

헬륨-네온 레이저 자극으로 유발된 흰쥐 진통작용의 날록손 반전*1)

원광보건전문대학 물리치료과

이재형 · 송인영

광양전문대학 재활학과

최 은 영

Naloxone Reversal of He-Ne Laser Stimulation Induced Analgesia in Rat

Lee, Jae-Hyoung, Song, In-Yong.

Department of Physical Therapy, Wonkwang Health Junior College

Choi, Eun-Yong

Department of Rehabilitation, Kwangyang Junior College

Abstract

The purpose of this study were to 1) determine the analgesic effect of 632.8 nm of helium-neon (He-Ne) laser stimulation on acupuncture point in rat and 2) determine the reversal of analgesic effect by naloxone injection. Eighteen Sprague-Dawley rats were divided into three groups: control (n=6): laser (n=6), laser stimulation at 3.58 J/cm²; and naloxone (n=6), 1 mg/kg of naloxone chloride inject into peritoneum before laser stimulation at 3.63 J/cm². Tail-flick latency were measured pretreat and posttreat with hot plate (55°C). Data were analyzed using one-way ANOVA and paired t-test for tail-flick latency. No significant change was noted in the tail-flick latency in either control or naloxone groups. But significant increased in tail-flick latency in laser group. The results suggest that He-Ne laser induced analgesic effect, and endogenous opioids may be involved in He-Ne laser induced analgesia.

Key Words: He-Ne laser, Tail-flick latency, Rat, Hot plate test, Acupuncture point, Naloxone

* 이 논문은 1996학년도 원광보건전문대학 학술연구비 지원에 의해 조성되었음.

I. 서 론

레이저(laser)는 자극방출조사에 의한 광증폭의 첫자를 따서 만든 명칭으로 Theodoro H Maiman(1960)이 루비 레이저를 처음 소개한 이래 오늘날 의학분야에서 여러 종류의 레이저가 개발되어 다양한 목적으로 사용되고 있다. 레이저는 출력에 따라 고출력 레이저와 중출력 및 저출력 레이저로 구분한다. 중출력 및 저출력 레이저는 출력이 0.1 W이하로 낮고 열효과 및 조직파괴 작용이 없기 때문에 흔히 냉레이저(cold laser) 또는 연레이저(soft laser)라 부르며, 헬륨-네온 레이저(helium-neon laser, He-Ne laser)와 반도체 레이저가 대표적이다(England, 1988).

파장 632.8nm의 적색광을 방출하는 He-Ne 레이저는 창상치유(Dyson과 Young, 1986; Enwemeka, 1988)와 퇴행성 관절염, 류마티스 관절염, 슬개골 연골연화증, 동결견, 건초염, 상완골 상과염, 근근막통증후군, 대상포진 후 통증, 삼차신경통 등 여러가지 원인으로 초래되는 근골격계와 신경계의 급성 및 만성 통증을 완화시킬 목적으로 널리 사용되고 있다(Walker, 1983, King, 1989; Kitchen과 Partridge, 1991; Beckerman 등, 1992).

He-Ne 레이저를 사용한 통증치료는 주사(scan)방법과 점(point)조사방법이 사용되고 있으며 특히 probe를 사용하여 통증점과 발통점(Olavi 등, 1989; Snyder-Mackler 등, 1989)을 자극하는 한편 1980년대에 이르러 동양의학에서 사용하는 전통적 침자극 대신 저출력 레이저로 경혈을 자극하는 레이저 침(acupuncture-like laser) 방법이 널리 보급되고 있다(Bischko, 1980; Krötlinger, 1980; Kreczi와 Klingler, 1986).

He-Ne 레이저의 진통작용 기전으로는 1) superoxide dismutase(SOD)가 증가하여 prostaglandin E가 유해수용체 막전위를 변화시킨다는 SOD 이론, 2) Na-K ATPase의 증가로 유해수용체의 충격전달이 감소됨에 따라 통각이 감소된다는 이론, 3) 신경세포막의 탈분극을 방해하여 통각의 상행전달을 억제한다는 신경계 기전설, 4) 혈관운동이 자극되어 조직의 대사가 증진되고 이에 따라 염증 및 염증 산물 흡수가 촉진되어 통증이 완

화된다는 혈관운동자극설, 5) serotonin과 endorphin과 같은 내재성 아편물질 작용설 등이 제시되고 있다(Walker, 1983; Snyder-Mackler 등, 1989; Choi 등, 1986).

