

원저

적외선 영상 처리를 통한 Formalin Test 통증 모델에서의 염전 침자극 효과에 대한 연구

류재관* · 이순걸* · 임성수* · 이재동** · 민병일*** · 류운영***

*경희대학교 기계공학과

**경희대학교 한방병원 침구과

***경희대학교 동서의학과

Abstract

A Study of Analgesic Effect of Twirling Acupuncture on Pain Model of the Formalin Test Using the Infrared Thermal Image Processing

Ryu Jae-kwan*, Lee Soon-geul*, Rhim Sung-soo*, Lee Jae-dong**,
Min Byung-il*** and Ryu Un-young***

*Department of Mechanical Engineering, KyungHee University

**Department of Acupuncture & Moxibustion, KyungHee University

***Department of East-West Medicine, KyungHee University

Objective : As a manual accupuncture method, the twirling-needle treatment has been known more effective in relieving pain than the conventional simple accupuncture treatment. Finding a

*본 연구는 보건복지부 협동기초연구지원 연구개발의 연구비 지원에 의하여 이루어진 것임

· 접수 : 2004년 3월 20일 · 수정 : 2004년 3월 22일 · 채택 : 2004년 3월 24일

· 교신저자 : 이순걸, 경기도 용인시 기흥읍 서천리 1 경희대학교 기계공학과

Tel. 031-201-2506 Email : sglee@khu.ac.kr

proper treatment condition is difficult because of the lack of a quantitative measurement of the alleviation of pain made by acupuncture. In this research, the authors propose the use of infrared thermal images in a formalin test to quantitatively verify the effect of twirling.

Methods : After injecting 10%~20% formalin into the tail of rats, the infrared thermal images(ITI) have been obtained to estimate the thermal distribution caused by inflammation. The authors propose a processing method to measure the thermal distribution from the thermal images obtained from the infrared camera as a pain model of the formalin test .

Results : The pain model obtained from the infrared thermal image has two phases. The first phase, which is a transient period, is the initial 20 minutes when the pain is developed after the formalin injection. The second phase, which is a steady state, is where the development of pain lasts for 60 minutes or more after the first stage. This characteristic of the proposed model based on ITI is consistent with that of the pain model reported by other researchers whose works are based on the time-course of flinching and licking/biting, following a different concentration of formalin. It is noticed that the response of the thermal distribution obtained from ITI shows very high correlation to the behavioral response in the formalin test performed by Kazuhiro Okuda and four others⁵⁾. In addition, the authors propose an ITI method to determine the pain-reducing effect of the acupuncture. The thermal distribution obtained from the experiment shows that there is significant pain reducing effect made by the twirling-needle method.

Key words : Acupuncture, Animal Model, Formalin Test, Pain, Twirling Method

I. 서 론

한의학은 수세기에 걸쳐서 전승된 의학이지만 진료와 치료에 있어서 객관적인 평가나 검증이 아직은 미흡하다고 여겨지고 있다. 이 논문의 관심분야인 '침을 이용한 통증 치료'에 있어서 객관적인 평가와 효과 검증이 이루어진다면 최적의 치료 조건을 찾을 수 있으며 각 개체에 대한

진료의 정확한 평가를 할 수 있을 것이다.

통증은 조직손상과 관계되어 나타나는 불쾌한 감각 및 정서적 경험(sensory and emotional experience)으로서 환자가 의사를 찾는 가장 큰 이유 중에 하나이다¹⁾. 통증을 치료하는 방법은 약물이나 침, 약침 등이 있는데 이들 치료 방법에 대한 진통효과를 규명하기 위해서는 객관적으로 통증을 측정할 수 있는 방법이 필요하다. 아울러 적용될 질병들과 유사한 pain model을 사용하여야 함은 물론이다.

한의학에서 통증을 측정하는 전통적인 방법인 tail-flick, tail-pinch, hot-plate test 등의 behavioral test는 일일이 사람이 일정시간에 따라 반응수를 세서 그 통증의 양을 측정하기 때문에 통증을 수치적으로 표현하기 어렵고, 의공학 기술을 적용하기 위해 필요한 실시간 측정에 부적합하다. 그리고 이 통증모델들은 높은 강도(high intensity)의 자극을 일정기간 주어야 하는데 이러한 통증은 단시간 지속되기(short-lasting) 때문에 자극으로 야기되는 조절기전(modulatory mechanism)을 관찰하기 어렵다. 그리고 또한 적용되어야 할 clinical pain들에 유용하다고 볼 수 없다.

