

미세전류치료가 류마티스 관절염 유발 흰쥐의 Interleukin-1 발현에 미치는 영향

The Journal Korean Society of Physical Therapy



■이현민, 채윤원¹

■한국국제대학교 보건자연과학대학 물리치료학과, ¹광주보건대학 물리치료과

Influence of Microcurrent Therapy in Interleukin-1 Expression in Rheumatoid Arthritis Rats

Hyun-Min Lee, PT, PhD; Yun-Won Chae, PT, PhD¹

Department of Physical Therapy, College of Public Health and Natural Science, International University of Korea;

¹Department of Physical Therapy, Gwangju Health College University

Purpose: Electrical stimulation is one of several treatments recommended for RA patients. Electrical stimulation of RA patients, reduces pain, or facilitates joint motion prior to exercises. However, there is still limited evidence on the efficacy of electrical stimulation and thus any conclusions drawn about this method remain controversial. Recently, Microcurrent Electrical Neuromuscular Stimulation (MENS) has received significant attention as a potential method of electrical stimulation. In this study, we investigated the effect of microcurrent treatment in rheumatoid arthritis rat.

Methods: Subjects were allocated either to the control group or experimental group, which was subject to microcurrent stimulation. Interleukin-1 expression in the metatarsophlangeal joint and the oedema index in the ankle were used for classification and subsequent evaluation of pathology. Subjects were assessed at 1, 7 and 14 days after inducing rheumatoid arthritis through adjuvant injection. Thirty-six subjects, 18 in each group, were used in this study. Statistical analysis was performed by calculating the differences between the two groups and between each interval assessment. Categorical variables were compared between the two groups with the paired-T test. The one-way ANOVA test was performed to assess changes in ordinal variables.

Results: Baseline characteristics were similar in both groups. Statistically significant differences were found between the two groups. The biological marker of pro-inflammatory cytokine and oedema index were decreased in response to this treatment.

Conclusion: These data show that treatment of rheumatoid arthritis with a microcurrent stimulation device reduced the oedema index and pro-inflammatory cytokine IL-1.

Keywords: Adjuvant, Interleukin-1, Microcurrent, Rheumatoid arthritis

논문접수일: 2009년 4월 27일

수정접수일: 2009년 6월 11일

게재승인일: 2009년 6월 16일

교신저자: 채윤원, ywchae@ghc.ac.kr

1. 서론

류마티스 관절염은 자가면역질환의 일종으로 말초관절에 대칭적으로 지속적인 염증성 활막염으로 시작되고, 만성적인 경과를 밟으며 결국 관절의 파괴와 변형을 초래하는 만성 염증성 질환이다.¹ 활액막의 염증으로 활액막 내층(lining layer)의 증

식과 염증세포의 sublining zone으로의 유입이 특징인 병리적 소견을 보이며,² 대식세포와 T-cell에 의해 활액조직은 부종형성, 침윤(infiltration), 혈관신생(neoangiogenesis), 과증식(hyperplasia) 되고 활액막의 일부가 연골과 뼈를 침식하는 판누스(pannus) 조직으로 변형된다.^{3,4} 그러므로 관절연(joint margin)의 미란(erosion)과 이차적으로 연골하골의 파괴를 보이는 조직

학적 특징을 가지게 된다.⁵ 이로 인해 류마티스 관절염 환자에서는 관절의 변형, 동통, 부종, 경직, 운동제한으로 기능장애와 신체장애를 겪게 되고 직업장애를 가지며, 조기사망에 이르게도 한다.^{6,7} 이때 관절염증과 관절, 뼈의 파괴는 tumor necrosis factor alpha (TNF- α)와 interleukin-1 (IL-1)과 같은 염증전 시토카인(proinflammatory cytolines)이 중요한 매개물질로 작용한다.^{8,9}

현재까지 류마티스 관절염을 완치하거나 진행을 억제시키는 치료법이 정립되지 않은 실정이지만, 이 질환의 치료목적은 질병 활성도를 떨어뜨리고, 진행을 억제하여 최종적으로는 관절 손상과 변형을 예방하는데 있으며,¹ 환자의 통증, 변형 및 기능 제한을 감소시키기 위한 보존적인 치료법들이 약물요법과 함께 시행되고 있다.⁶ 보존적인 치료법으로는 관절가동범위, 근력 및 심폐능력을 향상시키기 위한 운동치료, 통증과 뻣뻣함을 감소시키기 위한 온열치료, 통증과 근육자극을 위한 전기치료가 실시되고 있다.