Hughes 등(1975)이 enkephalin을 분리한 이래 β -endorphin, dynorphin, α -neoendorphin 등 여러 종류의 내재성 아편물질이 밝혀졌으며, 이 중 β -endorphin의 진통효과가 morphin보다 훨씬 강하고 오래 작용하여 많은 관심의 대상이 되고 있다(Tseng 등, 1976). β -endorphin분비물 촉진시키는 방법으로 전기자극, 침자극, 운동, 맛사지 등 여러 종류의 기계적 자극이 이용되고 있으며 레이저 자극 방법도 제시되고 있다. Walker(1983)는 저출력 레이저 자극으로 urinary 5-hydroxy-indoleacetic acid가 증가하여 serotonin이 작용하고 있음을 제시하였고, Choi 등(1986)은 urinary 17-OHCS가 증가하여 β -endorphin 관련 가능성을 제시하였으나, Ponnudurai 등(1988)은 레이저 자극에 따른 진통작용에 내재성 아편물질이 관여하지 않고 있다고 하는 등 레이저 자극으로 유발되는 진통작용의 내재성 아편물질 관여설은 논란의 대상이 되고 있다.

이에 본 연구는 레이저 자극에 따른 흰쥐의 꼬리도피 잠복시를 비교하고 naloxone 투여가 꼬리도피 잠복시를 변화시키는지를 파악하여 He-Ne 레이저 자극이 진통효과가 있는지의 여부와 레이저 자극으로 유발된 진통작용에 내재성 아편물질이 관여하고 있는지를 규명하고자 한다.

II. 재료 및 방법

1. 재 료

실험대상은 생후 9-10주된 체중 190-270g의 Sprague-Dawley계 암컷 흰쥐 18마리로 하였다. 실험기간 동안 bioclean cage에서 고형사료(신촌 실험동물사료, 신촌사료주식회사, 서울)와 물로 사육하였으며 명암주기는 자연광, 온도는 상온으로 하였다.

2. 처 치

흰쥐를 무작위로 6마리씩 나누어 대조군, 레이저군, 날록손군으로 배치하였다. 흰쥐를 플라스틱

으로 만든 고정틀(Bootstrap rat holder, Daejong Scientific Instrument Inc., Seoul, Korea)에 고정된 다음 파장 632.8nm, 정점출력 30mW, 연속빔이 출력되는 Helium-Neon cold laser stimulator (Model PDT, Mera, Tokyo, Japan)를 사용하여 쥐의 꼬리가 시작되는 부근의 등 부위의 털을 깎아내고 천추와 미추 사이의 장강(張強, GV 1)에 직경 3mm인 probe를 접촉 고정하고 평균출력 $8.5 \pm 0.2 \text{ mW}$, 에너지 밀도 $3.6 \pm 0.1 \text{ J/cm}^2$ 로 자극하였다. 대조군은 30초간 probe만 접촉하고 실제로는 레이저를 출력하지 않았으며, 레이저군은 레이저를 30초 자극, 날록손군은 naloxone HCl(삼진 제약주식회사, 서울시 마포구 서교동 338-8) 1 mg/kg 을 복강내 주사하고 30초 간 레이저로 자극하였다(Table 1).

3. 꼬리도피 잠복시 측정

흰쥐를 고정틀 속에 고정하여 1시간 동안 안정시킨 후 표면온도를 $55 \pm 1^\circ\text{C}$ 로 설정한 hot plate (Model 3864, Lipshaw, 171 Industry Drive, Pittsburg, PA 15275, USA)위에 흰쥐의 꼬리를 올려 놓은 다음 뜨거움을 느끼고 꼬리를 치우는 시간을 초시계(Topa, Taipei, Taiwan)로 측정하여 꼬리도피 잠복시(tail flick latency)로 결정하였다. 꼬리도피 잠복시는 처치 직전과 처치 직후에 각각 3회씩 측정하여 평균값을 구하였다.

