

저주파 펄스 전자기장 자극에 의한 피부 조직괴사 완화 효과

이자우 · 김준영 · 이용흠*

연세대학교 보건과학대학 의공학부, 의료전자기시스템 연구실

Effect of Skin Tissue Necrosis Relaxation by Low Frequency Pulsed Electromagnetic Fields (LF-PEMF) Stimulation

Jawoo Lee, Junyoung Kim and Yongheum Lee*

Biomedical Electromagnetic System Laboratory, Department of Biomedical Engineering, Yonsei University
(Manuscript received 1 February 2021 ; revised 19 February 2021 ; accepted 22 February 2021)

Abstract: Objective: The aim of this study is to consider the effect of skin tissue necrosis by improving blood flow in animal skin models for low frequency pulsed electromagnetic fields (LF_PEMF) stimulation. **Methods:** Twenty rats (Wistar EPM-1 male, 280–320 g) were randomly divided into control groups (n=10) and the PEMF groups (n=10). To induce necrosis of the skin tissue, skin flap was treated in the back of the rat, followed by isolation film and skin flap suturing. Subsequently, the degree of necrosis of the skin tissue was observed for 7 days. The control group did not perform any stimulation after the procedure. For the PEMF group, LF_PEMF (1 Hz, 10 mT) was stimulated in the skin flap area, for 30 minutes a day and 7 days. Cross-polarization images were acquired at the site and skin tissue necrosis patterns were analyzed. **Results:** In the control group, skin tissue necrosis progressed rapidly over time. In the PEMF group, skin tissue necrosis was slower than the control group. In particular, no further skin tissue necrosis progress on the day 6. Over time, a statistically significant difference from the continuous necrosis progression pattern in the control group was identified ($p < 0.05$). **Conclusions:** It was confirmed that low frequency pulsed electromagnetic fields (LF_PEMF) stimulation can induce relaxation of skin tissue necrosis.

Key words: LF_PEMF, Skin flap, Cross-Polarization image, Blood flow, Necrosis

25

1. 서 론

피부조직 괴사는 다양한 원인과 이유로 발생하고 있으며 말초조직, 신경, 혈관장애 등과 같은 질환과 상관성이 높다. 특히, 당뇨병증과 같은 대사질환에 의한 말초조직 괴사부터[1,2], 욕창에 의한 심부조직까지의 괴사[3], 화상과 같은 피부괴사[4,5]는 다양한 2차 질환을 유발하고, 염증 및 통증과 같은 질환의 원인이 되기도 한다. 이러한 다양한 허혈(ischemia)과 같은 비정상적인 혈액 순환은 시간이 경과함에 따라 피부 괴사를 일으킬 수 있으며, 다양한 부작용을 유발시키는 요인으로 작용한다[6].

이러한 피부괴사를 치료하기 위한 수단으로 약리학적 방법[7-9]과 저준위 레이저 치료(low-level laser therapy)[10,11]를 사용하여 혈액 순환을 개선함으로써 이 문제를 해결하기 위한 여러 가지 노력이 이루어졌다. 그러나 약리학적 방법은 부작용이 일어날 확률이 높고, 저준위 레이저 치료방법은 광산란 특성으로 피부이하의 심부조직까지 에너지를 효과적으로 자극하기 어렵다는 한계가 있다.

따라서, 비침습적, 비접촉식, 비구속적 치료방법을 통해, 부작용을 최소화하고, 혈액 순환을 개선하여 피부 및 심부조직의 괴사를 완화할 수 있는 새로운 방법을 개발할 필요가 있다. 이에, 자기장은 매질에 관계없이 투과하는 특성이 있어서, 치료부위에서 비침습, 비접촉, 비구속적으로 피부 및 피하조직까지 효과적으로 자극할 수 있는 방법이다. 또한 펄스형 전자기장은 염증치유[12,13], 피부 상처치유[14], 조직재생[15] 및 혈관재생[16], 혈류를 증가시킬 수 있다는 연구결과[17]

*Corresponding Author : Yongheum Lee
Department of Biomedical Engineering, Yonsei University,
1 Yonseidaegil, Wonju, Gangwon-do, Republic of Korea
Tel: +82-33-760-2863
E-mail: koaim@yonsei.ac.kr

가 발표되었다.

