

수술적 방법으로 유도된 3단계 발목염좌에 대한 전침의 진통기전 연구

양승범¹ · 최석준² · 이성호³ · 김민수¹ · 손인철¹ · 김재효¹

¹원광대학교 한의과대학 경혈학교실, ²원광보건대학교 의무부사관과, ³여원예술대학교 생활체육과

The Mechanism for Analgesic Effects of Electroacupuncture on Surgical Ankle Sprain Model Classified as Grade 3 in Rats

Seung-Bum Yang¹, Suck-Jun Choi², Sung-Ho Lee³,
Min-Su Kim¹, In-Chul Sohn¹, Jae-Hyo Kim¹

¹Department of Meridian & Acupoint, College of Korean Medicine, Wonkwang University,
²Department of Medical Non-commissioned Officer, Wonkwang Health Science University,
³Department of Sports and Leisure Studies, Yewon Arts University

Objectives : Electroacupuncture(EA) has been used effectively in producing analgesia on ankle sprain pain of humans and animals. Currently to examine the underlying mechanisms of the EA-induced analgesia, the effects of EA on weight-bearing forces(WBR) were examined at ankle sprain classified as grade 3 in rats. **Methods :** The severe ankle sprain classified as grade 3 was induced surgically by ankle ligament injury in the Sprague-Dawley rats. WBR of the affected foot were examined to evaluate effects and mechanism of EA(2 Hz, 1 ms pulse width, 2 mA intensity, for 15 min) which was applied to either SI6, GB34, or GB39 acupoints. The rats were pretreated with naltrexone(10 mg/kg, i.p.) as an opioid receptor antagonist or phentolamine(5 mg/kg, i.p.) as an α -adrenoceptor antagonist at 30 min before EA. **Results :** The daily repeat EA at either SI6, GB34, or GB39 showed significant analgesic effects on the severe ankle sprain. Particularly, daily EA at GB34 showed more potent analgesic effect than the others. In addition, the naltrexone pretreatment completely blocked the analgesic effect of EA at GB34, indicating the involvement of the endogenous opioid system in mediating the effect of EA at GB34. However, the phentolamine pretreatment blocked analgesic effects of EA at either SI6 or GB39, indicating the involvement of α -adrenoceptors in mediating the effect of EA at either SI6 or GB39. **Conclusions :** These data suggest that EA-induced analgesia on ankle sprain pain is mediated through either endogenous opioids or α -adrenoceptors dependant on acupoint specific pattern.

Key words : ankle sprain, electroacupuncture, analgesia, point specificity, endogenous opioids, α -adrenoceptors

서 론

임상에서 발목염좌(ankle sprain)는 모든 연부조직 손상 중 가장 흔히 볼 수 있는 질환으로 운동능력의 저하와 함께 지속적인 통증을

유발한다. 대부분 운동 중 발목관절이 정상범위를 벗어난 과도한 내반과 외반 및 회전 운동이 복합되어 외측인대(lateral ligament complex)의 손상에서 야기된다¹⁾. 발목염좌는 유형과 증상 및 징후에 따라 3단계(Grade 1~3)로 분류된다. 1단계(Grade

Received October 31, 2013, Revised November 27, 2013, Accepted December 2, 2013

Corresponding author: **Jae-Hyo Kim**

Department of Meridian & Acupoint, College of Korean Medicine, Wonkwang University, Shinyong-dong 344-2, Iksan Jeonbuk 570-749, Korea
Tel: +82-63-850-6446, Fax: +82-63-857-6458, E-mail: medicdog@wku.ac.kr

This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea(NRF) funded by the Ministry of Education(NRF-2012R1A1A4A01004637).

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

1)는 최소한의 인대 손상, 발목의 기능적 손실, 부종, 통증과 반상출혈 등이 발생되며, 보존적 치료로도 효과적이며, 대개 2~3일이면 정상적으로 빠른 회복을 보인다. 2단계(Grade 2)는 부분적인 인대 파열과 보행의 기능적 손실과 중간 정도의 통증, 부종과 반상출혈이 수반된다. 3단계(Grade 3)는 통증, 부종, 출혈이 심각한 상태로 인대 손상이 완전히 일어나고 보행의 기능적인 손실이 아주 크며 한번 발생하게 되면 섬유 조직의 손상으로 약해진 인대의 기능이 저하되어 내반이 일어나는 횡수가 증가하며 일상생활에 큰 불편이 야기된다^{2,3)}. 이러한 발목염좌에 대해 이침요법⁴⁾, SSP전자침요법⁵⁾, 자락발관법⁶⁾, 거자법⁷⁾, 봉약침 요법⁸⁾ 등의 다양한 치료법이 발목염좌를 치료하거나 진통을 촉진하는 것으로 알려져 있으며, Wu⁹⁾는 43명의 환자에서, Jin¹⁰⁾은 24명의 환자에서 전침이 염좌치료에 효과적임을 보고하였다.

기존의 발목염좌에 대한 실험 연구 대부분은 Koo 등¹¹⁾이 제안한 흰쥐의 발목 염좌 모델을 제작하여 진행되어 왔다. 이 실험모델은 발목구조물들의 물리적 손상에 따른 통증 및 염증이 유발되는 관점에서 기존 발목염좌 모델과 비교하여 사람의 발목염좌와 매우 유사한 장점을 갖고 있다. 그러나 실험자가 수기로 발목염좌를 야기해야 하기 때문에 손상 정도와 증상 정도가 매우 주관적이고 다양할 수밖에 없다.

1단계의 급성 발목염좌 모델에서의 실험연구는 경혈에 대한 전침 자극 또는 약침 자극에 의한 통증 억제 효과에 대한 실험연구^{12,13)}가 활발히 진행되어 왔다. 그러나 임상의 실제 내원 환자 중 50% 이상이 2 또는 3단계에 해당하며¹⁴⁾, 한편 2단계 이상에 해당하는 발목염좌 환자들 중 40% 이상에서 만성통증을 동반한 발목의 기능 장애가 나타난다^{15,16)}. 이러한 임상적 중요성에도 불구하고 2단계 이상의 동물 실험모델에서 치료효과 규명 및 진통기전에 대한 연구가 아직 미비한 상황이다.

최근 3단계에 해당하는 발목염좌와 동등한 실험모델을 Kim 등¹⁷⁾이 수술적으로 발목인대를 절단하고 탈골시켜 급·만성 발목염좌 모델(surgical model)을 제시하였는데, 이 실험모델의 특징은 실험동물 간에 통증유발 정도가 일정하고 지속된다는 장점을 보였다¹⁸⁾.

발목염좌 모델에서 침 자극의 통증억제 기전에 대한 연구를 살펴 보면, 1단계 수준의 발목염좌에서 養老(SI6)에 capsaicin 약침이 진통효과를 나타내었고, 세로토닌 수용체가 진통기전에 관여함을 보고하였다¹²⁾. 그러나 Yang 등¹⁹⁾은 같은 실험모델에서 養老(SI6)의 전침 자극의 진통효과가 내재진통제인 μ -opioid 수용체보다 α -noradrenergic 수용체를 통한 하행성 진통기전이 관여하는 것으로 나타나 동일한 경혈에서도 자극방법에 따라 진통기전에 차이가 있음을 보였다. 한편, 3단계 수준의 급성염좌 모델에서 養

老(SI6)를 포함하여 여러 경혈의 전침 자극에 의한 진통효과가 보고되었는데, 건측 養老, 환측 陽陵泉과 환측 懸鍾에 대한 전침 자극에서 뚜렷한 진통작용이 나타났다¹⁸⁾. 그러나 이들 진통기전은 아직 밝혀지지 않은 가운데 경혈에 따른 통증억제기전의 차이가 있는지에 대한 연구가 필요한 상황이다.