4. 분 석

각 군의 처치 전후에 측정된 꼬리도피 잠복시의 평균값을 짝비교 t-검정하였다. 세군의 처치 전 및 처치 후 꼬리도피 잠복시를 일원 분산분석하고 Duncan다중순위검정으로 사후검정하였으며 유의수준은 0.05로 하였다. 모든 통계분석은 SPSS/PC+로 하였다.

III. 결 과

대조군의 꼬리도피 잠복시는 처치 전 후 각각 $21.27 \pm 4.43\text{s}$, $22.08 \pm 5.07\text{s}$ 였으며 t-검정 결과 유의한 차이가 없었다. 레이저군의 꼬리도피 잠복시는 자극 전 $20.89 \pm 1.95\text{s}$ 에서 자극 후 $34.90 \pm 4.34\text{s}$ 로 나타났으며 t-검정 결과 레이저 자극 후 꼬리도피 잠복시가 유의하게 증가하였다($p < .001$). 레이저 자극 전 꼬리도피 잠복시가 $21.60 \pm 3.49\text{s}$ 였던 날록손군은 레이저 자극 후 $23.40 \pm 8.02\text{s}$ 로 t-검정 결과 유의한 차이가 없었다(Table 2, Fig. 1).

세군의 처치 전 꼬리도피 잠복시를 일원 분산분석한 결과 유의한 차이가 없었으나, 처치 후 꼬리도피 잠복시를 일원 분산분석한 결과 유의한 차이가 있었으며($p < .01$), 이를 Duncan다중순위검정으로 사후검정한 결과 레이저군의 꼬리도피 잠복시가 대조군 및 날록손군보다 유의하게 증가하였다($p < .05$)(Table 3).

Table 1. Characteristics of laser stimulation

Group	n	Weight(g)	Treatment	ED*
Control	6	221.7 ± 19.4	30 s sham laser	0 J/cm^2
Laser	6	235.0 ± 29.5	Laser 30 s stimulation	$3.58 \pm 0.11 \text{ J/cm}^2$
Naloxone	6	230.0 ± 23.8	Naloxone injection + Laser 30 s stimulation	$3.63 \pm 0.05 \text{ J/cm}^2$

* ED: energy density

Table 2. Tail-flick latencies(s) measured in control, laser and naloxone group.

Group	n	Pre-treated(X ± SD)	Post-treated(X ± SD)	F	p
Control Group	6	21.76 ± 4.72	22.08 ± 5.07	1.15	.913
Laser Group	6	20.89 ± 1.95	34.90 ± 4.34	4.93	.000
Naloxone Group	6	21.60 ± 3.49	23.40 ± 8.02	5.28	.626

Table 3. Analysis of variance summary for tail-flick latencies at pretreat and posttreat in control, laser and naloxone group

Source	df	SS	MS	F	p
Pretreat	2	2.5627	1.2813	.1005	.9050
Posttreat	2	596.7575	298.3787	8.2259	.0039

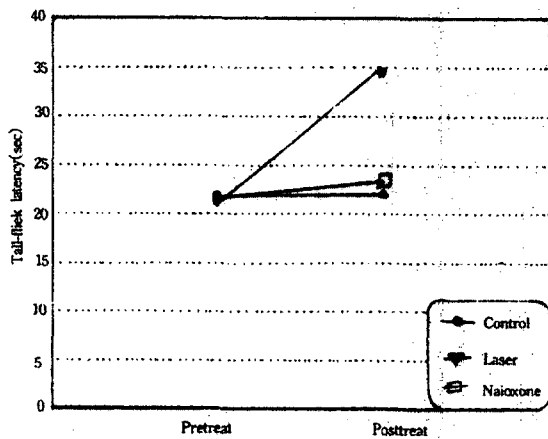


Fig. 1. Changes of tail-flick latencise measured at pretreat and posttreat in control, laser and naloxone group.