본 연구에서는 여러 연구결과를 근거로, 저주파 펄스형 전자기장이 허혈성 피부 모델에서 혈류 개선을 통해 피부조직괴사를 완화할 수 있는지 여부를 조사하기 위해 이 선행연구를 수행하였다. 실험방법으로 동물모델에서 피판술(skin flap)을 시술하여 피부조직 괴사를 유도시키고, 무자극군과 PEMF 자극군에 대한 치료효과를 교차편광영상(Cross-Polarization imaging) 획득기술을 이용하여 확인하였다. 피부 조직괴사를 정성적, 정량적으로 분석한 결과, 저주파 펄스형 전자기장 자극이 동물모델에서의 허혈성 피부 조직괴사 완화효과가 확인되어 이를 보고하고자 한다.

II. 연구방법

1. 저주파 펄스형 전자기장 자극 장치 설계

저주파 펄스형 전자기장 자극에 의한 허혈성 혈류개선 효과를 평가하기 위해서 6채널 자기장 발생 코어를 갖는 장치를 설계하였다. 본 시스템은 펄스형 전자기장의 다양한 치료목적에 적용이 가능하도록 자극파라미터를 조절, 가변, 제어할 수 있도록 H/W, S/W가 설계되었다. 자극강도(10~50 mT) 조절이 가능하도록 코어에 인가되는 전압전류를 다단계로 제어할 수 있는 전원공급장치를 설계하였다. 자극주파수(0.1~1 kHz) 가변이 가능하도록 하였으며, 특히, 자기장 발생 코어의 발열문제를 해결하기 위해서 인가 전원에 따라 펄스폭 변조(PWM)를 통하여 펄스폭이 10~50%로 가변될 수 있도록 하였다. 또한, 펄스형 전자기장 발생 모드를 통하여 단극성(mono-phasic), 양극성(bi-phasic), 시간차(time interval bi-phasic) 자극이 가능하도록 설계하였다. 6채널 자기장 코어를 동시에 설정 모드에 따라 동작시킬 수 있다.

(1) PEMF 발생 코어 및 파라미터

코어의 재질은 SM45C 강자성체를 사용하였으며, 코일(coil)을 권선하여 외경, 내경, 높이가 각각 45 mm, 20 mm, 20 mm인 PEMF코어를 제작하였다(그림 1). PEMF 자극 파라미터 선정은 혈액속도를 증가시키는 연구결과를 기반으로

자속밀도 10 mT로 선택되었다[17-19]. 본 연구에서는 1 Hz (pulse duration 0.2 m sec), 10 mT의 단극성 자극으로 설정하였다. 코어(core)에 인가되는 펄스형 전압전류 패턴은 자극강도, 자극 주파수, 펄스폭 변조의 설정 값에 따라 결정된다.

2. 재료 및 방법

(1) 동물 정보 및 승인

동물 허혈성 피부조직 괴사 완화효과 평가를 위한 실험을 위해서, Rat은 무게 280~320 g의 Wistar EPM-1 수컷 20마리를 사용하였다. Rat는 무작위로 PEMF군(n=10)과 대조군(n=10)에 배치되었다. 본 연구의 동물실험 연구방법 및 실험 프로토콜은 연세대학교 동물보호 윤리위원회(IACUC)의 승인을 받았다(YWCI-201704-005-01).

