



발목염좌 급성기에 봉독 약침의 용량에 따른 진통 및 회복에 미치는 효과

양승범¹ · 김재효²

¹원광보건대학교 의무부사관과, ²원광대학교 한의과대학 경혈학교실

Dose Effects of Bee Venom Pharmacopuncture for the Acute Ankle Sprain in Rats

Seung-Bum Yang¹, Jae-Hyo Kim²

¹Department of Medical Non-commissioned Officer, Wonkwang Health Science,

²Department of Meridian & Acupoint, College of Korean Medicine, Wonkwang University

Objectives : The aim of this study was to observe the dose-dependent effects of bee venom (BV) pharmacopuncture on the serious ankle sprain in rats. **Methods :** The grade III ankle sprain was produced by surgically damaging the lateral ligaments complex of Sprague-Dawley rats. BV pharmacopuncture with the different doses(5 μ g/kg, 10 μ g/kg, 50 μ g/kg) were treated on the different acupoints(GB34, GB39 and GB42) of the affected hind limb, respectively. By measuring foot weight bearing force ratio(FWBFR), the pain levels by ankle sprain and the pain recovery for 7 days were observed under BV pharmacopuncture on each acupoint. **Results :** In the normal and ankle sprained rat, the BV single administration decreased FWBFR in a dose - dependent pattern. The higher the BV dose, the higher the pain resulted in the normal and the sprained ankles. Especially, the dose - dependent effects of BV resulted in the most pronounced decrease in FWBFR in GB34. The recovery of FWBFR was shown at the low dose(5 μ g/kg) BV and the effect was most remarkable in the BV of GB34, but the others showed no recovery effect compared with the control group. **Conclusions :** BV pharmacopuncture does not exhibit analgesic effects in acute phase of ankle sprain. However, the recovery of ankle sprain was more effective than the natural recovery in the case of low dose of BV repeated over time. Considering this, it is presumed that it would be important to select appropriate clinic guidelines for acute phase of ankle sprain.

Key words : ankle sprain, bee venom, pharmacopuncture, pain, acupoint specificity

서 론

발목염좌(ankle sprain)는 발목에 분포하는 힘줄 손상으로 운동 능력의 저하와 함께 지속적인 통증이 야기되는 질환으로, 가동범위를 넘는 발목관절의 과도한 운동이 복합되어 야기된다¹⁾. 발목염좌는 유형과 증상 및 징후에 따라 1~3단계로 분류하며, 그 중 3단계는 완전한 인대손상으로 통증과 부종 및 출혈이 심각한 상태로 보

행의 기능적인 소실이 아주 크다²⁾. 급성발목염좌로 인한 임상의 실제 내원 환자³⁾ 중 50% 이상은 2단계 또는 3단계에 해당하며, 손상 초기에 효과적인 치료를 받지 않는 경우 만성적인 발목 불안증(chronic ankle instability, CAI)으로 이환되는 확률이 높다⁴⁾. 이러한 발목염좌의 한의학적 치료로 이침, 전침, 고주파 온침, 봉독약침요법 등⁵⁻⁷⁾의 다양한 방법을 통한 연구 결과 등이 보고 되었다. 봉독약침은 약침요법의 하나 벌침의 독낭세포에 분비된 액체물

Received November 18, 2016, Revised December 4, 2016, Accepted December 12, 2016

Corresponding author: **Jae-Hyo Kim**

Department of Meridian & Acupoint, College of Korean Medicine, Wonkwang University, 460, Iksan-daero, Iksan 54538, Korea

Tel: +82-63-850-6446, Fax: +82-63-857-6458, E-mail: medicdog@wku.ac.kr

This paper was supported by Wonkwang University in 2015.

© This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

질로 다양한 생리활성을 보이는 melittin, apamin, MCD-peptide와 같은 활성펩타이드와 phospholipase A2와 같은 효소 및 dopamine, histamine 등과 같은 아민류의 40여 가지 생리학적 특이물질의 면역계 활성화와 소염과 진통작용, 세포용해, 신경독효과 등에 미치는 약리작용을 이용하여 한의학의 경락학설에 근거하여 질병과 상관되는 경혈에 주입하여 질병치료에 응용되는 치료방법이다^{8,9)}.

발목염좌에 대한 약침요법의 실험연구로 Park 등¹⁰⁾은 캡사이신 약침의 진통의 기전 연구에서 급성 발목염좌 동물에 대한 진통효과의 유의성을 보고하였으며, Koo 등¹¹⁾은 발목염좌에서 환측 구허(GB40)에 대한 치자 약침이 보행력 향상과 발바닥 부종의 억제효과를 가지는 것으로 보고하였고, Kim 등¹²⁾은 구허에 중성어혈 약침과 황련해독 약침 주입이 급성 발목염좌에 대해 진통효과가 있음을 발표하였다. 또한 봉독약침에 대한 연구에서 Koh¹³⁾는 봉독약침요법이 항염, 진통 및 해열에 우수함을 보고하였으며, Seo 등¹⁴⁾은 봉독약침의 주입이 CIA 모델의 염증성 통증에 대한 유의한 진통효과를 보고하였다. 하지만 급성발목염좌의 단계별 수준에 따른 봉독약침의 경혈별 통증 억제 효과와 봉독 주입량에 따른 연구는 부족한 상황이다.

본 연구는 수술적 방법으로 유도된 3단계 수준의 발목염좌 모델¹⁵⁾에서, 각 경혈별로 봉독 약침의 용량에 따른 진통효과와 발목염좌 통증의 회복과정에 대한 영향을 확인하고자 하였다. 이를 위해 경혈별로 서로 다른 봉독용량으로 약침 시술하여 통증지표로 활용되는 족부하중비율(foot weight bearing force ratio, FWBFR)의 변화를 비교 관찰하였다.

재료 및 방법

1. 실험동물

체중 180~250 g의 Sprague-Dawley계 흰쥐 수컷(Samtako Bio Korea)을 사용하였다. 실험 1주일 전부터 온도 23±1°C, 상대습도 55±10%의 조건에서 12시간으로 낮과 밤의 주기를 바꿔주어 실험실 환경에 적응하도록 하여 스트레스 및 환경의 변화에 따른 영향을 최소화하였다. 실험동물은 적응기 및 실험 중에도 사료와 물은 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다. 본 실험은 원광대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 획득(WKU14-52)하였고 윤리규정을 준수하여 시행하였다.

2. 마취

실험동물의 마취는 발목염좌 유발과 약물주입 조건에 따라 두

가지 방법으로 진행되었다. 3단계 수준의 급성 발목염좌 유발 모델 제작을 위해 케타민(유한양행, 한국) 60 mg/kg로 복강 주입하여 실험동물을 마취하였다. 실험동물에게 봉독 약침을 시술하기 위해 3% isoflurane(중외제약, 한국)과 95% 산소(O₂)를 포함한 혼합가스를 2 l/min로 마취를 유도하고, 0.5~1% isoflurane과 95% 산소의 혼합가스로 2분간 마취를 유지하였다.