본 연구는 3단계 수준의 발목 염좌모델에서 진통효과를 보여준 경혈에 대한 전침 자극을 일주일 동안 반복하여 누적된 진통효과와 관련된 WBR 회복을 살펴보고, 養老, 陽陵泉, 懸鍾의 진통기전을 규명하고자 내재 진통계와 관련된 opioids와 α -adrenoceptor의 역할을 비교 연구하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

실험동물은 체중 180~260 g의 Sprague-Dawley계 흰쥐 수컷(Samtako Bio Korea)을 사용하였으며, 실험 1주일 전부터 온도 $23 \pm 1^\circ\text{C}$, 상대습도 $55 \pm 10\%$ 의 조건에서 12시간 주야로 주기를 바꿔주면서 실험실 환경에 적응할 수 있도록 하여 stress 및 환경 변화에 따른 영향을 최소화하였다. 실험동물은 적응기 및 실험 중에도 사료와 물을 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다.

2. 마취

실험동물의 마취는 발목염좌 유발과 電鍼刺戟 조건에 따라 두 가지 방법으로 진행되었다. Grade 3 수준의 급성 발목염좌 유발 모델 제작을 위해 ketamin(유한양행, 한국) 60 mg/kg로 복강 투여하여 실험동물을 마취하였다. 또한, 실험동물에게 전침 자극을 수행하는 동안 3% isoflurane(중외제약, 한국)과 95% 산소(O₂)를 포함한 혼합가스를 2 L/min로 마취를 유도하고, 0.5~1% isoflurane과 95% 산소의 혼합가스로 마취를 유지하였다.

3. 3단계 발목염좌를 위한 발목 염좌의 유도

3단계 수준의 외측 발목염좌를 유발시키기 위해 전신 마취상태에서 Kim 등¹⁷⁾이 제시한 방법을 사용하여, 왼쪽 발목 외측 인대를 수술적으로 절단하여 유도하였다. 간략히 설명하면, 흰쥐 왼쪽 발목의 외측을 1~1.5 cm 길이로 절개하고, 절개 후 앞쪽 외측부위인 extensor digiti quinti(새끼발가락뿔근, EDQ) 근육의 내측과 extensor digitorum longus(긴발가락뿔근, EDL) 근육의 외측을 따라 3~5 mm 길이로 절개한다. 이어서 EDL와 EDQ 사이를 횡으로 절개하여 발목관절낭을 노출시킨다. 이때 anterior talofibular

ligament(앞목말종아리 인대, ATF)가 첫 번째로 절단된다. 그리고 관절낭에서 calcaneofibular ligament(발꿈치종아리 인대, CF)을 확인하여 절단한다. CF 절단 후 발목을 약간 내번(inversion)시키고 복사뼈 안쪽면과 목말뼈(talus) 바깥쪽 결절(lateral tubercle) 사이의 posterior talofibular ligament(뒤목말종아리 인대, PTF)를 확인하여 절단한다. 이렇게 ATF, CF와 PTF가 순차적으로 절단되면 fibular(종아리뼈)와 talus(목말뼈)가 분리되는 것이 육안으로 확인되며, 확인 후 60초 동안 관절의 분리 상태를 유지하고 수술 부위를 봉합한다.

4. 대조군과 실험군의 분류

1) 전침의 진통효과 및 통증회복 비교: 경혈별 전침의 진통효과를 비교하기 위하여 3단계 발목염좌 실험모델에서 실험군과 동일한 실험 조건에서 전침자극을 하지 않은 대조군(Control)과 전침자극 실험군으로 분류하였으며, 阿是穴에 대한 단순 침자극군(Ashi_Needling)을 두었다. 전침자극 실험군은 건측 養老 전침자극군(SI6), 환측 陽陵泉 전침자극군(GB34)과 환측 懸鍾 전침자극군(GB39)으로 구분하였다. 해당 실험군의 동물 수는 실험결과에서 각각 나열하였다.

2) 전침의 진통기전 연구: 길항 약물 투여 후 전침의 진통효과와 변화를 관찰하기 위하여 3단계 발목염좌 실험모델에서 전침자극을 하지 않은 대조군과 전침자극을 시행 한 실험군으로 나누었다. 대조군은 길항 약물만을 투여하고 동일한 마취조건에서 전침자극을 가하지 않았는데, naltrexone군과 phentolamine군, saline군으로 분류하였다. 실험군은 길항 약물을 투여하고 전침을 시행한 실험군으로 분류하고, opioids 수용체의 진통기전 관여를 관찰하기 위하여 naltrexone을 투여후 건측 養老 전침자극군(Naltrexone + SI6), 환측 陽陵泉 전침자극군(Naltrexone + GB34), 환측 懸鍾 전침자극군(Naltrexone + GB39)로 구분하였다. 전침자극의 α -adrenoceptors와 관련성을 관찰하기 위하여 phentolamine을 투여한 후 건측 養老 전침자극군(Phentolamine + SI6), 환측 陽陵泉 전침자극군(Phentolamine + GB34), 환측 懸鍾 전침자극군(Phentolamine + GB39)으로 구분하였다.

5. 동물행동 검사

통증 정도를 비교 측정하기 위해서 발목염좌가 유발된 전과 후의 환측 하지가 바닥을 딛는 하중(Weight Bearing Force Ratio; WBR)을 측정하였다. 실험 동물이 불투명한 아크릴로 만든 긴 통로(폭 12 cm, 높이 10 cm, 길이 80 cm)를 자유롭게 걷게 하고, 통로 바닥의 중앙에 전자저울(IP-300, 이노텍, 한국)을 설치하여

환측 발이 디디는 압력만을 측정하였다. 전자저울에서 나오는 전기 신호는 압력의 변화를 전압의 변화로 보여주는데 이를 AD convertor(CED1401 plus, Cambridge Electronic Design Ltd, UK)와 spike 2 프로그램(version 7.0, Cambridge Electronic Design Ltd, UK)을 통하여 개인 PC에 저장하고 전압의 변화를 관찰하였다. WBR은 정상상태의 WBR과 발목염좌 후 WBR 사이의 변화율(% Changes of Weight Bearing Ratio)로 변환하여 측정값으로 사용하였으며, 다음과 같은 공식으로 구하였다.

$\% \text{ Changes of Weight Bearing Ratio} = (\text{발목염좌 후 WBR의 변화} / \text{정상상태의 WBR}) \times 100$

발목염좌의 통증으로 감소된 WBR 수치에 반복된 전침자극의 효과를 관찰하고자 발목염좌 유발 후 24시간 단위로 WBR의 변화를 7일간 측정하였다. 또한 진통기전을 관찰하기 위하여 발목 염좌 유도후 24시간이 지난 뒤 매일 동일한 조건에서 전침자극과 WBR 측정을 수행하였다. 실험동물의 행동검사는 무작위와 맹검법으로 시행하였으며, 각 측정 시간마다 8회 이상 실시하여 평균값을 취하여 측정값을 얻었다.