IV. 고 찰

저자들은 본 실험에서 평균출력 $8.5 \pm 0.2 \text{ mW}$, 에너지 밀도 $3.6 \pm 0.1 \text{ J/cm}^2$ 의 He-Ne 레이저로 흰쥐의 장강혈을 30초 자극하여 진통작용이 유발되었으며, 진통작용은 naloxone 투여로 반전되는 결과를 얻었다.

통증실험에서 합곡이나 수삼리 자극을 흔히 사용하고 있지만 쥐의 합곡 및 수삼리를 자극하기 위해서는 특수하게 제작된 고정틀이 필요하고 실험 기간동안 스트레스를 많이 받게 된다. 그러나 장강은 채혈 및 정맥주사용 고정틀에 간단히 고정시킬 수 있고 비교적 안정된 상태에서 레이저 자극 및 꼬리도피 잠복시 측정을 수행할 수 있다. 쥐의 꼬리가 시작되는 천추와 미추 사이는 인체의 독맥(GV) 1번 혈인 장강(張強)혈에 대응되는 부위로 요통 등과 관련이 있는 것으로 알려져 있

고(Lee와 Bae, 1981), Ponnudurai 등(1987: 1988)이 장강을 대상으로 실험한 예가 있어 본 실험에서도 쥐의 장강혈을 대상으로 실험을 수행하였다. 또한 쥐의 꼬리도피 잠복시는 극소 척수반사에 의해 유발되는 생리적 반응으로 반복 측정 시 재현성이 좋아 진통효과를 연구하는데 이상적인 방법으로 알려져 있다(D'Amour와 Smith, 1941). 저자들이 본 연구와 같은 조건에서 He-Ne 레이저로 흰쥐의 장강혈을 각각 15초, 30초, 60초 자극하여 진통효과를 검증한 결과 자극시간에 따른 차이가 없어(이 등, 1996) 본 실험에서는 레이저 자극시간을 에너지 밀도가 $3.6 \pm 0.1 \text{ J/cm}^2$ 인 30초로 설정하였다.

본 실험에서 레이저군의 꼬리도피 잠복시가 유의하게 증가하여 흰쥐의 장강혈을 He-Ne 레이저로 30초간 $3.6 \pm 0.1 \text{ J/cm}^2$ 로 자극하여 진통작용이 유발되었음을 입증하였다. 이와 같은 결과는 맥동 빈도 4Hz 및 60Hz의 He-Ne 레이저로 흰쥐의 장강을 15초간 자극하여 꼬리도피 잠복시가 유의하게 증가하였다는 Ponnudurai 등(1987)의 보고와 일치하고 있다. Brockhaus와 Elger(1990)는 사람의 양측 합곡(LI 4)과 장강(GV 1)에 1분 간 He-Ne 레이저로 자극하고 통증역치를 측정된 결과 유의한 변화가 없었다고 보고하였으나, Kreczi와 Klingler(1986)는 목과 허리 통증 환자에게 He-Ne 레이저로 경혈을 30초 자극하여 통증이 유의하게 감소하였음을 보고하였고, Snyder-Mackler 등(1989)은 목과 허리 통증 환자의 발통점에 20초 동안 He-Ne 레이저 자극하여 통증을 현저하게 감소시켰다 하였으며, 김 등(1993)은 대상포진 후 신경통에 He-Ne 레이저 및 반도체 레이저, 이산화탄소 레이저로 2-4 joule/cm^2 의 에너지 밀도로 통증부위를 조사하여 현저한 통증완화를 유발시켰다고 보고하였고, Olavi 등(1989)은 1.5 J/

point의 에너지 밀도로 환자의 발통점에 반도체 레이저로 자극하여 통증을 완화시켰다 하였으며, Mezawa 등(1988)은 반도체 레이저 자극이 고양이 통증반응 빈도를 감소시켰다고 보고하는 등 He-Ne 레이저나 반도체 레이저 등 저출력 레이저 자극으로 동물 및 사람의 통증을 완화시켜 저출력 레이저가 진통작용을 유발시킴을 알 수 있다.