3. 수술적 발목염좌의 유도

3단계 수준의 발목염좌를 유발시키기 위해 전신 마취상태에서, 왼쪽 발목 외측 인대를 Kim 등¹⁵⁾이 제시한 방법인 수술적으로 절단하여 유도하였다. 간략히 설명하면, 흰쥐 왼쪽 발목의 외측을 절개(1~1.5 cm) 후 앞쪽 외측부위인 새끼발가락뿔근(extensor digiti quinti, EDQ) 근육의 내측과 긴발가락뿔근(extensor digitorum longus, EDL) 근육의 외측을 따라 3~5 mm 길이로 절개한다. 발목관절낭 노출을 위해 EDL와 EDQ 사이를 횡으로 절개한다. 이때 앞목발총아리 인대(anterior talofibular ligament, ATF)가 첫 번째로 절단된다. 발목관절낭에서 발꿈치총아리 인대(calcaneofibular ligament, CF)을 확인하여 절단한다. CF 절단 후 발목을 약간 내반

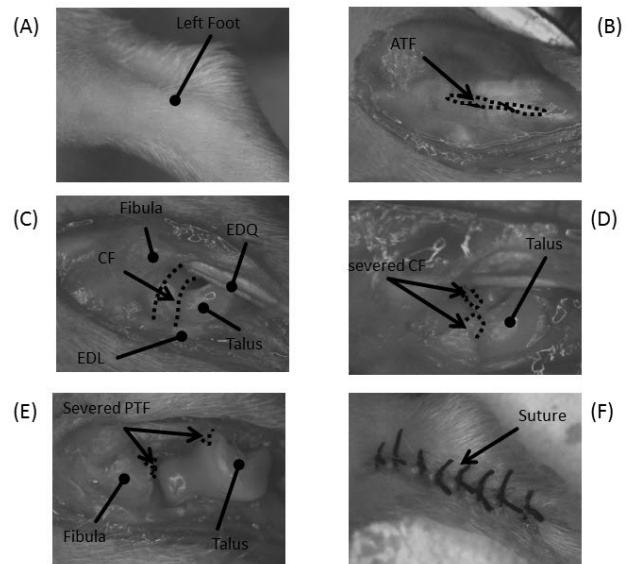


Fig. 1. Photographs showing surgical procedures to make ankle sprain on the left ankle joint of rat.

(A) lateral view of left foot before skin incision, (B) exposure of anterior talofibular ligament (ATF) after skin incision, (C) exposure of calcaneofibular ligament (CF) and talus after more wide dissection of lateral side of the ankle joint. (D) cutting CF using surgical knife. (E) Ankle inversion followed by cutting of posterior talofibular ligament (PTF) to separate fibular and talus. (F) closure of skin incision. EDQ, extensor digiti quinti; EDL, extensor digitorum longus.

(inversion)시키고 복사뼈 안쪽면과 목말뼈(talus) 바깥쪽 결절(lateral tubercle) 사이의 뒤목말종아리 인대(posterior talofibular ligament, PTF)를 확인하여 절단한다. 이렇게 ATF, CF와 PTF가 순차적으로 절단되면 종아리뼈(fibular)와 목말뼈(talus)가 분리되는 것이 육안으로 확인되며, 확인 후 60초 동안 관절의 분리 상태를 유지하고 수술 부위를 봉합한다(Fig. 1).

4. 실험군의 분류

1) **봉독약침의 발목염좌에 대한 진통효과 비교:** 경혈별 봉독약침의 시간별 진통효과 비교를 위해, 대조군은 발목염좌를 유발하지 않은 정상동물에서 양릉천(GB34), 현종(GB39), 지오회(GB42)에 각각 생리식염수와 용량별 봉독약침액을 주입하였다. 실험군은 3단계 발목염좌를 유발한 뒤 24시간이 경과한 후에 양릉천(GB34), 현종(GB39), 지오회(GB42)에 각각 생리식염수와 용량별 봉독약침액을 주입하였다. 대조군과 실험군에 같은 양의 saline과 봉독약침을 주입 하였다. 각 실험군의 동물은 6마리씩 무작위로 배정하여 실험을 진행하였다.

2) **봉독약침의 발목염좌 회복효과 비교:** 3단계 발목염좌에서 경혈별 봉독약침의 7일간 누적 회복효과를 비교하기 위하여 대조군(무처치군, control)과 각 경혈에 생리식염수(saline) 또는 용량별 봉독약침을 주입한 실험군으로 비교 관찰하였다. 발목염좌를 유발한 뒤 24시간이 경과한 후에 약침 시술을 시작하여 격일 단위로 3회에 걸쳐 약침액을 주입하였다. 각 실험군의 동물은 대조군 10마리와 각 실험군 6마리를 무작위 배정하여 실험을 진행하였다.

5. 취혈

봉독약침의 효과를 관찰하기 위한 取穴은 실험동물의 환측 다리에 존재하는 족소양담경의 양릉천(GB34), 현종(GB39), 지오회(GB42)를 선택하였다^{16,17}. 실험동물에서 다리의 경혈을 취혈하기 위해 오금주름(popliteal crease)에서 가쪽복사 융기(prominence of the lateral malleolus)까지의 연결선상을 인체와 상응하게 16등분 하였다. 양릉천은 종아리 외측면의 종아리뼈 머리(head of fibula)에서 앞 먼 쪽(anterior and distal)의 오목한 곳에서 취혈하였다. 현종은 종아리 외측면의 종아리뼈(fibula) 앞쪽의 가쪽복사 융기(prominence of the lateral malleolus)에서 몸쪽으로 3/16 되는 지점에서 취혈하였다. 지오회는 넷째와 다섯째 발허리뼈 바닥(base of the 4th and 5th metatarsal bones)의 연결부 면쪽에 위치하며, 다섯째 긴발가락뽀근힘줄(the 5th extensor digitorum longus tendon)의 가쪽 오목한 곳에서 취혈하였다.

6. 약침 주입

약침 시술에 사용한 봉독은 아피톡신(1mg, 구주제약)을 생리식염수에 희석하여 약침액을 준비하였다. 약침주입은 일회용 31 gauge 인슐린 주사기(0.25 mm×8 mm, BD, 미국)를 이용하여 경혈에 2~3 mm 깊이로 자입하고, 용량별로 희석된 약침액을 5 μg/kg, 10 μg/kg와 50 μg/kg에 해당하는 용량으로 각각 20 μl를 5초 동안에 주입하였다. 진통실험의 경우에는 발목염좌를 유발한 후 24시간이 경과한 후에 1회 주입하였다. 발목염좌로 인한 통증 회복을 관찰하는 실험에서는 발목염좌를 유발한 후 24시간이 경과한 후에 약침 주입을 시작하였고, 격일로 총 3회 시술하였다.