6. 取穴

전침자극을 위한 취혈은 건측의 養老(SI6)와 환측의 陽陵泉(GB34), 懸鍾(GB39)과 阿是穴을 선택하여 비교 관찰하였다. 실험 동물에서 養老는 자뼈(ulnar) 붓돌기 뒤 오목한 곳에서 취혈하였다. 다리의 경혈을 취혈하기 위해 오금주름(popliteal crease)에서 가쪽복사 용기(prominence of the lateral malleolus)까지의 연결선 상을 인체와 상응하게 16등분 하였다. 懸鍾(GB39)은 종아리 외측면의 종아리뼈(fibula) 앞쪽의 가쪽복사 용기(prominence of the lateral malleolus)에서 몸쪽으로 3/16 되는 지점에서 취혈하였다. 陽陵泉(GB34)은 종아리 외측면의 종아리뼈 머리(head of fibula)에서 앞 먼 쪽(anterior and distal)의 오목한 곳에서 취혈 하였다. 阿是穴은 발목염좌를 유발하기 위한 수술과정에서 절개된 피부부위로 丘墟(GB40) 주변에 존재한다^{20,21)}.

7. 약물

길항약물 투여에 의한 진통 기전을 확인하기 위하여 선행연구²²⁾에서 사용되는 약물과 용량에 따라 opiates의 inhibitor인 naltrexone hydrochloride(10 mg/kg; Sigma, St. Louis, MO, USA) 또는 α -adrenoceptor의 길항제인 phentolamine hydrochloride(5 mg/kg; Sigma, St. Louis, MO, USA)을 복강내(i.p.) 투여하였다.

8. 전침자극

실험동물을 마취한 상태에서 取穴하고, 1 mm 간격으로 배열된 한쌍의 stainless steel needles(\varnothing 0.18×8 mm, 동방수지침, 한국)를 전침자극을 위하여 경혈에 따라 3~5 mm 깊이로 삽입하였다. 전기자극은 Pulsemaster(A300, WPI, USA)를 통해 주파수와 자극시간을 조절하였고, stimulus isolator(A385, WPI, USA)를 통해 1 ms 펄스, 2 mA의 강도와 2 Hz의 빈도로 구형파 형태의 자극을 bipolar 방식으로 15분간 전침자극을 가하였다.

매일 반복된 전침자극으로 인한 진통효과를 7일 동안 관찰하고자 24시간 단위로 행동검사를 통해 WBR 측정된 직후에 동일한 조건의 전침자극을 15분 동안 수행하였다.

9. 통계분석

데이터는 Mean±SEM으로 나타내었다. 통계검사는 Duncan's multiple comparison post-hoc test에 의한 two-way ANOVA with repeated measures를 통하여 통계적 유의성을 검정하였다(SAS 9.2, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). *p*값이 0.05보다 작으면 통계적으로 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

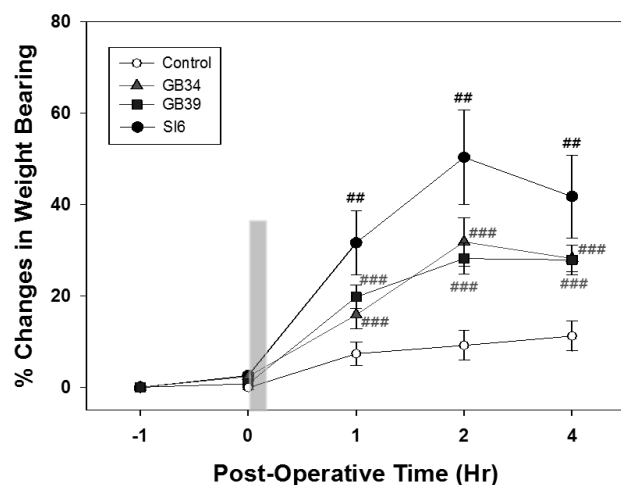


Fig. 1. Effects of electroacupuncture(EA) in weight bearing of the limb following ankle sprain induced by surgical model in rats. This figure cited in published article(Yang SB et al., 2013) to explain reason for choosing these acupoints. Control(open circle, n=14) was under general anaesthesia condition without EA. EA applied to the contralateral SI6(filled circle, n=8), the ipsilateral GB34(triangle, n=15), and the ipsilateral GB39(square, n=14), respectively. Data are presented as percent changes in weight-bearing forces(means±SEM) using the pre-EA(-30 m) baseline value as zero(Before). The shaded box indicates EA application(2 Hz, 1 ms pulse, 2 mA for 15 min). # ($p < 0.05$), ## ($p < 0.01$), ### ($p < 0.001$) indicates significance in time dependent changes for 0 Hr by the two-way ANOVA with repeated measures followed by the Duncan's post-hoc test.

결 과

1. 3단계 발목염좌에 대한 전침의 진통효과 비교

수술적 방법으로 유도된 3단계 발목염좌에서 전침자극은 뚜렷한 진통효과를 나타내었다. 특히 발목염좌의 건측에 위치한 養老(SI6)의 전침 자극이 가장 큰 진통효과를 보였으며, 환측의 陽陵泉(GB34)와 환측 懸鍾(GB39) 부위의 전침자극에서 그 다음 수준의 진통효과를 나타내었다(Fig. 1).

이와 같이 경혈에 따른 전침자극의 진통효과가 발목염좌으로 유발된 통증의 회복을 확인하고자, 발목염좌 유발 후 7일간 WBR의 변화를 관찰하였다. 발목 염좌 유발 전후의 WBR을 측정하고 이를 기준으로 매일 WBR 값의 변화율을 측정하였으며, WBR 측정 직후에 전침자극을 수행하였다. 염좌 유발 이후 7일간의 통증이 회복되는 WBR을 보면, 아무런 처치를 하지 않은 대조군(Control)의 경우 염좌 유발 2일째까지 낮은 WBR 변화($2.07 \pm 1.34\%$)를 보이다가 날씨가 경과함에 따라 점차 회복되어 7일째 $31.73 \pm 3.8\%$ 을 보였다. 발목염좌를 유발한 부위 阿是穴에 대한 단순 침자극(Ashi_Needling)은 대조군과 비슷한 통증 회복효과를 나타내었다. 이에

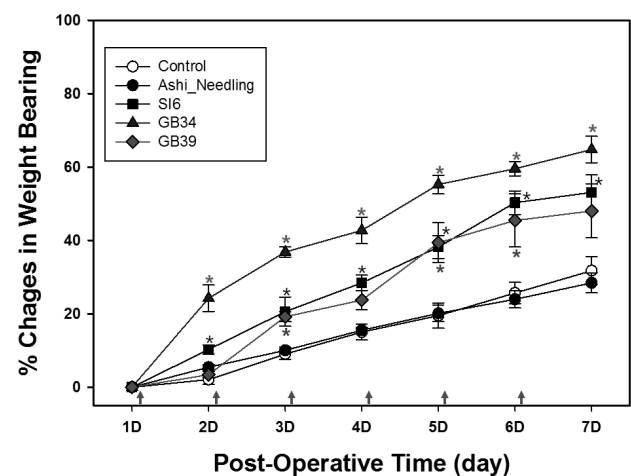


Fig. 2. Comparison of the accumulated analgesic effects following repeated EA on the surgical induced ankle sprain model in rats. The percentage changes expressed differences of weight bearing ratio to body weight before and 1 day after ankle sprain induction. Values are mean±SEM. EA applied to each acupoints for 15 mins just after measuring foot stepping force at everyday. Arrows indicate 6 times EA application since 1 day after sprain induction. Control(open circle, n=10), surgical ankle sprained rats; Ashi_Needling(filled circle, n=5), treatment with needle insertion to Ashi_point near to GB40; SI6(filled square, n=5), treatment with EA to contralateral SI6 acupoint; GB34(filled triangle, n=5), treatment with EA to ipsilateral GB34 acupoint; GB39(filled diamond, n=5), treatment with EA to ipsilateral GB39 acupoint. * $p < 0.05$ indicate values significantly different from the control group by the two-way ANOVA with repeated measures followed by the Duncan's post-hoc test.

