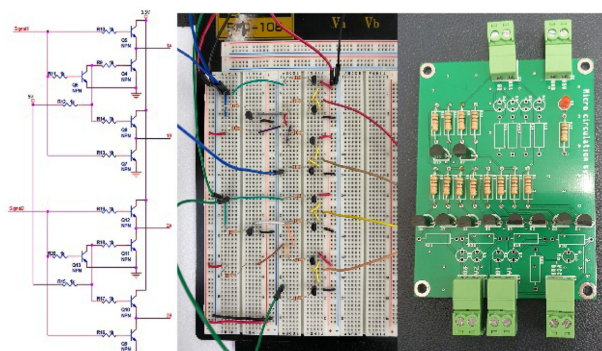


그림 1. 미세순환시스템 모터 구동 회로

Fig. 1. Motor control circuit of microcirculation system on printed circuit board

미세튜브 내 혈액순환을 돕기 위해 printed circuit board (PCB)에 회로를 제작하였으며, 아두이노 프로그램을 통해 제어하였다.

실험을 위해 필요한 혈액은 IRB면제 심의 후 대한적십자사 강원혈액원으로부터 공급받은 농축적혈구(Red Blood Cell; RBC)와 신선동결혈장(Fresh Frozen Plasma; FFP)을 인체의 정상수치와 동일하게 적혈구용적률(Hematocrit; HT)을 45%로 맞추어 사용하였다. 산화제 역할을 하는 tert-butylhydro-peroxid (tBHP) 0.4 mM을 혈액에 희석시켜 incubator에 30분 동안 산화시킨 후 pH실험을 진행하였다[7].

최종적으로 Fig. 2와 같이 직접 제작한 미세순환시스템 내의 연결된 튜브의 길이는 혈액응고의 문제를 방지하고 자기장의 효능을 보기 위해 50 cm로 제작하였으며, 미세순환 시스템 내에서 모터펌프로 혈액이 한 바퀴 순환하는데 평균적으로 약 17분 정도 소요되는 것을 확인하였다. 따라서 혈류순환 전체거리는 500 mm이고, 총 순환시간은 1,020 sec 이므로 혈류속도는 동맥과 세동맥의 평균적인 혈류속도와 유사하게 약 500 μ m/s로 도출되었다.

혈액의 pH변화를 모니터링하기 위해 pH meter(Seven Compact S220, Mettler Toledo)를 사용하여 펄스자기장 자극 전후로 순환하는 혈액의 pH를 측정하여 비교하였다. 미세순환 시스템 내에서 자기장 자극 없이 순환한 혈액과 자기장 자극을 가하며 순환한 혈액의 pH를 비교함으로써

미세순환시스템 내에서 펄스자기장 효과의 지속성을 검증하였다. 그리고 순환하는 혈액에 펄스자기장 자극조건을 최적화하기 위해 pH변화를 모니터링하며 효과적인 자극 조건을 마련하고자 하였다.

3. 통계처리

모든 실험결과는 SPSS 28.0(IBM Co., New York, NY, USA)을 이용하여 평균±표준편차(Mean±S.D.)로 표현하였으며, 대조군과 각 실험군간 유의성은 독립표본 T-test나 one-way analysis of variance (ANOVA)를 통해 검정하였고 유의수준은 $p < 0.05$ 및 $p < 0.001$ 로 판단하였다.

III. Results & Discussion

모든 실험은 인체내부와 비슷한 환경을 조성하기 위해 실험구역 및 혈액의 온도를 약 36°C로 체온과 유사하게 조성하였으며 펄스자기장 자극 위치 또한 엄격히 통제된 후 실험을 진행하였다. *in-vivo* 실험을 모방하여 인체 내 저하된 pH에 상승시키는 효과가 있는지 증명하기 위해 실험방법에서 언급한 대로 정상 pH혈액에 산성화를 유도한 후 실험을 진행하였다.

Fig. 3에서 단순 순환만 하는 혈액의 평균 pH 6.9정도로 정상에 비해 약간 산성인 반면에 순환하면서 펄스자기장을 자극했을 경우 평균 pH 7.2로 pH가 2.1% 증가하여 정상 혈액에 근접하는 양상을 볼 수 있었으며, 미세순환시스템 내에서 순환하는 산성화된 혈액에 펄스자기장이 긍정적인 효과가 있다는 결론이 도출되었다($p < 0.001$).