7. 동물행동 검사

족부하중비율(foot weight bearing force ratio, FWBFR) 값을 얻기 위해 실험동물이 불투명한 이크릴로 만든 긴 통로 폭 12 cm, 높이 10 cm, 길이 80cm)를 자우스럽게 걷게 하고, 통로 바닥의 중앙에 전자저울(IP-300, 이노텍, 한국)을 설치하여 아픈 쪽 발이 바닥에 디디는 압력을 측정하였다. 전자저울에서 나오는 전기신호는 압력의 변화를 전압의 변화로 보여주는데 이를 A/D 컨버터(CED1401 plus, Cambridge Electronic Design Ltd, UK)와 SPIKE 2 프로그램(version 7.0, Cambridge Electronic Design Ltd, UK)을 통하여 족부하중비율은 다음과 같은 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{족부하중비율(foot weight bearing force ratio, FWBFR)} = \frac{\text{족부보행하중(foot stepping force)} / \text{체중(body weight)} \times 100$$

족부 하중을 측정하기 전에 모든 실험동물의 체중을 측정하고, 발목염좌를 유발하고 24시간이 경과한 후에 족부하중비율을 측정하여 측정값이 40% 이상인 경우는 실험대상에서 제외하였다.

발목염좌 통증으로 인하여 감소된 족부하중비율의 변화 추이는 시간에 따른 진통효과와 7일 동안 통증 회복효과로 구분하여 관찰하였다. 약침 시술 후의 시간에 따른 진통효과를 관찰하기 위하여 매일 일정한 시간마다 행동검사를 실시하였다. 격일 간격으로 반복된 약침 시술에 따른 회복 효과를 관찰하고자 발목염좌 유발 후 24시간이 지난 후 매일 동일한 조건에서 7일간 족부하중비율 측정을 수행하였다. 실험동물의 행동검사는 무작위와 맹검 방식으로 시행하였으며, 각 측정 시간마다 8회 이상 실시하여 평균값을 취하여 측정값을 구하여 족부하중비율 변화를 비교하였다.

8. 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 9.4, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.). p 값이 0.05보다 작으면 통계적으로 유의성이 있는 것으로 간주하였다.

결 과

1. 양릉천의 봉독 약침이 발목염좌에 미치는 효과

양릉천(GB34)에 대한 용량별 봉독약침 시술이 실험동물의 보행 중 족부하중비율(FWBFR)에 미치는 효과를 비교하기 위하여 먼저 정상동물에서 봉독약침의 영향을 관찰하였다.

정상동물의 족부하중비율은 61~64%를 나타내며, 양릉천에 생리식염수 20 μ l를 주입하더라도 시간에 따른 족부하중비율에 유의한 변화는 관찰되지 않았다. 정상상태에서 양릉천에 봉독약침을 시술한 경우, 봉독 용량에 비례하여 족부하중비율이 유의하게 감소하였다. 봉독 5 μ g/kg 용량으로 20 μ l 주입한 경우에 43.6~46.7%로 족부하중비율이 감소하였고, 50 μ g/kg 용량의 봉독을 주입한 경우는 24.5%까지 족부하중비율이 감소하였으며, 회복도 지연되었다 (Fig. 2A).

발목염좌를 유발한 경우(CON)에 족부하중비율은 32.4~35.5%

수준으로 감소하였는데, 이와 같은 상태에서 환측 양릉천에 생리식염수 20 μ l를 주입하였을 때 족부하중비율이 27.3~31.3%로 주입 전에 비하여 감소하였다. 환측 양릉천에 봉독약침을 주입한 경우에는 봉독용량에 비례하여 족부하중비율이 유의하게 감소하였고, 봉독 용량이 증가할수록 족부하중비율의 회복이 지연되었다. 50 μ g/kg의 봉독약침 주입으로 족부하중비율이 10.5%로 감소하였다(Fig. 2B).

양릉천의 봉독 약침을 발목염좌 유발 후 24시간째부터 격일로 3회 시술하면서 족부하중비율의 회복을 7일간에 걸쳐 관찰하였다. 발목염좌를 유발한 대조군(CON)에서 족부하중비율의 변화는 32.8%에서 날짜에 따라 43.1%까지 점차적으로 회복되었다. 이러한 자연적인 회복효과에 대한 봉독약침의 영향을 비교하기 위하여, 생리식염수와 용량별 봉독약침 주입을 각각 비교하였다. 단순히 생리식염수(GB34-SAL)를 주입한 경우에서는 족부하중비율의 회복이 대조군과 차이를 나타내지 않았다. 5 μ g/kg 봉독약침(GB34-BV5)의 경우에는 대조군에 비하여 족부하중비율이 유의하게 회복하여 7일째에는 45.4% 수준에 도달하였다. 반면 10 μ g/kg 봉독약침(GB34-BV10)의 경우에는 대조군의 회복정도와 차이를 나타내지 않았고, 50 μ g/kg 봉독약침(GB34-BV50) 용량에서는 대조군에 비하여 족부하중비율이 29.3%까지 감소하고 회복속도도 유의하게 지연되었다(Fig. 3).

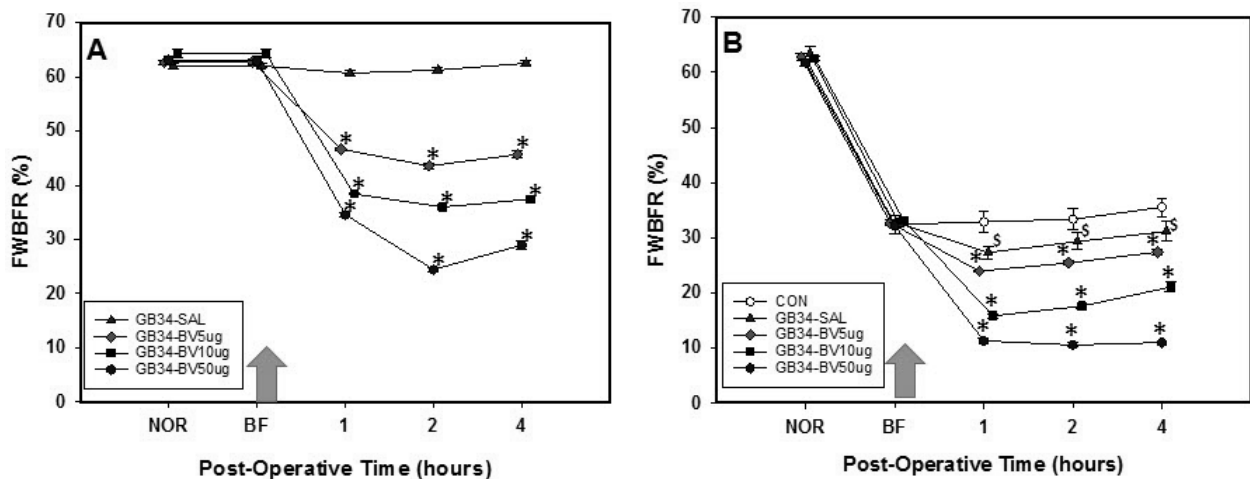


Fig. 2. Dose-dependent effects of bee venom pharmacopuncture to GB34 acupoint in normal (A) and ankle sprained rat (B).