Formalin test는 손상된 조직으로부터 완만하고(moderate), 지속적인(continuous) 통증을 유발하는데 기계적 자극이나 열 자극을 이용한 방법보다는 clinical pain에 가까운 model이다²⁾. Formalin에 대한 반응은 early phase와 late phase의 두 가지 단계로 나타난다. early phase는 말초자극으로 인한 C-fiber의 활성화에 의해 일어나며 반응시간은 주사한 약 5분간 지속된다. late phase는 주사한 후 약 20분부터 나타나며 말초조직에서 염증반응과 spinal cord의 dorsal horn에서 기능적 변화의 복합작용에 의해 일어난다고 믿어진다. 이러한 기능적 변화는 early phase 동안 C-fiber의 흥분에 의해 유발되는 것으로 보인다³⁾. 참고로 formalin을 사람에게 주사하였을 때도 범위가 분명하지 않은, 타는듯하고 떨리는 통증을 일으켰고 이는 동물에게 관찰되는 행동변화의 time course와 유사하다²⁾. 그러나 현재까지 formalin test에서 사용된 분석방법은 behavioral test방법으로 통증을 수치화하는데 어려웠고 의료공학기술이 접목되기에 부적절했다.

이에 본 논문에서 formalin test 통증 모델에

서 침의 진통효과를 객관적으로 측정하여 평가하고 이를 의료장비에 적용할 수 있는 피드백(feedback)가능한 생체 신호로서 수치화하기 위해서 적외선 이미지를 이용했다.

적외선 이미지를 이용한 통증의 평가방법은 생체의 피부표면에서 자연적으로 방출되는 극미량의 적외선을 감지하여 통증의 크기를 평가하는 방법이다. 이 방법은 비침습성으로 객관적인 영상 자료를 제공하고 진통의 효과 및 질환의 진단에 사용된다. 또한 본 논문에서는 적외선 이미지를 영상 처리하여 formalin으로 인한 조직손상으로 발생하는 생체의 열 분포 이미지를 실시간으로 처리하여 수치화하고 침의 진통효과를 검증하는 수단으로 사용하고자 한다. 아울러 이처럼 수치화된 통증 값들을 이용하여 실시간으로 개체의 통증 변화에 반응할 수 있는 자동 제어되어지는 한방 통증 치료기 개발을 위한 기반을 구축하고자 한다.

II. 실험 대상 및 방법

1. 동물 및 재료

1) 동물

동물은 체중이 300~350g의 Sprague-Dawley 계 수컷 백서로서 고행사료(삼양유지, 소동물용)와 물을 원활히 공급하면서 3일간 실험실 환경에 적응시킨 후 사용하였다. 그리고 실험 전 30분간 쥐구속 장치에 미리 넣어 쥐가 구속 장치에 적응하게 하였다.

2) 재료

침자극을 주기 위해서 stainless steel 침(직

경 0.25mm, 길이 30mm, 동방침구)을 사용하였다. 그리고 formalin은 formaldehyde 37% 수용액으로서 실험에서 formalin을 saline과 혼합하여 10~20% 농도를 만들고 실험에서는 이 용액 0.2ml를 쥐에 주사하였다.

2. 실험 방법

1) 실험 장비 구성

적외선 카메라를 포함한 실험 장비 구성은 Fig.1과 같다. 우선 쥐꼬리에서 방사하는 적외선을 측정, 수집하기 위해 적외선 카메라(NEC TH7102MX)를 쥐꼬리로부터 직선거리 120cm에 위치시키고 적외선 카메라로부터 얻어지는 아날로그 영상 신호를 컴퓨터로 입력하기 위해 PCI버스 타입의 영상 수집 보드(capture board 878)를 사용하였다.

컴퓨터로 들어오는 적외선 영상 신호를 디지털화하여 처리하기 위해 영상 처리용 윈도우즈 프로그램을 만들어 사용했다. 적외선 영상을 샘플링하는 시간은 조정할 수 있도록 하고 실시간으로 영상을 처리하여 파일로 저장할 수 있도록 하였다.