(2) 피부조직 괴사 모델 유도 시술 방법

Rat(280~320 g)의 Wistar EPM-1 수컷 20마리에 대하여 전체 실험 절차 동안, 이소플루란(isoflurane)으로 마취하였으며, 피판술(skin flap) 수술 전에 해당부위 주변의 털을 제거하였고, 4×8 cm² 면적으로 피판술(skin flap)을 시술하였다. 이후, 절연(차단) 필름을 삽입하여 다시 봉합하였다. 그래서 피판술(skin flap)되지 않은 부위로만 혈액이 공급되고 다른 부위로는 혈액이 차단될 수 있도록 하였다. 이와 같이, 모든 시술이 완료된 이후부터 24시간 동안 아무런 자극이나 시술을 하지 않고, 피부괴사가 자연적으로 발생되도록 하였다(그림 2).

(3) 영상획득 및 영상처리

교차편광 영상(cross-polarization imaging) 촬영방식을 사용하여 피판술(skin flap) 영역의 피부조직 괴사 여부를 평가하였다. 피판술에서 영상을 획득하는데 CCD 카메라가 사용되었다. 피부 표면의 반사광으로 인한 섬광을 줄이기 위해 macro ring flash 앞단에 선형 분광기를 배치하고 카메라 렌즈 앞에 두 번째 분광기를 배치하여 둘 다 편광 축이 직교하도록 배치되었다(그림 3).

획득된 영상은 “MATLAB”을 이용하여 피판술(skin flap)

26

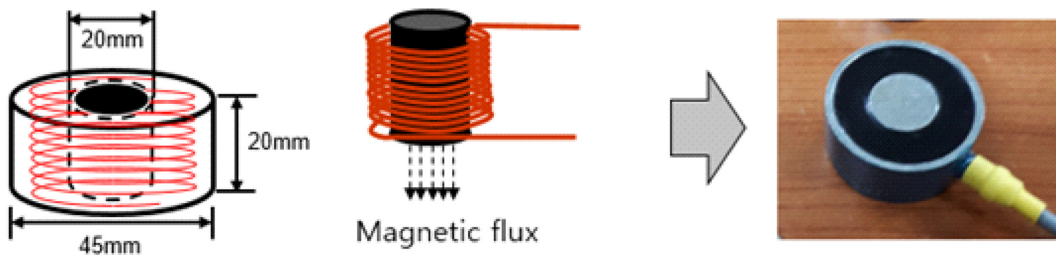


그림 1. 펄스형 전자기장 발생코어 제작
Fig. 1. Design of the PEMF core

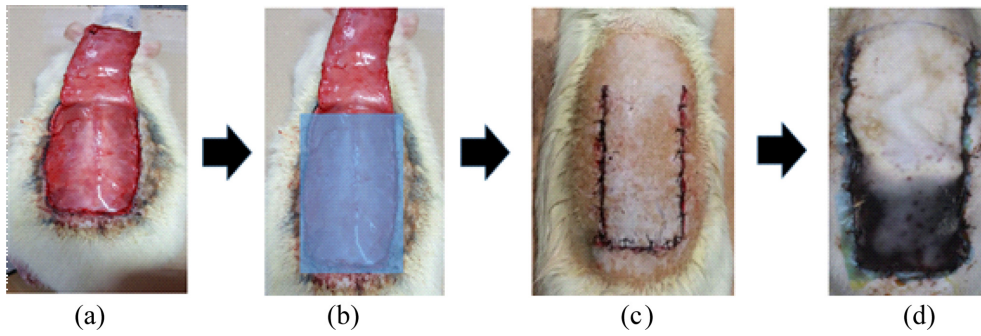


그림 2. 피부조직 괴사 모델 유도 과정 ((a) 피부 플랩 시술, (b) 절연박막 분리 필름 삽입, (c) 피부 봉합시술, (d) 피부 괴사)
 Fig. 2. Skin tissue necrosis model induction process ((a) skin flap procedure, (b) insulation film insertion, (c) skin sealing procedure, (d) skin necrosis)

