



저작자표시 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#) 

석 사 학 위 논 문

욕창의 진단 및 치료가 동시에 가능한
임피던스 탄성도 기반
피부 패치형 바이오 포토닉스 센서 개발

계 명 대 학 교 대 학 원
의 학 과

박 은 빈

지도교수 이 종 하

2019년 8월

욕창의 진단 및 치료가 동시에 가능한 임피던스 탄성도 기반 피부 패치형 바이오 포토닉스 센서 개발

박
은
빈

2
0
1
9
년
8
월

육창의 진단 및 치료가 동시에 가능한
임피던스 탄성도 기반
피부 패치형 바이오 포토닉스 센서 개발

지도교수 이 종 하

이 논문을 석사학위 논문으로 제출함

2 0 1 9 년 8 월

계 명 대 학 교 대 학 원
의 학 과

박 은 빈

박은빈의 석사학위 논문을 인준함

주 심 박 회 준

부 심 이 종 하

부 심 구 정 훈

계 명 대 학 교 대 학 원

2 0 1 9 년 8 월

목 차

1. 서 론	1
2. 재료 및 방법	13
3. 성 적	24
4. 고 찰	38
5. 요 약	40
참고문헌	41
Abstract	49
국문초록	52

표 목 차

<표 1> 옥창의 단계별 특징	5
<표 2> 광(Laser)의 생물학적 효과	10
<표 3> 광(LED)의 생물학적 효과	11
<표 4> 바이오 포토닉스 장치의 성능	15

그림 목차

<그림 1> 욕창의 단계	4
<그림 2> 산화스트레스에 따른 세포 손상 기전	17
<그림 3> 산화스트레스에 유도 되는 염증반응 및 억제 연관 분자 마커 ...	18
<그림 4> Rat 모델을 통한 욕창 유발	21
<그림 5> 포토닉스 660nm 광 조사에 따른 항산화 효능 검증	26
<그림 6> 포토닉스 660nm 광 조사에 따른 산화스트레스 억제능 확인	27
<그림 7> 포토닉스 660nm 광 조사에 의한 상처치유능력 확인	29
<그림 8> 포토닉스 660nm 광 조사에 따른 혈관형성 촉진 효능 확인	30
<그림 9> Rat 동물 모델 욕창 유도 결과	36
<그림 10> 욕창 및 포토닉스 660nm 광 조사에 따른 임피던스 변화	37

1. 서 론

1.1. 연구배경:

최근 들어 지속적으로 고령화가 진행되고 있으며 전체 인구 중에 노인들의 인구 비율이 증가 하고 있다. 이로 인해 요양병원과 같이 노인들을 대상으로 하는 보호 시설이 증가하고 있으며 해당 환자들을 관리하기 위해 많은 인력이 투입되고 있다. 이러한 보호시설에서 가장 흔히 발생하는 질병은 욕창이 있으며 욕창으로 인한 합병증 등은 사회적인 관리 비용 증가 등 최근 들어 많은 문제점들을 발생시키고 있다. 욕창은 장시간 침대에 누워서 지내야 하는 노인들이나 환자들에게서 흔히 발생하며 이는 신체에 장시간의 압력이 가해지면 혈류량의 감소와 조직에 대한 재 관류로 인해 세포 사멸과 압력에 의하여 발생하는 궤양이다.

욕창은 보통 총 4단계로 구분되는데, 가장 초기단계인 1단계는 표피는 정상이나 표피에 생긴 홍반이 30분 이내에 없어지지 않는 단계, 2단계는 표피 또는 진피를 포함한 부분적인 피부손상이 있는 단계, 3단계는 진피와 피하조직을 포함한 피부 전체에 손상이 있는 단계, 4단계는 피하조직과 근막, 근육, 뼈나 관절을 포함한 심부 조직의 손상이 있는 단계로 구분 된다. 욕창은 심각한 손상을 초래하는 중, 말기 전에는 욕안으로 정확한 확인이 어려우며 예방하기 어려운 질병이다. 또한 피부 조직의 손상을 초래하는 시간이 환자마다 매우 다르게 나타나며, 욕창으로 인한 진피 손상이 심한 경우가 많고 이로 인해 이차 감염 등으로 폐렴과 같은 추가적인 질병이 발생 할 수 있다. 하지만 현재까지 의료진이 욕창을 진단하기에는 정량적으로 측정하는 방법이 아닌 의사의 욕안으로 진단을 시행하고 있으며 이 또한 의료진의 숙련도에 따라 큰 차이를 보이고 있다.

현재 욕창의 치료는 특별한 방법 없이, 초기 욕창부터 말기 욕창까지 체위변경, 환부 세척, 드레싱, 수술을 이용한 1차원적 치료 방법이 행해지고

있다. 이러한 치료 방법은 장기간 병상에 누워 있어야 하는 환자 또는 노인에게는 지속적인 치료가 필요하기 때문에 비용의 부담이 매우 크며, 의료진은 담당하는 환자의 체위변경, 드레싱과 같은 지속적이고 반복적인 케어가 필요하여 노동의 부담이 매우 크다.

이에 본 논문에서는 욕안으로 구분하기 힘든 욕창을 정량적으로 진단하고, 지속적으로 치료 하는 방법을 제시하였다.

1.2. 배경 이론:

1.2.1. 욕창:

욕창은 같은 자세로 계속 앉아 있고 누워 있을 때, 신체 부위에 지속적으로 압력이 가해진다거나, 피부 마찰 등에 의해서 그 부위에 순환과 관련된 장애가 일어나 피하조직의 손상이나 궤양이 유발된 상태를 말한다.

이러한 욕창은 일반인에 비해 병원에 단기적·장기적으로 입원하는 환자들에게서 흔히 발생하게 되고, 발생 시 통증과 불편감을 경험함과 동시에 입원의 장기화로 이어져 경제적 문제까지 더해져 건강관리상 상당히 해결하기 어려운 문제로 인식되고 있다(NPUAP, 2009).

우리나라의 경우 중환자실 입원환자의 30~50%에서 욕창이 발생하는 것으로 보고되고 있으며, 해외의 경우 12.9~17%로 우리나라 보다는 다소 낮은 욕창 발생률이 보고되고 있다. 중환자실 입원 환자를 기준으로 욕창 유병률을 조사한 연구에서도 5.2~43.3%로 욕창에 있어 높은 유병률을 보고하고 있다. 중환자들은 일반 환자보다 욕창 유병률이나 발생률에 있어 더 높은 수치를 나타내는데, 이는 중환자들이 일반 환자들에 비해 의식수준과 감각지각능력 저하, 부동, 부종, 장기간의 호흡기치료 뿐만 아니라 영양상태의 불균형 등의 위험에 쉽게 노출되기 때문이다.

욕창 발생의 위험요인으로는 감각인지, 습도, 기동성, 마찰 및 전단력, 장기간 입원, 마비, 부종, 당뇨 등의 질병 특성, 영양지표 등이 관련성이 있는 것으로 보고되고 있는데, 중환자실에 입원한 대부분의 환자들은 의식 수준 저하나 활동성 및 기동성이 제한되어 있기 때문에 욕창 발생이 매우 쉽게 일어나기 때문에, 욕창의 예방과 초기 치료가 매우 중요하다.

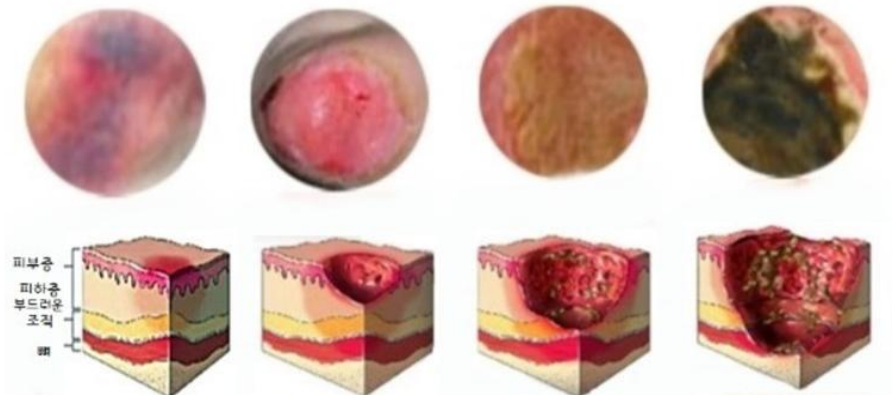


그림 1. 욕창의 단계

표 1. 욕창의 단계별 특징

단계	욕창 1단계	욕창 2단계	욕창 3단계	욕창 4단계
특징 (증상)	표피는 정상이나 표피에 생긴 홍반이 30분 없어지지 않는 단계	표피 또는 진피를 포함한 부분적인 피부손상이 있는 단계	진피와 피하조직을 포함한 피부 전체에 손상이 있는 단계	피하조직과 근막, 근육, 뼈, 관절을 포함한 심부 조직의 손상이 있는 단계

1.2.2. 피부 임피던스:

피부 임피던스는 회로에서 전압이 가해졌을 때 전류의 흐름을 방해하는 값이다. 임피던스의 값은 교류 회로의 전압과 전류의 비로 나타낼 수 있으며, 일반적으로 교류 전압의 진동수에 의존한다. 교류 회로에서 임피던스는 저항 개념의 확장인데, 크기값만 갖는 저항과 달리 크기와 위상의 값을 갖는다. 직류 회로에서는 임피던스와 저항이 같은데, 이는 임피던스의 위상각이 0이라 생각하면 된다. 전기 회로망에서 교류 회로를 분석 할 때 임피던스가 자주 사용되는데, 임피던스를 이용하면 삼각함수의 형태를 갖는 전압과 전류의 관계를 직선으로 나타낼 수 있기 때문이다.

임피던스는 복소수로 표시되며, 국제단위계에서 단위는 옴(Ω)이다. 보통 복소평면에 나타내는 방법이 회로를 분석할 때 가장 많이 쓰인다. 직류 회로의 전기저항과는 달리 임피던스가 큰 것이 꼭 임피던스가 작은 것보다 저항이 크다고 할 수는 없다. 서로 다른 두 회로를 연결할 때는 각 회로의 임피던스를 같게 해주는 것이 원칙이다.

1.3. 선행연구:

1.3.1. 저출력 광치료 기술:

저출력 광치료 기술은 대표적인 광선요법으로 적정수준($1\text{mW} \sim 500\text{mW}$)의 빛 에너지를 조사하여 세포의 기능을 자극하거나 억제함으로써 임상 효과를 볼 수 있는 광 치료 기술이다. 저출력 광치료 기술은 전자기파 중 가시광선 영역 또는 근적외선 영역의 광원을 주로 사용하거나 경우에 따라 두 가지를 조합하여 사용한다. 주요 응용되는 의료 분야는 통증 및 염증 감소, 상처조직의 손상 방지 및 복구, 조직 및 신경 재생 촉진 등이다.