The pain score was expressed as foot weight bearing force ratio (FWBFR) in hind limbs. GB34-SAL (triangle, n=6), saline pharmacopuncture to GB34 acupoint; GB34-BV5 (diamond, n=6), 5 μ g/kg injection with bee venom pharmacopuncture to GB34 acupoint; GB34-BV10 (square, n=6), 10 μ g/kg injection with bee venom pharmacopuncture to GB34 acupoint; GB34-BV50 (filled circle, n=6), 50 μ g/kg injection with bee venom pharmacopuncture to GB34 acupoint; CON (open circle, n=7), ankle sprained rats without pharmacopuncture. NOR, the time before induction of ankle sprain; BF, just before pharmacopuncture treatment. An arrow indicates the time of the pharmacopuncture treatment. FWBFR was calculated as percent of foot stepping force in each hind limb to the body weight. The values are mean \pm SE. *indicates significant difference from saline treatment (GB34-SAL) ($*p < 0.05$). ‡ indicates significant difference from control (CON) in ankle sprained rat ($^{\ddagger}p < 0.05$).

2. 현종의 봉독 약침이 발목염좌에 미치는 효과

현종(GB39)의 용량별 봉독약침 시술이 실험동물의 보행 중 족부하중비율(FWBFR)에 미치는 효과를 정상동물과 발목염좌 동물에

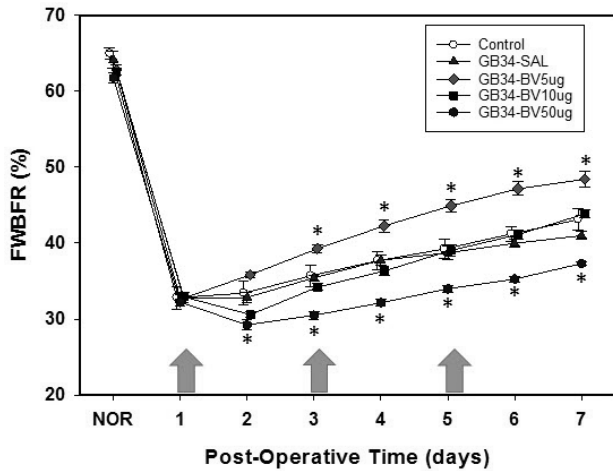


Fig. 3. Recovery effects of foot weight bearing force ratio (FWBFR) following to repeated bee venom pharmacopuncture to GB34 acupoint in ankle sprained rat.

Three times pharmacopuncture (arrows) was applied to alternate days after sprain induction. CON (open circle, n=10), surgical ankle sprained rats; GB34-SAL (triangle, n=6), ankle sprained rats with saline pharmacopuncture to GB34 acupoint; GB34-BV5 (diamond, n=6), 5 μ g/kg injection with bee venom pharmacopuncture to GB34 acupoint; GB34-BV10 (square, n=6), 10 μ g/kg injection with bee venom pharmacopuncture to GB34 acupoint; GB34-BV50 (filled circle, n=6), 50 μ g/kg injection with bee venom pharmacopuncture to GB34 acupoint. The values are mean \pm SE. * P <0.05 indicate values significantly different from the control group.

서 각각 관찰하였다. 정상상태에서 현종의 생리식염수, 5 μ g/kg 봉독약침과 10 μ g/kg은 족부하중비율에 뚜렷한 변화를 유도하지 않았다. 그러나 50 μ g/kg 봉독약침에서는 49.6%까지 감소되었다 (Fig. 4A). 정상상태에서 양릉천의 봉독약침이 족부하중비율을 크게 감소시킨 것에 비하여 상대적으로 영향이 작았다.

발목염좌를 유발한 상태에서 현종의 봉독약침은 봉독용량에 비례하여 족부하중비율을 뚜렷하게 감소시켰다. 5 μ g/kg에서는 23.6~28.9%로 감소하였고, 10 μ g/kg에서는 15.5~26.3% 범위로 감소하다 회복되었으며, 50 μ g/kg에서는 8.9~9.9%로 크게 감소하며 족부하중비율의 회복이 지연되었다(Fig. 4B).

현종의 봉독 약침을 발목염좌 유발 후 24시간째부터 격일로 3회 시술하면서 족부하중비율의 회복을 7일간에 걸쳐 관찰하였다. 양릉천의 봉독약침의 효과와 마찬가지로 5 μ g/kg 용량(GB39-BV5)의 봉독약침을 격일로 3회 시술한 경우에 족부하중비율이 시술 전 33.5%에서 시술 후 44%까지 회복하며, 대조군(CON)에 비교하여 뚜렷한 차이를 보여주었다. 그러나 10 μ g/kg 용량(GB39-BV10)에서는 32.1%에서 38.5%로 약 6% 증가하는데 불과하였고, 대조군에 비해 회복이 감소하며 지연되었다. 또한 50 μ g/kg 용량(GB39-BV50)에서는 35.1% 수준으로 시술 전에 비해 봉독 약침이 족부하중비율을 감소시키며, 대조군에 비하여 회복이 감소하고 지연되었다(Fig. 5).

3. 지오회의 봉독 약침이 발목염좌에 미치는 효과

지오회(GB42)의 용량별 봉독약침 시술이 족부하중비율(FWBFR)