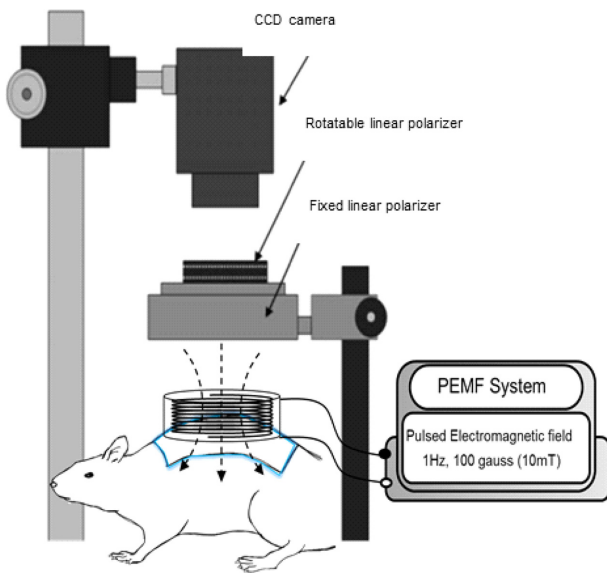


그림 3. Cross-polarization 이미지 획득 모식도
 Fig. 3. Schematic diagram of cross-polarization imaging modality

영역을 경계검출법(edge detection method)으로 추출하였다. 피부괴사는 피판술 영역에서 멜라닌 인덱스(M.I: Melanin Index) 추출 방법(식 1)을 이용하여 피판술 전체 영역에서 피부괴사로 인한 멜라닌 색소변화 영역으로 구분하여, 정상 부위는 파란색으로, 피부괴사가 진행된 부위는 빨간색으로 칼라 맵핑(color mapping)하여 가시적으로 표현하였다. 이때, 피부괴사 정도를 정량적으로 분석하기 위해서(식 2)와 같이, 칼라 맵핑에 의한 피판술 전체 면적 대비 피부괴사 면적에 대한 비율로 결정하였다. 이러한 과정은 그림 4와 같다.

$$Melanin\ Index = 100 \times \log\left(\frac{1}{R_i}\right) \quad (1)$$

$$Necrosis\ \% = \left(\frac{Necrosis\ Area}{Total\ Area}\right) \times 100 \quad (2)$$

(4) 실험 과정
 모든 Rat에서 동일한 피판술(skin flap)과 차단 필름이 삽

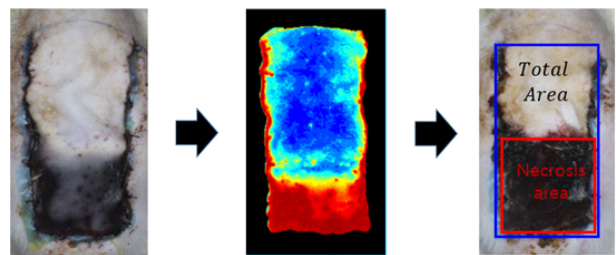


그림 4. 피부조직 괴사 영역 영상처리 과정 ((a) 피부조직 괴사 영상, (b) 괴사 영역에 대한 칼라 맵핑 영상처리, (c) 괴사영역 면적 계산)
 Fig. 4. Skin tissue necrosis imaging process ((a) skin tissue necrosis image, (b) image processing for necrosis area, (c) calculation of necrosis area)

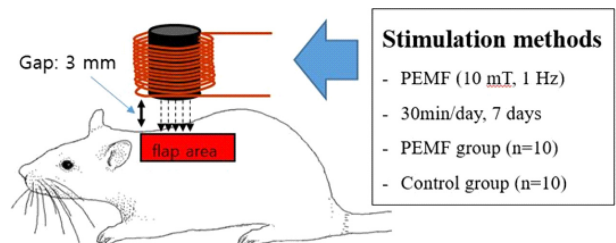


그림 5. PEMF 그룹의 자극 방법 및 파라미터
 Fig. 5. The PEMF stimulation methods and parameters in PEMF group

