

635 nm 레이저다이오드의 피부 결손 치유 효과

Healing Effect of 635 nm Laser Diode in Skin Injury

천민우^{1,a}

(Min-Woo Cheon^{1,a})

Abstract

Low level laser therapy has various therapy effects. This paper performed the basic study for fabricating the low level laser therapy apparatus, and one of the goals of this paper was to make this apparatus used handily. The apparatus has been fabricated using the laser diode and microprocessor unit. The apparatus used a 635 nm laser diode for laser medical therapy and was designed for a pulse width modulation type to increase stimulation effects. In this study, the designed device was used to find out how 635 nm laser diode affected the skin injury of SD-Rat(Sprague-Dawley Rat). We divided the participants into two groups; irradiation group which was irradiated 10 minutes a day for 9 consecutive days, and none irradiation group. The results showed that the study group had lower incidence of inflammation and faster recovery, compared with the control group.

Key Words : Laser diode, Low level laser therapy, Skin injury, Wound healing

1. 서론

1960년대 처음 개발된 레이저[1]는 다양한 매질의 개발로 급속한 발전을 이루고 있으며 단색성, 지향성 등의 특정 성질을 이용하여 많은 산업 및 의료 분야에 사용되어 지고 있다. 의료 기술에 사용되는 레이저는 고출력 레이저와 저출력 레이저로 나누어지는데 CO₂, YAG등이 주를 이루는 고출력 레이저는 높은 에너지 준위를 이용하여 절개, 응고, 등의 외과적 치료[2-4]에 주로 사용되어 진다. 빛을 세포에 조사하면 세포를 자극하여 기능을 활성화시키며[5] 창상 등의 치유에 효과[6]가 있다는 사실이 밝혀지면서 출력이 낮은 레이저를 이용한 저출력 레이저 치료는 새로운 광 치료요법으로 각광 받기 시작하였다. 저출력 레이저를 이용한 레이저 치료는 효과나 안정성이 발표되고 유럽 레이저 학회에서 임상결과가 입증되면서 국제적으로 공인된 치료법으로 인정받고 있다. 특히 저출력 레

이저는 연조직의 창상에 대한 자극 효과가 보고된 바 있으며, 동유럽과 러시아에서 창상치유 및 통증억제를 위해 많이 사용되고 있다[7].

본 연구에서는 실생활에 많이 사용되는 레이저다이오드를 치료 목적에 사용하기 위해 He-Ne 레이저와 비슷한 파장을 지닌 635 nm 레이저다이오드를 채택, 적용하여 창상에 미치는 영향을 조사하였다.

2. 실험

2.1 레이저다이오드 발전기

본 기기는 의료용 레이저를 대신하여 레이저다이오드를 창상 치유에 적용할 목적으로 개발되었다[8]. 제작된 기기는 마이크로컨트롤러를 이용하여 독립적인 구동이 가능하도록 하였으며, 조사시간 및 주기의 컨트롤이 가능하도록 구성하고 컨트롤러와 레이저다이오드를 케이블로 연결하여 창상에 조사가 용이하도록 하였다. 기기는 안정적인 전원을 공급할 수 있도록 구성된 전원부와 시간 및 주기 등 사용자가 필요한 동작을 수행할 수 있는 제어부, 마이크로 컨트롤러 유닛에 제어 신호를 입력해 줄 수 있도록 스위치로 구성된 입력부로 구성되어 있다. 그림 1에 기기의 구성도를 나타냈다.

1. 조선대학교 의과대학

(광주시 동구 서석동 375)

a. Corresponding Author : ccuccu7@lycos.co.kr

접수일자 : 2008. 5. 26

1차 심사 : 2008. 6. 17

심사완료 : 2008. 6. 20

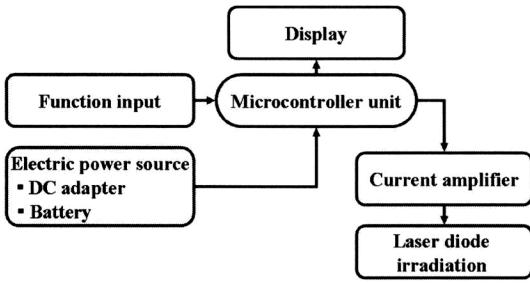


그림 1. 기기의 구성도.
Fig. 1. Block diagram of equipment.