일반적인 저출력 광치료 기술의 매커니즘은 정확하게 밝혀지지 않았지만,

몇몇 연구를 통해 추측되는 매커니즘은 다음과 같다. 세포에 흡수되는 가시광선 또는 근적외선의 광에너지가 조사되는 세포 조직 내에 도달하면 세포에 존재하는 미토콘드리아의 호흡 경로 중 Cytochrome coxydase가 발색단으로 작용해 빛을 받아들인다. 도달한 광자는 세포의 ROS(Reactive Oxygen Species)와 ATP(Adenosine triphosphate) 합성을 증가시키고 Nitric Oxide를 방출시킨다. 적절한 시간과 주기로 선택된 파장의 광은 연속적인 세포 내 생화학 반응으로 이어지게 되어 전반적인 대사 활동이 활발히 이루어져 세포의 재생과 재화에 큰 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 390 nm에서 1,100 nm 사이의 파장의 빛을 연속 또는 펄스로 조사한다. 정상적인 환경에서 상대적으로 낮은 플루언스(fluence)와 전력 밀도를 사용한다(AlGhamdi, Kumar, & Moussa, 2012). 다수의 연구를 통해 효과가 있다고 알려진 저출력 광치료 기술은 이미 임상에서도 널리 쓰이고 있다(표1, 2). 임상적으로 가장 많이 응용되는 분야는 피부과로 노화방지나 여드름 치료에 사용된다. 여드름 세균은 대사과정에서 포르피린(porphyrin)을 생산하는데 이는 빛 에너지를 흡수하고 세포 내 또는 조직에서 화학반응을 유발하게 하는 광감작물질로 작용한다. 즉, 포르피린은 빛 에너지를 흡수하여 화학반응을 일으키며, 이 과정에서 활성산소가 유리되며 여드름의 호전을 가져온다(Aziz-Jalali, Tabaie, & Djavid, 2012). 피부노화는 사람은 나이가 들어감에 따라 진행되면서 주름, 색소침착, 모세혈관 확장, 탄력 저하 등의 증상과 함께 나타나는데, 이는 조직학적으로 콜라겐 감소, 탄성 섬유의 탄성 감소, 피부 혈관의 위축 등이 원인이다. 이미 많은 연구를 통해 바이오 포토닉스 조사가 세포의 재생을 도와 피부의 노화를 방지해주는 역할을 한다고 알려져 있다. 주름을 가진 76명의 환자의 얼굴의 오른쪽에 830 nm 파장(55 mW/cm², 66 J/cm²)과 633 nm파장(105 mW/cm², 126 J/cm²)의 발광다이오드(Light Emitting Diode, LED)를 통한 광을 조사한 후, 피부탄력과 멜라닌 사진촬영, 프로파일법 등을 통해 3개월간 조직의 미세 구조적 변화를 관찰했다. 그 결과 부위의 콜라겐 양의 증가 및 탄성 섬유 양 증가 확인을 통해 주름의 감소(최대 36%) 및 피부탄력

증가(치대 19%)를 입증하였다(Lee et al., 2007). 이 외에도 4주에 걸쳐 8회 연속 피실험자에게 590 nm (0.1 J/cm^2)의 발광다이오드를 통한 광을 조사한 후 4, 8, 12, 18주, 6개월 및 12개월에 거쳐 평가를 진행하였다. 디지털 이미징 데이터를 확인할 결과 피부 표면이 매끄럽고 주위의 땀샘이 감소하였으며 홍반과 색소침착이 있었던 피실험자에게서 90%이상의 노화징후가 감소함을 입증하였다 (Weiss, McDaniel, Geronemus, & Weiss, 2005). 또한, 저출력 광치료 기술은 상처치유 및 복원에도 효능이 있는 것으로 알려져 있다. 치료가 어렵다고 알려져 있는 화상흉터치료의 임상실험에서도 저출력 광치료 기술은 효과를 보였다. 화상 흉터가 있는 19명의 환자 중 무작위로, 흉터 부위에 670 nm (soft laser, 400 mW)파장의 레이저를 8주간 조사하였다. 그 결과 VSS (Vancouver Scar Scale) 평가에서 대조군에서는 기존 6.10 ± 2.86 에서 치료 후 5.88 ± 2.72 로 감소하였으나, 실험군에서는 기존 7.10 ± 2.86 에서 치료 후 4.68 ± 2.05 로 대조군에 비해 크게 감소하였다. 결과적으로 19개의 흉터 중 17개가 긍정적인 효과를 확인하였다(Gaida et al., 2004). 저출력 광치료 기술이 모발 성장촉진에도 효과가 있다는 연구가 발표되었다. 미국 FDA가 허가 한 HairMax Lasercomb®의 저급 레이저 장치로 탈모를 앓고 있는 300명의 환자에게 임상시험을 시행하였다. 시험은 피실험자들은 무작위로 3개의 모델과 가짜 패킷 중 하나로 26주간 치료를 하는 방식으로 진행되었다. 결과적으로 실제 저출력 광치료 기술로 치료를 받은 실험자들이 가짜 패킷으로 치료를 받은 환자에 비해 모발재성장에 효과를 보였다(Jimenez et al., 2014). 이 외에도, 많은 연구에서 저출력 광치료 기술이 탈모 및 모발 재성장에 효과가 있음을 입증하였다.

다수의 연구에서 각종 근골격계의 만성 통증 치료에 효과가 있음이 밝혀졌다 (Branco & Naeser, 1999; Okuni et al., 2012; Ozkan, Altan, Bingol, Akln, & Yurtkuran, 2004). 팔꿈치, 손목, 손가락에 이르는 통증에 저출력 광치료 기술이 효능이 있는지 확인하기 위하여 위 부위에 통증을 가지고 있는 9명의 남성과 15명의 여성을 상대로 연구를 하였다. 1000

mW 파장의 반도체 레이저 기기로 주 2회, 한달간의 치료 후 평가를 받았다. 평가 방법은 VAS를 이용하였다. 결과적으로 레이저 조사 전 평균 VAS (visual analog scale) 59.2 ± 12.9 에서 조사 후 33.1 ± 12.2 로 치료후 VAS 점수가 유의하게 향상됨을 확인하였다. 즉, 1000 mW 파장에서 저출력 광치료 기술이 팔꿈치, 손목 및 손가락의 만성 통증에 효과적이라는 결론을 도출하였다(Okuni et al., 2012).

현재 광치료 기술 기반의 광유전학분야에서 유효성 있는 광원으로는 레이저와 발광다이오드가 대표적이다. 레이저는 발광되는 형태가 좁아 특정 부위에 집중적으로 발광이 가능하다. 또한 결합 효율이 높고 동일한 위상과 파동의 균일성을 띄고 있다. 하지만 레이저는 유도방출에 의한 빛의 증폭을 의미하기 때문에 빛의 증폭을 유도하기 위한 별도의 장치가 필요하여 제품의 초소형화에 제한이 될 수 있다(Cotler, Chow, Hamblin, & Carroll, 2015; Jin-cheol, 2016). 반면, 발광다이오드는 레이저광원에 비해 넓은 출력 스펙트럼을 가지고 넓은 범위의 조사가 가능하다. 또한 강하지만 지속적으로 안정된 파워를 가졌고 밝기 제어 및 소형화, 다양한 파장으로 이용할 수 있어 다양한 형태로의 기능 확장이 가능하다는 장점을 가지고 있다(Chung et al., 2012; Hashmi et al., 2010; Jin-cheol, 2016). 따라서 초창기 광치료 기술연구에서 레이저를 주로 사용했다면, 최근에는 발광다이오드를 사용하는 사례가 많아지고 있다.

오랜 시간의 연구에 걸쳐 광을 이용한 치료는 인체의 다양한 질병 치료에 이용되었다. 생화학적 치료 효과는 다양한 변수들에 의해 각기 다르게 나타난다. 특정파장, 에너지 밀도, 조사시간 및 펄스 등이 중요한 매개변수로 작용한다. 즉, 특정 분야에서 그에 맞는 최적의 빛과 선량값을 조사하는 것이 가장 중요하다. 선량 측정값이 낮으면 치료효과가 낮아지고 그보다 높으면 조직이 손상될 수 있다(Posten et al., 2005). 따라서 부작용을 최소화하고 치료효과를 극대화하기 위해서는 광원과 복용량의 적절한 선택이 뒷받침 되어야 한다. 또한 장비의 적절한 사용과 유지보수도 필요하다.

표 2. 광(Laser)의 생물학적 효과

질환	변수	모델	실험내용 · 효과	참고
화상	670 nm, 400 mW, 4J/cm ²	human	19명 중 17명이 치료후 개선을 보임	(Gaida et al., 2004)
관절통증	830 nm, 1000 mW, 650 mW/cm ² 20.1 J/cm ²	human	손목통증 개선 및 치료효 과 1일 이상 지속	(Okuni et al., 2012)
손목통증	1차 : 680 nm, 5 mW, CW 2차 : 904 nm, 10 W, CW	human	세포수준의 ATP증가 및 염증감소, 통증감소	(Branco & Naeser, 1999)
근육통증	GaAs laser	human	조기 부종감소 유의, 통 증감소는 유의하지 않음	(Ozkan et al., 2004)
탈모	655 nm, 4 mm, 11 min 635 nm, 8 min	human	치료효과 및 높은 만족도	(Jimenez et al., 2014)
관절염	810 nm, 5 mW/cm ² 혹은 50 mW/cm ² 3 J/cm ² 혹은 30 J/cm ² , CW mode 1, 10 or 100 min	rat	염증성 관절염치료에 효 과적이나 조명시간이 중 요한 매개변수가 될 수 있음	(Castano et al., 2007)

** 매개변수 : 파장(nm), 전력(mW), 전력밀도(mW/cm²), 에너지(J), 에너지 밀도(J/cm²), 계속모드(CW) 혹은 펄스(Hz), 스
팟 크기(cm²), 조명시간(min)

표 3. 광(LED)의 생물학적 효과

질환	변수	모델	실험내용 및 효과	참고
노화	633 nm, 105mW/cm ² , 126 J/cm ² 830 nm, 55mW/cm ² , 66 J/cm ²	human	630 nm, 830 nm 및 두 파장의 조합군에서 주름의 현저한 감소 및 피부탄력증가가 나타남	(Lee et al., 2007)
노화	590 nm, 0.1 J/cm ² , 2 Hz, 4 week	human	홍반 및 색소침착이 감소하고 진피의 콜라겐 증가	(Weiss et al., 2005)
궤양	660 nm, 890 nm, 혼합 500 mW, 100 mW/cm ²	human	조기 증산 호전 및 90~100% 치유 달성	(Debora G. Minatel, 2009)
여드름	420 nm, 660 nm, 2 min	human	피지생산량 감소, 염증세포 침윤 감소 및 피지선 감소	(H.H. Kwon, 2013)

** 매개변수 : 파장(nm), 전력(mW), 전력밀도(mW/cm²), 에너지(J), 에너지 밀도(J/cm²), 계속모드(CW) 혹은 펄스(Hz), 스팟 크기(cm²), 조명시간(min)

1.4. 연구목적:

오늘날 여러 연구에서 보아왔듯이 욕창은 고령화 사회로 진입하게 되고, 장기 요양 환자들의 급증으로 인해 흔히 발생하는 질병이면서 동시에 계속적인 의료 인력의 수요가 많이 필요한 질병이다. 그러나 현재 가정, 요양원, 요양병원, 종합병원에도 욕창 예방 또는 관리를 위한 방법은 체위 변경과 같은 단순한 방법에 머물러 있으며, 이로는 초·중기 단계의 욕창을 진단하고 치료하기에는 어려운 현실에 처해있다.