한편 Maldonado 등 (1994)은 쥐의 다리에 실험적으로 통증을 유발시킨 후 morphine 1-4mg/kg의 정맥주사로 유발된 진통작용이 naloxone 1mg/kg 투여로 반전되었다 하였고, Miampamba 등(1994)은 쥐의 S결장에 급성염증을 유발시킨 후 0.5-4mg/kg의 morphine 투여에 의한 진통작용이 naloxone 2.4mg/kg 투여로 반전되었다고 보고하는 등 1-2.4mg/kg의 naloxone 투여로 골격계 및 내장 통증의 진통작용을 역전시켜 본 실험에서 naloxone 1mg/kg을 복강내 투여하였다.

Ponnudurai 등(1988)은 주파수 4Hz, 정점출력 1 mW인 He-Ne 레이저로 흰쥐의 장강혈을 15초 자극한 결과 꼬리잠복시가 유의하게 증가하여 진통작용은 유발되었으나 2mg/kg의 naloxone투여로 진통작용이 반전되지 않았다고 보고하였지만 본 실험에서 레이저 자극 직전 염산 날록손 1mg/kg을 복강내 주사한 날록손군은 레이저 자극 후 꼬리도피 잠복시가 유의하게 변화하지 않았다. 이러한 차이는 정점출력이 30mW, 맥동없이 연속적으로 출력되는 레이저를 사용한 본 실험과 조직에 가해진 에너지 밀도의 차이가 있기 때문이라고 생각된다. 본 실험 결과 naloxone 투여가 흰쥐의 진통작용을 반전시켜 He-Ne 레이저 자극에 의한 진통작용에 내재성 아편물질이 관여하고 있음을 시사하고 있다.

레이저의 생리적 효과는 파장 및 에너지 밀도에 영향을 받고 에너지 밀도는 출력, 시간, 면적에 의해 결정되며(Kleinkort와 Foley, 1982), 경피신경전기자극이 맥동빈도에 따라 진통 효과 및 기전이 다르듯이 레이저도 맥동빈도에 따라 진통 효과 및 기전이 다른 것으로 알려져 있어(Ponnudurai 등, 1987) 앞으로 레이저의 파장, 에너지 밀도 및 맥동빈도에 따른 연구가 요구된다.

V. 결 론

저출력 레이저 자극이 진통효과가 있는지의 여부와 레이저 자극으로 유발된 진통작용에 내재성 아편물질이 관여하고 있는지를 규명하고자 흰쥐를 대상으로 파장 632.8nm, 정점출력 30mW, 연속빔이 출력되는 He-Ne 레이저로 장강(GV 1)에 직경 3mm인 probe를 접촉 고정하고 30초간 $3.6 \pm 0.1 \text{ J/cm}^2$ 로 자극하고 hot plate로 꼬리도피 잠복시를 측정하여 진통작용을 비교한 결과 레이저군의 꼬리도피 잠복시가 유의하게 증가하여 He-Ne 레이저 자극이 진통작용을 유발시켰으며 레이저 자극으로 유발된 진통작용은 naloxone 투여로 반전되어 He-Ne 레이저 자극에 의한 진통작용에 내재성 아편물질이 관여하고 있음을 시사하고 있다.

참 고 문 헌

1. 김해규, 김성태, 정진우, 권재영, 김인세, 정규섭: 대상포진후 신경통의 저출력 레이저치료. 대한통증학회지 5(2): 258-262, 1993
2. 이재형 외: 저출력 레이저 자극이 흰쥐의 꼬리도피 잠복시에 미치는 영향. 미술판, 1996.
3. Beckerman H, de Bie RA, Bouter LM, De Cuyper HJ, Oostendrop RAB: The efficacy of laser therapy for musculoskeletal and skin disorders: A criteria-based meta-analysis of randomized clinical trials. Phys Ther 72: 483-491, 1992.
4. Bischko J: Use of laser in acupuncture. Acupunct Electrother Res Int J 5: 29-40, 1980.
5. Brockhaus A, Elger CE: Hypalgesic efficacy of acupuncture on experimental pain in man. Comparison of laser acupuncture and needle acupuncture. Pain 43(2): 181-185, 1990.
6. Choi JJ, Srikantha K, Wu WH: A comparison of electro-acupuncture, transcutaneous electrical nerve stimulation and laser photobiostimulation on pain relief and glucocorticoid excretion. Acupunct Electrother Res