기기의 전반적인 동작 제어에는 ATmel 社의 8bit 마이크로컨트롤러인 ATmega 16을 사용했다. ATmega16은 RISC 구조로 2.7~5.5 V에서 동작을 하며, 자체프로그램이 가능한 16 K 바이트의 플래쉬 메모리와 전기적인 방법으로 프로그래밍이 가능한 512 바이트의 EEPROM, 1 K 바이트의 데이터 저장용 SRAM, 32개의 프로그래밍이 가능한 I/O라인으로 구성되어 있다. ATmega 16의 특성을 이용하여 기기의 동작 상태를 표시하는 16×2 배열의 character LCD와 LD module의 동작시간 및 타이머 함수를 이용한 1~10 Hz까지의 출력 동작 모드를 제어했다.

레이저다이오드의 모듈은 주위 온도, 인가 전원 및 전압에 의해 쉽게 소자의 기능이 변화되어 소실될 위험이 높기 때문에 안전성 확보를 위해 별도로 사용했다. 특히 본 기기는 정격 이상의 전류와 전압이 스위칭 회로를 통해 입력되는 형태로 구성되어 있는 ACP(Auto Current Controller)와 APC(Auto Power Controller)에 의해 레이저 다이오드에 불필요한 발열 및 파괴 현상을 최소화할 수 있도록 모듈이 구성되어 안정적인 출력 설정이 가능하도록 했다.

2.2 창상 치유 실험

635 nm 레이저다이오드 광원이 창상 치유에 미치는 효과를 확인하기 위해 생물 검정용 RAT인 NTacSam:SD(SAMTAKO BIO KOREA, INC)를 사용하여 동물실험을 했다. 사용된 실험동물은 생후 8주령의 수컷 성체이며 실험기간 동안 사육실의 온도는 21~23 ℃를 유지하여 최적의 사육 상태를 제공하였고 전용사료와 음수를 충분히 공급해 주어 실험기간 중 환경변화를 최소화하였다. 창상 유발을 위해 세보플루란(sevoflurane)을 사용하

여 실험동물을 호흡마취 시킨 후 등 부위의 털을 제거하고 척추를 기준으로 지름 1 cm의 관통상을 만들어 표피 및 진피 층을 제거하였다.

635 nm 레이저다이오드의 치유 효과를 확인하기 위하여 광을 조사한 그룹과 조사하지 않은 그룹으로 나누어 실험을 진행하였다. 광 조사 그룹의 경우 개발한 레이저다이오드 발진기를 사용하여 광을 조사하였으며 비 조사 그룹은 광 조사 그룹과 동일한 실험 조건하에서 광을 조사하지 않았다. 표 1에 광 조사 그룹의 실험 조건을 나타냈다.

표 1. 광조사 그룹의 실험 조건.

Table 1. Experiment condition of light irradiation group.

Irradiation group	
Wavelength	635 nm
Light intensity	3 mW/cm ²
Irradiation time	10 min/day for 9 days
Wave type	Continuous wave
Temperature	21~23 ℃

3. 결과 및 고찰

3.1 발진기의 출력 특성

특정 파장의 빛은 세포에 자극을 주어 창상 부위의 조직 및 세포를 활성화시켜 치료 효과를 일으킨다. 따라서 특정 파장의 빛을 세포에 주기 위해서는 정밀한 광 조사 제어가 이루어져야한다. 개발한 발진기는 생체 자극 효과를 확인하기 위해 ATmeag16을 사용하여 1~10 Hz까지 점멸 조사가 가능하도록 구성하였고 on/off 스위칭을 그림 2에 나타내었다. 측정은 전류 증폭부를 거쳐 레이저다이오드 모듈로 들어가는 단자를 단락시켜 YOKOGAWA 社의 DL1720 Digital oscilloscope를 사용하여 측정하였다. DL1720은 대역주파수 대역이 500 MHz이며, 최대 2G/s의 샘플링이 가능한 2 채널로 구성되어 있으며 자동 연산이 가능한 특징을 가지고 있다. 측정 결과 2 Hz에서 10 Hz까지 Duty rate가 50 %인 점멸조사가 Hz 별로 균일하게 이루어지는 것을 확인했다.