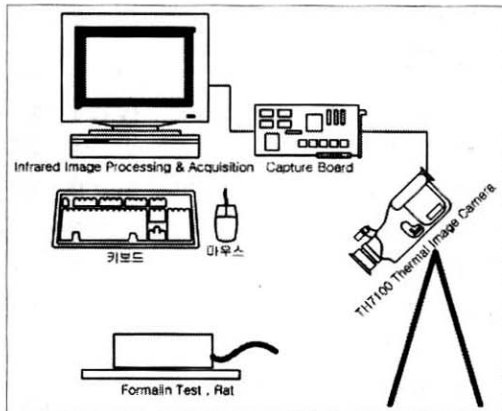


Fig. 1. System Architecture

균일한 염전 침자극을 실험대상에 가하기 위해서, Fig. 2에 보이는 자체 제작한 염전기를 이용하였다. 자동 염전기는 모터에서 발생하는 불필요한 진동으로 인한 간섭을 최소화하기 위해서 진동이 적은 초음파모터(피에조 테크놀로지)를 사용하였으며, 마이크로프로세서(ATmega 128)를 이용하여 전압제어 방법으로 염전 속도를 변화시키고, 전체 구동 시간, 염전 시간, 유침 시간을 설정할 수 있도록 했다.

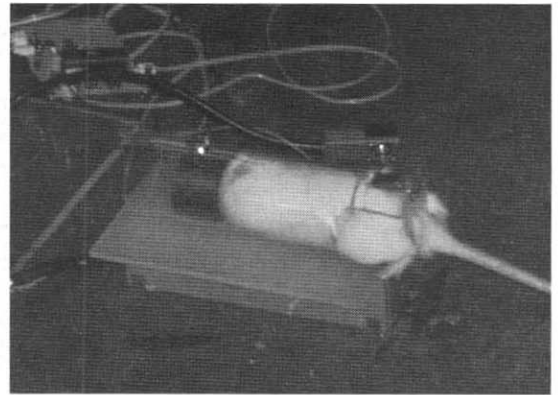


Fig. 2. Twirling Actuator

2) 열 분포 측정 방법

Formalin 10% 용액을 쥐의 꼬리 중간 부분에 실험군에 따라 적정량을 피하 주사를 하고 90분간 적외선 카메라(TH7102MX, NEC)을 이용하여 쥐의 열 분포를 측정하였다.

적외선 카메라는 피사체에서 방사되어 지는 적외선을 측정하여 피사체의 온도분포를 영상으로 표시한다. 이때, 적외선 영상을 피사체 각 부위의 온도에 따라 미리 설정된 다른 색상을 보여준다. 본 실험에서는 이러한 다중색상의 온도 분포 영상을 흑백으로 전환하여 사용하였다. 전환된 영상에서 일정온도 이상인 부위의 면적을 측정하여 이를 열분포 면적이라 정의하

였다. 열분포 면적 측정은 흑백으로 전환된 적외선 영상의 픽셀(pixel)들 중 일정한 값 이상의 밝기를 갖는 픽셀 수를 측정하여 구해진다. 픽셀은 비디오 화면 표시 체계에서 독립적으로 처리 할 수 있는 화상의 최소 요소를 말한다. 1분마다 적외선 이미지를 촬영하고, 저장하여 formalin을 주사하기 전과 주사한 후의 시간에 따른 꼬리의 열 분포 추이를 적외선 이미지 분석 프로그램(Report Generator)으로 분석하였다. 그리고 실시간으로 촬영되는 칼라 적외선 영상을 컴퓨터와 영상 수집 보드를 이용하여 수집하였다.

실험에서 샘플링 시간은 0.1sec, 1sec로 하였다. 측정을 위해 제작, 사용한 프로그램은 Fig. 3와 같다.

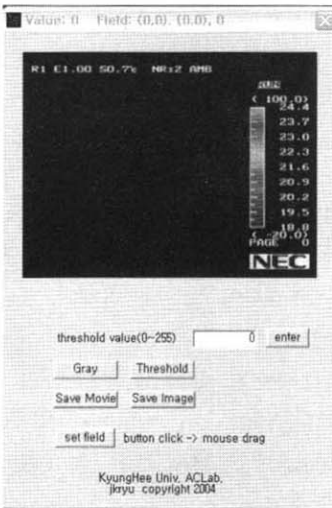


Fig. 3. Image Processing Program

3) 실험 환경

적외선 카메라가 주위 온도에 상당히 민감하게 반응하므로 실험 환경 조성이 중요하다.