- Int J 11 : 45-51, 1986.
7. D'Amour FE, Smith DL : A method for determining loss of pain sensation. *J Pharmacol Exp Ther* 72 : 74-79, 1941.
 8. Dyson M, Young S : The effect of laser therapy on wound contraction and cellularity in mice. *Lasers Med Sci* 1 : 125-130, 1986.
 9. England S : Introduction to mid laser therapy. *Physiother* 74 : 100-102, 1988.
 10. Enwemeka CS : Laser biostimulation of healing wounds : Specific effects and mechanisms of action. *J Orthop Sports Phys Ther* 9 : 333-338, 1988.
 11. Hughes J, Smith TW, Kosterlitz HW, Fothergill LA, Morgan BA, Morris HR : Identification of two related pentapeptides from the brain with potent opiate agonist activity. *Nature* 258:577-579, 1975.
 12. King PR : Low level laser therapy : a review. *Lasers Med Sci* 4 : 141-150, 1989.
 13. Kitchen S, Partridge CJ : A review of low level laser therapy. *Physiother* 77 : 161-168, 1991.
 14. Kleinkort JA, Foley RA : Laser. A preliminary report on its use in physical therapy. *Clin Manag Phys Ther* 2 : 30-32, 1982.
 15. Kreczi T and Klingler D : A comparison of laser acupuncture versus placebo in radicular and pseudoradicular pain syndromes as recorded by subjective responses of patients. *Acupunct Electrother Res Int J* 11 : 207-216, 1986.
 16. Krötlinger M : On the laser in acupuncture. *Acupunct Electrother Res Int J* 5 : 297-311, 1980.
 17. Lee JK, Bae SK : Korean Acupuncture. 3rd Ed., Ko Mun Sa, Seoul, p.146, 1981.
 18. Maiman TH : Stimulated optical radiation in ruby. *Nature* 187 : 493-494, 1960.
 19. Maldonado R, Valverde O, Turcaud S, Fournie-Zaluski MC, Roques BP : Antinociceptive response induced by mixed inhibitors of enkephalin catabolism in peripheral inflammation. *Pain* 58 : 77-83, 1994.
 20. Mezawa S, Iwata K, Naito K, Kamokawa H : The possible analgesic effect of soft-laser irradiation on heat nociceptors in the cat tongue. *Arch Oral Biol* 33 : 693-694, 1988.
 21. Miampamba M, Chery-Croze S, Gorry F, Berger F, Chayvialle JA : Inflammation of the colonic wall induced by formalin as a model of acute visceral pain. *Pain* 57 : 327-34, 1994.
 22. Olavi A, Pekka R, Pertti J, Jr : Effects of the infrared laser therapy at treated and non-treated trigger points. *Acupunct Electrother Res Int J* 14 : 9-14, 1989.
 23. Ponnudurai RN, Zbuzek VK, Niu HL, Wu WH : Laser photobiostimulation-induced hypoalgesia in rats is not naloxone reversible. *Acupunct Electrother Res Int J* 13 : 109-117, 1988.
 24. Ponnudurai RN, Zbuzek VK, Wu WH : Hypoalgesic effect of laser photobiostimulation shown by rat tail flick test. *Acupunct Electrother Res Int J* 12 : 93-100, 1987.
 25. Snyder-Mackler L, Barry AJ, Perkins AI, Soucek MD : Effects of Helium-Neon laser irradiation on skin resistance and pain in patients with trigger points in the neck or back. *Phys Ther* 69 : 336-341, 1989.
 26. Tseng LF, Loh HH, Li CH : Beta endorphin as a potent analgesic by intravenous injection. *Nature* 263 : 239-240, 1976.
 27. Walker J : Relief from chronic pain from low-power laser irradiation. *Neurosci Lett* 43 : 339-344, 1983.