류마티스 관절염 환자에게 경피신경전기자극(transcutaneous electrical nerve stimulation), 전침(electroacupuncture), 맥동전류자극(pulsed electrical stimulation) 등의 전기자극이 치료에 광범위하게 적용되고 있고, 동물과 인간을 대상으로 많은 연구가 시행되어 치료효과가 증명되고 있다. 이러한 전기자극에 의한 류마티스 관절염의 치료기전은 관문조절설(gate control theory)에 의한 통증감소와, 내인성 아편물질(endogenous opioid) 분비에 의한 항염증 효과, 콜라겐 합성 증가 등으로 알려져 있다.¹⁰⁻¹² 또한 저전류 맥동전류자극이 형질막 Ca²⁺ ATPase와 세포내 Ca²⁺을 증가시키고 프로스타글란딘 E2 (prostaglandins E2) 생합성을 억제하여 항염증효과가 나타난다고 알려져 있다.¹³ 최근 전기치료 적용에 있어서 약한 치료강도를 사용하는 경향이 나타나고, 1,000 μ A 미만을 송출하는 전기치료장치인 미세전류자극을 이용한 치료법이 많이 이용되고 있다.^{14,15} 지금까지 미세전류를 이용한 연구들은 주로 창상,¹⁴ 힘줄,¹⁶ 근육^{17,18} 등의 연부조직에서 조직치유, 통증감소, 항염증 효과 등에 관한 연구가 이루어져 왔으나, 류마티스 관절염에서의 치료효과에 관한 연구는 부족한 실정이다.

본 연구에서는 adjuvant로 류마티스 관절염을 유발시킨 후 미세전류 적용에 따른 염증반응에 미치는 효과를 알아보기 위하여 실험동물의 발허리발가락관절(metatarsophalangeal joint)에서 염증반응 정도를 나타내는 세포 내 IL-1의 변화를 면역조직화학적 방법으로 관찰하고 류마티스 관절염의 진행 정도를 평가하는 뒷발(hind paw)의 부종을 관찰하여 미세전류치료의 생체 내 효과에 대하여 알아보려고 하는데 목적이 있다.

II. 연구방법

1. 실험동물

본 연구에서는 동일한 조건하에서 사육한 생후 8~10주, 체중 250~300g의 건강하고 성숙한 Sprague-Dawley계 흰쥐를 성별 구분 없이 36마리를 사용하였다. 실험동물은 무작위로 대조군(n=18)과 실험군(n=18)으로 구분하였고, 각 군당 6마리씩 1일군, 7일군, 14일군으로 배정하였다. 대조군은 실험군과 동일한 방법으로 류마티스 관절염 유발 후 표준사육장(290mm×430mm×180mm)에서 사육하였다. 실험군은 류마티스 관절염 유발 후 미세전류 자극을 적용시키고 표준사육장에서 사육하였다. 실험기간 중 물과 먹이는 무제한 공급하였고 실험실 온도는 25±2℃, 습도는 65±5%로 유지하며 일정한 조도와 광주기 및 암주기를 12시간으로 조절하여 흰쥐의 생활 주기에 맞추어 줌으로써 생활 습성을 일정하게 유지해 주었다.

2. 실험방법

1) 류마티스 관절염 모델의 제작

류마티스 관절염 모델의 제작은 Simões 등¹⁹의 방법에 따라 수행하였다. 흰쥐의 전신마취를 유도하기 위하여 럼퐁(Rompun, 바이엘 코리아, 한국)과 케타민(Ketamine, 유한양행, 한국)을 1:1로 섞은 마취제를 복강 내 주사(2ml/kg)하였다. 전신마취 후 흰쥐의 우측 후지 발바닥에 0.1ml adjuvant (Complete Freund Adjuvant, sigma-aldrich, 미국)를 피하 주사하였다. adjuvant 주사 후 발적, 부종이 나타나지 않은 경우 실험에서 제외시켰다.