공기의 작은 흐름에도 영향을 받는 점을 고려하여 실험할 때 주위환경을 조용하게 하고 외부 열원을 차단하기 위해 쥐의 꼬리부분을 제외한 부분은 단열재를 이용하여 가린 후 실험을 수행하였다. 그리고 쥐는 자체 제작한 구속장치(holder)를 이용하여 최대한 움직이지 않도록 하였다. 또한 쥐꼬리는 적외선 카메라와의 거리를 일관되게 유지하기위해 탄력있는 실로 고정하여, 측정 거리 변화에 따른 열분포 면적 측정의 오차를 최소화하도록 하였다. 실험은 18±2°C에 진행하였다.

4) 取穴

경혈은 외쪽 또는 오른쪽에서, 인체의 족양명위혈 족삼리(ST36)에 상응하는 부위를 골도 분촌법에 준하여 취혈하였다.

5) 실험군 설정

(1) 10% formalin 주사군

10%의 formalin을 쥐의 꼬리의 중간부분에 투여하여 90분간의 열 분포 추이를 적외선 카메라로 촬영한다.

(2) 수기 염전 침자극군

20%의 formalin을 쥐의 꼬리의 중간부분에 투여하여 90분간의 열 분포를 적외선 카메라로 촬영하고 formalin투여후 약 20분경과 후에 족삼리에 상응하는 부분을 수기로 침을 놓는다. 그리고 20분간 수기로 염전을 실시한 후 침을 빼고 자극한 후 반응을 관찰한다.

(3) 염전기를 이용한 침자극군

자체 제작한 자동 염전기를 사용하여 침 자극을 주었다. 10%의 formalin을 쥐의 꼬리 중간부분에 피하투여하여 90분간의 열 분포를 적

외선 카메라로 촬영하고 formalin 투여후 약 20분경과 후에 족삼리에 상응하는 부분에 수기로 침을 놓는다. 20분간 10초 염전후 50초 유침으로 설정된 자극 조건에 따라 염전기를 이용하여 염전을 실시한 후 침을 빼고 자극한 후 반응을 관찰한다.

6) Data 처리 방법

수집된 데이터는 상용 공학해석 프로그램인 MATLAB에서 moving average 기법을 사용하여 노이즈의 영향을 필터링하도록 하였다. 그래프 표현은 그래프 생성 프로그램인 Origin을 이용하였다.

Moving Average Method

$$y_s(i) = \frac{1}{2N+1} (y(i+N) + y(i+N-1) + \dots + y(i-N))$$

where $y_s(i)$ is the smoothed value for the i th data point.

N is the number of neighboring data point on either side of $y_s(i)$

$2N+1$ is the span.

III. 실험 결과

Fig. 4는 흑백으로 전환된 적외선 영상의 한 예이다. 이러한 영상들을 처리하여 formalin 피하 주사후 꼬리 부분의 열 분포 변화를 적외선

이미지의 픽셀 수를 구하고 그 값을 샘플링 시간에 따른 면적으로 하여 측정하였다.