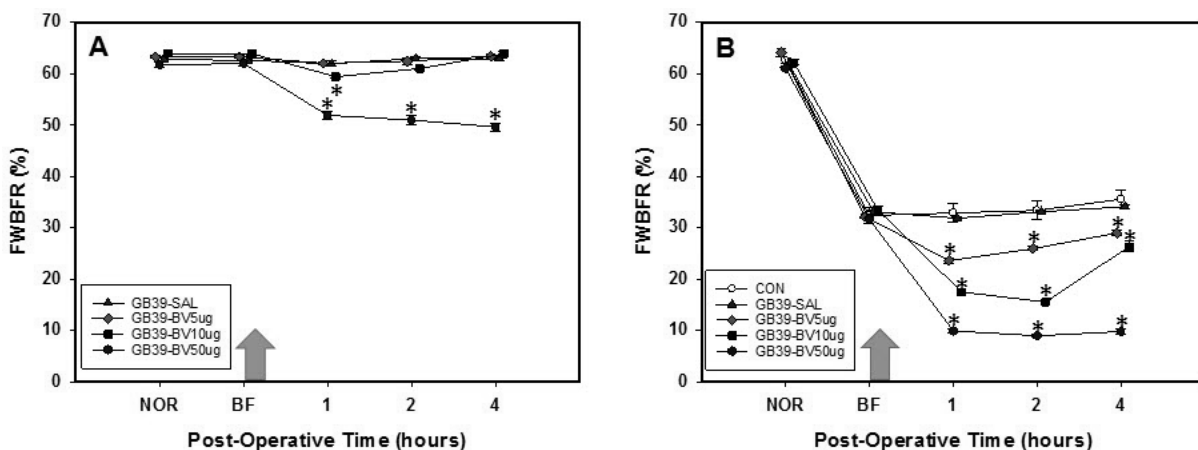


Fig. 4. Dose-dependent effects of bee venom pharmacopuncture to GB39 acupoint in normal (A) and ankle sprained rat (B). GB39-SAL (triangle, n=6), saline pharmacopuncture to GB39 acupoint; GB39-BV5 (diamond, n=6), 5 μ g/kg injection with bee venom pharmacopuncture to GB39 acupoint; GB39-BV10 (square, n=6), 10 μ g/kg injection with bee venom pharmacopuncture to GB39 acupoint; GB39-BV50 (filled circle, n=6), 50 μ g/kg injection with bee venom pharmacopuncture to GB39 acupoint; CON (open circle, n=7), ankle sprained rats without pharmacopuncture. *indicates significant difference from saline treatment (GB39-SAL) (* p <0.05). The other notations are the same as the previous figure.

에 미치는 영향을 정상동물과 발목염좌 동물에서 각각 관찰하였다. 정상상태에서는 지오희의 봉독약침이 용량과 상관없이 족부하중비율에 영향을 미치지 않았다(Fig. 6A). 비록 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 용량(GB42-BV50)

의 봉독약침 주입으로 59%의 족부하중비율이 유의하게 관찰되었지만, 이는 양릉천 또는 현종에서 보여준 결과를 고려할 때 영향이 뚜렷하지는 않다.

반면 발목염좌 상태에서 환측 지오희의 봉독약침은 족부하중비율을 대조군에 비하여 감소시켰다. 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 용량(GB42-BV5)과 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 용량(GB42-BV10)에서는 28.1~29.9%로 감소하였는데, 두 용량에서 동일한 수준의 족부하중비율을 보였다. 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 용량(GB42-BV50)의 봉독약침은 21.2~22.9%로 족부하중비율이 대조군에 비하여 유의하게 감소하였다(Fig. 6B).

발목염좌 유발 후 지오희의 봉독 약침을 24시간째부터 격일로 3회 시술하면서 족부하중비율의 회복을 7일간에 걸쳐 관찰하였다. 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 용량의 봉독약침 시술에서는 족부하중비율이 31.7%에서 41% 수준으로 회복되었는데, 이는 대조군(CON)과 생리식염수 주입(GB42-SAL)한 경우와 동일한 수준이다(Fig. 7). 반면 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 용량(GB42-BV10)과 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 용량(GB42-BV50)의 봉독약침 시술의 경우에는 대조군(CON)에 비하여 족부하중비율의 회복이 지연되었다. 다만 족부하중비율의 감소와 회복지연이 양릉천에 비해서는 비교적 적었으며, 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 용량(GB42-BV10)과 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 용량(GB42-BV50) 간에 차이는 뚜렷하지 않았다.

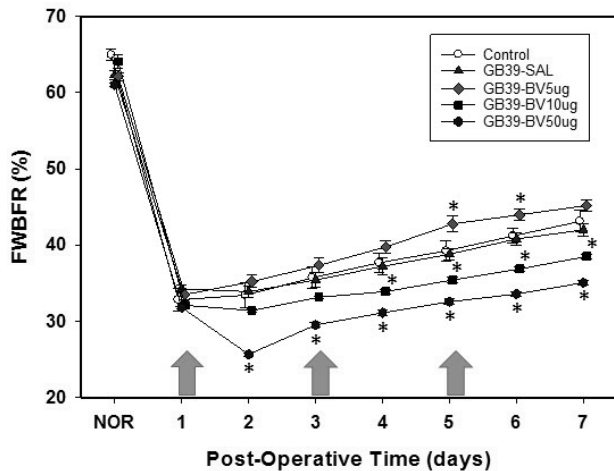


Fig. 5. Recovery effects of foot weight bearing force ratio (FWBFR) following to repeated bee venom pharmacopuncture to GB39 acupoint in ankle sprained rat.

CON (open circle, $n=10$), surgical ankle sprained rats; GB39-SAL (triangle, $n=6$), ankle sprained rats with saline pharmacopuncture to GB39 acupoint; GB39-BV5 (diamond, $n=6$), 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ injection with bee venom; GB39-BV10 (square, $n=6$), 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ injection with bee venom pharmacopuncture; GB39-BV50 (filled circle, $n=6$), 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ injection with bee venom pharmacopuncture. * $P<0.05$ indicate values significantly different from the control group. The other notations are the same as the previous figure.

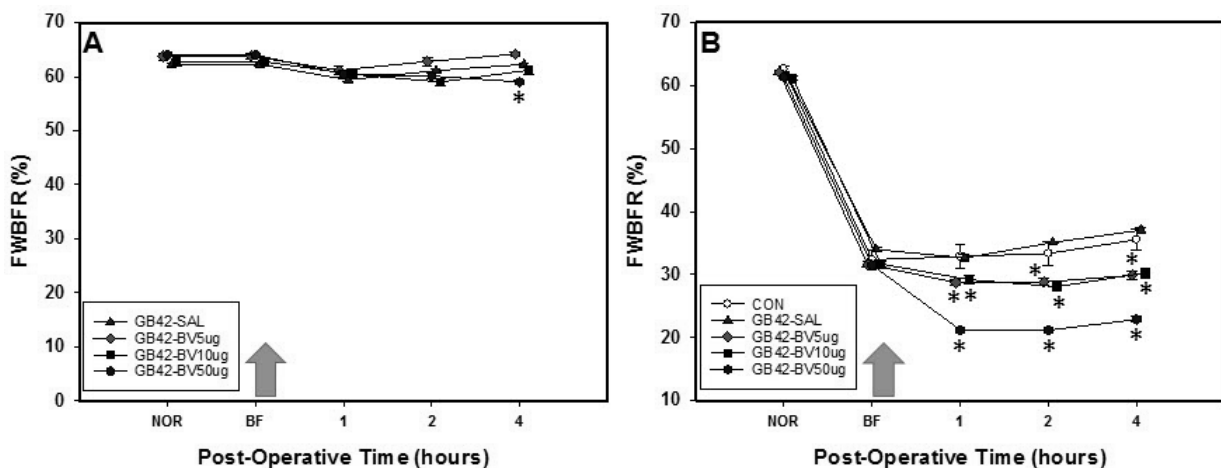


Fig. 6. Dose-dependent effects of bee venom pharmacopuncture to GB42 acupoint in normal rat (A) and ankle sprained rat (B). GB42-SAL (triangle, $n=6$), saline pharmacopuncture to GB42 acupoint; GB42-BV5 (diamond, $n=6$), 5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ injection with bee venom pharmacopuncture to GB42 acupoint; GB42-BV10 (square, $n=6$), 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ injection with bee venom pharmacopuncture to GB42 acupoint; GB42-BV50 (filled circle, $n=6$), 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ injection with bee venom pharmacopuncture to GB42 acupoint; CON (open circle, $n=7$), ankle sprained rats without pharmacopuncture. *indicates significant difference from saline treatment (GB42-SAL) (* $p<0.05$). The other notations are the same as the previous figure.