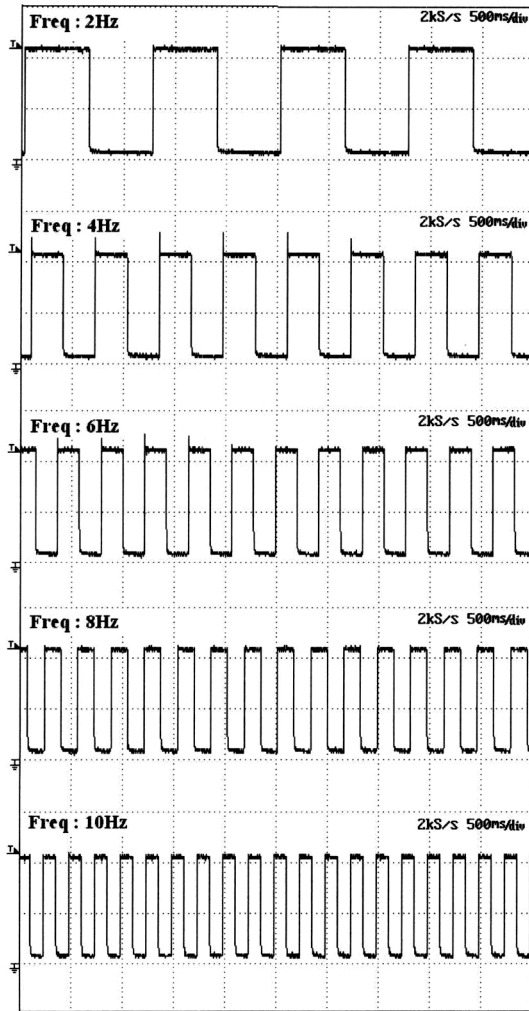
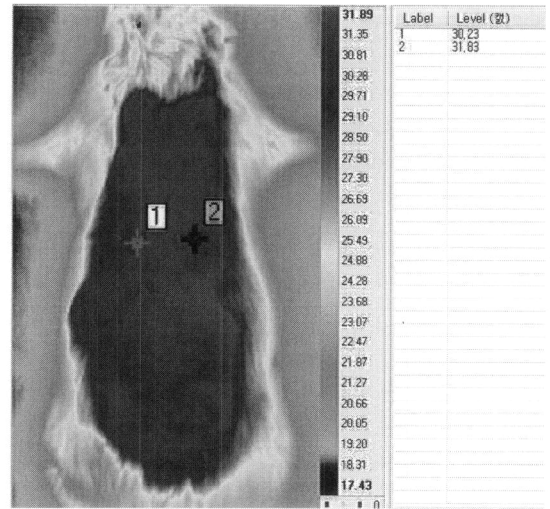


그림 2. On/off 스위칭.
Fig. 2. On/off switching.

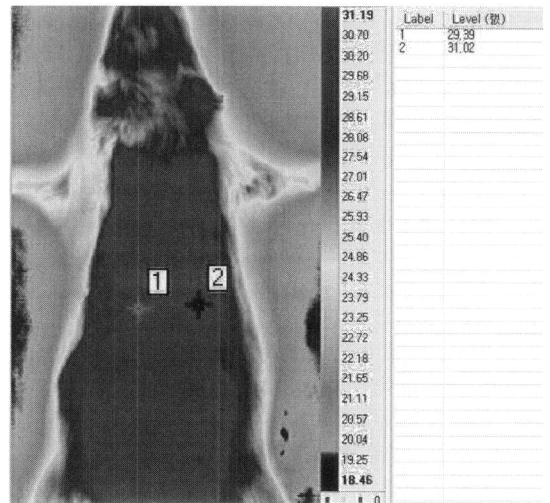
3.2 창상 치유 실험

실험동물의 창상 부위가 이물질에 의해 감염되는 것을 방지하기 위해 사육케이지 하부에 망을 설치하여 이물질과의 접촉을 최소화 하였다. 동물 실험 시 재현성 확보를 위해서는 동물모델 제작 시 Critical Damage(심각한 손상)를 입지 않도록 매우 세심한 주의를 기울여야 한다. 특히, Critical damage가 가해진 경우 혈액 내에 WBC(White Blood Cell Count)가 증가되어 염증 작용으로 창상의 치유가 이루어 질 수 있으므로 혈액 내 WBC의 증가는 매우 큰 의미를 갖는다. 따라서 본 실험에서는 창상 유발전, 창상 유발 직후, 광 조사 3일, 광 조사 6일, 광 조사 9일째 CBC(Complete Blood

Count) 검사를 시행하여 WBC의 수치를 확인하였다. 그 결과 WBC 수치는 $5\sim 25 \times 10^3/\text{mm}^3$ 로 정상수치 범주내로 확인되어 창상 치유 결과가 염증 반응에 의한 결과가 아닌 광 조사에 의한 결과를 알 수 있었다.