입되어 봉합 시술되었고, 24시간 동안 자연스럽게 피부괴사가 진행되도록 하였다. 대조군은 아무런 자극을 하지 않고, 7일간 피부괴사가 진행되도록 하였고 PEMF군은 하루에 30분씩 7일 동안 피판술(skin flap) 영역에 자극(1 Hz, 10 mT)하였다(그림 5). 실험 영상은 교차편광 영상 획득 장치를 이용하여 시간 경과에 따른 피판술(skin flap)영역의 피부괴사 진행과정을 측정하였다(그림 3). 실험 과정은 그림 6과 같다.

(5) 데이터 처리
 두 그룹간, 피부괴사 영역에서의 영상처리를 이용한 데이터 분석은 SPSS V22를 사용하여 평균±표준오차(Mean ± SE)로

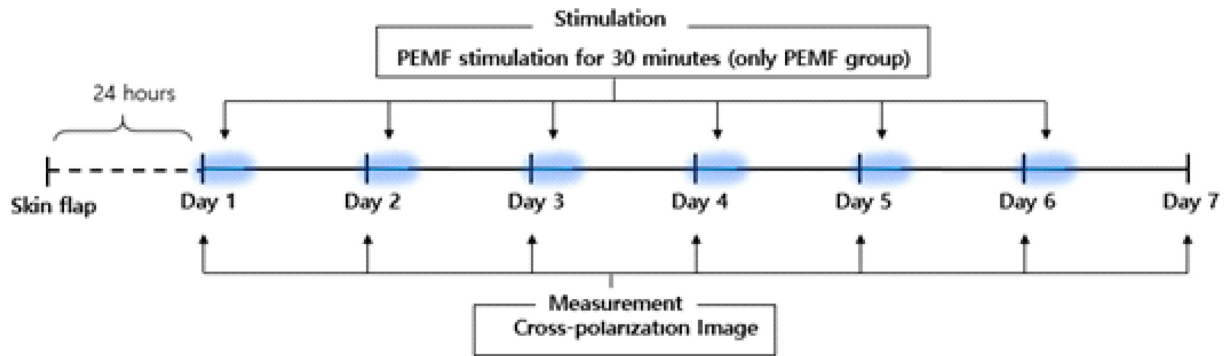


그림 6. 동물실험 과정
Fig. 6. Animal-study procedure

표현하였으며, 두 그룹간의 통계적 유의성 평가를 위해서 독립표본 T-검정(Unpaired T-test)이 사용되었다.

III. 연구 결과

피판술(skin flap) 및 차단 필름 삽입 시술을 통해서 피부조직의 괴사를 유발시키고, 해당 부위에 대한 대조군과 1 Hz, 10 mT로 하루 30분씩, 7일 동안 LF_PEMF를 자극한 PEMF 군 간의 피부괴사 완화 효과를 평가하였다. 평가 방법으로 교차편광 영상을 획득하고, 피부괴사 영역에 대한 칼라 맵핑을 통해, 정성적 평가를 시행한 결과, 두 그룹 모두에서 혈액 공급이 원활하지 않은 조건 때문에 피부 조직괴사는 시간이 지남에 따라 점차 증가하였다(그림 7). 또한, 피부괴사 영역의 정량적 평가를 시행한 결과, 대조군에서는 전체 실험 기간 동안 피부괴사 부위가 계속적으로 빠르게 증가하였다. 반면, PEMF군의 괴사진행 속도는 대조군보다 느리