2) 미세전류치료 적용

실험군은 류마티스 관절염 유발 후 1일부터 미세전류(EMI-580k, Cosmic Co., 한국)를 적용하였다. 본 연구에서 미세전류의 적용은 Park 등¹⁶의 연구와 유사하게 적용하였다. 흰쥐에 전신마취를 실시한 후 직경 1cm의 Ag-AgCl 전극(Biopac, 미국)을 사용하여 발목뼈(tarsal bone)에는 (-)극, 발허리뼈(metatarsal bone)에는 (+)극을 부착하여 미세전류(20 μ A, 5pps)를 적용하였다. 미세전류는 1일 1회 15분씩 실험기간 동안 적용하였다. 대조군은 전신마취 후 아무런 처치를 실시하지 않았다.

3. 측정방법

1) 류마티스 관절염 유발률

각 군당 adjuvant 주사 후 발적, 부종이 나타나지 않은 흰쥐의 숫자를 기록하였다. 류마티스 관절염이 유발된 마리수를 각 군에 할당된 흰쥐의 전체 마리수로 나누어서 100을 곱해준 백분율로 나타내었다.

2) 부종지수

류마티스 관절염 유발 전, 유발 후 1일, 7일, 14일에 모든 개체의 양측 뒷발에 발생한 부종을 측정하기 위해 발목관절 둘레 (ankle circumferences)의 길이를 실을 이용해 측정하였다. 부종지수는 다음의 공식을 이용하여 구하였다.¹⁹⁾

$$\text{Oedema index (OI)} = (\text{Cat}-\text{Cbt}) / (\text{Cbi}-\text{Cbt}) \times 100$$

(Cat = ankle circumference after treatment, Cbt = ankle circumference before treatment, Cbi = ankle circumference before the induction)

3) 면역조직화학법

실험적 처치를 마친 흰쥐는 마취한 후, 흉강을 열고 cannula를 좌심실을 통하여 오른대동맥에 삽입하고 0.9% NaCl로 관류수 세하고, 이어서 4% paraformaldehyde을 이용하여 관류고정을 실시하였다. 우측 발허리발가락관절이 포함되도록 정강뼈(tibia)의 면쪽에서 발목뼈(tarsal bone) 몸쪽 사이를 적출하고 10% 포르말린 용액에 1일간 고정한 후, 10% EDTA용액 침지시켜 3주간 탈회하였다. 탈회한 조직은 탈수, 청명, 파라핀 포매의 일반적 조직절편 제작 과정에 따라 처리하였다. 파라핀에 포매한 조직은 미세절단기(Model SM2000R, Leica, 독일)를 사용하여 10 μ m 두께로 가로 절단(transverse section)하여 슬라이드를 제작하고, IL-1의 면역반응 양상을 살펴보기 위해 면역조직화학법을 시행하였다.

조직절편 위에 1차 항체인 mouse anti-IL-1 β IgG (Chemicon International, 미국)를 1:1,000의 농도로 침적시키고 실온에서 24시간 동안 처리하였다. 일차항체 처리 후 biotinylated anti-mouse IgG (Vector Lab, Inc, 미국)를 1:25의 농도로 각각 90분간 처리하고 이후에 Vectastatin Elite ABC Reagent (Vector Lab, Inc, 미국)를 이용하여 3차 항체를 1시간 동안 처리하였다. 항체 처리과정 사이에서는 10 mM PB를 이용하여 10분씩 3회 수세하였다. 항체 처리가 종료된 조직 표본에 대하여 0.3% DAB (3, 3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride)를 처리하여 발색 반응을 유도하고 증류수로 10분씩 3회 수세한 후 표본을 건조시킨 후 통상의 탈수과정을 거쳐 광학현미경적 관찰을 위해 봉입을 실시하였다.