욕창은 병원에서도 특별한 병리검사 없이 욕안으로 진단하기 때문에, 조기 진단이 어렵고 의료진의 숙련도에 따라 진단 정확도가 천차만별이다. 이로 인해 욕창의 조기 진단을 위해 욕창의 단계별, 질환별 과학적 구분과 정량화가 필요하다. 또한 욕창의 치료는 체위변경, 세척, 드레싱, 수술과 같은 1차원적 치료 방법이 행해짐으로써 의료진과 환자에 불편함을 가중시키고, 드레싱 및 약물사용 비용의 부담이 크다. 이로 인해, 2차 감염 예방을 위한 건식 치료 방법이 필요하다.

본 연구에서는 고령화 사회로의 진입으로 인해 흔히 발생하는 욕창을 정량적이고 과학적인 구분 방법인 임피던스 값을 이용하여 조기 진단하고 동시에 바이오 포토닉스 광을 이용한 건식 치료 방법을 적용한 욕창의 진단 및 치료가 동시에 가능한 임피던스 기반 피부 패치형 바이오 포토닉스 센서를 개발 하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 재료:

2.1.1. 임피던스 측정:

본 연구에서는 욕창의 환부에 대해 임피던스와 근전도를 측정하여 욕창 부위에 대한 손상등급을 빠르게 가능하게하며 진단된 부위에 대해 적절한 광 파장을 선택하여 조사함으로써 적절한 치료가 가능하도록 하였다. 임피던스 크기 및 위상 측정을 위하여 100mV의 Agilent E4980 20Hz~1MHz 정밀 LCR meter를 사용하여, 100Hz ~ 1MHz의 주파수를 갖는 정전압 사인파 신호를 출력하였다.

2.1.2. 발광다이오드를 이용한 광 조사:

욕창 광 치료방법을 위한 LED 기반 장치 프로토타입은 욕창 1기, 2기 정도의 초·중기 단계의 상처에 사용 하였다. 실험군은 20 mW / cm² (LED4D067, ThorlabsInc., Newton, NewJersey, UnitedStates)의 출력 밀도 660 nm로 조사되었다. 광 치료 중 전달되는 총 에너지 밀도는 3 J / cm²이다. 레이저 장치의 모든 매개 변수를 Table1에서 선택 하였다.

2.1.3. 세포 배양:

본 실험의 *in vitro* 연구에서 사용되는 cell line은 ATCC로부터 분양 받아 계명대학교 의과대학 액체질소탱크에 있는 NIH/3T3 Cell을 사용하여 수시로 계대하여 실험목적에 맞게 배양하였다.

세포배양은 10% FBS (GIBCO), 1% L-glutamine (GIBCO), 1% penicillin-streptomycin 함유 DMEM (GIBCO) 배지를 사용하였다.

표 4. 바이오 포토닉스 장치의 성능

Parameter [unit]	Value
Center wavelength [nm]	660
Output mode	Continue
Average radiant power [mW]	1000
Spot area [cm ²]	20
Irradiance at aperture [mW/cm ²]	20
Beam profile	Round
Beam divergence	90
Spectral bandwidth [nm]	25

** 매개변수 : 파장(nm), 전력(mW), 전력밀도(mW/cm²), 펄스(Hz), 스폿 크기(cm²),

2.2. 연구 방법:

2.2.1. 항산화 효능 실험 (DPPH assay):

항산화 효능을 검증을 위한 실험인 DPPH assay는 쉽게 구할 수 있는 Sigma-Aldrich 을 사용하여 50 % 메탄올에 용해되어 660 nm LED의 항산화 활성을 실험하였다.

아스 코르 빈산은 DPPH 용액에서 아스코르브 산 농도로 처리하였고, LED (20mW / cm²)를 10 분간 조사한 후에 측정 하였다.

항산화 활성은 515 nm에서 흡광도의 감소를 측정함으로써 계산 하였다.

2.2.2. 산화스트레스 억제능 확인:

지질과 산화에 의해 생성된 산화 LDL (Low Density Lipo-protein)의 산화 억제작용을 TBA (Thiobarbituric acid) 방법을 이용해 측정하였다.

실험군은 검액 10 μ l에 2 μ g / μ l LDL 10ml, 150 μ m sodium chloride 470 μ l, 100 μ m copper sulfate 10 μ l를 넣었다. 대조군은 검액 대신 10 μ l의 DMSO를 넣었고, 공시험은 검액 대신 증류수 10 μ l를 넣었고 이 모든 용액은 500 μ l가 되도록 하였다. 만들어진 반응 용액을 vortex mixer로 즉시 혼합하고 3 시간 동안 37 $^{\circ}$ C의 인큐베이터에서 배양하였다. 각각의 반응 용액을 400 μ l 취해 15 μ l 튜브에 담아 4% BHT ethanol solution 250 μ l를 분주하여 산화를 정지시킨 후 0.5M sulfuric acid에 녹인 10% phosphotungstic acid 500 μ l 와 0.7% thiobarbituric acid 250 μ l를 넣고 마개를 닫아 95% 옥조에서 60분 동안 가열하였다. 흐르는 물에서 식힌 후 n-butanol을 1ml씩 넣어 5분동안 vortex 한 후 5000rpm에서 15분간 원심분리 하여 상등액을 취해 535 nm에서 측정하였다.

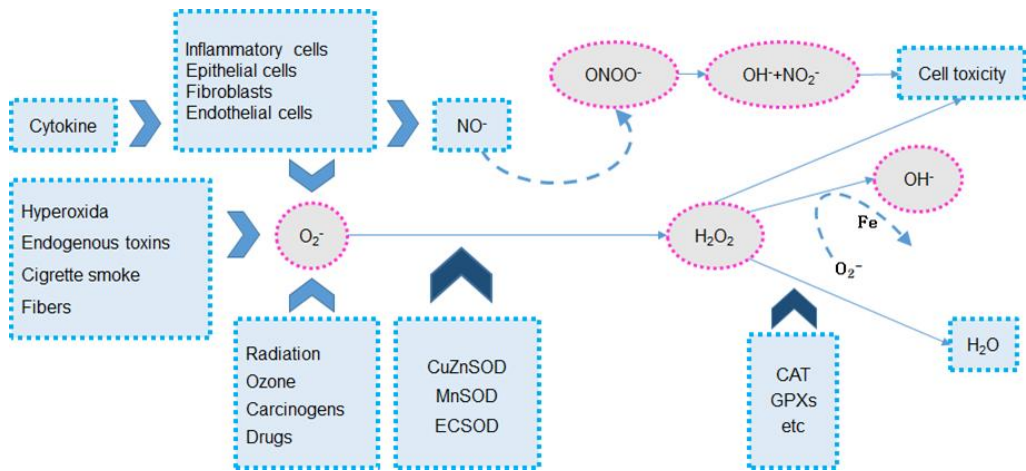


그림 2. 산화스트레스에 따른 세포 손상 기전

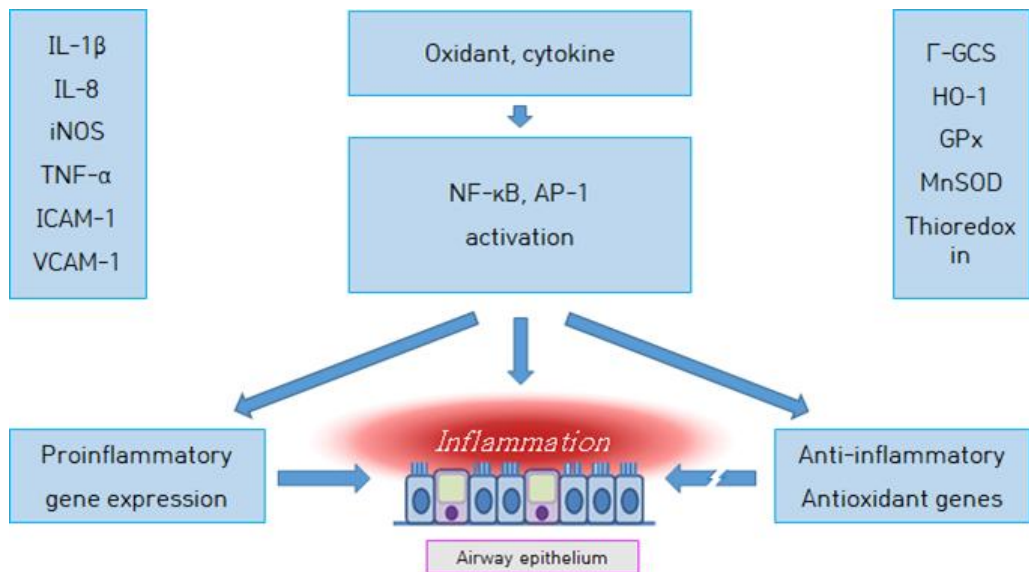


그림 3. 산화스트레스에 유도 되는 염증반응 및 억제 연관 분자 마커

2.2.3. 포토닉스에 의한 상처치유능력 확인(in vitro):

본 실험에서는 마우스 melanoma cell line인 B16-F1 세포를 3×10^5 cells/well의 농도로 24-well plate (Becton Dickinson, San Jose, CA)에 배양하였다. 세포가 전면을 덮었을 때 1000 μ l tip으로 긁어 상처를 낸 후 PBS로 2번 세척하여 떨어진 세포들을 제거하였다.

시료(rhVEGF, anti-human VEGF Ab, sFlt-1, SU5416)가 혼합된 1% FBS DMEM 배지를 세포에 넣어준 후 2~3일간 배양하였고, 매일 새로운 배지로 교체해 주었다. 배양이 끝난 후 광학 현미경($\times 100$)으로 상처가 치유되는 정도를 관찰하였다.

2.2.4. 포토닉스에 의한 혈관형성 촉진 효능 확인:

본 실험에서는 HUVEC을 1% FBS가 포함된 M199 배지로 교체하여 6시간 동안 starvation 시키고, 24-well plate에 ice-cold Matrigel (BD Bioscience)을 250 μ l씩 넣은 후 37°C에서 30분간 굳혔다.

Starvation이 끝난 후에 1×10^5 cells/well로 세포의 농도를 맞추고, 시료(rhVEGF, anti-human VEGF Ab, sFlt-1, SU5416)가 혼합된 1% FBS M199 배지를 넣어주었다. 12시간 동안 배양한 뒤 광학 현미경($\times 100$)으로 관 형성 정도를 관찰하였다.

2.2.5. Rat 모델을 통한 욕창 유발 실험:

본 실험의 동물은 동일한 조건으로 사육된 체중 250~300g 내외의 8주-9주 사이의 수컷 흰쥐 Rat(Sprague-Dawley) 12마리를 대상으로 하였다.