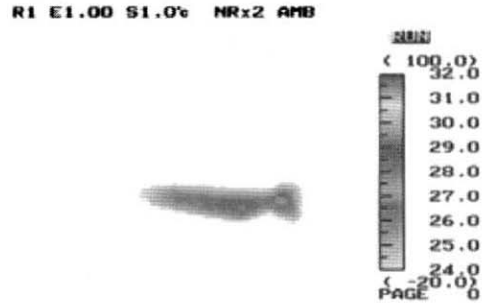


Fig. 4. Processed infrared image

1. 10% formalin 주사군의 시간에 따른 꼬리 부분의 픽셀 수 변화율

10% formalin을 쥐의 꼬리 중간부분에 피하 주사를 하고 0.1초마다 샘플링하고 이미지를 grayscale로 변환하여 원하는 부분의 pixel수의 합계를 구하여 Fig.5.1의 결과 그래프를 얻었다. Fig.5.1를 보면 처음에 급격하게 열 분포가 증가하다가 주사 후 약 20분경과 후부터는 지속되다가 천천히 감소하는 것을 볼 수가 있다. Fig.5.1은 Okuda의 4인⁵⁾에 의해 보고된 formalin behavioral test의 결과 그래프인 Fig.5.2, Fig.5.3과 time course가 같은 경향을 갖고 있는 것을 볼 수 있다. Fig.5.1의 세로축은 열분포의 변화량이며 가로축은 90분간의 시간을 나타낸다. Fig.5.2와 Fig.5.3의 세로축은 행동 반응의 평균 회수이고 가로축은 90분간의 시간을 나타낸다.

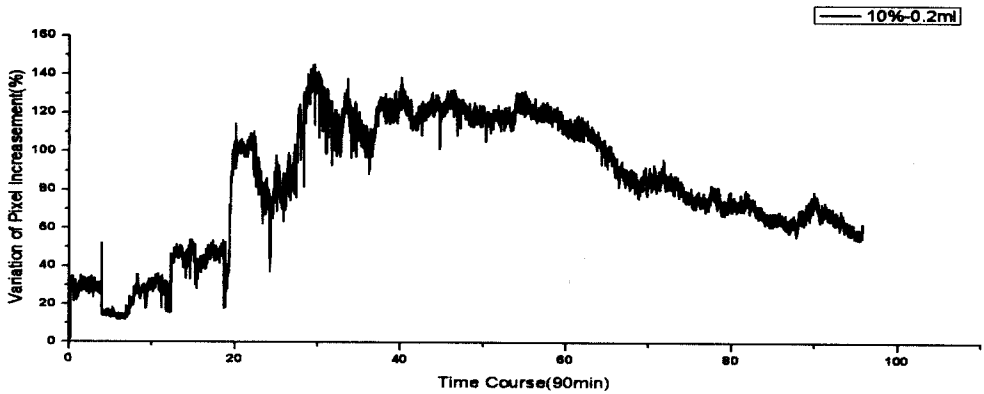


Fig. 5.1. Thermal distribution on formalin 10%

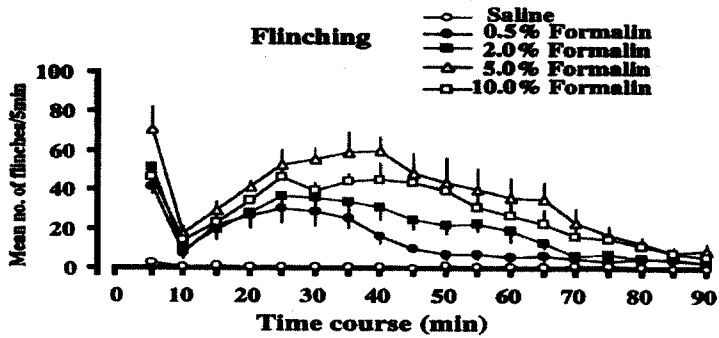


Fig. 5.2. Time-course of flinching, following a different concentration of formalin by Okuda⁵⁾

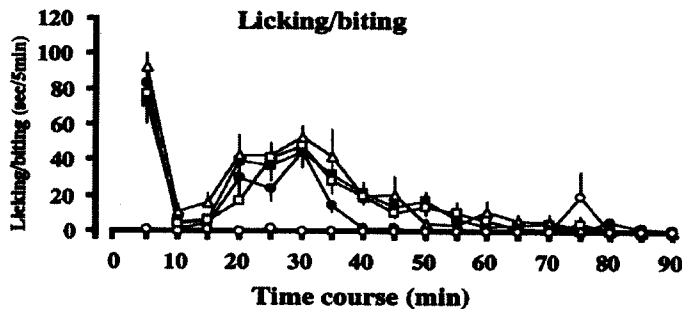


Fig. 5.3. Time-course of Licking/biting, following a different concentration of formalin by Okuda⁵⁾