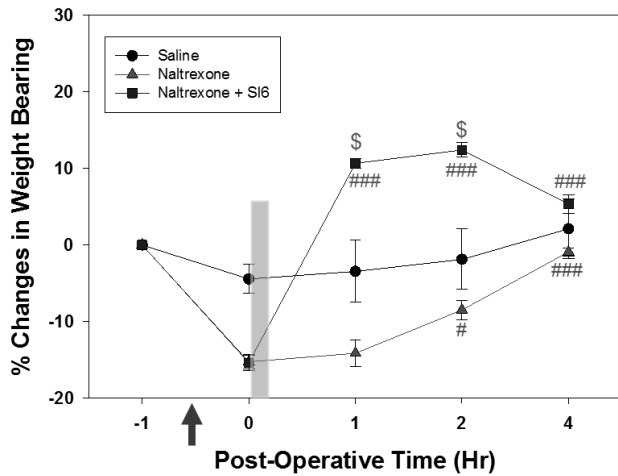


Fig. 3. The role of endogenous opioids in Sl6 EA induced analgesia on the surgical ankle sprained rat.

An arrow indicate the time which naltrexone (10 mg/kg, i.p.) was administered 30 mins before EA application. Shade box means EA application for 15 mins. Values are mean±SEM. Saline group (filled circle, n=5), ankle sprained rats with saline i.p. injection but not EA treatment; Naltrexone group (filled triangle, n=5), naltrexone i.p. injection without EA; Naltrexone+Sl6 group (filled square, n=5), naltrexone injection followed by Sl6 EA. # indicates significance in time dependent changes for 0 Hr ([#]*p*<0.05, ^{##}*p*<0.01, ^{###}*p*<0.001). [§]*p*<0.05 indicates significance from the naltrexone group.

비하여 가장 뚜렷한 진통효과를 보였던 건측 養老(SI6)의 전침자극 실험군은 2일째부터 뚜렷한 회복효과(10.27±1.23%, *p*<0.05)를 보여주었고, 7일째에는 53.1±4.8%를 기록하였다. 환측 懸鍾(GB39)의 전침자극 실험군의 경우에서 養老의 전침자극과 비슷한 결과를 보여주었는데, 다만 2일째(3.41±0.92%)에는 발목염좌에 대한 진통효과가 관찰되지 않다가 3일째부터 뚜렷한 통증 회복(19.2±1.33%, *p*<0.05)을 나타내었다. 그러나 전반적인 통증 회복은 養老에 비해 뚜렷하지 않았다. 환측 陽陵泉(GB34) 전침자극 실험군에서는 매우 뚜렷한 통증 회복이 관찰되었다. 2일째부터 24% 이상을 나타내었고, 이와 같은 회복은 관찰기간 내내 증가하여 7일째에는 64.79±3.64%(*p*<0.05)로 대조군에 비해 매우 유의한 결과를 보여주었다(Fig. 2).

이상의 실험결과를 통해 진통효과와 통증 회복 사이에는 뚜렷한 상관관계를 보여주었다. 다만 진통효과가 뚜렷한 養老에 비하여 陽陵泉이 발목염좌로 야기된 통증의 회복 정도가 우수하였다.

2. 발목염좌에 대한 전침의 진통효과의 기전 탐색

3단계 발목염좌에 대한 전침자극의 진통효과와 회복효과를 근거로 신경학적 기전을 살펴보고자 naltrexone과 phentolamine 두 종류의 약물을 각각 투여한 후 전침자극의 효과에 대한 길항 여부

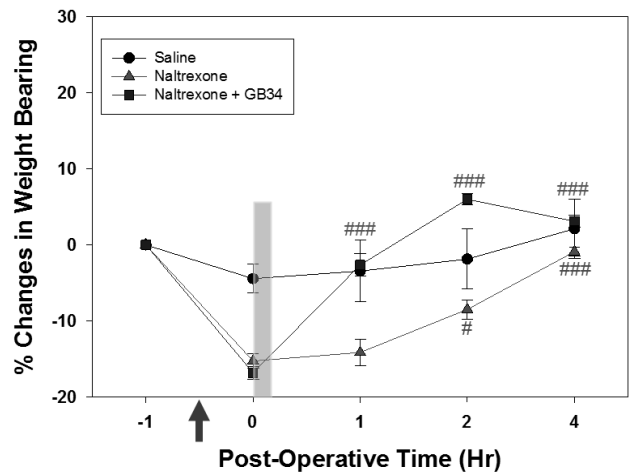


Fig. 4. The role of endogenous opioids in GB34 EA induced analgesia on the surgical ankle sprained rat.

The role of endogenous opioids on GB34 EA induced analgesia in the surgical ankle sprained rat. Saline group and Naltrexone group of the previous figure was repeatedly used to compare with EA treatment. Naltrexone+GB34 group (filled square, n=5), naltrexone injection followed by ipsilateral GB34 EA application. The notations are the same as in Fig. 3. # indicates significance in time dependent changes for 0 Hr ([#]*p*<0.05; ^{###}*p*<0.001).

를 관찰하였다.

Naltrexone은 대표적으로 알려진 내재진통물질인 opioid의 수용체를 차단함으로써 길항작용을 나타낸다. 전침자극 30분 전에 naltrexone(10 mg/kg)를 복강내 투여하고 진통효과에 뚜렷한 경혈에 대한 전침자극을 수행하였다. 발목염좌가 유발된 실험동물에서 naltrexone 투여는 WBR이 15% 내외 수준으로 떨어지는 효과를 나타내었다. 이는 saline만을 복강 투여한 실험군과 비교할 때 naltrexone 투여가 통증을 더욱 악화시키는 것을 보여주는데, 이와 같은 반응은 선행연구와 유사하였다. 한편 naltrexone의 복강 투여 효과는 시간에 따라 감소하며, 4시간 전후로 naltrexone으로 인한 효과는 사라지는 것을 볼 수 있다(Fig. 3~5). 이에 따라 본 실험은 naltrexone만을 투여한 실험군과 naltrexone 투여 후 전침자극을 수행한 경우를 비교하였다.

Naltrexone 투여 후 건측 養老에 전침자극을 가한 실험군(Naltrexone+SI6)에서 WBR 변화가 naltrexone 투여군에 비해 유의하게 증가하였고(*p*<0.05), 시간에 따라 진통효과(*p*<0.001)가 뚜렷하였다. 이 진통효과는 Fig. 1에서 나타난 養老의 전침자극 효과와 비슷한 양상을 보였다. 그러나 전침 후 4시간째(5.36±1.19%)는 naltrexone 투여군(-0.9±0.56%)과 유의한 차이를 보이지 않을 만큼 WBR 변화가 감소되었고, saline 투여군 수준의 WBR 변화(2.13±3.89%)에 유사하기에 전침효과가 사라진 것으로 보여진다

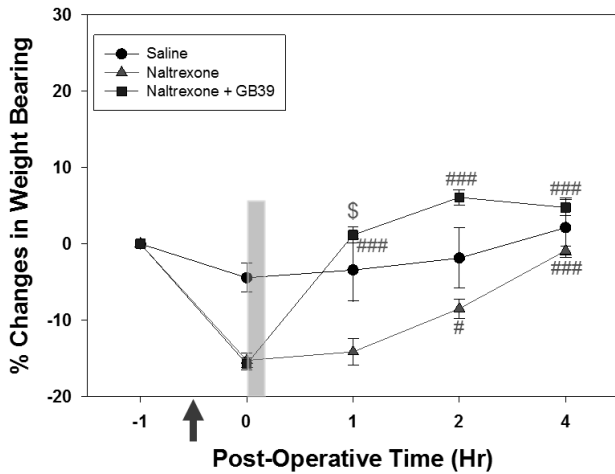


Fig. 5. The role of endogenous opioids in GB39 EA induced analgesia on the surgical ankle sprained rat.