Rat를 산소와 혼합된 이소 플루오란으로 마취시킨 후 Rat의 등 부분 면도를 하고, Veet 제모크림을 이용하여 제모 한 후 그 부분을 140mmHg의 압력을 가진 집게로 집어 일정한 압력을 가하였다.

Rat의 등 부분에 140mmHg 압력을 3시간 가하여 2단계 정도의 욕창을 유발하였다. (그림 4)

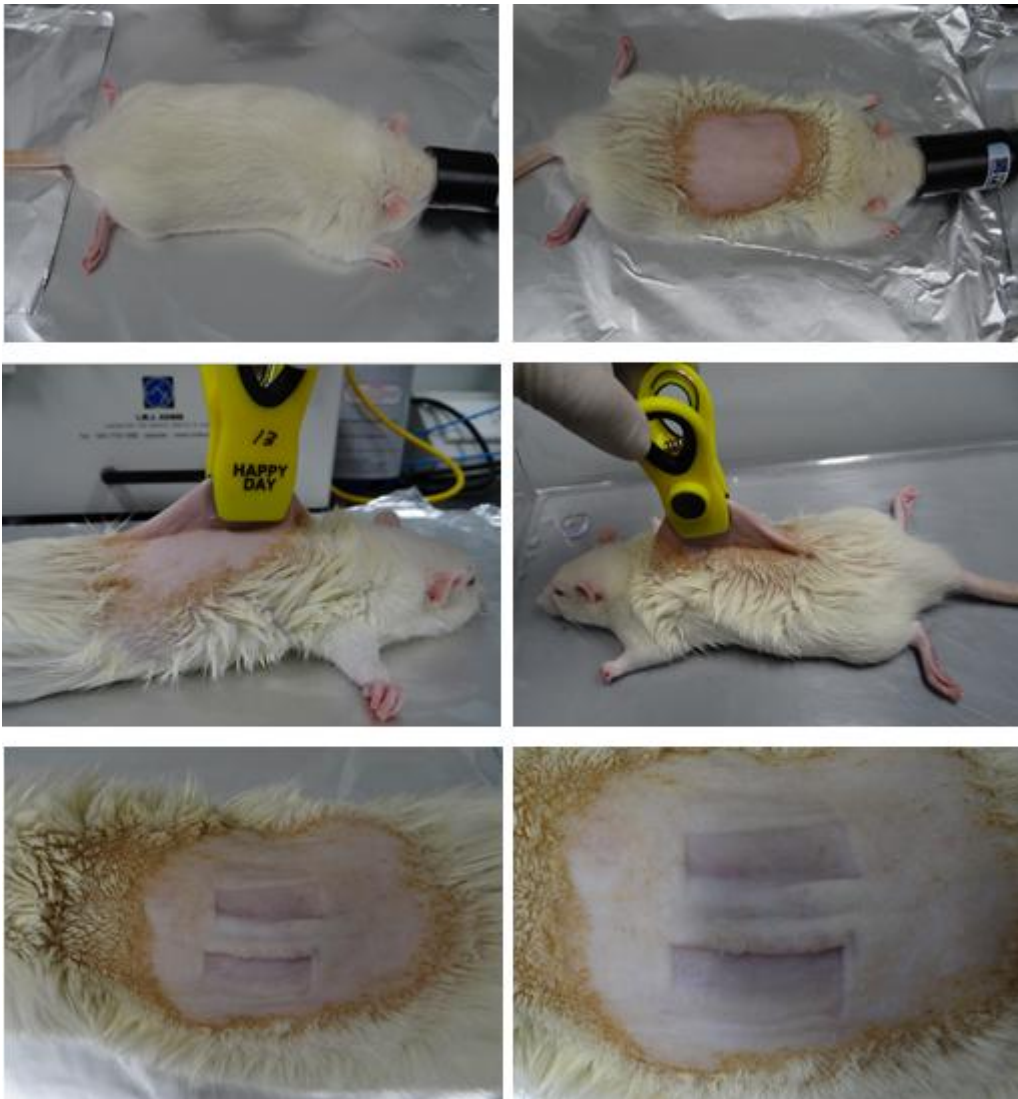


그림 4. Rat 모델을 통한 욕창 유발

2.2.6. 피부 조직 샘플:

육창이 유발된 피부 조직 샘플은 피부 전체 두께만큼 상처부분을 절제하고 즉시 cassettes에 평평하게 옮긴 후 24-72 시간 동안 10% 중성 완충 포르말린에 보관 하였다. 그 후, 조직을 70% 에탄올로 옮기고 최대 1주일 동안 보관하였다. 1주일 후 견본 파라핀에 끼워 놓고 5 micron으로 절단하고, 슬라이드를 Heamatoxylin 과 Eosin으로 염색하였다.

2.2.7. 임피던스 측정을 통한 육창 진단:

어레이의 각 전극은 제어 하드웨어에 의해 독립적으로 선택되어 전극 사이의 쌍으로 된 임피던스 측정을 가능하게 한다. Python으로 구현된 사용자 정의 소프트웨어는 제어 하드웨어와 통신하여 지정된 순서로 전극 쌍을 선택하고 동시에 LCR 미터를 제어한다.

제어보드상의 마이크로 컨트롤러는 테스트 신호를 LCR 미터에서 선택된 전극으로 라우팅하고, 임피던스를 기록한 다음 마이크로 컨트롤러는 측정 순서에서 다음 전극 세트를 선택했다.

임피던스 데이터는 통계, 시스템 식별 및 제어 시스템 툴박스를 사용하는 사용자 정의 MATLAB 스크립트 모음을 사용하여 분석하였다. 접촉 임피던스 및 부유 용량. 접촉 임피던스 및 부유 용량의 영향을 최소화하는 것이 조직 임피던스의 정확한 측정을 얻는 데 중요하다.

따라서 각 전극에 고 컨덕턴스 겔을 선택적으로 적용하여 접촉 임피던스를 최소화하는 제조 공정을 최적화하였으며 패턴 스텐실 및 블레이드 코팅 방법을 사용하여 제어하였다.

측정 어레이가 조직과 충분히 접촉이 가능하게 하기 위해 측정 중에 충분한 압력이 가하였으며 또한 부적절한 커패시턴스 및 기타 측정 기생은 LCR

미터에 대한 최소 길이의 차폐 케이블, 제대로 차폐된 BNC (Bayonet Neill-Councilman) 연결 및 맞춤형 제어 하드웨어의 노이즈 최소화 레이아웃 및 라우팅 기술을 선택하여 최소화하였다.

센서 어레이를 상처에 장착, 감지 어레이를 상처에 장착하는 절차는 보조 그림 2에 나와 있습니다. 얇은 폴리 디메틸 실록산 스텐실을 우선 정렬하고 플렉시블 어레이 보드 위에 놓아 배열의 각 전극에 하이드로 겔 (SignaGel 전극 겔, Parker Laboratories Inc.)을 선택적으로 적용할 수 있게 하였다.

하이드로 겔은 각 전극과 쥐의 피부 사이에 적절한 전기적 접촉이 가능하도록 하였으며 스텐실이 제거된 후 어레이를 쥐의 뒤쪽에 조심스럽게 놓고 투명한 Tegaderm 드레싱으로 측정하고 고정시켰다.

2.2.8. LED를 이용한 광조사:

광을 조사하는 기기는 Thorlabs의 DC4104를 이용하였고 LED조사가 컨트롤러는 LED4D231 모델을 사용하였다(그림 3). DC4104는 전류 설정을 통해 스위칭 및 밝기 조정이 가능하고 할로겐 램프보다 안전성이 뛰어나고 수명이 길며 냉각 팬을 통해 열관리가 가능하기 때문에 장시간 사용도 문제가 없다. LED4D067은 0 °C부터 40 °C에서 작동이 가능하며 크기는 넓이 164 mm, 높이 150 mm, 폭 57 mm이다. 무게는 1.6 kg이다.

실험에 사용되는 660 nm 파장의 경우 최소 출력 파워가 210 mW, 최대 전류가 1200 mA, 순방향 전류 2.5 V, 대역폭은 25 nm이다. 본 실험에서는 실험 가능한 총 4개(365 nm, 455 nm, 545 nm, 660 nm)의 파장을 이용하여 사전 연구를 진행하여, 세포에 독성을 띄지 않고 세포증식을 유도하는 근적외선 영역의 660 nm를 선택하였다. 따라서 본 연구에서는 660 nm 파장을 사용하였고, 전류는 500 mA로 설정하였다.

3. 성 적

3.1. 연구결과:

3.1.1. 포토닉스 660 nm는 Enzyme base에서 항산화 효과 확인결과:

본 논문에서는 포토닉스 660nm 광 조사에 따른 항산화 효능 검증 실험을 하였다. 포토닉스에 의한 항산화 효과를 확인 결과 660 nm의 LED는 항산화 활동을 향상시키는 것으로 확인되었다.

Ascorbic acid와 DPPH 분석을 사용하여 660 nm LED의 항산화 활성을 측정했다. Ascorbic acid의 농도가 10, 30 및 100 μM 인 경우, DPPH 소거능은 각각 14.5, 42.8 및 80.7 %였다. LED가 660 nm에서 조사되었을 때, 이 활성은 각각 21.0, 48.0 및 85.5 %로 증가했다. 660 nm LED의 항산화 활성은 10 μM 에서 6.5 %, 30 μM 에서 5.2 %, 100 μM 아스 코르 빈산에서 4.8 % 증가했다. Butylated hydroxytoluene (BHT)도 10, 30, 100 μM 농도로 사용 하였다. BHT의 DPPH 제거 활성은이 농도에서 각각 6.9, 13.4 및 28.1 % 이고, 660nm LED 조사시 17.6, 21.2 및 30.9 %였다. 활성은 10 μM 에서 10.7 %, 30 μM 에서 7.8 %, 660 nm LED 광 조사로 100 μM BTH에서 2.8 % 증가했다.