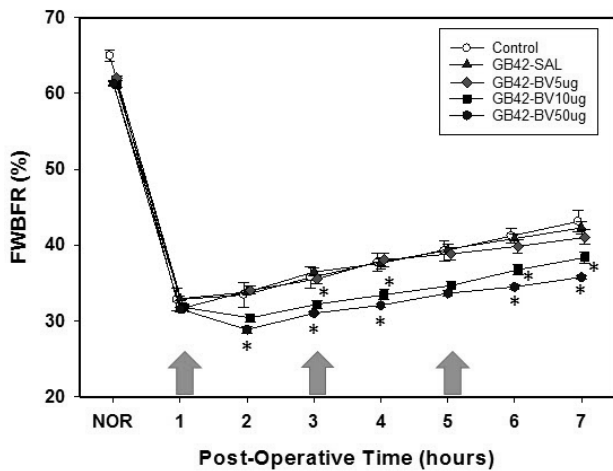


Fig. 7. Recovery effects of foot weight bearing force ratio (FWBFR) following to repeated bee venom pharmacopuncture to GB42 acupoint in ankle sprained rat.

CON (open circle, n=10), surgical ankle sprained rats; GB42-SAL (triangle, n=6), ankle sprained rats with saline pharmacopuncture to GB42 acupoint; GB42-BV5 (diamond, n=6), 5 μ g/kg injection with bee venom pharmacopuncture; GB42-BV10 (square, n=6), 10 μ g/kg injection with bee venom pharmacopuncture; GB42-BV50 (filled circle, n=6), 50 μ g/kg injection with bee venom pharmacopuncture. * p <0.05 indicate values significantly different from the control group. The other notations are the same as the previous figure.

고찰

발목염좌는 대부분이 운동이나 보행 중에 정강이뼈와 종아리뼈의 먼 쪽과 목말뼈가 이루는 발목관절¹⁸⁾에서 연부조직 손상¹⁾으로 야기되는데, 한의학은 “筋傷證¹⁹⁾”으로 분류하며 경근 손상과 함께 손상부위에 어혈로 인한 부종과 피부 발적 및 통증 등으로 표현한다. 이와 같이 뼈와 근의 운동성 손상에 대해 「素問·宣明五氣篇」에는 “久視傷血, 久臥傷氣, 久坐傷肉, 久立傷骨, 久行傷筋, 是謂五勞所傷”으로 표현하기도 하였다²⁰⁾.

발목염좌는 손상의 정도에 따라 3단계로 구분되며 1단계는 경도 염좌 상태로 인대의 파열은 없으나 손상된 부위에 압통과 약간의 부종 및 발목외측의 피하출혈은 없거나 경도로 있다. 2단계는 인대의 부분파열로 부종이 관찰되며 압통이 1단계에 비해 심하며 경도의 이완이나 불안정으로 인해 보행에 지장을 초래한다. 3단계는 인대의 완전한 파열로 육안으로 명확한 부종과 피하출혈 및 관절 불안정성이 확인된다²⁾. 이러한 발목염좌는 손상 초기에 효과적인 치료를 받지 않을 경우 만성발목 불안증으로 이환되는 확률이 높기 때문에, 치료는 재발 방지를 위해 환자 개인별로 조건에 따라 고려하고 전문적인 진료지침이 강조되고 있다²¹⁾.

한의학에서 봉독은 생리학적 특이물질이 인체에 미치는 약리작용을 이용한 치료방법으로 활용되는데, 벌의 독성분이 보익정기(補益正氣), 보신장양(補身壯陽), 거풍습(祛風濕)을 통한 부정기사(扶正去邪)의 효과가 있다고 설명한다²²⁾. 봉독약침은 봉독을 질병과 상관되는 경혈에 주입하여 질병치료에 응용되는 치료방법^{8,9)}으로, 기존의 봉독약침에 관한 실험연구에서 봉독약침이 항염, 진통, 해열, 활혈, 항경련, 면역증강 등에 유의성을 보여주고 있다^{13,14,22)}. 특히 급성 발목염좌에 대한 봉독약침치료의 임상적 효과를 일반침치료와 비교한 연구²²⁾를 살펴보면, 봉독약침이 발목염좌의 관절운동범위와 부종 등에 효과에서는 일반 침치료 효과와 비슷한 수준이었지만, 환자의 통증감소와 불편감 해소에서는 일반 침치료에 비해 빠른 효과를 나타내었다. 이 같은 효과는 봉독을 경혈에 투여할 때 경혈부위에 대한 봉독의 생리활성 효과와 함께 溫灸와 같은 온열자극이 야기는 것이라 해석하고 있다²²⁾.

봉독약침은 주입 방법에 따라 경혈 위치의 피내에 주입하는 방법과 해당 병소의 근육 부위에 직접 주입하는 방법이 있으며, 피하에 주입된 봉독은 혈관을 통해 체내로 빠르게 흡수되어 전신에 작용하여 치료효과를 높이기도 하지만 전신적인 과민반응이나 부작용의 위험을 초래할 수 있다. 근육 내에 주입된 봉독은 국소적 작용으로 국소부위의 항염증 및 진통 효과를 높이고 전신적인 과민반응이나 부작용의 위험을 최소화 한다. 이와 같이 봉독약침은 방법에 따라 봉독 반응이 달라질 수 있어서 응용방법에 주의와 선택이 필요하다^{23,24)}.

현재 3단계 수준의 급성 발목염좌 치료에 대한 경혈의 혈위 연구와 임상실험에서 다양한 방법에 따른 치료효과와 기전을 과학적으로 밝혀내고 있지만^{16,25,26)}, 3단계 수준의 급성 발목염좌에 대한 봉독약침의 경혈별 치료효과와 증상에 따른 봉독약침의 용량에 대한 지침은 부족하였다. 선행 연구결과에서 환측에 가한 양릉천과 현종의 전침자극이 3단계 수준의 발목염좌로 야기된 통증을 유의하게 억제하였으며, 통증회복효과에서 기준에 알려진 양노(SI6) 보다 우세하다는 것이 관찰되었다. 이와 같은 진통작용이 현종의 경우는 α -adrenoceptor와 관련이 있는 반면, 양릉천은 그렇지 않았다^{25,26)}. 또한 양릉천, 현종, 지오회에 대한 온침과 고주파온침 자극이 발목염좌로 야기된 통증에 대하여 회복효과를 뚜렷하게 나타내었다⁶⁾. 이에 수술적으로 유도된 3단계 수준의 급성 발목염좌 흰쥐에서 발목염좌 유발 부위의 경혈은 배제하고, 염좌 부위의 경맥 순행부위인 환측의 족소양담경에서 발목염좌에 치료적 특징을 지닌 양릉천(GB34), 현종(GB39), 지오회(GB42)를 선택하여 봉독약침의 효과를 비교 관찰하였다^{16,17)}.