2. 수기 염전 침 자극군의 시간에 따른 꼬리 부분 픽셀 수 변화율

20% formalin을 쥐의 꼬리 중간부분에 피하 주사를 하고 20분후에 쥐의 왼쪽 족삼리에 침

을 0.5mm깊이로 직자한 후 시계방향, 반시계 방향으로 3Hz 속도로 20분간 염전 자극을 주어 의미 있는 결과를 얻었다. 그리고 처리된 이미지를 0.1sec마다 샘플링하고 이미지를 grayscale로 변환하고 픽셀수의 합계를 구하고 경향을 분명하게 보기 위해 moving average

방법을 사용하였다. Fig.6.1, Fig.6.2 결과 그래프를 얻었다. 주사후 20분까지는 증가하다가 염전 침자극을 주었더니 열 분포 면적이 떨어지는 것을 볼 수 있다. 그리고 침 염전 자극 후에도 픽셀수가 크게 증가하지 않는 것을 볼 수 있다.

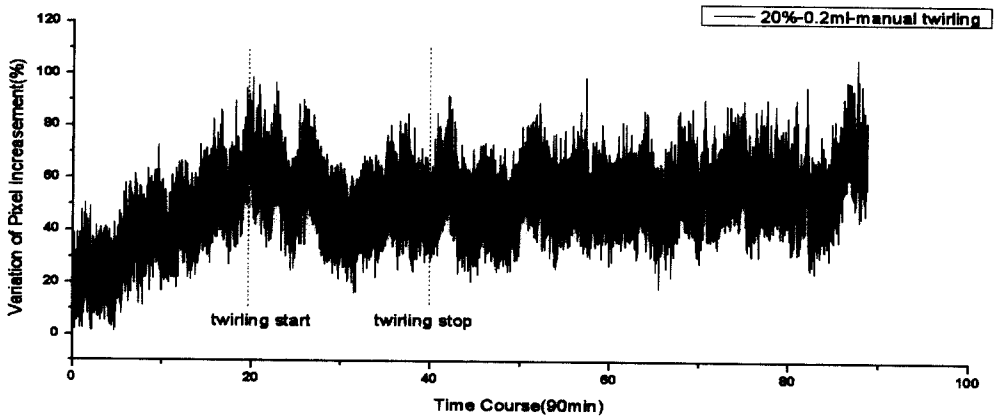


Fig. 6.1. Thermal distribution with manual twirling needle method on formalin 20%

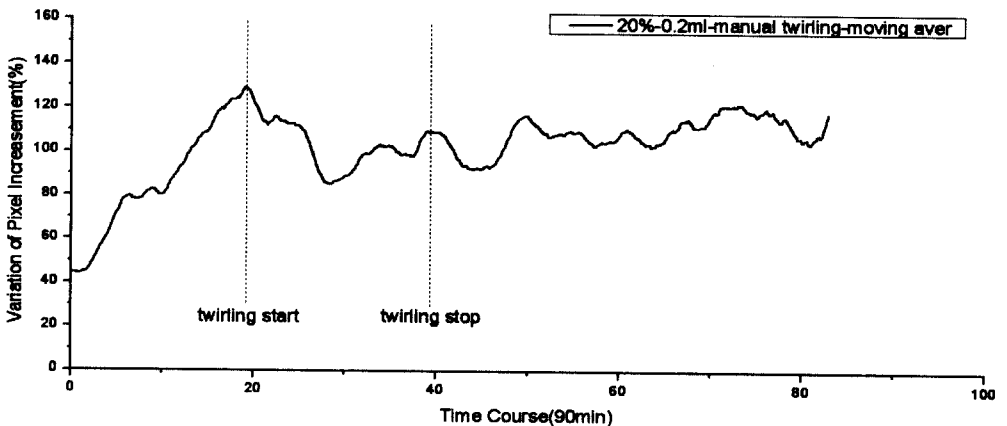


Fig. 6.2. Thermal distribution with manual twirling needle method on formalin20%(Moving Average Method)

3. 염전기를 이용한 염전 침 자극군에서의 시간에 따른 꼬리 부분 픽셀 수 변화를 (n=5)

10% formalin을 쥐의 꼬리 중간부분에 피하 주사를 하고 20분후에 쥐의 왼쪽 족삼리에 침을 0.5mm깊이로 직자한 후 시계방향, 반시계

방향으로 3Hz 속도로 총 20분간(10초 염전후 50초 유침-자극조건) 염전 자극을 주어 의미 있는 결과를 얻었다. 앞의 20%의 formalin을 투여 한 경우보다 염전 침 자극 후에 열분포면적이 현저히 떨어지는 것을 Fig. 7에서 볼 수 있다. 샘플링 시간은 1초이다.