이 결과는 660nm LED가 Ascorbic acid와 BTH의 항산화 작용을 향상 시킨다는 것을 나타내고 있으며, 본 실험에서 항산화 positive 컨트롤로 사용되는 Ascorbic acid(AS, 비타민C)와 BHT를 이용한 항산화 실험에서 포토닉스를 처리한 실험군이 항산화 활성이 더 높게 나타나는 것을 확인하였다. (그림 5)

3.1.2. 포토닉스 660nm 광 조사에 따른 산화스트레스 억제능 확인 결과:

포토닉스 660nm 광 조사에 따른 산화스트레스 억제능 확인 실험 결과 산화스트레스에 의한 세포사멸 과정 중의 포토닉스 효능을 확인하였다. 과산화수소를 이용하여 산화스트레스를 유도하면 세포사멸이 일어나는데, 여기에 포토닉스를 처리한 결과 산화스트레스를 억제하여, 세포생존율을 증가시키는 것을 확인하였다. (그림 6)

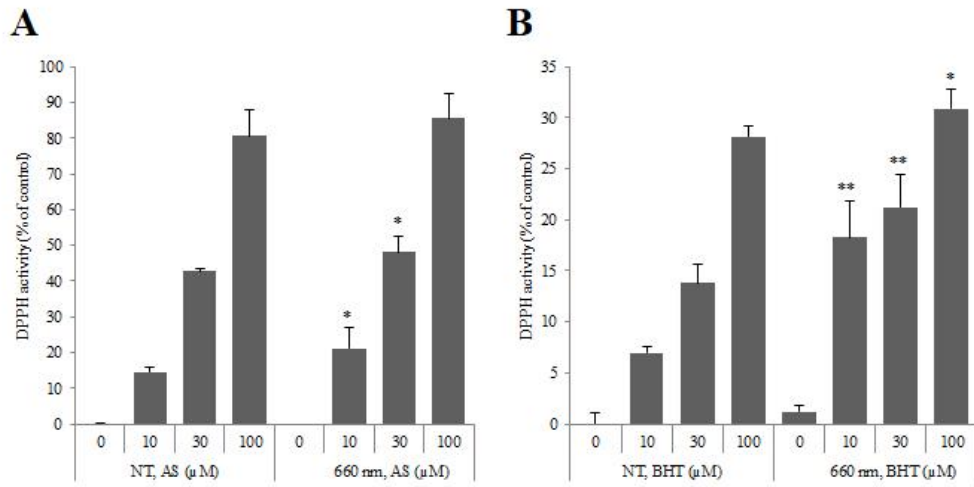
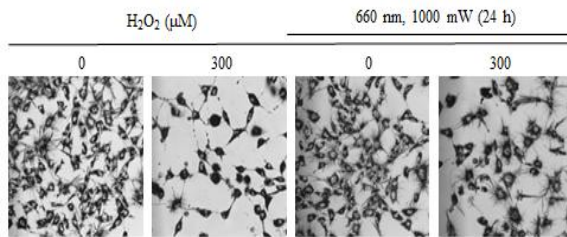


그림 5. 포토닉스 660nm 광 조사에 따른 항산화 효능 검증

A



B

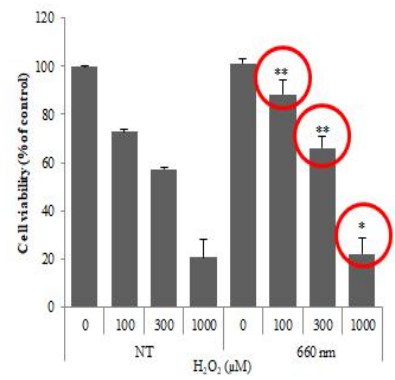


그림 6. 포토닉스 660nm 광 조사에 따른 산화스트레스 억제능 확인

3.1.3. 포토닉스 660nm 광 조사에 의한 상처치유능력 확인 결과:

포토닉스 660nm 광조사에 의한 상처치유능력(Wound healing)을 확인한 결과 아무것도 처리하지 않은 무 처리군(Control)에 비하여 포토닉스 광 조사를 적용한 군에서 positive 컨트롤로 사용된 VEGF와 유사한 결과를 확인하였다. 이 결과를 통해 포토닉스 660nm 광조사가 상처치유능력(Wound healing)에 효과가 있다는 것을 확인하였다. (그림 7)

3.1.4. 포토닉스 660nm 광 조사에 따른 혈관형성 촉진 효능 확인 결과:

본 논문에서 포토닉스 660nm 광 조사에 따른 혈관형성 촉진 효능 확인을 위해 Huvec Cell의 혈관 형성 효과를 확인한 Tube Formation을 통해, 포토닉스를 처리한 군이 그렇지 않은 군에 비해 Angiogenesis가 빨리 유도 되는 것을 확인하였다. (그림 8)

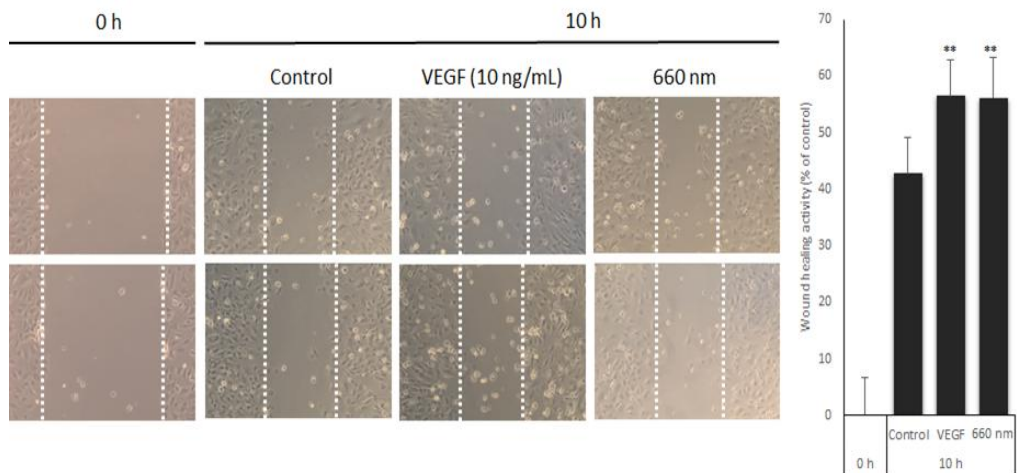


그림 7. 포토닉스 660nm 광 조사에 의한 상처치유능력 확인

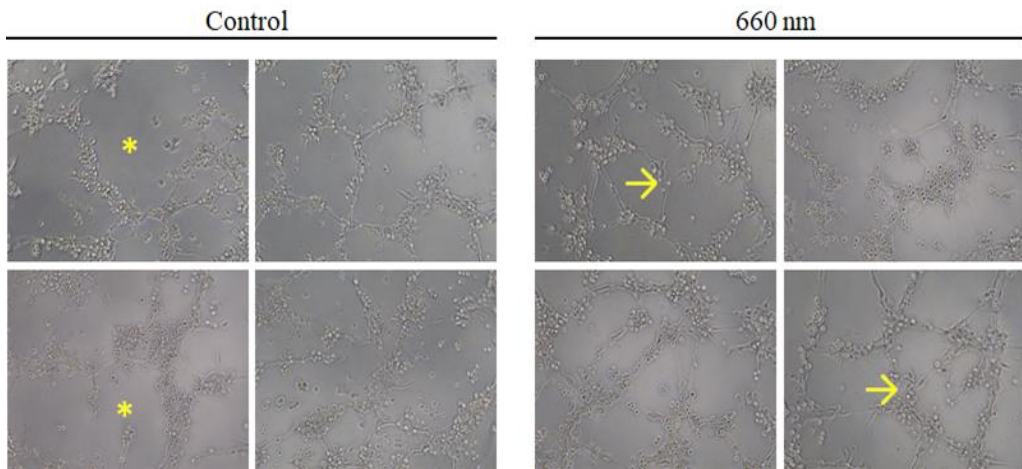


그림 8. 포토닉스 660nm 광 조사에 따른 혈관형성 촉진 효능 확인
 (*) 혈관 형성이 되지 않은 곳 (→) 혈관 형성이 된 곳

3.1.5. 다중 전극 배열의 조직 임피던스 매핑:

본 논문에서는 다중 전극 배열을 사용하여 생체 내에서 공간적으로 상호 연관된 복잡한 임피던스를 측정하는 전자 감지 장치를 설계하고 구현했다. 이 장치는 피부에 접촉하는 전극 배열과 어레이에서 임피던스 분광학을 수행하는 하드웨어를 제어하며 또한 두 가지 버전의 전극 배열을 개발하였다. (1) 금도금 전극이 있는 상업용 리지 프린트 회로 기판 (2) 플라스틱 기판에 잉크젯 인쇄를 사용하여 제작된 유연한 봉대 모양 어레이를 제작하였다. 본 논문에서는 임피던스 분광기를 사용하여 압력 궤양(욕창)을 감지하는 방법을 개발하였으며 동시에 생체 내에서 그 방법을 사용할 수 있게 유연하게 제작하였다. 금 나노 입자 잉크는 얇은 (35mm) 폴리에틸렌 나 프탈레이트 기판에 잉크젯 인쇄하였으며 이러한 얇은 기판은 인쇄된 어레이의 적합성을 향상시켜 전극-피부 접촉률 향상 시킬 수 있다. 소성 단계는 전도성 선을 만들기 위해 잉크에서 금 나노 입자를 융합시키는데 필요했다. 이러한 전도성 라인은 비정질 플루오로 폴리머 (Cytop)를 스핀 코팅하여 캡슐화 되었다. 전극상의 비아는 새도우 마스크를 사용하여 산소 플라즈마 에칭을 사용하여 선택적으로 개방되었다. 동물 실험 중에 여러 개의 복제된 인쇄 배열이 사용되었기 때문에 가공 변동성을 최소화하는 것이 필수적이었으며 해당 제작 공정은 매우 재현성이 높은 것으로 확인되었다. 인쇄된 라인의 기계적 안정성은 또 다른 주요 관심사였다. 왜냐하면 센서 어레이는 데이터 수집 중 마모된 상태에서 유지되어야 하며 배열은 굽힘 및 비틀림을 받기 때문에 비틀림 각도가 $j = 30^\circ$ 인 배열에 비틀림 하중을 가하여 기계적 견고성을 테스트하였다.

감지 어레이가 피부 상에 놓이기 전에 실리콘 스텐실을 사용하여 전도성이 우수한 하이드로 겔의 얇은 층을 전극 상에 선택적으로 인쇄하였다. 하이드로겔은 전극과 조직 시료 사이의 접촉 임피던스를 줄이기 위해 강성 및 플렉스 어레이 모두에 사용되어 측정의 신뢰성을 향상시켰다. 작동 중에 어레이 제어 하드웨어는 어레이의 두 전극을 선택하고 정밀 LCR 미터를

사용하여 이들 전극에 대해 임피던스 측정을 수행하며 쌍을 순환하면서 배열의 가장 가까운 이웃을 모두 샘플링하고 임피던스 측정의 맵을 구성 할 수 있다.

3.1.6. 임피던스 스펙트럼과 조직 건강의 관계:

임피던스 스펙트럼은 조직 건강과 관련이 있다. 본 연구에 사용된 12마리의 동물 중 11마리가 1시간 치료를 받았고 12마리 중 9마리는 3시간 치료를 받았다. 조직에서 실시간 혈류를 이미지화하기 위해 형광 혈관 조영법을 사용하여 우리는 영향을 받은 조직으로 혈액이 되돌아오면서 초기에 압력을 완화하면 관류가 증가하는 것으로 나타났다(반응성 고혈병). 혈액이 허혈성 조직으로 돌아오면 반응성 산소 종과 자유 라디칼이 생성되어 세포 사멸을 가속화 할 수 있다. 본 논문의 실험 모델에서 1시간의 압력은 가벼운 가역 조직 손상을 일으켰고 3시간의 압력은 보다 심각한 돌이킬 수 없는 손상을 일으켰다. 허혈 과정을 거친 후, 임피던스 분광법을 사용하여 적어도 3일 동안 상처를 추적했다.