아울러 경혈에 따라 봉독약침의 용량을 5 μ g/kg, 10 μ g/kg, 50 μ g/kg로 각각 20 μ l를 주입하여 경혈별 용량에 따라 주입 후

1~4시간과 1~7일의 날짜에 따른 FWBFR 값의 변화를 관찰하여 진통효과 및 통증 회복정도를 비교 관찰하였다. 이를 통해 임상에서의 봉독약침의 치료에 있어서 경혈과 용량에 따른 치료효과의 차이를 제시하고자 하였다.

봉독약침 직후의 진통효과 여부를 시간별로 관찰한 결과에서, 정상군의 양릉천, 현중, 지오회에 20 μ l의 생리식염수 주입은 혈위에 관계없이 FWBFR가 평균 62%로 보여주었는데, 이는 정상상태의 FWBFR의 60~65% 수준과 비슷하였다. 경혈별 봉독약침의 용량에 따른 FWBFR은 양릉천, 현중에서 용량이 증가할수록 FWBFR이 유의하게 감소하며 통증을 야기하는 결과를 보였다. 특히 양릉천에서 용량에 따라 통증이 심하게 나타났으며, 지오회는 50 μ g/kg에서만 통증이 야기 되었다. 정상 동물에서 봉독약침은 용량 의존적으로 용량이 높을수록 FWBFR가 감소되는 통증 유발을 확인하였고, 동일한 용량에서도 경혈별로 차이를 보임으로써 경혈의 부위별 특이성이 관찰되었다.

3단계 발목염좌를 유발한 실험군에서 생리식염수 20 μ l 주입에 따른 시간별 FWBFR은 양릉천에서 생리식염수 주입만으로도 발목염좌로 인한 통증이 심해지는 것이 나타났으며, 현중과 지오회에서는 유의한 변화가 관찰되지 않았다. 양릉천, 현중, 지오회에 각각 봉독약침 후에 시간별 비교에서는 FWBFR가 용량에 따라 유의한 감소가 나타났다. 특히 봉독 5 μ g/kg에서도 발목염좌로 인한 통증이 심해지는 결과를 보였고, 10 μ g/kg와 50 μ g/kg으로 용량이 증가할수록 통증 유발은 더 심하였다. 다만 지오회에서 5 μ g/kg과 10 μ g/kg의 봉독용량이 비슷한 수준 영향을 보였다. 이와 같이 정상과 발목염좌 유발 후에 봉독약침의 투여는 시간의 경과에 따라 경혈별 차이는 있으나 통증을 악화시키는 것으로 보여, Lee 등²⁷⁾의 선행연구에서 봉독이 급성 유해자극을 유발하는 물질로 작용하는 보고와 유사한 결과를 나타내는 것으로 사료된다.

3단계 발목염좌 유도 후 아무런 처치를 시행하지 않은 대조군(Control)의 날짜별 FWBFR은 1일째 32.8%에서 7일째 43.1%로 점차적으로 회복되었으나, 아직 정상적인 수준에 도달하지는 않았다. 선행연구에서 Yang 등²⁸⁾이 보고한 수기로 발목염좌를 유도한 이후 회복 과정에 비하여 지연되는 양상을 나타낸다. 수기를 이용해 염좌를 유발한 경우는 1단계 수준의 발목염좌 유발임을 고려할 때, 발목염좌의 손상정도에 따라 통증회복 과정의 차이를 보여주는 것으로 해석할 수 있다.

3단계 발목염좌 유도 후 24시간째부터 격일로 3회 동안 양릉천, 현중, 지오회에 용량에 따라 봉독약침 20 μ l를 주입하고, 매일 일정한 시간에 FWBFR를 측정하여 대조군과 7일간 누적 통증회복 효과를 비교하였다. 5 μ g/kg에서 양릉천은 3일째부터, 현중은 5일째

부터 유의한 통증회복이 관찰되었고, 10 μ g/kg과 50 μ g/kg의 용량에서는 경혈에 상관없이 모두 대조군보다 통증회복이 감소하고 지연되었다. 양릉천에 5 μ g/kg 봉독약침이 발목염좌로 야기된 통증의 회복을 촉진하는데 도움이 되었지만, 봉독약침 일회치지 직후에 나타난 시간에 따른 FWBFR의 감소는 이 용량이 적절한 수준인지 의문을 제기할 수 있으며, 나아가 임상적으로 적용하는 것이 타당하지 검토가 필요하다. 다만, 기존의 염증부위 주위에 봉독을 주입하여 강력한 또 다른 염증을 유발시켜 염증 관련 세포 및 물질들을 기존의 염증부위에서 봉독으로 유발된 염증부위로 경쟁적으로 집중시키는 기전을 보인다는 기존의 연구 결과^{29,30)}와 관련해 이해할 수 있다. 그리고 이러한 결과는 경혈에 따라 발목염좌 부위의 염증을 집중시키는 정도 차이로 통증회복에 영향을 미쳐 경혈별 특이성을 보이는 것으로 사료된다. 그렇기에 발목염좌의 급성기에 진통과 통증회복을 위한 봉독약침의 응용은 경혈의 선택과 더불어 사용되는 봉독 용량의 적절한 주입이 가장 중요할 것으로 생각된다. 비록 발목염좌의 급성기에 봉독약침 시술이 진통효과를 얻는데는 적절하지 않았으나, 저용량의 봉독약침시술이 발목염좌 통증회복에는 뚜렷한 효과를 나타냈기 때문이다.

본 연구는 실험동물에서 3단계 발목염좌를 유발하여 경혈별로 봉독약침의 용량에 따른 영향을 FWBFR의 변화로 관찰하였다. 현재 사용된 봉독약침의 용량만으로 봉독약침의 효과와 경혈의 특이성을 결론짓는 것은 미흡할 수 있지만, 연구결과를 통해 발목염좌 유발 직후의 급성기에 봉독약침이 진통작용을 중심으로 하는 효과에는 적합하지 않았다. 다만, 저용량의 경우에서 발목염좌 회복에는 효과적인 치료법으로 가능하리라 생각된다. 이를 객관화하기 위해서는 향후 3단계 수준의 발목염좌의 급성기와 회복기에 대한 추가적인 봉독약침의 연구가 필요하다고 사료된다.