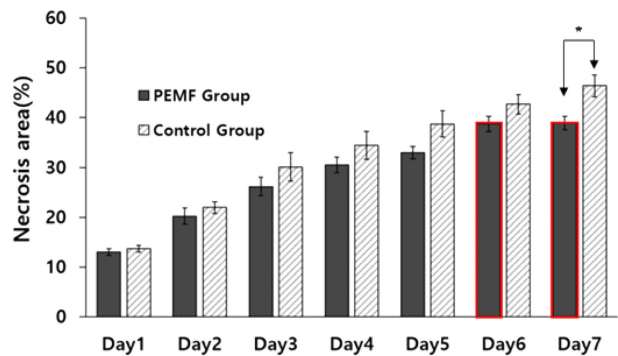


그림 8. 시간 경과에 따른 두 그룹간 피부조직 괴사 면적 변화분석
Fig. 8. Analysis of changes in the area of necrosis of skin tissue between two groups over time

게 진행되었으며, 피부괴사 진행이 6일째부터 더 이상 나타나지 않았다. 6일째부터 피부괴사 영역의 면적 변화가 대조군(46.38±2.30%)과 PEMF 군(38.92±1.39%) 두 군간의

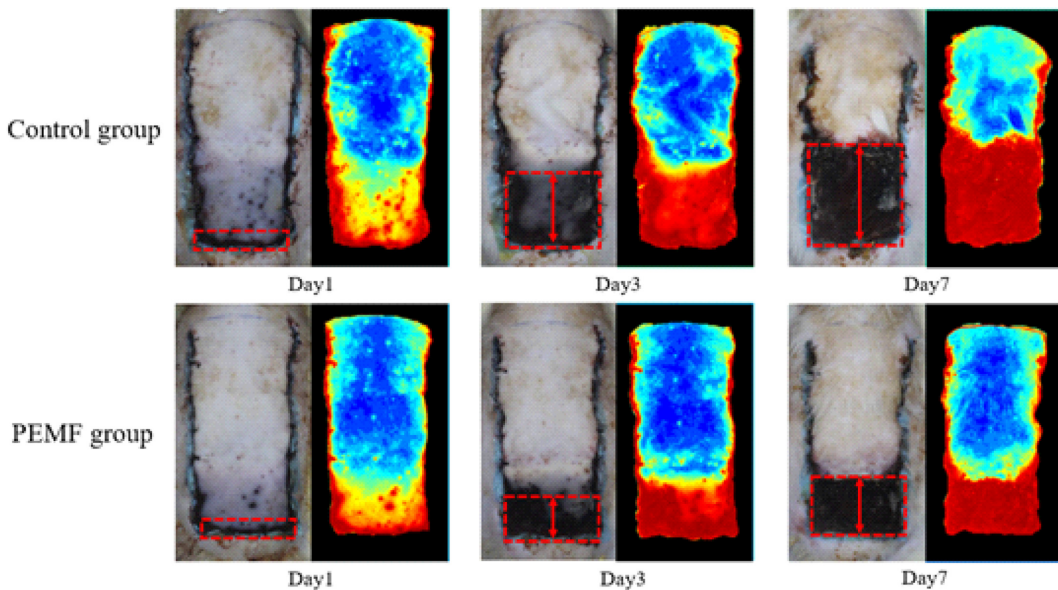


그림 7. 대조군과 PEMF군에서의 시간 경과에 따른 피부괴사 영상처리 결과
Fig. 7. Skin tissue necrosis image processing results over time in the Control/PEMF group

표 1. 시간 경과에 따른 두 그룹간 피부조직 괴사 면적 변화분석

Table 1. Analysis of necrosis area in the PEMF group and control group

	Area of necrosis (mean \pm SE)		p-value
	PEMF Group (n=10)	Control Group (n=10)	
Day1	13.03 \pm 0.68%	13.70 \pm 0.71%	0.507
Day2	20.26 \pm 1.70%	21.98 \pm 1.26%	0.427
Day3	26.19 \pm 1.91%	30.12 \pm 3.04%	0.287
Day4	30.52 \pm 1.64%	34.47 \pm 2.98%	0.261
Day5	33.00 \pm 1.29%	38.75 \pm 2.75%	0.082
Day6	38.79 \pm 1.61%	42.69 \pm 2.10%	0.157
Day7	38.92 \pm 1.39%	46.38 \pm 2.30%	*0.014

*Using Independent t-test, p-value < 0.05.