이 시스템은 100mVRMS 정전압 테스트 신호를 사용하여 어레이의 가장 인접한 모든 전극 쌍에 대해 100Hz ~ 1000000Hz 사이의 주파수에서 임피던스를 측정했다. 3시간 군의 모든 동물에서 욕창을 나타내는 부위의 임피던스 스펙트럼은 3일째까지 명확하게 구별될 수 있었다. 양적으로 상처 부위는 임피던스 크기와 위상각이 0에 가까워짐을 보여주었다. 조직은 용량성이 적고 전도성이 좋았으며 세포막의 완전성이 상실되었다. 본 논문에서는, 임피던스 스펙트럼에서 상처 조직에 대한 극점이 건강한 조직보다 낮은 빈도에 있음을 관찰했으며 '손상된 조직'(욕창)을 정의한 임피던스 크기와 위상의 특정 임계값을 결정하기 위해 8개의 Rat에서 14개의 상처로부터 유연한 전극 배열로 수집한 임피던스 스펙트럼을 사용했다. 그런 다음

손상된 조직과 손상되지 않은 조직 사이의 임피던스에서 최대 차이가 관찰되는 빈도로 15KHz를 확인하는 명암 최적화 프로세스를 사용했다. 15 KHz에서 측정한 위상차 30° 와 10° 는 거짓 긍정적인 판독을 피하면서 손상된 조직을 식별하는 데 효과적인 임계값이었다. 1시간 또는 3시간 치료 그룹에 속하는지 여부에 관계없이 모든 상처에 동일한 임계값이 적용되었다. 진폭이 임계값보다 낮고 위상 값이 지정된 윈도우 내에 있는 모든 전극 쌍을 '손상된 조직'으로 표시했다. 즉, '손상'이라는 용어는 임피던스 데이터가 조직 손상을 예측하는 영역을 나타내는 반면 '압력'이라는 용어는 마그네트 압력을 받는 조직의 모든 영역에서 데이터를 나타낸다. 공간 임피던스 데이터는 상처로부터 건강한 조직을 구별하는 조직 손상 매개 변수 맵으로 변환될 수 있다.

각각의 상처에 대해, 전극이 압력이 가해진 조직을 측정했는지 여부에 따라 '압력'또는 '압력 없음'으로 분류된다. 3시간 압력 그룹에 대한이 양상블 데이터에서 임피던스 진폭 및 0에 가까운 위상각의 감소가 분명하게 나타났다.

3.1.7. 임피던스 분광법의 피부 손상 확인:

임피던스 분광법은 눈에 보이지 않는 손상을 확인가능하게 한다. 이미 환자에게 형성된 욕창을 감지하고 모니터링 하는 능력은 중요하지만 임피던스 분광기를 사용하여 욕창을 탐지하는 주요 이점은 조직 손상의 조기 발견을 가능하게 한다는 것이다. 1시간의 허혈과정이 지나고 욕창 1,2기 정도의 조직 손상이 생겼으며 이를 3일 동안 임피던스 측정을 통해 모니터링 했다. 피부는 혈류의 재 관류 동안 약간 흰색으로 보였으나 다음 9일 동안 눈에 띄는 궤양이 보이지 않아 압력으로 인한 손상이 가역적이었음을 알 수 있었다.

임피던스 측정은 돌이킬 수 없는 손상에 사용된 손상을 감지하기 위해 동일한 임피던스 임계값을 사용하면 임피던스 센서가 연구 대상의 절반 이상에서 압력 적용 영역에서 손상된 조직을 감지함을 발견했다. 1시간의 경우에 사용된 압력과 지속 시간의 조합이 모든 동물이 아닌 일부 동물에서 조직 손상을 일으키는 것으로 충분하다고 가정하였으며 1시간의 허혈과정을 동반한 피부 샘플의 조직 검사는 모든 경우에 조직이 손상되지 않았음을 확인했다.

손상 심각성의 변화는 또한 3시간의 국소 빈혈 사례에서 관찰되었는데 일부 손상은 욕창 2단계(2기)로 분류되었지만 동일한 치료를 받은 다른 궤양은 욕창 1단계(1기)로만 분류되었다. 본 논문에서는 적용된 압력에 대한 응답으로 다음 세 가지 결과를 관찰했다. (1) 심한 비가역적인 압력 손상이 지속되어 임피던스 분광기로도 감지되는 눈에 보이는 궤양을 만든다. (2) 욕창으로는 보이지 않지만 임피던스 분광기를 사용하여 감지 할 수 있는 가벼운 압력 손상이 지속되도록 한다. (3) 압력은 조직을 손상 시키는데 충분하지 않으며, 따라서 임피던스 센서는 손상을 나타내지 않는다. 눈으로는 볼 수없는 조직의 두 번째 관찰 감지 변화는 궤양과 관련된 생리적 변화에 대한 임피던스 분광학의 민감성과 욕창의 조기 발견 방법으로서의 적용 가능성을 입증할 수 있다.

3.1.8. Rat 욕창유도를 통한 정상군과의 차이:

본 논문에서는 집계를 활용한 Rat 욕창 유도를 통하여 욕창 유도를 하지 않은 정상군과의 차이를 비교해 보았다.

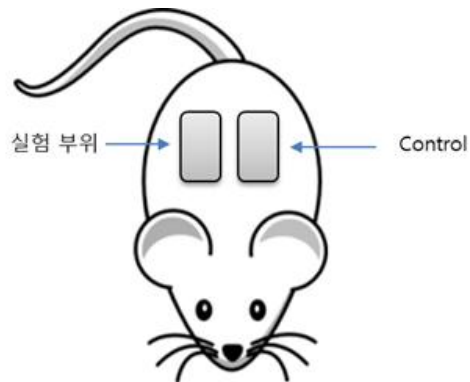
실험 결과 욕창 유도군은 정상군과 비교하여 상피소실, 염증세포 침윤, 혈관의 적혈구 뭉침, 혈관소실, 피부 하부 근육 손상과 같은 결과를 확인하였다. (그림 9)

3.1.9. Rat 욕창 및 포토닉스 660nm 광 조사에 의한 임피던스 변화:

욕창 Rat 모델에서 임피던스를 통한 진단 가능성을 확인하였다. 다양한 주파수 영역에서 임피던스 값을 확인한 결과 임피던스 값의 차이에 따라 피부병변 즉 욕창의 진단이 가능한 주파수 영역을 확인하였다.

해당 주파수 영역은 10KHz~100KHz 로 확인되었다. 또한 포토닉스 660nm 조사에 따른 동물실험 결과 포토닉스 처리군이 정상범위의 임피던스 값에 가까워지는 것을 확인하였다.

이는 포토닉스 처리 즉 환부에 광 조사를 하는 것이 욕창의 치료에 효과가 있는 것으로 보인다. (그림 10)



정상군

욕창 유도군

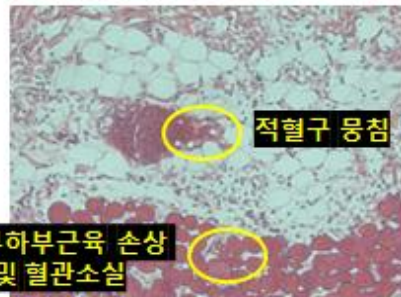
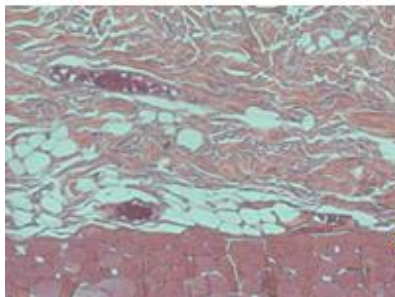
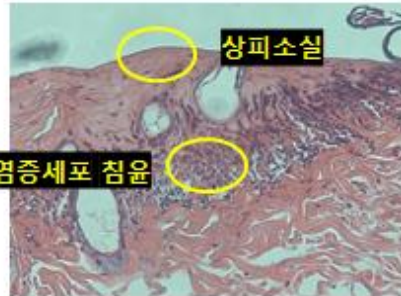
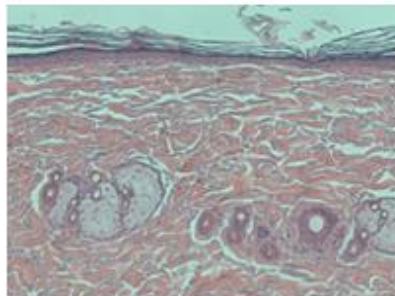


그림 9. Rat 동물 모델 욕창 유도 결과

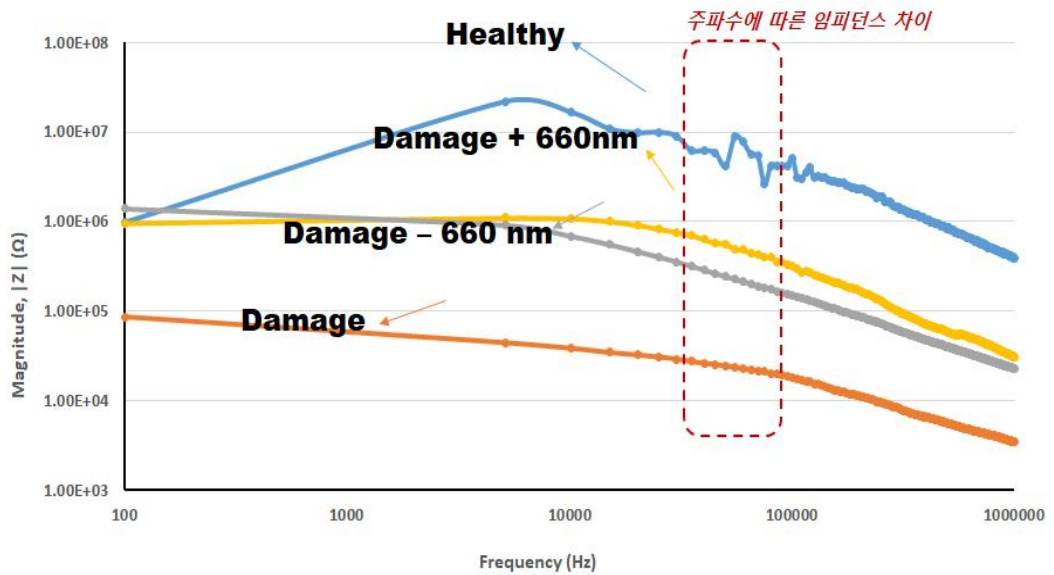


그림 10. 육창 및 포토닉스 660nm 광 조사에 따른 임피던스 변화

4. 고 찰

본 논문에서는 임피던스로 욕창을 진단하는 방법을 제시하고, 동시에 포토닉스 660nm 광 조사를 통한 욕창의 치료 효과를 검증하였다.

임피던스 분광기를 사용하여 Rat 모델에서 압력으로 유발된 조직 손상(욕창)을 검출하는 비침습성 전기적 감지 방법 개발하였다.