Fig. 4는 앞선 실험과 같은 조건인 2700G세기의 자기장을 3분 동안 자극 후 3시간 동안 1시간 간격으로 pH변화를 모

216

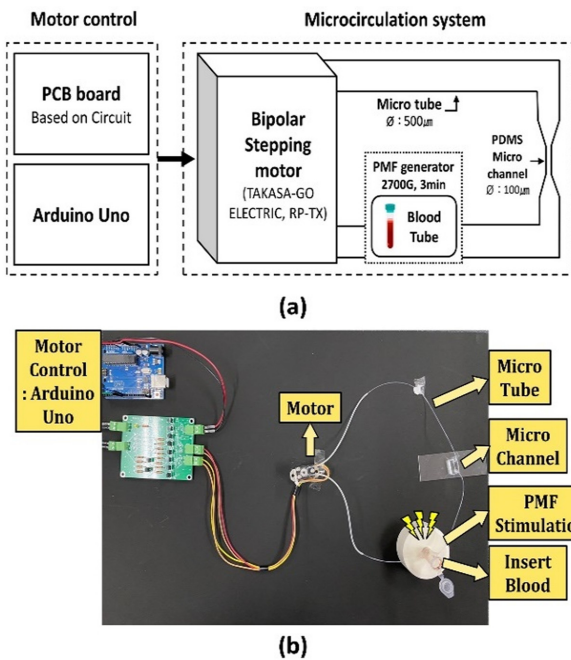


그림 2. (a)미세순환시스템 모식도 (b)실제 실험에 사용된 미세순환 시스템

Fig. 2. (a) Schematic diagram (b) Device used in the experiment of microcirculation system

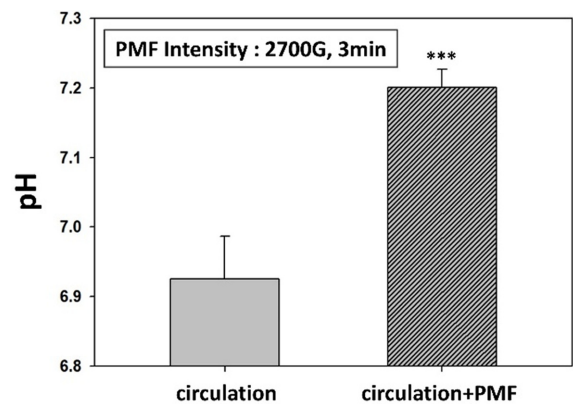


그림 3. 미세순환시스템에서 펄스자기장 자극 유무에 따른 혈중 pH변화
Fig. 3. Changes in blood pH depending on the presence or absence of pulsed magnetic field stimulation in the microcirculation system (n=9, mean±SD, p: p value of t-test, in comparison with circulation group; ***: $p < 0.001$)

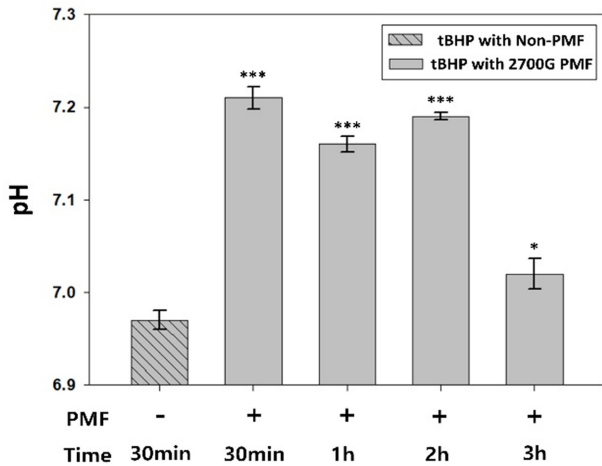


그림 4. 펄스자기장 자극 후 혈액의 pH변화와 지속성 관찰
 Fig. 4. After stimulating the pulsed magnetic field, check the pH persistence (n=9, mean±SD, p: p value of ANOVA test in comparison with non-PMF group; *: p<0.05, ***: p<0.001)

니터링 한 후 분석한 그래프이다.