Saline group and Naltrexone group of the previous figure was repeatedly used to compare with EA treatment. Naltrexone+GB39 group(filled square, n=5), naltrexone injection followed by ipsilateral GB39 EA application. The notations are the same as in Fig. 3. # indicates significance in time dependent changes for 0 Hr($p < 0.05$; $### p < 0.001$). $^{\$} p < 0.05$ indicates significance from the naltrexone group.

(Fig. 3). 이는 발목염좌가 유발된 상태에서 養老의 전침자극의 진통효과가 40% 내외까지 증가한 반면, naltrexone이 투여된 상태에서는 30% 내외로 감소하는 경향을 볼 때 養老의 진통효과에 opioids 수용체가 일부 관여할 가능성이 존재한다.

Naltrexone 투여 후 환측 陽陵泉 전침자극을 가한 경우(Naltrexone+GB34), naltrexone 투여로 $-16.82 \pm 0.84\%$ 까지 낮아진 WBR 변화율이 전침자극 후 1시간째 $-2.63 \pm 1.51\%$ ($p < 0.001$)로 증가하면서 전침에 의한 진통효과가 존재하였다. 이와 같은 효과는 2시간째 지속되었으며, 이후 점차 감소하였다($p < 0.001$). 그러나 naltrexone 투여군에 비하여 유의성을 나타내지는 못하여, 陽陵泉의 전침자극은 養老에 비해 opioids 수용체가 크게 관여함을 보여준다 (Fig. 4).

Naltrexone 투여 후 환측 懸鍾 전침자극(Naltrexone+GB39)을 가한 뒤 1시간째 WBR의 변화는 naltrexone 투여군에 비해 유의하게 증가하였다($1.16 \pm 1.01\%$, $p < 0.05$). 그러나 2시간 이후에는 naltrexone 투여군과는 유의한 차이를 나타내지 못하였고, 단순히 전침 자극 전에 비해 뚜렷한 WBR 변화 증가를 보여주었다($p < 0.001$) (Fig. 5). 결과적으로 懸鍾 전침자극 후 1시간 내외에 야기되는 진통효과는 opioids 수용체에 의존하지는 않으나, 2시간 전후의 진통효과는 opioids 수용체에 영향을 받는 것으로 보인다.

Naltrexone 투여가 전침자극의 진통효과에 미치는 효과를 보면, 환측 陽陵泉이 가장 큰 영향을 받고 있으며, 다음으로 환측 懸鍾과

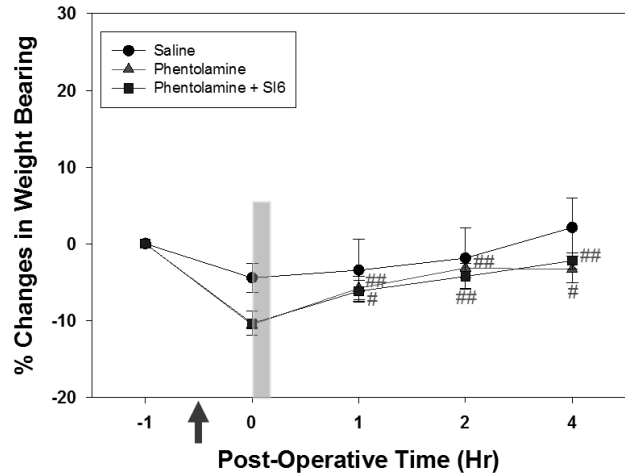


Fig. 6. The role of α -adrenoceptors in SI6 EA induced analgesia on the surgical ankle sprained rat.

An arrow indicate the time which phentolamine(5 mg/kg, i.p.) was administered 30 mins before EA application. Shade box means EA application for 15 mins. Values are mean \pm SEM. Saline group of the previous figure was repeatedly used to compare with EA treatment. Phentolamine group(filled triangle, n=5), phentolamine i.p. injection without EA; Phentolamine+SI6 group(filled square, n=5), phentolamine injection followed by SI6 EA. Indicates significance in time dependent changes for 0 Hr($^{\#} p < 0.05$; $^{\#\#} p < 0.01$).

건측 養老 순서로 일부 영향을 받고 있었다. 그러나 건측 養老의 진통작용은 내재 opioids 물질 보다는 다른 진통기전이 관여되는 것으로 보이며, 懸鍾과 養老이 전침자극 후 1시간째 초기 진통기전은 모두 내재 opioids 물질과는 관련 없었다(Fig. 3~5).

중추신경계의 진통기전에 관여하는 α -adrenoceptors가 전침 자극의 효과가 미치는지를 관찰하기 위하여 α -adrenoceptors를 차단하는 phentolamine(5 mg/kg, i.p.)을 투여하였다. Phentolamine을 투여한 실험군에서 시간에 따른 변화를 보면, naltrexone 투여군과 비슷한 양상으로 WBR이 감소하였다(phentolamine 투여 후 30분, $-10.54 \pm 0.49\%$). 다만 WBR 감소의 폭과 시간이 naltrexone 투여 보다 적고 짧았으며, 점차 saline 투여군의 WBR과 차이를 나타내지는 않았다(Fig. 6~8).

Phentolamine을 투여하고 30분 후 건측 養老 전침자극을 가하였을 때(Phentolamine+SI6), 진통효과가 완전히 사라졌다. 비록 시간에 따른 WBR 변화가 증가하였지만($p < 0.01$), 이는 phentolamine 투여군과 같은 변화양상을 보이고 있다(Fig. 6). 이에 따라 養老 전침자극으로 나타난 진통효과는 α -adrenoceptors와 깊은 관련을 맺고 있음을 확인하였다.

Phentolamine 투여 후 환측 陽陵泉 전침자극(Phentolamine+GB34)은 養老와 달리 진통효과가 뚜렷하게 나타났다. 특히 전침자극 후 1시간째 진통효과가 가장 뚜렷하여 이는 phentolamine 투여

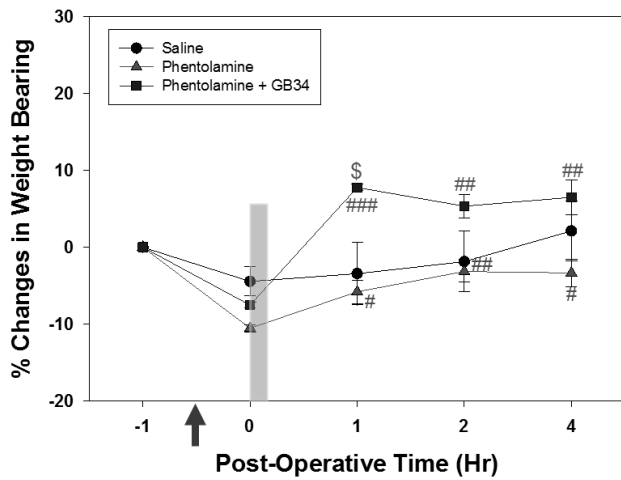


Fig. 7. The role of α -adrenoceptors in GB34 EA induced analgesia on the surgical ankle sprained rat.