이 검출 방법의 민감도와 계산된 손상 매개 변수는 욕창 검사로는 분명하지 않은 가벼운 생리적 변화를 감지하는 데 충분하다. 이 연구에서 조직 손상을 나타내는 특정 문턱 값은 조직 상처의 조기 발견을 위한 기술로서 임피던스 분광법의 능력을 입증하지만, 실제 임상에 있는 환자에게서 임상적으로 관련된 문턱 값을 결정하기 위한 추가적인 연구가 필요할 것이다. 이 기능을 갖춘 장치는 욕창 치료 기준에 큰 영향을 줄 수 있다. 질병 예방은 의학 분야에서 잘 알려진 접근법이다. 욕창에 대한 조기 발견 메커니즘을 제공하면 보호자가 사전 대응하여 조직에 대한 더 큰 손상을 예방하고 조직 상태를 면밀히 모니터링 할 수 있다.

항산화 효능에는 녹차 추출물을 이용하면 항산화 활성이 높아지는 연구결과가 있다. 본 논문에서는 이러한 항산화 효능 검증을 포토닉스 660nm 광 조사를 통해 검증하였는데, 포토닉스 조사만으로도 항산화 활성이 더 높게 나타나는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 DPPH assay를 통해 항산화 효능 및 산화스트레스를 억제하여 세포생존율 증가 결과도 확인하였다.

포토닉스 660nm는 wound healing 효과도 가지고 있으며, 혈관 형성도 촉진시키는 결과를 확인하였다. 또한, 주어진 치료 과정에서 관찰된 상처의 중증도의 변화는 적용된 압력과 같은 2 차 측정에 의존하기보다는 조직의 상태를 직접 측정하는 장치가 좀 더 유용하다고 생각된다. 욕창 1단계(1기), 욕창 2단계(2기)의 경우 조직의 미세한 변화가 일찌감치 감지되면 일부 환자의 압력 궤양 즉 욕창의 형성이 완전히 방지되어 의료비용이 크게 절감되고 환자의 치료 결과 또한 개선 될 수 있다.

표 5. 바이오 포토닉스 660 nm 파장의 생물학적 효능

질환	광원	변수	모델	실험내용 및 효과	참고
근육재활	Laser	660 nm, 10 J/cm ² 혹은 50 J/cm ² , 4.0 mm ²	rat	유전자 발현 증가 및 세포증식촉진을 통한 빠른치유	(Rodrigues, Brunelli, de Araujo, Parizotto, & Renno, 2013)
구강구조이동	Laser	660 nm, 25 mW, CW mode, 7.5 J/cm ²	rat	비 조사군에 비해 치아 이동량 증가	(Shirazi et al., 2015)
비염 및 비강질환	Led	Bionase unit (Amcor Ltd, Israel)	haman	72%이상 증상의 현저한 완화	(Neuman & Finkelstein, 1997)
상처치유	Laser	660 nm, 5J/ cm ² , 11 mW/cm ²	Cell	콜라겐 생성, 세포 부착 및 염증성 사이토카인에 관련 인자 발현 조절	(Hourel, Ayuk, & Abrahamse, 2014)
상처치유	Laser	660 nm, 100 mW, 6 J/cm ² , 0.028 cm ²	rat	상처부위의 산화 스트레스 발현 억제	

** 매개변수 : 파장(nm), 전력(mW), 전력밀도(mW/cm²), 에너지(J), 에너지 밀도(J/cm²), 계속모드(CW) 혹은 펄스(Hz), 스폿 크기(cm²), 조명시간(min)

5. 요 약

압력에 의해 발생하는 만성 피부 질환인 욕창은 환자의 경제적 부담과 만성적인 고통을 야기한다. 현재 정량적인 욕창진단방법이 없어 의사의 육안으로만 진단이 가능하고, 그로 인해 초기 진단이 어려워 즉각적인 치료마저 불가능하다.

본 연구에서는 욕창의 치료 및 진단을 위한 피부 패치형 바이오 포토닉스 센서를 개발하였다. 우리는 육안으로 구분하기 힘든 욕창을 정량적으로 진단, 치료하는 방법을 개발하였다. 본 연구에서는 임피던스 변화량을 이용하여 환부를 진단, 환부의 특성에 따라 광을 이용하여 치료하는 방법을 개발하였다. 해당 진단 및 치료 방법의 유효성 검증을 위하여, Rat 12마리에 욕창을 유도 시키고, 광을 이용해서 치료하는 실험을 진행하였다. 이 진단 방법의 민감도와 계산된 손상 매개 변수는 육안 검사로는 분명하지 않은 가벼운 생리적 변화를 감지하는 데 충분한 것으로 확인되었다.

Rat 실험 결과, 욕창 유도군과 정상군에서 70%의 확연한 임피던스 값의 차이를 통해 욕창 진단이 가능하였고, LED 처리에 따른 임피던스 변화량도 확인하였다. DPPH ASSAY를 통해 바이오 포토닉스를 이용하여 항산화 활성을 증진시키고, 산화스트레스를 억제하여 세포생존율을 증가시키는 결과를 확인하였다. 포토닉스를 이용한 Wound healing 효과 확인 실험을 통해서 바이오 포토닉스를 통한 상처치유능력이 있다는 것을 확인하였고, Tube formation 실험에서는 바이오 포토닉스를 처리하면, angiogenesis가 빨리 유도되어 혈관형성을 촉진시키는 결과를 확인하였다. 이를 통해 피부 패치형 바이오 포토닉스 센서로 욕창을 조기 진단 및 치료하는데 적용하였으며 그 효용성을 입증하였다. 본 연구결과를 바탕으로 추후에는 방수 가능한 커브형 실시간 Bio-Photonics 욕창센서를 개발하는 것이 최종 목표이며, 본 논문에서 제시된 방법을 통해 욕창 발생 시 즉각적으로 진단, 치료하여 추가적인 감염으로 인한 합병증을 예방할 수 있는 욕창 디바이스 및 욕창 침대 까지 개발할 수 있을 것으로 기대된다.

참 고 문 헌

1. Singer AJ, Clark RAF: Cutaneous wound healing. N Engl J Med 1999;341(10):738-46.
2. Carter MJ, Warriner RA: Evidence-based medicine in wound care: time for a new paradigm. Adv Skin Wound Care 2008;22(1):12-6.
3. Campos ACL, Groth AK, Branco AB. Assessment and nutritional aspects of wound healing. Curr Opin Clin Nut. Metab Care 2008;11:281-8.
4. Goldman RJ, Salcido R: More than one way to measure a wound: an overview of tools and techniques. Adv Skin Wound Care 2002;15:236-45.
5. Little C, McDonald J, Jenkins MG, McCarron P: An overview of techniques used to measure wound areas. J Wound Care 2009;18:250-3.
6. Langemo D, Anderson J, Hansen D, Hunter S, Thompson P: Measuring wound length, width and area: which technique, Adv Skin Wound Care 2008;21(1):42-5.
7. Rogers LC, Bevilacqua NJ, Armstrong DG, Andros G: Digital planimetry in more accurate wound measurements: a comparison to standard ruler measurements. J Diabetes Sci Technol 2010;4(4):799-802.

8. Neidrauer M, Zubkov L, Weingarten MS, Pourrezaei K: Papafoglou ES. New infrared wound monitor helps clinical assessment of diabetic foot ulcers. J Diabetes Sci Technol 2010;4(4):792-8.
9. Norman K, Stobaus N, Zocher D, Bosy-Westphal A, Szramke A: Scheufele R, Smoliner C, Pirlich M. 2010. Cutoff percentiles of bioelectrical phase angle predict functionality, quality of life, and mortality in patients with cancer. Am J Clin Nutr 2010;92:612-9.
10. Paiva SI, Borges LR, Halpern-Silveira D, Assuncao CF, Barros AJD, Gonzalez MC: Standardized phase angle from bioelectrical impedance analysis as prognostic factor for survival in patients with cancer. Support Care Cancer. 2011;19:187-192.
11. Kumar V, Abbas AK, Fausto N: Pathologic Basis of Disease 7th ed.. Elsevier Saunders 2005: 107-114.
12. Niitsuma J, Yano H, Togawa T: Experimental study of decubitus ulcer formation in the rabbit ear lobe. J Rehabil Res Dev 2003; 40: 67-72.
13. Lyder CH: Pressure ulcer prevention and management. JAMA 2003; 289: 223-226.
14. Levine SM, Stadler I, Sinno S, Zhang RY, Oskoui P, et al: Current thoughts for the prevention and treatment of pressure ulcers: using the evidence to determine fact or fiction. Ann Surg 2013; 257: 603-608.

15. Moore Z, Cowman S: A systematic review of wound cleansing for pressure ulcers. J Clin Nurs 2003; 17: 1963-1972.
16. Dorner B, Posthauer ME, Thomas D: The role of nutrition in pressure ulcer prevention and treatment: National Pressure Ulcer Advisory Panel white paper. Adv Skin Wound Care 2009; 22: 212-221.
17. Thomas DR: Role of Nutrition in the Treatment and Prevention of Pressure Ulcers. Nutr Clin Pract 2014; 29: 466-472.
18. Larson DL, Hudak KA, Waring WP, Orr MR, Simonelic K: Protocol management of late-stage pressure ulcers: a 5-year retrospective study of 101 consecutive patients with 179 ulcers. Plast Reconstr Surg 2012; 129: 897-904.
19. Kierney PC, Engrav LH, Isik FF, Esselman PC, Cardenas DD, et al: Results of 268 pressure sores in 158 patients managed jointly by plastic surgery and rehabilitation medicine. Plast Reconstr Surg 1998; 102: 765-772.
20. Keys KA, Daniali LN, Warner KJ, Mathes DW: Multivariate predictors of failure after flap coverage of pressure ulcers. Plast Reconstr Surg 2010; 125: 1725-1734.
21. Akita S, Yoshimoto H, Akino K, Ohtsuru A, Hayashida K, et al.: Early experiences with stem cells in treating chronic wounds. Clin Plast Surg 2012; 39: 281-292.

22. Groeber F, Holeiter M, Hampel M, Hinderer S, Schenke-Layland K: Skin Tissue Engineering-In Vivo and In Vitro Applications. Clin Plast Surg 2012; 39: 33-58.
23. Karr J: Utilization of living bilayered cell therapy (Apligraf) for heel ulcers. Adv Skin Wound Care 2018; 21: 270-274.
24. Yang J-J, Wang X-L, Shi B-W, Huang F: The angiogenic peptide vascular endothelial growth factor-basic fibroblast growth factor signaling is up-regulated in a rat pressure ulcer model. Anat Rec (Hoboken) 2103; 296: 1161-1168.
25. Thomas DR: Does pressure cause pressure ulcers? An inquiry into the etiology of pressure ulcers. J Am Med Dir Assoc 2010; 11: 397-405.
26. Tsuji S, Ichioka S, Sekiya N, Nakatsuka T: Analysis of ischemiareperfusion injury in a microcirculatory model of pressure ulcers. Wound Repair Regen 2005; 13: 209-215.
27. Peirce SM, Skalak TC, Rodeheaver GT: Ischemia-reperfusion injury in chronic pressure ulcer formation: a skin model in the rat. Wound Repair Regen 2000; 8: 68-76.
28. Stadler I, Zhang R-Y, Oskoui P, Whittaker MBS, Lanzafame RJ: Development of a Simple, Noninvasive, Clinically Relevant Model of

29. Pressure Ulcers in the Mouse. J Invest Surg 2004; 17: 221-227.

30. Wassermann E, van Griensven M, Gsoltner K, Oehlinger W, Schrei K, et al. : A chronic pressure ulcer model in the nude mouse. Wound Repair Regen 2009; 17: 480-484.