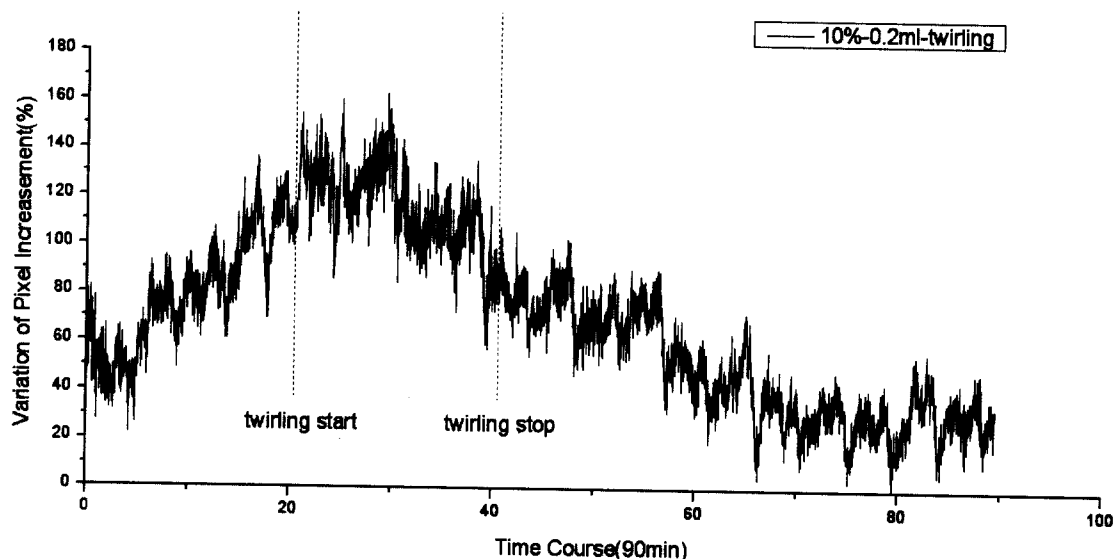


Fig. 7. Thermal distribution on formalin 10% with Twirling Method

IV. 고 찰

Formalin test는 1977년 Dubusson과 Dennis에 의해 소개되었다²⁾. 이 방법은 대부분의 clinical pain 과 유사한 동통자극을 유발한다. 따라서 formalin은 neurogenic inflammation과 그에 따른 pain을 관찰하는데 좋은 도구가 된다⁴⁾. 본 논문에서는 formalin test의 주사 부위

를 꼬리로 하는 새로운 통증 모델을 확인한다. 그리고 한의학에서 사용하는 전통적인 통증 모델(behavioral test)들이 통증에 대한 반응을 일일이 손으로 기록하여 데이터화하기 때문에 의료공학기술을 접목하기 어렵다. 따라서 진단 및 진통효과 평가에 많이 이용하는 적외선 이미지를 활용하여 실험 대상의 열분포 데이터를 실시간으로 수집하는 방법에 관해 언급했다. 그리고 실험의 결과에서 10% formalin 주사군의 실험결과인 Fig 5.1은 앞서 Okuda외 4인이

실험한 formalin 농도에 따른 behavioral test 결과와 그 추이의 경향이 일치한다⁵⁾. Okuda의 4인의 통증 모델에서 보이는 early phase구간에서의 급격한 상승 곡선이 Fig 5.1에 나타나지 않는 이유는 온도 변화를 유발하는 염증이 early phase에서는 아직 나타나지 않았기 때문이라고 생각된다. 이를 토대로 formalin에 의한 조직손상과 열분포의 상관관계를 유추해 볼 수 있다. 많은 반복 실험을 통해 저자가 확인한 결과이다. 따라서 이 통증모델을 기초로 침의 염전 자극이 진통효과에 미치는 영향을 객관적으로 확인할 수 있었다. 수기 염전 침 자극군, 염전기를 이용한 염전 침 자극군의 실험결과에서 쥐의 열 분포가 침 염전 자극에 즉각적으로 반응을 하는 것을 볼 수 있다. Fig. 6.1, Fig. 7의 데이터로 염전 침자극의 진통효과에 대한 객관화된 수치에 의한 평가를 수행했다.