Saline group and Phentolamine group of the previous figure was repeatedly used to compare with EA treatment. Phentolamine+GB34 group (filled square, n=5), phentolamine injection followed by GB34 EA. The notations are the same as in Fig. 6. # indicates significance in time dependent changes for 0 Hr ($p < 0.05$, $## p < 0.01$, $### p < 0.001$). $^{\$} p < 0.05$ indicates significance from the phentolamine group.

극 후 1시간째 진통효과가 가장 뚜렷하여 이는 phentolamine 투여 군($-5.79 \pm 1.53\%$)과 유의한 차이를 보여주는데($7.8 \pm 0.43\%$, $p < 0.05$), 이는 陽陵泉의 진통효과가 α -adrenoceptors와 관련이 없다는 것을 의미한다(Fig. 7).

α -adrenoceptors를 차단 후 환측 懸鍾에 전침자극(Phentolamine+GB39)을 가한 경우, WBR의 변화는 phentolamine 투여 군과 차이를 보이지 않았다. 이를 통해 懸鍾 전침자극에 의해 유발되는 진통효과는 α -adrenoceptors가 관련을 맺고 있다(Fig. 8).

고찰

발목염좌는 발목관절 부위의 근육, 근건, 인대, 관절낭 등 연부조직의 손상으로 동통, 종창, 국소압통, 발적 및 운동장애가 야기되는 질환⁴⁾이며, 한의학에서는 足痛, 足跟痛, 踝痛, 足心痛 등을 말하는 것으로 경근의 손상으로 인식되고 있으며²³⁾, 鍼을 통하여 調氣로써 경락 중의 기혈 운행 장애에 대해 行氣活血, 通經活絡, 舒筋活絡, 消腫止痛하여 通則不痛의 치료목적을 달성하게 된다⁵⁾. 이러한 한의학의 치료방법 중 하나인 침구치료는 서양에서도 점차 증가하는 추세이며, 침의 진통 효과에 대해서 현재 미국 국립보건원(NIH)은 부분적으로 인정하고 있을 뿐 아니라, 영국 의학협회에서도 침의 사용에 대해 승인하였다²⁴⁾.

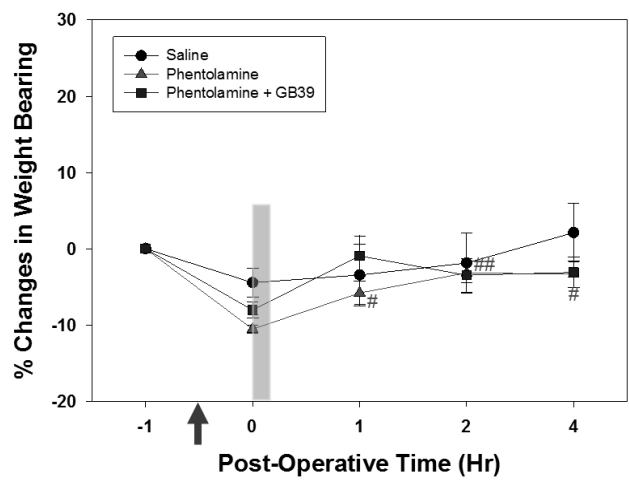


Fig. 8. The role of α -adrenoceptors in GB39 EA induced analgesia on the surgical ankle sprained rat.

Saline group and Phentolamine group of the previous figure was repeatedly used to compare with EA treatment. Phentolamine+GB39 group (filled square, n=5), phentolamine injection followed by GB39 EA. The notations are the same as in Fig. 6. # indicates significance in time dependent changes for 0 Hr ($p < 0.05$, $## p < 0.01$).

기존의 발목염좌에 대한 실험연구는 염좌로 인한 통증의 유발부위와 관련한 전침자극의 효과가 주로 연구되었으며^{25,26)}, 자극의 빈도 및 강도에 따라 상이한 진통효과가 있는 것으로 알려졌다²⁷⁾. 또한 발목염좌에 대한 임상에서의 전침치료가 매우 유효함이 밝혀지고 있으나^{9,10)}, 현재까지 경혈에 따른 전침자극의 진통효과가 발목염좌의 회복에 미치는 효과와 그 기전은 실험적으로 명확하게 입증되지 못하고 있다.

본 연구는 임상의 실제 내원 환자 중 50% 이상을 차지하고¹⁴⁾, 손상 초기에 효과적인 치료를 받지 않을 경우 만성발목 불안증(chronic ankle instability)으로 이환되는 확률이 높으며²⁸⁾, 40% 이상은 만성 재 발생 염좌로 진행되며 조기치료와 재발 방지가 필요한^{15,16)} 3단계 수준의 고도 급성 발목염좌를 Kim 등¹⁷⁾이 제안한 방법으로 수술을 통해 발목염좌를 유발 후 경혈에 따른 전침자극의 통증억제에 대한 효과와 기전을 체계적으로 규명하고자 하였다. 이를 위해 경혈에 따른 전침자극의 진통효과가 발목염좌의 회복에 미치는 효과를 확인하고자 동일 실험동물에 매일 동일한 경혈을 15분씩 전침자극을 가하고, 발목염좌로 야기된 통증의 회복에 미치는 효과를 7일 간의 WBR 변화를 통해 비교 관찰하였다. 그 결과 아무런 처치를 하지 않은 대조군과 阿是穴에 대한 단순 침자극은 2일째 까지 낮은 WBR 변화를 보였으며, 날씨가 경과함에 따라 점차 회복은 되었지만 7일간의 전반적인 누적된 진통효과는 높지 않았다. 이에 비하여 養老와 陽陵泉 및 懸鍾에 전침자극을 가한 실험군 모두 높은 통증 회복효과를 보였으며, 그 회복효과를 경혈별로

비교한 결과 懸鍾 보다는 養老가 좀더 높은 회복 효과를 보였고, 養老보다는 陽陵泉에서 발목염좌의 회복 효과가 우수함이 관찰되었다. 이를 통해 진통효과와 통증 회복 사이에는 뚜렷한 상관관계가 있음을 알 수 있었으며, Cho 등²⁹⁾이 보고한 경혈에 따른 발목염좌의 진통효과에 차이가 있음을 확인할 수 있었다.

침의 진통기전과 관련된 기존의 연구를 보면 opioids 의존형과 비의존형의 두 가지로 나뉘고 있으며, 현재까지의 연구는 opioids 의존형이 대부분을 차지하고 있다. Opioids 의존형은 침자극이 내인성 아편물질 계통을 활성화 시켜 순환하는 β -endorphin 양을 증가시킨다는 것으로 흰쥐에게 아편물질 길항제인 naloxone을 주입하고 침자극을 주면 침에 의해 발생하는 진통효과가 상쇄된다는 것이다³⁰⁾. Han³¹⁾이 발표한 연구결과는 이러한 opioids 의존형의 침진통은 침자극의 패턴에 따라 서로 다른 내재 opioids를 활용한다는 것이다. 또한 opioids 수용체 길항제인 naloxone을 투여하면 위약효과나 최면, 침술 등의 진통효과가 부분적으로 역전 되는 것이 보고되고 있다³²⁾. 이는 전침자극을 통한 진통과정을 밝히는데 주된 근거가 되었으나, 근래에 들어 점차 opioids 비의존형이 밝혀지고 있다. 전침으로 유발된 진통효과를 naloxone이나 naltrexone과 같은 아편물질 길항제로 상쇄시키지 못하였는데³³⁾, 한편 serotonin 또는 noradrenalin이 침의 진통에 역할을 하고 있다는 것이 추가적으로 밝혀졌다³⁴⁾. 또한 발목 부위에 분포된 말초신경은 대개 척수를 통해 시상(thalamus)으로 상행하기 때문에 발목염좌는 척수 심층에 분포하는 신경세포들의 과흥분을 유발하는 것으로 보고되고 있다^{35,36)}.