T-test 분석결과 통계적으로 유의하게 차이(p<0.05)가 나타났다(그림 8, 표 1).

IV. 결 론

저주파 펄스형 전자기장 자극이 허혈성 피부 모델의 염증에 의한 피부괴사 완화 효과를 개선할 수 있는지 확인하기 위해, 대조군과 PEMF 자극 군간의 피판술(skin flap) 영역에서의 교차편광 영상을 획득하고, 이를 분석하였다. 두 군 모두에서, 피판술(skin flap) 및 차단 필름에 의한 혈액 흐름 장애로 인하여 시간이 경과함에 따라 피부괴사가 진행되었다. 대조군에서는 지속적인 피부괴사가 빠르게 진행되는 반면에 PEMF 군에는 대조군보다 진행 속도가 느리고, 괴사 영역이 작게 나타남을 확인하였다. 이는 LF_PEMF가 비정상적인 혈액 공급에도 불구하고 해당 부위에서 혈류를 증가시키고 염증유발을 지연시키는 효과를 시사한다.

펄스형 전자기장이 혈류에 미치는 영향에 대한 여러 연구가 수행되어 생리학적 메커니즘의 근거를 제공하고 있다[17]. 몇몇 연구들은 펄스형 전자기장(0.5 mT, 12 Hz, 30분)이 관측 가능한 최소 정맥의 혈류 속도를 증가[14], 강한 자기장(1.3 T, 1~12분)이 짧고 긴 적혈구 사슬과 같은 형태 변화를 일으켜 혈액의 점도를 줄일 수 있다는 것[21]을 보고하였다. 이 사슬구조는 몇 시간 후에 원래의 모양으로 돌아가고 적혈구의 정상적인 기능에 영향을 미치지 않는다.

혈류의 증가는 신진대사 폐기물의 제거와 손상된 조직의 치유 과정을 가속화시킬 수 있다. 또한, 펄스형 전자기장은 calcium-binding kinetics을 조절하여 calmodulin에 맞게 구성할 수 있다. 이것은 일산화질소(NO: nitric oxide) 합성효소를 활성화하며, 관련 캐스케이드는 tissue-repair process의 단계에 따라 달라진다[22]. 일부 동물 연구는 펄스형 전자기장이 혈관신생을 향상시킬 수 있다는 것을 밝혔다[16,23]. 이러한 효과에 기초하여, 저주파 펄스형 전자기장이 피판술

(skin flap)에서 발생하는 허혈성 혈류장애 및 조직괴사와 같은 문제점의 해결책이 될 수 있다고 사료된다. 본 연구를 통하여 저주파 펄스형 전자기장(LF_PEMF) 자극이 허혈성 피부 모델의 혈액 순환 개선에 의한 염증유발을 억제하여 피부 조직괴사를 완화할 수 있다는 것을 확인하였다.