피부온도는 자율신경계의 조절 하에 있는 피하 혈류량을 나타내는데, 신경근 또는 말초 신경이 자극 받으면 교감 신경계에 의한 혈관 수축으로 피부온도의 하강을 가져오며 반면에 심한 손상이나 완전절단은 혈관 확장으로 피부 온도 상승을 가져오게 된다⁶⁾.

주위 온도에 적외선 카메라가 민감하게 반응하고 적외선 카메라에서 영상의 기준 온도 설정에 따라 많은 영향을 받으므로 주의를 해야 한다.

Fig. 5.1의 결과를 보면 그래프가 중간에 요동(oscillation)하는 부분은 쥐의 꼬리를 가급적 강제로 고정하지 않았기 때문에 꼬리의 움직임에 따라 적외선 카메라에 투사되는 면적이 달라지기 때문에 나타나는 현상이다. 그리고 실험에서 20%의 formalin 농도로 실험한 결과 쥐의 동결(freezing)현상을 관찰할 수 있

었으며 개체마다 formalin에 반응하는 정도가 달랐다.

V. 결 론

Formalin 주사 부위를 꼬리로 한 새로운 pain model과 데이터 수집 방법을 제안하고 그 유효성을 확인하기 위해 적외선 이미지 처리 기법을 사용했다. 이 방법은 formalin test의 통증 모델 behavioral test(Kazuhiro Okuda등의 실험)⁵⁾와 비교를 하여 같은 양상의 결과를 얻었다. Formalin에 의한 조직손상으로 야기되는 통증에 대한 행동 반응 양상과 경향이 비슷하다는 것은 적외선 이미지를 통해 수집되어지는 열분포 면적 데이터가 통증과 밀접한 상관성이 있음을 말해준다.

그리고 간단하게 침의 염전 자극에 대해서 진통효과를 있음을 열 분포 이미지를 통해 확인했다. 기존의 전통적인 통증 모델이 갖지 못하는 데이터 수집 방법과 분석 방법을 적외선 이미지 처리를 통해 얻을 수 있음을 말해준다. 그리고 실시간으로 수집되는 데이터는 치료 평가 및 자동화의 길을 보여준다. 차후 실험에서는 본 실험의 통증모델에서 진통 효과뿐만 아니라 최적의 자극조건을 찾고 데이터 가중치 방법을 사용하여 각 온도별 가중치를 두어 온도의 변화까지 포함하는 데이터를 수집할 계획이다. 그리고 수집된 데이터를 기반으로 자동화된 치료기를 연구할 계획이다.

VI. 후 기

본 실험에 도움을 주신 김시은씨에게 감사드립니다.

VII. 참고문헌

1. H. Merskey. Pain terms—a list with definitions and notes on usage. Recommended by the IASP subcommittee on taxonomy. *Pain*. Vol.6. 1979. pp. 249-252.
2. Dubusson, D. and Dennis, S.G. the formalin test : a quantitative study of the analgesic effects of morphine, meperidine, and brain stem stimulation in rats and cats. *Pain*. Vol.4. 1977. pp. 161-174.
3. Arne Tjolsen and four others. the formalin test : an evaluation of the method. *Pain* Vol.51. 1992. pp. 5-17.
4. 임윤경, 안병철, 박동석, 강성길, 김창환, 이윤호, 최도영. Formalin Test를 이용한 진통효과 및 기전연구에 대한 문헌고찰. *K. A. M. S.*, Vol. 1999. No. 4.
5. Kazuhiro Okuda, Chikai Sakurada, Mitsuo TaKahashi, Tatsuo Yamada, Tsukasa Sakurada. Characterization of nociceptive responses and spinal releases of nitric oxide metabolites and glutamate evoked by different concentrations of formalin in rats. *Pain*. Vol.92. issues 1-2. 2001. pp. 107-115.
6. 김영수, 조용은. 요추간반 탈출증 환자에서 수술전후 컴퓨터 적외선 체열촬영 소견. *대한신경외과학회지*. 22. 1993. pp. 71-82.