펄스자기장을 자극하기 전(약 pH6.9)에 비해 자극 후(약 pH7.2)가 정상범위에 맞게 2.1% 상승했으며, 펄스자기장 자극 후 2시간까지는 효과가 지속적으로 유지되는 반면에 2시간 이후부터 pH가 1.4% 급격히 감소하여 펄스자기장 자극 효과의 지속시간을 확인하였다(*: p<0.05, ***: p<0.001).

본 연구에서는 생혈액을 이용한 선행연구를 바탕으로 최적화된 조건을 이용하였기에 혈액순환 시 펄스자기장 자극 조건이 달라질 가능성이 있을 것이라 예상되므로 순환하는 혈액에 대한 펄스자기장 자극의 최적화가 필요하다. 따라서 Fig. 4에서 얻은 결론을 토대로 펄스자기장 지속효과가 있는 2시간 동안 펄스자기장을 자극하면서 순환하는 혈액에서의 펄스자기장 자극시간 조건을 최적화하고자 하였다.

Fig. 5는 미세순환시스템 내부를 순환하는 혈액에 2시간 동안 꾸준히 2700G의 펄스자기장을 인가하면서 혈액의 pH를 측정된 결과이다. 약 1시간 10분 동안 펄스자기장을 인가하는 경우 산성화된 혈액의 pH가 점차 상승하여 펄스자기장을 자극하지 않은 대조군에 비해 pH가 3% 상승하는 효과를 확인하였으며, 통계적으로 유의성이 있었다(F: 179.5, p<0.001).

특히 펄스자기장 자극시간이 40분에서 60분 사이에 가장 높은 pH상승률을 보여주었다. 반면에 펄스자기장 자극시간이 1시간 10분을 넘으면 pH가 다시 감소하는 형태를 보이는 것을 확인하였다. 이는 micro-pump를 통해 미세채널을 순환하는 과정에서 미묘한 응집이 발생하였고, 펄스자기장을 1시간 이상 자극 시 혈액내 여러 이온들의 자극에 대한 순응(adaptation) 결과로 발생한 것이라고 생각된다.

따라서 이번 연구를 통해서 기존 선행연구와 펄스자기장

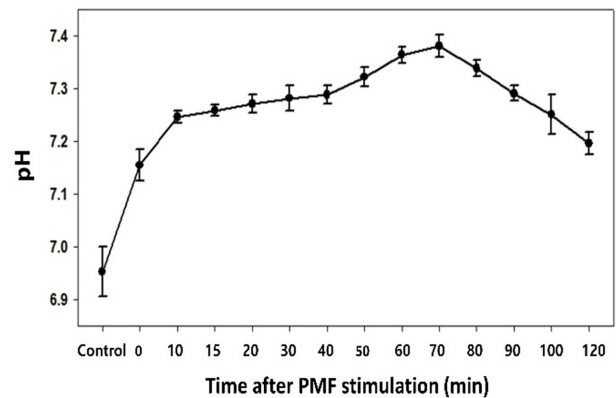


그림 5. 2시간 동안 펄스자기장을 지속적으로 자극하며 pH효능 및 지속성 관찰결과

Fig. 5. After stimulating the pulsed magnetic field, check the pH persistence in 2 hours (n=9, mean±SD)

자극 최적조건을 비교해볼 수 있었다. 적혈구 연전현상 실험을 바탕으로 한 선행연구에서 펄스자기장 최적조건을 2700G에 10분으로 마련했었고, 손톱 끝 모세혈관 변화 관찰 실험(in-vivo)을 통한 선행연구에서는 10분으로 최적화된 자극시간을 5분으로 줄어도 모세혈관의 모양에 영향을 주어 혈류개선 효과를 보여주었다[6,8]. 이번 in-vitro 연구를 통해서 생체를 모방한 미세순환시스템을 이용하여 순환하는 혈액에 2700G의 펄스자기장을 5분이나 10분을 인가하는 것보다 70분 내로 인가할 때 pH가 정상수치와 가까워지는 것을 확인하였고, 인체 내 산증 및 염증치로 시 펄스자기장을 2700G의 세기로 70분 동안의 꾸준한 자극이 병증 회복에 더욱더 긍정적인 영향을 미칠 것이라는 결론을 도출할 수 있었다.