References

- [1] Khanolkar MP, Bain SC, Stephens JW. The diabetic foot. Q J Med. 2008;101:685-95.
- [2] Laing P. The development and complications of diabetic foot ulcers. Am J Surg. 1998;176:11-9.
- [3] Yarkony GM. Pressure Ulcers: A Review. Arch Phys Med Rehabil. 1994;75:908-17.
- [4] Hidalgo F, Mas D, Rubio M, Garcia-Hierro P. Infections in critically ill burn patients. Medicina Intensiva. 2016;40:179-85.
- [5] Macedo JLS, Santos JB. Predictive factors of mortality in burn patients. Rev Inst Med trop S Paulo. 2007;49:365-70.
- [6] Kerrigan CL. Skin flap failure: pathophysiology. Plast Reconstr Surg. 1983;72:766-77.
- [7] Da Silva Duarte I, De Carvalho Gomes HF, Ferreira LM. Effect of dimethyl sulphoxide on necrosis of skin flaps in rats. Can J Plast Surg. 1998;6:93-7.
- [8] Gherardini G, Lundeberg T, Cui JG, Eriksson SV, Trubek S, Linderth B. Spinal cord stimulation improves survival in ischemic skin flaps: an experimental study of the possible mediation by calcitonin gene-related peptide. Plast Reconstr Surg. 1999;103:1221-8.
- [9] Davis RE, Wachholz JH, Jassir D, Perlyn CA, Agrama MH. Comparison of topical anti-ischemic agents in the salvage of failing random-pattern skin flaps in rats. Arch Facial Plast Surg. 1999;1:27-32.
- [10] Prado RP, Liebano RE, Hochman B, Pinfield CE, Ferreira LM. Experimental model for low level laser therapy on ischemic random skin flap in rats. Acta Cir Bras. 2006;21:258-62.
- [11] Esteves I Jr, Masson IB, Oshima CTF, Paiotti APR, Liebano RE, Plapler H. Low-level laser irradiation, cyclooxygenase-2 (COX-2) expression and necrosis of random skin flaps in rats. Lasers Med Sci. 2012;27:655-60.

- [12] Pena-Philippides JC, Yang Y, Bragina O, Hagberg S, Nemoto E, Roitbak T. Effect of Pulsed Electromagnetic Field (PEMF) on Infarct Size and Inflammation After Cerebral Ischemia in Mice. *Transl Stroke Res.* 2014;5:491-500.
- [13] Ross CL, Zhou Y, McCall CE, Soker S, Criswell TL. The Use of Pulsed Electromagnetic Field to Modulate Inflammation and Improve Tissue Regeneration: A Review. *Bioelectricity.* 2019;1:247-59.
- [14] Sun J, Kwan RL, Zheng Y, Cheing GL. Effects of pulsed electromagnetic fields on peripheral blood circulation in people with diabetes: a randomized controlled trial. *Bioelectromagnetics.* 2016;37:290-7.
- [15] Choi M, Cheung K, Li X, Cheing GL. Pulsed electromagnetic field (PEMF) promotes collagen fibre deposition associated with increased myofibroblast population in the early healing phase of diabetic wound. *Arch Dermatol Res.* 2016;308:21-9.
- [16] Weber RV, Navarro A, Wu JK, Yu H, Strauch B. Pulsed magnetic fields applied to a transferred arterial loop support the rat groin composite flap. *Plast Reconstr Surg.* 2004;114:1185.
- [17] McKay JC, Prato FS, Thomas AW. A literature review: the effects of magnetic field exposure on blood flow and blood vessels in the microvasculature. *Bioelectromagnetics.* 2007;28:81-98.
- [18] Xu S, Okano H, Ohkubo C. Acute effects of whole-body exposure to static magnetic fields and 50-Hz electromagnetic fields on muscle microcirculation in anesthetized mice. *Bioelectrochemistry.* 2001;53:127-35.
- [19] Gmitrov J. Static magnetic field and verapamil effect on baroreflex stimulus-induced microcirculatory responses. *Electromagn Biol Med.* 2004;23:141-55.
- [20] Boas DA, Dunn AK. Laser speckle contrast imaging in biomedical optics. *J Biomed Opt.* 2010;15(1):011109.
- [21] Tao R, Huang K. Reducing blood viscosity with magnetic fields. *Phys Rev E.* 2011;84:011905.
- [22] Strauch B, Herman C, Dabb R, Ignarro LJ, Pilla AA. Evidence-based use of pulsed electromagnetic field therapy in clinical plastic surgery. *Aesthet Surg.* 2009;29:135-43.
- [23] Callaghan MJ, Chang EI, Seiser N, Aarabi S, Ghali S, Kinucan ER, Simon BJ, Gurtner GC. Pulsed electromagnetic fields accelerate normal and diabetic wound healing by increasing endogenous FGF-2 release. *Plast Reconstr Surg.* 2008;121:130-41.