결론

3단계 발목염좌를 유발한 흰쥐에서 흰측의 양릉천, 현중, 지오회에 각각 시술한 봉독약침이 통증정도를 나타내는 족부하중비율(FWBFR)에 미치는 영향을 비교 관찰하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 정상 및 발목염좌 유발동물에서 1회 주입한 봉독약침은 용량 의존적으로 족부하중비율을 감소시켰으며, 봉독 용량이 높을수록 정상 동물과 발목염좌 동물에서 통증을 높이는 결과를 보여주었다.
2. 봉독약침의 용량 의존적인 작용은 양릉천에서 가장 뚜렷하게 족부하중비율을 감소시키고 통증을 야기하였으며, 지오회의 봉독약침은 다른 경혈에 비하여 족부하중비율의 감소가 덜 야기되었다.

3. 발목염좌의 회복과정을 관찰한 결과에서는 저용량(5 μ g/kg)의 봉독약침에서 족부하중비율의 회복이 뚜렷하였다. 이러한 회복효과는 양릉천의 봉독약침 시술에서 가장 유의하게 관찰되었으나, 지오회의 봉독약침은 대조군에 비교하여 회복효과를 나타내지 않았다.

3단계 수준의 급성기 발목염좌의 급성기에는 봉독약침이 진통효과를 나타내지 않는 것으로 결론 지을 수 있다. 다만, 저용량의 봉독약침을 시간을 두고 반복 시술한 경우에서 발목염좌의 회복이 자연적인 회복보다는 뚜렷한 효과를 나타냈다. 이를 고려할 때, 발목염좌의 급성기에 적절한 침구임상진료지침을 여러 치료적 도구에서 고려하여 선택하고 시술시기를 결정하는 것이 중요하리라 추정된다.

감사의 글

This paper was supported by Wonkwang University in 2015.

References

1. Puffer JC. The sprained ankle. Clin Cornerstone 2001 ; 3(5) : 38-49.
2. Wolfe MW, Uhl TL, Mattacola CG, McCluskey LC. Management of ankle sprains. Am Fam Physician. 2001 ; 63(1) : 93-104.
3. 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.
4. Anandacoomarasamy A, Barnsley L. Long term outcomes of inversion ankle injuries. Br J Sports Med. 2005 ; 39 : 14(discussion).
5. 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.
6. Yang SB, Kim MS, Choi SJ, Kim JH. Analgesic Effects of Electroacupuncture, Warm Needling and Radio Frequency Warm Needling on Surgical Ankle Sprain Model in Rats. Korean Journal of Acupuncture. 2015 ; 32(1) : 20-9.
7. 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.
8. Kwon KR, Koh HK, Kim CH. The study of the introduction of Bee venom Acupuncture , Biochemistry and Pharmacology have been obtained the following results. Journal of Korean acupuncture & moxibustion medicine society. 1994 ; 1(11) : 159-71.
9. Kim JN. The miracle of Bee Venom therapy. Seoul. Kumkang publishing company. 1987 : 25, 90-110.
10. Park SY, Choi YY, Jeon IS, Koo ST, Kim KS, Sohn IC, et al. Capsaicin Pharmacopuncture Modulates Ankle Sprain Induced Pain in Rats. Korean Journal of Acupuncture. 2006 ; 2(23) : 113-23.
11. Koo ST, Cho MS, Park SS, Kim YT, Park KJ, Sohn IC, et al. Effect of Frutus gardeniae herbal acupuncture on the rat model of ankle sprain pain. Korean Journal of Acupuncture. 2005 ; 2(22) : 57-74.
12. Kim SG, Kim SJ, Jeong HH, Kim JH, Kim DH, Park SH, et al. Comparison Study for Effects of Pharmacopunctures of GB40 on Weight Bearing Ratio in Grade III Ankle Sprain Model. Journal of Korean acupuncture & moxibustion medicine society. 2014 ; 31(2) : 11-9.
13. Koh HK. Experimental Studies on the Effect of Bee Veenom Theraphy on the Analgesic, Anti-pyretic and Anti-inflammatory Action. The Society Korea Medicine. 1992 ; 13(1) : 283-92.
14. Seo BK, Baek YH, Park DS. Antinociceptive Effect and the Mechanism of Bee Venom Pharmacopuncture on Inflammatory Pain in the Rat Model of Collagen-induced Arthritis: Mediation by 5HT-3 & Muscarinic Cholinergic Receptors. Journal of Korean acupuncture & moxibustion medicine society. 2011 ; 1(28) : 37-44.
15. 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(2) : 161-4.
16. Merdians & Acupoints Compilation Committee of Korean Medical Colleges. Details of Meridians & Acupoints. A Guidebook for College Students. Daejeon : Jongryenam Publishing Co. 2010 : 268, 318, 506, 512-5.

17. 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.
18. The Korean Orthopedic Association. *Orthopedics*. Seoul : Newest Medicine Co. 1989 : 231, 322, 483.
19. Heo Jun. *DongUiBoGam*. Seoul : Bubin publishing Co. 2011 : 632.
20. Jin JP. Editor annotation. *Clinical use of Yellow Emperor's Classic of Internal Medicine recitation book*. Seoul : Bubin publishing Co. 2009 ; 164.
21. The Korean Orthopedic Association. *Orthopedics*. Seoul : Newest Medicine Co. 1989 : 231, 322, 483.
22. Lee H. The comparative study on the bee-venom therapy and common acupuncture therapy for the acute ankle sprain. *The Korean Journal of Meridian & Acupoint*. 2004; 21(4): 133-43.
23. Koh HG, Kwon KR, Yin CS. *Bee Venom Therapy*. Seoul. Kyung Hee University & Press. 2003. 181-91, 218-20.
24. Kim DE, Yu DS, Yeom SR, Kwon YD, Song YS. The Effect of Intra-articular Bee Venom Injection on Meniscal Injury: Four Cases Report. 2010 ; 20(1) : 219-30.
25. YangSB, 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.
26. Yang SB, Choi SJ, Lee SH, Kim MS, Sohn IC, Kim JH. The Mechanism for Analgesic Effects of Electroacupuncture on Surgical Ankle Sprain Model Classified as Grade 3 in Rats. *Korean Journal of Acupuncture*. 2013 ; 30(4) : 220-9.
27. Lee JH, Kwon YB, Han HJ, Mar WC, Lee HJ, YangI S, et al. Beevenom pretreatment has both an antinociceptive and anti-inflammatory effect on carrageenan-induced inflammation. *J Vet Med Sci*. 2001 ; 63(3) : 251-9.
28. 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.
29. Chang YH, Bliven ML. Anti-arthritic effect of bee venom. *Agents and Actions*. 1979 ; 9(2) : 205-11.
30. Thomsen P, Bjursten LM, Ahilstedt S, Bagge U, Bjorksten B. Inhibitory effect of honey bee venom on immune complex mediated leukocyte migration into rabbit knee-joints. *Agents and Actions*. 1984 ; 14(5/6) : 662-6.