IV. Conclusion

다수의 선행연구를 통해 인체 내에서의 펄스자기장의 효과를 입증해왔으며, 이번 연구를 통해 자기장 효능의 지속성을 뒷받침하고자 하였다. 이번 연구에서 선행연구결과를 바탕으로 최적화된 펄스자기장의 자극세기와 시간을 고정한 후 실험을 진행하였는데, in-vitro 실험을 통해 pH변화를 모니터링하며 펄스자기장의 효능 지속성을 확인할 수 있는 계기가 되었다.

또한 침습적인 방법과 달리 부작용이 적은 비침습적인 치료방법으로 펄스자기장이 인체 혈액의 pH회복효과가 얼마나 지속되는지 알 수 있었다. 이번 in-vitro 실험을 계기로 다음 연구에서 in-vivo 실험을 통해 인체에 대한 펄스자기장의 지속성을 점검하는 데에 도움이 될 것이라 생각한다.

본 연구를 통해 펄스자기장이 인체 내 산성화된 혈액의 pH변화를 유도하여 정상pH로 근접하게 해준다는 것을 확

인하였고, 이러한 결과를 통해 산증으로 인한 질병을 예방하고 치료하는 데에 있어서 펄스자기장이 중요한 지표가 될 수 있다는 가능성을 제시한다.

Acknowledgements

이 논문은 교육과학기술부의 재원으로 한국연구재단의 이공분야 기초 연구사업(NRF-2021R1F1A1060167)의 지원으로 수행한 결과이다.

References

- [1] Park HK, Kim KJ, Lee JH. Studies on the Acid-Bese Balance of Fetal Blood. *Chungnam Medical journal*. 1981;8(2):18-23.
- [2] Nakashima K, Yamashita T, Kashiwagi S, Nakayama N, Kitahara T, Ito H. The effect of sodium bicarbonate on CBF and intracellular pH in man: Stable Xe-CT and ³¹P-MRS. *Acta Neurologica Scandinavica*. 1996;166:96-98.
- [3] Park SB. Metabolic Acidosis. *Korean Journal of Medicine*. 1997;53(2):664-669.
- [4] Baek HC. Strategies to increase survival rates in patients with acute renal failure. *Korean Society of Veterinary Clinics*. 2008;29-37.
- [5] Gautam M, Benson CJ, Sluka KA. Increased Response of Musle Sensory Neurons to Decreases in pH After Musle Inflammation. *Neuroscience*. 2010;170(3):893-900.
- [6] Hwang DG. Dynamics of Rouleaux Patterns of Red Blood Cells under Pulse Magnetic Field. *Journal of the Korean Magnetics Society*. 2017;30(4):92-97.
- [7] Bang SH, Lee HS. Effects of Pulsed Magnetic Field on Red Blood Cells' Aggregation and Deformability. 2020;30(4): 139-144.
- [8] Mok JW, Han SH, Bang SH, Lee HS. Effects of Pulse Magnetic Field in Capillary Blood Vessel of *In-vivo* and *In-vitro*. *Journal of the Korean Magnetics Society*. 2019;29(2):68-72.
- [9] Reiter M, Bucek RA, Koca N, Dirisamer A, Minar E. Deep vein thrombosis and systemic inflammatory response: A pilot trial. *Wien Klin Wochenschr*. 2003;115:111-114.
- [10] Eem EC, Cho HS, Lee MG. Effects of 8 Weeks of Circuit Exercise Training on Body Composition, Physical Fitness, Stress Index, and Atherogenic Index in Bus Drivers. *Korean journal of physical education*. 2017;56(2):553-564.
- [11] Lind H, Erlinge D, Brunkwall J, Edvinsson L. Attenuation of contractile responses to sympathetic co-transmitters in veins from subjects with essential hypertension. *Clinical Autonomic Research*. 1997;7:69-76.