본 실험은 opioids 수용체 길항제인 naltrexone과 α -adrenoceptors 길항제인 phentolamine을 사용하여 경혈에 따른 전침치료의 진통효과에 대한 기전을 일부 밝히고자 하였으며, 이를 위해 실험 설계는 길항제 투여 후의 전침자극의 유무에 대한 WBR의 변화를 비교 관찰 하였다. 그 결과 전침자극을 가하지 않고 약물만을 투여한 대조군 가운데 naltrexone을 투여한 실험군은 30분 후 WBR이 15% 내외 수준으로 통증을 더욱 악화되었으며, naltrexone을 투여한 실험군은 30분 후 WBR이 15% 내외 수준으로 통증을 더욱 악화되었으며, 길항 효과는 4시간 전후로 감소하는 것이 관찰 되었다. 중추신경계의 진통기전에 관여하는 α -adrenoceptors를 차단하는 phentolamine을 투여한 실험군의 WBR은 시간이 지남에 따라 naltrexone 투여군과 비슷한 양상으로 감소하였지만, 그 감소 폭은 naltrexone 투여군 보다 적고 짧았으며, 시간이 지남에 따라 saline 투여군과도 WBR의 변화에 차이를 나타내지는 않았다. 약물 투여 후 30분 경과 후 건측 養老 환측 陽陵泉, 환측 懸鍾에 대해 naltrexone과 phentolamine을 투여하고 30분 후에

전침자극을 시행한 후 비교 관찰한 결과는 다음과 같다. 건측 養老의 진통작용은 opioids 수용체 보다는 α -adrenoceptors와 깊은 관련을 맺고 있음이 관찰 되었으며, 이는 Yang 등¹⁹⁾이 발목염좌에 대한 養老의 진통작용은 opioids 수용체 보다 α -adrenoceptor와 관련된 진통기전에 의한 것이라는 보고와 만성 염증성 및 신경병증성 통증모델에서의 척수 후각세포의 유해자극반응에 대한 전침자극 억제 효과는 α -adrenoceptors의 길항제인 phentolamine 투여에 의해서는 유효하게 약화되었으며 □-수용기의 길항제를 투여해도 전침자극의 억제효과에는 변동이 없다는 Shin 등³⁷⁾의 보고와 유사하였다. 환측 陽陵泉에 전침자극(Phentolamine + GB34)을 가하고 관찰한 결과 진통작용은 α -adrenoceptors와 관련이 없으며, opioids 수용체가 크게 관여하는 것으로 관찰 되었다. 이는 Kim 등³⁸⁾이 formalin 유발 통증에 대한 전침자극의 진통효과를 반영하는 요척수의 cFos, NO 및 nNOS 발현이 naltrexone 투여에 의하여 길항되지 않았다는 보고와 유사한 결과로 통증억제에 대해 경혈에 따라 기전이 다름을 보였다. 또한 환측 懸鍾의 초기 진통효과는 내재 opioids 물질에 의존하지는 않으나 장기적으로는 opioids 수용체에 영향을 받으나, α -adrenoceptors와 더욱 관련을 맺고 있음이 관찰되었다.

이상의 연구 결과를 통해 전침자극에 대한 진통효과는 경혈에 따라 분명한 차이가 있으며, 전침자극에 의한 진통효과가 경혈에 따라 opioids 의존형과 비의존형의 형태로 나타남을 관찰하였다. 이는 선행연구에서 발목염좌의 진통효과는 경혈에 따라 차이를 보이고²⁹⁾, 전침자극 후에 naltrexone을 투여하면 진통효과가 차단되지 않으며³⁹⁾, serotonin 또는 noradrenalin 진통계가 침의 진통에 부가적 역할을 하고 있다는 연구 보고³⁴⁾와 일치함을 시사한다. 하지만 내재 진통계인 opioids 수용체는 적어도 3종류의 수용체가 있는데 본 실험에서 사용된 길항제만으로 전침의 진통기전을 확신하기에는 아직 부족하다. 이에 따라 앞으로 세분화된 다양한 진통기전에 대한 연구의 추가가 필요하다고 사료된다.

결론

수술적 방법으로 야기된 3단계 고도 발목염좌에서 경혈에 따른 전침의 진통효과를 관찰하고 이들 효과에 관련된 중추신경계의 진통기전을 찾고자 실험을 수행하였다.

1. 3단계 발목염좌 통증에 대한 진통과 회복에서 건측 養老, 환측 陽陵泉 및 懸鍾이 뚜렷한 효과를 발휘하였다. 특히 회복율에서 환측 陽陵泉이 가장 뚜렷한 차이를 보여주고 있다.

2. 환측 陽陵泉에 대한 전침자극으로 야기된 진통기전이 내재 진통기전 중 opioids 수용체와 밀접한 관계가 있으며, 환측 懸鍾과 건측 養老 전침자극으로 인한 진통효과가 부분적으로 opioids 수용체와 관련이 있다.

3. 건측 養老와 환측 懸鍾의 전침자극으로 유발되는 진통효과는 α -adrenoceptors와 관련된 진통기전이었으며, 환측 陽陵泉은 α -adrenoceptors에 영향 받지 않았다.

이상의 실험연구 결과 발목염좌의 진통과 회복에 대한 전침자극의 효과는 경혈에 따라 뚜렷한 차이를 나타내고 있으며, 특히 서로 다른 중추신경계의 진통기전에 의존하고 있음을 알 수 있다. 다만, 다만, opioids 수용체와 α -adrenoceptors가 서로 일정 부분을 함께 작용할 것으로 추정되는 점에 대하여 추가적인 연구가 요구되며, opioids 수용체와 α -adrenoceptors 아형(subtype)에 대한 연구를 통해 경혈에 따른 발목염좌의 진통기전 규명이 제기된다.

감사의 글

This research was supported by Basic Science Research Program through the National Research Foundation of Korea(NRF) funded by the Ministry of Education(NRF-2012R1A1A4A01004637).