(a) 광조사 전



(b) 광조사 후

그림 3. 적외선 카메라 이미지.
Fig. 3. Image of infrared camera.

광조사 시 정밀한 광 조사가 진행될 수 있도록 호흡마취제를 사용해 움직임을 최소화 시켰으며 창상 유발 24시간 이후부터 1일 10분씩 총 9일간

광을 조사했다. 광 조사 후 실험동물에 열적 반응이 나타나면 다양한 생물학적 변수가 개입될 가능성이 있으므로 광 조사 전과 후의 변화를 적외선 열화상 카메라를 사용하여 확인했다. 적외선 열화상 카메라는 실험동물 자체에서 나오는 적외선으로부터 열 정보를 검출하는 방식으로 적외선 카메라(SILVER 480M, Cedip Inc., France)를 사용하여 광 조사 전·후에 측정을 하였다. 실험 시 실내 온도는 20 ℃로 항온 유지하였으며 체내의 적외선 발산 온도를 확인한 결과 체온 변화는 거의 없었다. 그림 3은 적외선 카메라 이미지 증례이다.

창상 치유에 대한 피부 재생을 정밀하게 확인하기 위하여 조직학적 검사를 병행하였다. 조직 샘플을 제작하기 위해 실험동물의 최종 광조사로부터 4시간 이후 피부를 적출하였다. 적출한 피부 조직은 10 % 포르말린을 사용하여 충분히 고정하였으며, 탈수한 후 수세과정을 거쳐 투명화 시켰다. 투명화 과정 후 조직을 파라핀 용액에 침윤시키고 포매(Embedding)하여 조직 블록을 제작하였다. 제작한 파라핀 블록을 Rat의 머리를 기준으로 창상 중앙 부위를 세로 방향 10 μm 두께로 절단하여 탈파라핀화와 수세를 거친 후 ematoxylin-eosin 이중 염색을 하였다. MagnaFire digital camera system (Optronics, Goleta, CA, USA)을 이용하여 촬영 후, 디지털 이미지를 바탕으로 Visus Image Analysis System (Image & Microscope Technology, Daejon, Korea)을 통해 결손부위의 장경을 측정하여 결과를 그림 4에 나타냈다.

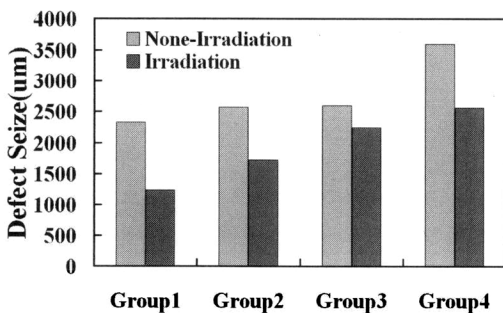
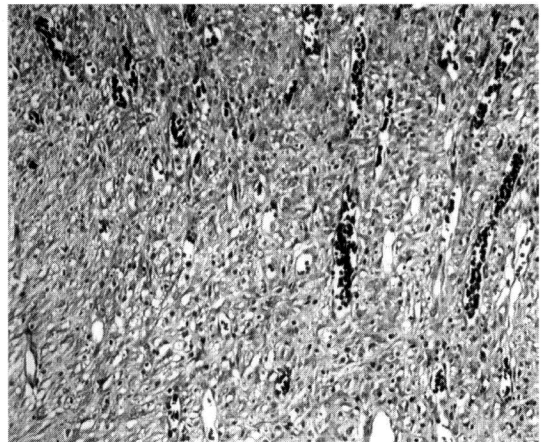


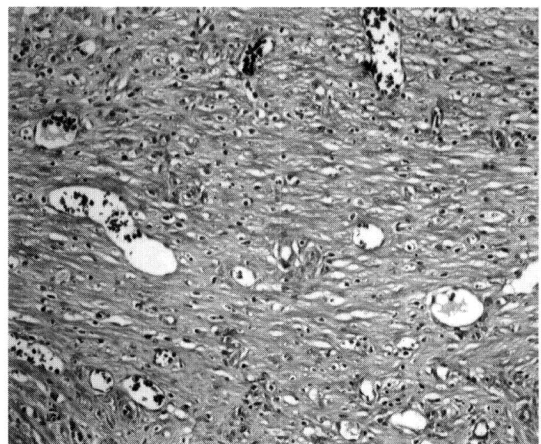
그림 4. 창상 수복 결과.

Fig. 4. Result of wound healing.