4. 자료분석

미세전류치료가 따른 발허리발가락관절 조직의 IL-1 면역반응에 미치는 영향을 확인하기 위하여 ScanScope CS (Aperio Technologies, 미국)와 개인용 컴퓨터를 연결시켜 Aperio Image Scope v9.1.19.1571 (Aperio Technologies, 미국) 프로그램을 사용하여 IL-1의 면역반응을 관찰하여 발현된 세포 수를 정량적으로 분석하였다.

통계처리는 SPSS 윈도우용 12.0 프로그램을 이용하여 실시하였다. 각 집단 내의 시간에 따른 부종지수와 IL-1의 면역반응성은 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였고, 사후분석으로는 Duncan의 다중범위검정을 실시하였다. 실험군과 대조군을 비교하기 위하여 독립표본 t-test를 실시하였다 (p<0.05).

III. 결과

1. 류마티스 관절염 유발률

adjuvant 주사 후 표준사육장에서 사육했던 흰쥐에서 2일째에 대조군에서 2마리, 실험군에서 2마리가 발적 및 부종이 나타나지 않아 실험에서 제외하였다. 실험군과 대조군의 개체수를 맞추기 위해 4마리의 흰쥐에 adjuvant를 주사하여 류마티스 관절염을 유발하였으며 조직검사를 위해 치료기간별로 희생시켰다.

Table 1. Rheumatoid arthritis induction ratio in each group

Group	Induction ratio
Control group	88.88
Experimental group	88.88

Unit: %

2. 부종지수

실험군과 대조군 모두 류마티스 관절염 유발 1일 후 최대 증가를 보였고, 이후 점진적인 증가를 보였다. 대조군은 부종지수가 7일 후에는 40%, 14일 후에는 20% 증가하였다. 실험군은 7일 시점, 14일 시점에서 대조군보다 유의하게 감소되는 것으로 나타났다(p<0.05)(Figure 1).

3. IL-1 면역반응성

IL-1을 항원으로 하는 면역조직화학 방법으로 염색한 면역양성 세포체는 작은 갈색의 과립상 구조로 나타났으며, 활액막 가장 자리에서 가장 많이 관찰되었다. 실험군과 대조군 모두 류마티스 관절염 유발 1일 후 IL-1에 대한 면역반응이 가장 강하게 관찰되었고, 7일 후에 현저한 감소를 보이고, 이후 점진적인 감소를 보였다. 또한 실험군은 7일 시점, 14일 시점에서 대조군보다 유의한 감소가 나타났다(p<0.05)(Figure 2, 3).

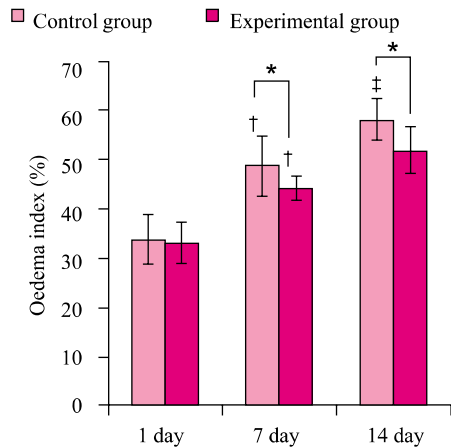


Figure 1. Oedema index in each group(* p<0.05 vs. control group, † p<0.05 vs. 1 day group, ‡ p<0.05 vs. 7 day group)

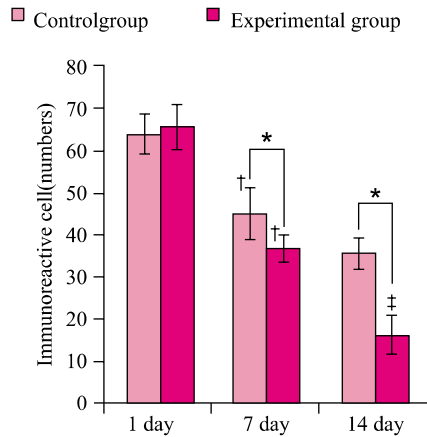


Figure 2. Changes of IL-1 immunoreactive cell in each group (* p<0.05 vs. control group, † p<0.05 vs. 1 day group, ‡ p<0.05 vs. 7 day group)

IV. 고찰

본 연구는 류마티스 관절염 유발 흰쥐를 대상으로 미세전류가 미치는 영향을 알아보기 위하여 발허리발가락관절 내 염증반응 정도를 나타내는 IL-1의 발현과 부종지수의 변화를 관찰하였다.