References

1. Puffer JC. The sprained ankle. Clin Cornerstone 2001 ; 3 : 38-49.
2. Wolfe MW, Uhl TL, Mattacola CG, McCluskey LC. Management of ankle sprains. Am Fam Physician. 2001 ; 63(1) : 93-104.
3. Hanuri Editorial Department. The Merck Manual. Seoul : Hanuri publishing. 2002 : 526-7.
4. Han KJ, Oh MS, Choi SH. Clinical Research on Effect Technique of Auricular Acupuncture Therapy on Ankle sprain. Daejeon University Institute of Oriental Medicine's Collection of Dissertations. 2004 ; 13(1) : 287-93.
5. Kim KY, Woo KH. The Effects of Alphabet Exercise with SSP Electrotherapy on Lateral Ankle Sprain. The Journal of Korean Society of Physical Therapy. 2004 ; 16(2) : 323-31.
6. Hwang JS, Lim DJ, Hwang JH, Cho HS, Kim KH. Study of the Effect of Blood-Letting Cupping Treatment for Acute Ankle Sprain: A Randomize Controlled Trial. Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. 2005 ; 22(3) : 243-52.
7. Jung HK, Jeong YP, Chiang SY, Lee JE, Wi J, Im JA, et al. The Comparative Study on the Acupuncture at Affected Limb and Unaffected Limb on Treating Ankle Sprain of Acute Stage. Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. 2008 ; 25(3) : 107-13.
8. Kim KT, An BJ, Kang MS, Song HS. A Clinical Study of Bee Venom Acupuncture Therapy on Chronic Arthritis of Ankle. Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. 2006 ; 23(4) : 21-6.
9. Wu TS. 43 Cases of Ankle Sprain Treated by Electroacupuncture. Shanghai Journal of Acupuncture and Moxibustion. 1997 ; 16(S1) : 48.
10. Jin J. 24 Cases of Ankle Sprain Treated by Electroacupuncture. Guangxi Journal of Traditional Chinese Medicine. 1999 ; 22(05) : 38.
11. Koo ST, Park YI, Lim KS, Chung K, Chung JM. Acupuncture analgesia in a new rat model of ankle sprain pain. Pain 2002 ; 99 : 423-31.
12. Park SY, Choi YY, Jeon IS, Koo ST, Kim KS, Sohn IC, Kim JH. Capsaicin pharmacopuncture modulates ankle sprain induced pain in rats. Korean Journal of Acupuncture. 2006 ; 23(2) : 113-23.
13. Cho HS, Gwak MS, Lee SY, Hahm TS. The effect of simultaneous electroacupuncture on ankle sprain pain in rats. Korean Journal of Anesthesiology. 2007 ; 52(5) : 566-70.
14. Ahn HJ, Jeong DH, Hwang KS, Yoon KB, Kim TW, Moon JH, et al. The comparative study on the dong-si acupuncture therapy and general acupuncture therapy for the patient with ankle sprain. Journal of Korean Acupuncture & Moxibustion Medicine Society. 2003 ; 20(1) : 120-30.
15. Diebschlag W, Nocker W, Lehmacher W. Treatment of acute ankle sprains. Comparison of the efficacy and tolerance of 2 indomethacin-gel preparations. Fortschr Med. 1992; 110(6) : 94-8.
16. Hernandez W, Raja A, Capuano C. Complex regional pain syndrome. J Am Podiatr Med Assoc. 1999 ; 89(10) : 534-9.
17. Kim HY, Wang JG, Chung KS, Chung JM. A surgical ankle sprain

- pain model in the rat: Effect of morphine and indomethacin. *Neuroscience Letters* 2008 ; 442 : 161-4.
18. Yang SB, Sohn IC, Lee SH, Cho SH, Kim Jh. Comparison study for analgesic effects of electroacupuncture on surgical ankle sprain model classified as grade 3 in rats. *Korean Journal of Acupuncture*. 2013 ; 30(1) : 47-55.
 19. Yang BS, Kim JH, Jang JH, Ahn SH, Kim KS, Sohn IC. A study of antinociception of electroacupuncture to si6 on the acute ankle sprained rats. *Korean Journal of Acupuncture*. 2008 ; 25(3) : 81-96.
 20. Meridians & Acupoints Compilation Committee of Korean Medical Colleges. *Details of Meridians & Acupoints. A Guidebook for College Students*. Daejeon : Jongryenam Publishing Co. 2010 : 318, 506, 512.
 21. Koo ST, Kim SK, Kim EH, Kim JH, Youn DH, Lee BH, et al. Acupuncture point locations for experimental animal studies in rats and mice. *Korean Journal of Acupuncture*. 2010 ; 27(3) : 67-78.
 22. Kim JH, Kim HY, Chung K, Chung JM. Electroacupuncture reduces the evoked responses of the spinal dorsal horn neurons in ankle-sprained rats. *J Neurophysiol*. 2011 ; 105 : 2050-7.
 23. Kerkhoffs GM, Rowe BH, Assendelft WJ, Kelly KD, Struijs PA, van Dijk CN. Immobilisation for acute ankle sprain. A systematic review. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2001 ; 121(8) : 462-71.
 24. Silvert M. Acupuncture wins BMA approval. *BMJ*. 2000 ; 321(7252) : 11.
 25. Hao S, Takahata O, Iwasaki H. Electroacupuncture potentiates the antinociceptive effect of intrathecal endomorphin-1 in the rat formalin test. *Neurosci Lett*. 2000 ; 287(1) : 9-12.
 26. Hsieh CL, Kuo CC, Chen YS, Li TC, Hsieh CT, Lao CJ, et al. Analgesic effect of electric stimulation of peripheral nerves with different electric frequencies using the formalin test. *Am J Chin Med*. 2000 ; 28(2) : 291-9.
 27. Lee JH Beitz AJ. The distribution of brain-stem and spinal cord nuclei associated with different frequencies of electroacupuncture analgesia. *Pain*. 1993 ; 52(1) : 11-28.
 28. Anandacoomarasamy A, Barnsley L. Long term outcomes of inversion ankle injuries. *Br J Sports Med*. 2005 ; 39 : e14(discussion).
 29. Cho HS, Yang MK, Yoo RG, Hahm TS. Effective acupoint of electroacupuncture on ankle-sprained pain in rats. *Korean Journal of Anesthesiology*. 2006 ; 51(3) : 354-8.
 30. Mayer DJ, Price DD, Raffi A. Antagonism of acupuncture analgesia in man by the narcotic antagonist naloxone. *Brain Res*. 1977 ; 121(2) : 368-72.
 31. Han JS. Acupuncture: neuropeptide release produced by electrical stimulation of different frequencies. *Trends Neurosci*. 2003 ; 26(1) : 17-22.
 32. Millan MJ. Descending control of pain. *Prog Neurobiol*. 2002 ; 66(6) : 355-474.
 33. Chapman CR, Benedetti C, Colpitts YH, Gerlach R. Naloxone fails to reverse pain thresholds elevated by acupuncture: acupuncture analgesia reconsidered. *Pain*. 1983 ; 16(1) : 13-31.
 34. Mayer DJ. Biological mechanisms of acupuncture. *Prog Brain Res*. 2000 ; 122 : 457-77.
 35. Schaible HG. Spinal mechanisms contributing to joint pain. *Novartis Found Symp*. 2004 ; 260 : 4-22.
 36. Schaible HG, Ebersberger A, Von Banchet GS. Mechanisms of pain in arthritis. *Ann N Y Acad Sci*. 2002 ; 966 : 343-54.
 37. Shin HK, Lee KH, Park DS. α_2 -Adrenoceptors are Implicated in the Electroacupuncture-induced Analgesia of Experimental Chronic Pain. *The Journal of Korean Oriental Medicine*. 2004 ; 25(3) : 67-77.
 38. Kim JH, Koo ST, Sohn IC. Heterotopic electroacupuncture modulates formalin -induced pain via descending inhibition in the rat. *Korean Journal of Acupuncture*. 2006; 23(3) : 55-71.
 39. Watkins LR, Mayer DJ. Organization of endogenous opiate and nonopiate pain control systems. *Science*. 1982 ; 216(4551) : 1185-92.