31. De la Garza-Rodea de AS, Knaa "n-Shanzer S, van Bekkum DW: Pressure Ulcers: Description of a New Model and Use of Mesenchymal Stem Cells for Repair. Dermatology 2011; 223.

32. Kischer CW, Sheridan D, Pindur J: Use of nude (athymic) mice for the study of hypertrophic scars and keloids: vascular continuity between mouse and implants. Anat Rec 1989; 225: 189-196.

33. Kischer CW, Wagner HN, Pindur J, Holubec H, Jones M, et al.: Increased fibronectin production by cell lines from hypertrophic scar and keloid. Connect Tissue Res 1989; 23: 279-288.

34. Shetlar MR, Shetlar CL, Kischer CW, Pindur J: Implants of keloid and hypertrophic scars into the athymic nude mouse: changes in the glycosaminoglycans of the implants. Connect Tissue Res 1991; 26: 23-36.

35. Wang J, Ding J, Jiao H, Honardoust D, Montazi M, et al.: Human hypertrophic scar-like nude mouse model: Characterization of the molecular and cellular biology of the scar process. Wound Repair Regen 2011; 19: 274-285.

36. Yang DY, Li SR, Wu JL, Chen YQ, Li G, et al.: Establishment of a Hypertrophic Scar Model by Transplanting Full-Thickness Human Skin Grafts onto the Backs of Nude Mice. *Plast Reconstr Surg* 2007; 119: 104-109.
37. Lin Y, Vandeputte M, Waer M: Natural killer cell- and macrophagemediated rejection of concordant xenografts in the absence of T and B cell responses. *J Immunol* 1997; 158: 5658-5667.
38. Murray AG, Petzelbauer P, Hughes CC, Costa J, Askenase P, et al.: Human T-cell-mediated destruction of allogeneic dermal microvessels in a severe combined immunodeficient mouse. *Proc Natl Acad Sci USA* 1994; 91: 9146-9150.
39. Murray AG, Schechner JS, Epperson DE, Sultan P, McNiff JM, et al.: Dermal microvascular injury in the human peripheral blood lymphocyte reconstituted-severe combined immunodeficient (HuPBL-SCID) mouse/skin allograft model is T cell mediated and inhibited by a combination of cyclosporine and rapamycin. *Am J Pathol* 1998; 153: 627-638.
40. Waldron-Lynch F, Deng S, Preston-Hurlburt P, Henegariu O, Herold KC: Analysis of human biologics with a mouse skin transplant model in humanized mice. *Am J Transplant* 2012; 12: 2652-2662.
41. Racki WJ, Covassin L, Brehm M, Pino S, Ignatz R, et al.: NOD-scid IL2rgamma(null) mouse model of human skin transplantation and allograft rejection. *Transplantation* 2010; 89: 527-536.

42. Rí´o M, Larcher F, Serrano F, Meana A, Muñoz M, et al.: A Preclinical Model for the Analysis of Genetically Modified Human Skin In Vivo. *Hum Gene Ther* 2002; 13: 959-968.

43. García M, Escamez MJ, Carretero M, Mirones I, Martínez-Santamaría L, et al.: Modeling normal and pathological processes through skin tissue engineering. *Mol Carcinog* 2007; 46: 741-745.

44. Carretero M, Guerrero-Aspizua S, Del Rí´o M: Applicability of bioengineered human skin: From preclinical skin humanized mouse models to clinical regenerative therapies. *Biobugs* 2011; 2: 203-207.

45. Thorne C, Grabb WC, Beasley RW: Techniques and principles in Plastic Surgery. Grabb and Smith's Plastic Surgery. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins 2007. pp. 7.

46. Reid RR, Sull AC, Mogford JE, Roy N, Mustoe TA: A novel murine model of cyclical cutaneous ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 2004; 116: 172-180.

47. Salcido R, Popescu A, Ahn C: Animal models in pressure ulcer research. *J Spinal Cord Med* 2007; 30: 107-116.

48. Gantwerker EA, Hom DB: Skin: Histology and Physiology of Wound Healing. *Clin Plast Surg* 2012; 39: 85-97.

49. Ohtka H, Ohishi N, Yaki K: Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Anal. Biochem 1979; 95-351.

50. 남은희, 전성현, 이화정: VEGF 제어의약품의 효능 평가법 개발. 대한 면역학회. 2007; 203-208.

The Development of a Skin Patch Bio-photonic Sensor Using Impedance Elasticity for Simultaneous Diagnosis and Treatment of Pressure Ulcers

Park, Eun Bin

Department of Bio Medical Engineering

School of Medicine

Keimyung University

(Supervised by Professor Lee, Jong-Ha)

(Abstract)

Recently, aging population has been growing continuously, and the proportion of the population is increasing. Due to these trends, sheltered housings for the elderly such as hospitals for the elderly is increasing, and many workers are added to manage the elderly patients. The most commonly occurring disease in such facilities is the bed sore(decubitus ulcer). Complications developed by bed sore have brought about many issues including rising cost for social management. Pressure ulcers occur in older people who have to spend long periods in bed. The disease is caused by cell death and pressure due to the obstructed blood flow and refusion to the tissue, resulted from long-term pressure applied to the body. Pressure ulcers are difficult to be prevented as well as checked visually before being developed to the middle and late stage which cause serious impairments. Additionally, the period which starts to cause damage to skin tissue is different depending on each patient. In most cases, inner skin is deeply damaged by Pressure ulcers, which can trigger additional diseases such as pneumonia caused by secondary infections.

However, Pressure ulcers have been diagnosed visually by doctors up to now, not based on the quantitative measurements, and the diagnosis is highly differentiated depending on the doctor's proficiency in diagnosis. In this regard, this study aimed at developing methods to diagnose and treat the Pressure ulcers which are difficult to be discerned by eyes.

This study developed a method to treat the affected area instantly using bio-photonics depending on the features of the area, based on the correct diagnosis utilizing the impedance change in the measured area. To measure the stage of the bedsore, we developed a new sensor to measure the impedance at intervals of 1mm. If there were difference in the value of the impedance, the affected area is diagnosed as a bedsore. Also, we developed a bio-photonics patch which can generate Near Infrared spectrum for treatment as well as diagnosis of the affected area. To verify the validity of the diagnosis and treatment method, we diagnosed the disease based on the impedance value in the affected area and implemented experimental treatments using the bio-photonics by triggering the disease over rats. As a result, the diagnosis was verified through the clear difference of 70% in the impedance value over the bedsore-triggered group and the normal group. Also, the treatment was verified through difference in the impedance value according to the photonics processing.

This study presented a scientific and quantitative method for early diagnosis of Pressure ulcers based on the impedance value, along with a new treatment suggestion which can enhance and displace the existing treatment through optical wavelength according to the stage of the bedsore. With the instant diagnosis and treatment from

application of the presented methods, the specialized bed for Pressure ulcers can be developed, which can prevent the complications triggered by secondary infections.

욕창의 진단 및 치료가 동시에 가능한 임피던스 탄성도 기반 피부 패치형 바이오 포토닉스 센서 개발

박 은 빈

계 명 대 학 교 대 학 원
의학과 의용공학 전공

(지도교수 이 중 하)

(초록)

최근 들어 지속적으로 고령화가 진행되고 있으며 전체 인구 중에 노인들의 인구 비율이 증가 하고 있다. 이로 인해 요양병원과 같이 노인들을 대상으로 하는 보호 시설이 증가하고 있으며 해당 환자들을 관리하기 위해 많은 인력이 투입되고 있다. 이러한 보호시설에서 가장 흔히 발생하는 질병은 욕창이 있으며 욕창으로 인한 합병증 등은 사회적인 관리 비용 증가 등 최근 들어 많은 문제점들을 발생시키고 있다. 욕창은 장시간 침대에 누워서 지내야 하는 노인들이나 환자들에게서 발생하며 이는 신체에 장시간의 압력이 가해지면 혈류량의 감소와 조직에 대한 재관류로 인해 세포 사멸과 압력에 의하여 발생하는 궤양이다. 욕창은 심각한 손상을 초래하는 중, 말기 전에는 욕안으로 확인이 어려우며 예방하기 어려운 질병이다. 또한 피부 조직의 손상을 초래하는 시간이 환자마다 매우 다르게 나타나며, 욕창으로 인한 진피 손상이 심한 경우가 많고 이로 인해 이차 감염 등으로 폐렴과 같은 추가적인 질병이 발생 할 수 있다. 하지만 현재까지 의료진이 욕창을 진단하기에는 정량적으로 측정하는 방법이 아닌 의사의 욕안으로 진단을 시행하고 있으며 이 또한 의료진의 숙련도에 따라 큰 차이를 보이고 있다. 이에 본 논문에서는 욕안으로 구분하기 힘든 욕창을 정량적으로 진단, 치료하는 방법을 개발하는 것을 목표로 하였다.

본 연구에서는 측정부위의 임피던스 변화량을 이용하여 환부를 정확히 진단, 환부의 특성에 따라 바이오 포토닉스를 이용하여 욕창 환부를 즉시 치료하는 방법을 개발하였다. 욕창을 측정하기 위해서 욕창 의심 부위를 1mm 간격으로 임피던스를

측정할 수 있는 센서를 개발하였으며 측정 부위에서 임피던스 값의 차이가 발생하였을 때 해당 부위를 욕창으로 진단하였다. 욕창으로 진단된 환부에 치료를 위해 Near Infrared 스펙트럼을 발생시킬 수 있는 바이오 포토닉스 패치를 개발해 임피던스를 측정하며 치료를 동시에 할 수 있도록 하였다. 해당 진단 및 치료 방법의 유효성 검증을 위하여, Rat에 욕창을 유도 시켜, 환부의 임피던스 값을 이용하여 진단하고, 바이오 포토닉스를 이용해서 치료하는 실험을 진행하였다. 실험 결과, 욕창 유도군과 정상군에서 70%의 임피던스 값의 차이를 통해 욕창 진단이 가능하였고, 포토닉스 처리에 따른 임피던스 변화량의 차이를 통해 욕창 치료도 가능한 것을 확인하였다.

본 연구를 통하여 욕창의 진단법에 대하여 임피던스에 기반한 과학적이고 정량적인 조기 진단법을 제시하였고, 욕창의 진행 정도에 따른 진단 기반의 적절한 광과장 조사를 통해 기존 욕창 치료법을 증진 및 대체 할 수 있는 새로운 치료법을 제시하였다. 제시된 방법을 적용하여, 욕창 발생 시 즉각적으로 진단, 치료하여 추가적인 감염으로 인한 합병증을 예방할 수 있는 욕창 침대까지 개발할 수 있을 것으로 기대된다.