IL-1은 류마티스 관절염의 발병기전에서 중요한 염증 전 물질로 단핵구 또는 대식세포에서 유래되며 T-세포 활성을 통해 다형핵백혈구(polymorphonuclear leukocyte), 림프구, 단핵구의 화학주성(chemotaxis)을 촉진하고 염증조직으로 이들 세포의 침윤을 증가시킨다.²⁰ 따라서 활막 내 부종이 증가, 섬유모세포가 증식하고 판누스를 형성하여 연골, 골 및 관절주위 조직

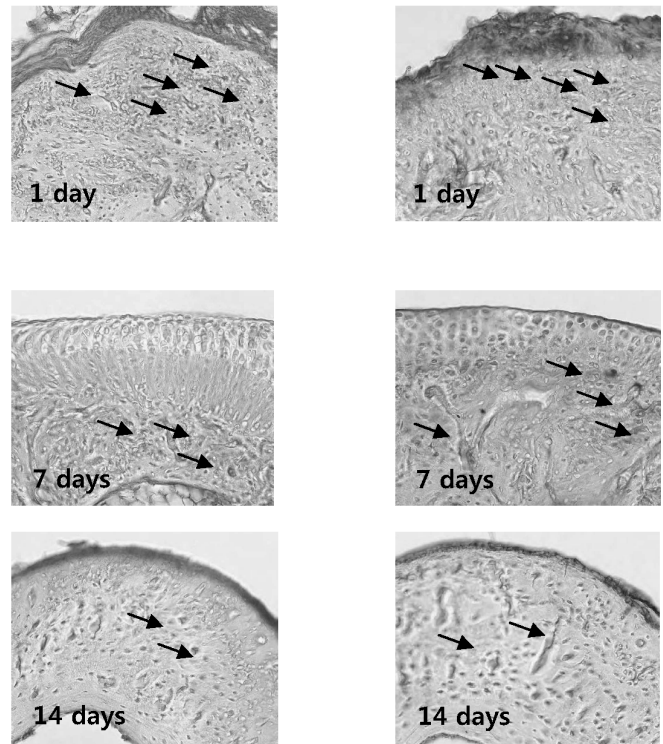


Figure 3. IL-1-immunoreactive cells in the metatarsophalangeal joint. Arrows indicate positive immunoreactive areas (×100).

의 파괴를 일으키게 된다. 또한 여러 연구에서 류마티스 관절염 초기에 IL-1의 증가를 보고하였다.^{8,9,17,21} 이에 본 연구에서는 류마티스 관절염 유발 흰쥐의 관절 조직에서 IL-1의 발현을 이용하여 그 임상적 유용성을 평가하고자 하였다. 그 결과 선행연구와 마찬가지로 adjuvant로 류마티스 관절염을 유발한 후 1일째 IL-1에 대한 면역반응을 가장 많이 관찰할 수 있었고, 시간이 지날수록 감소되는 양상을 관찰 할 수 있었다. 또한 실험동물의 발목 둘레를 측정하여 염증반응으로 나타나는 부종을 간접적으로 관찰한 결과, 발목 둘레가 시간이 지남에 따라 증가되는 양상을 보여 선행연구와 일치되는 것을 알 수 있었다.

미세전류치료는 다른 전기자극과 달리 1,000μA 미만을 송출하는 전기치료장치로 인체내의 세포에 흐르는 생체전기를 이용하여 손상된 조직을 복구, 회복시키며,²² 미세전류가 내인성 생체 전류를 촉진하고 손상부위에 저항을 낮추어 손상부위에 원활히 통전되게 하여 항상성을 다시 회복시키므로 미세전류는 치유과정에 반응하는 화학적, 전기적 반응을 형성하는 촉매제 역할을 한다고 알려져 있다.²³ Chang 등²⁴에 의하면 치유효과는 조직 내 아데노신 삼인산 생성, 아미노산 및 단백질 합성의 증가로 발생한다고 보고하였다.