광조사 조직들과 비조사 조직들의 절편을 현미경으로 관찰하여 육아조직의 수복을 확인한 결과 4개 그룹 모두 광 조사 시 비 조사 경우에 비해 상처 수복이 빠르게 진행된 것을 확인할 수 있었다. 비조사 조직들의 창상 수복율은 평균 72 %이



(a) 비조사 조직 증례(20X)



(b) 광조사 조직 증례(20X)

그림 5. 콜라겐 이미지.

Fig. 5. Image of collagen.

나 광조사 조직들의 창상 수복율은 81 %로 약 10 % 조기 수복을 보임을 알 수 있었다.

결손부 재생세포의 성상을 파악하고, 콜라겐의 형성정도를 파악하기 위해 Masson's trichrome 염색을 시행하였으며 관찰되는 콜라겐의 양에 따라 반 정량적으로 점수화하였다. 즉, 콜라겐이 전혀 관찰되지 않는 경우 0, 콜라겐 가닥이 미세하게 관찰되면 1+, 콜라겐이 작은 다발을 형성하면 2+, 콜라겐이 크고 작은 다발을 형성하면 3+, 콜라겐이 일부라도 juicy matrix를 형성하면 4+로 정하였다. 콜라겐의 형성은 섬유아세포(Fibroblast)와 더불어 창상 수복과 매우 밀접한 관계가 있는데 광 자극 조직들이 비 자극 조직들에 비해 콜라겐 형성이

더 풍부하고 창상 수복 또한 활발하게 이루어진 것으로 확인 할 수 있다. 그림 5에 콜라겐 이미지의 증례를 나타냈다.

4. 결론

635 nm 레이저다이오드가 피부 결손에 미치는 치유 효과를 확인하기 위해 레이저다이오드 발진기를 개발하여 동물실험을 하였다.

피부 결손 부위에 광을 조사한 광 조사 그룹과 광을 조사하지 않은 비 조사 그룹으로 나누어 실험을 하였고 창상 수복 결과를 객관적으로 측정하기 위해 cytokeratin에 대한 immunohistochemical staining을 시행하였다. 그 결과, 광 조사를 시행한 조직들이 광을 조사하지 않은 조직들에 비해 실험 기간 동안 창상 부위의 상피 세포화가 양호하게 이루어져 창상 수복율이 비조사 조직들은 평균 72%, 광조사 조직들은 평균 81%의 수복율을 보였다. Masson's trichrome 염색을 시행하여 콜라겐 분석을 한 결과 광조사 조직들이 비조사 조직들에 비해 콜라겐이 더 풍부하게 형성되었다. 콜라겐 형성은 창상 수복과 매우 밀접한 관계가 있으며 광 자극 조직들이 비 자극 조직들에 비해 창상 치유 또한 신속하게 이루어진 것을 확인 할 수 있었다.

참고 문헌

- [1] T. H. Maiman, "Stimulated optical radiation in ruby", Nature, Vol. 187, p. 493, 1960.
- [2] F. Mullins, "The effects of high energy laser pulses on the primate liver", Surg. Gynecol. Obstet., Vol. 122, p. 727, 1966.
- [3] J. L. Fox, "The use of laser radiation as a surgical light knife", Surg. Gynecol. obstet., Vol. 9, p. 199, 1969.
- [4] J. E. Madden, "Studies in the management of the contaminated wound: IV. Resistance to infection of surgical wounds made by knife electrosurgery and laser", Am. J. Surg., Vol. 119, p. 222, 1970.
- [5] T. Karu, "Photochemical effect upon the cornea, skin and other tissues: photobiology of low-power laser effects", Health Phys., Vol. 56, p. 691, 1989.
- [6] M. W. Cheon, S. H. Kim, Y. P. Park, T. G. Kim, and S. M. Yu, "The effect of LED light irradiation on skin injury cure of rat", J. of KIEEME(in Korean), Vol. 20, No. 12, p. 1087, 2007.
- [7] T. H. Lee, D. H. Sohn, B. I. Kim, S. K. Cho, and S. H. Lee, "Pain relief and accelerated healing processes of wound by low level laser irradiation", Korean J. Pain., Vol. 7, No. 1, p. 74, 1994.
- [8] M. W. Cheon, S. H. Kim, Y. P. Park, H. S. Lee, and T. G. Kim, "Development of multi-wavelength laser medical therapy apparatus", J. of KIEEME(in Korean), Vol. 20, No. 8, p. 736, 2007.