미세전류치료는 창상,²⁵ 근손상,²⁶ 힘줄손상,²⁷ 가쪽위관절염

기염,²⁸ 수술 후 통증²⁹ 등 다양한 신체조직에서 효과가 입증되고 있으며, 낮은 용량으로 인하여 전기치료에 대한 신체 부담감을 줄일 수 있어, 치료효과를 세포수준에서 접근할 수 있는 새로운 치료방법으로 제시되고 있다.¹⁶ McMakin 등¹⁷은 경추 외상 환자를 대상으로 미세전류 적용 후 substance p 감소, β -endorphin 증가를 통한 통증감소와 혈장 내 염증 전 물질인 IL-1, IL-6, TNF- α 의 감소에 의한 항염증 효과를 확인하였다. 또한 Lambert 등²⁶은 세포내 Ca^{2+} 증가로 통증감소와 항염증 효과가 나타난다고 보고하였지만 정확한 치료기전은 알려져 있지 않다. 본 연구에서는 흰쥐에 adjuvant를 주사하여 류마티스 관절염을 유발 후 염증 전 시토카인 IL-1의 면역반응과 부종지수를 측정하여 미세전류의 효과를 알아보았다. 실험 결과, IL-1의 면역반응성을 감소시키고 부종지수를 감소시키는 것으로 나타나 미세전류가 염증 전 물질인 IL-1을 감소시키고 부종을 억제하는 것을 알 수 있었다.

본 연구의 제한점으로 사람과 달리 실험동물의 경우 그 과정이 수주 내로 신속하게 진행된다는 점을 감안할 때 미세전류 자극이 사람의 경우와 마찬가지로 효과가 있다고 단정하기 어렵고, 미세전류의 효과를 염증반응에만 국한하여 통증과 행동학적 검사를 통한 기능상의 효과를 규명할 수 없었다. 향후 임상에서 류마티스 관절염의 치료 방법으로서 미세전류자극이 널리 활용될 수 있도록 다각적인 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

V. 결론

본 연구의 결과는 미세전류치료가 류마티스 관절염 환자에서 염증 전 물질 IL-1 감소와 부종 억제에 많은 도움을 줄 수 있을 것으로 생각된다. 이러한 결과를 류마티스 관절염 환자의 보존적인 치료방법의 하나로 제시 될 수 있도록 더욱 많은 연구가 필요하다고 생각된다.

Author Contributions

Research design: Lee HM, Chae YW

Acquisition of data: Lee HM

Analysis and interpretation of data: Lee HM, Chae YW

Drafting of the manuscript: Lee HM

Administrative, technical, and material support: Lee HM

Research supervision: Chae YW

참고문헌

1. Lee YA, Hong SJ. Current strategies in treating rheumatoid

- arthritis. *J Kyung Hee Univ Med Cen.* 2007;23(1):7-14.
2. Lories RJ, Luyten FP. Bone morphogenetic protein signaling in joint homeostasis and disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2005;16(3):287-98.
 3. Zvaifler NJ, Tsai V, Alsalameh S et al. Pannocytes: Distinctive cells found in rheumatoid arthritis articular cartilage erosions. *Am J Pathol.* 1997;150(3):1125-38.
 4. Keeble JE, Brain SD. A role for substance p in arthritis? *Neurosci Lett.* 2004;361(1-3):176-9.
 5. Green MJ, Deodhar AA. Bone changes in early rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2001;15(1):105-23.
 6. Vliet Vlieland TP. Rehabilitation of people with rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2003;17(5):847-61.
 7. Bingham SJ, Moore JJ. Rheumatoid arthritis. *Best Practice & Research Clinical Haematology.* 2004;17(2):263-76.
 8. Ishihara K, Hirano T. Il-6 in autoimmune disease and chronic inflammatory proliferative disease. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2002;13(4-5):357-68.
 9. Leo ABJ, Wim BvdB. Il-1 in chronic arthritis, lessons from animal models. *Drug Discov Today Dis Mech.* 2006;3(2):169-75.
 10. Kalra A, Urban MO, Sluka KA. Blockade of opioid receptors in rostral ventral medulla prevents antihyperalgesia produced by transcutaneous electrical nerve stimulation (tens). *J Pharmacol Exp Ther.* 2001;298(1):257-63.
 11. Zhang SP, Zhang JS, Yung KK et al. Non-opioid-dependent anti-inflammatory effects of low frequency electroacupuncture. *Brain Res Bull.* 2004;62(4):327-34.
 12. Garland D, Holt P, Harrington JT et al. A 3-month, randomized, double-blind, placebo-controlled study to evaluate the safety and efficacy of a highly optimized, capacitively coupled, pulsed electrical stimulator in patients with osteoarthritis of the knee. *Osteoarthritis Cartilage.* 2007;15(6):630-7.
 13. Selvam R, Ganesan K, Narayana Raju KV et al. Low frequency and low intensity pulsed electromagnetic field exerts its antiinflammatory effect through restoration of plasma membrane calcium atpase activity. *Life Sci.* 2007;80(26):2403-10.
 14. Oh HJ, Kim JW, Kim MS et al. The effect of microcurrent stimulation on histological structure of wound in rat. *J Kor Soc Phys Ther* 2008;20(1):67-73.
 15. Kim GY, Kim YE, Kim SE et al. The effect of microcurrent stimulation on immediately early gene in pain induced model.

- J Kor Soc Phys Ther. 2004;16(3):9-21.
16. Park SH, Hwang YT, Lee HK. The effect of microamperage stimulation in mice achilles tendon injury. *Journal of Korea Sport Research*. 2007;18(4):157-65.
 17. McMakin CR, Gregory WM, Phillips TM. Cytokine changes with microcurrent treatment of fibromyalgia associated with cervical spine trauma. *J Bodyw Mov Ther*. 2005;9(3):169-76.
 18. Bonacci JA, Higbie EJ. Effects of microcurrent treatment on perceived pain and muscle strength following eccentric exercise. *J Athl Train*. 1997;32(2):119-23.
 19. Simoes SI, Delgado TC, Lopes RM et al. Developments in the rat adjuvant arthritis model and its use in therapeutic evaluation of novel non-invasive treatment by sod in transfersomes. *J Control Release*. 2005;103(2):419-34.
 20. Mori L, Iselin S, De Libero G et al. Attenuation of collagen-induced arthritis in 55-kda tnfr receptor type 1 (tnfr1)-igg1-treated and tnfr1-deficient mice. *J Immunol*. 1996;157(7):3178-82.
 21. Deng GM, Lenardo M. The role of immune cells and cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Drug Discov Today Dis Mech*. 2006;3(2):6.
 22. Park RJ. *Electrotherapy*. Seoul, Hyunmoon, 2003:424-35.
 23. Aaron RK, Boyan BD, Ciombor DM et al. Stimulation of growth factor synthesis by electric and electromagnetic fields. *Clin Orthop Relat Res*. 2004(419):30-7.
 24. Cheng N, Van Hoof H, Bockx E et al. The effects of electric currents on atp generation, protein synthesis, and membrane transport of rat skin. *Clin Orthop Relat Res*. 1982(171):264-72.
 25. Lee BY, Wendell K, Al-Waili N et al. Ultra-low microcurrent therapy: A novel approach for treatment of chronic resistant wounds. *Adv Ther*. 2007;24(6):1202-9.
 26. Lambert MI, Marcus P, Burgess T et al. Electro-membrane microcurrent therapy reduces signs and symptoms of muscle damage. *Med Sci Sports Exerc*. 2002;34(4):602-7.
 27. Chan HK, Fung DT, Ng GY. Effects of low-voltage microamperage stimulation on tendon healing in rats. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2007;37(7):399-403.
 28. El-Husseini T, El-Kawy S, Shalaby H et al. Microcurrent skin patches for postoperative pain control in total knee arthroplasty: A pilot study. *Int Orthop*. 2007;31(2):229-33.
 29. Sarhan TM, Doghem MA. 753 effect of microcurrent skin patch on the epidural fentanyl requirements for post operative pain relief of total hip arthroplasty. *Eur J Pain*. 2006;10 (Supplement 1):S196.