

# 알츠하이머 질환 마우스에서 중첩주파수를 활용한 미세전류가 인지능력 개선에 미치는 효과

김민정<sup>1</sup>, 이아영<sup>2</sup>, 조동식<sup>3</sup>, 조은주<sup>1\*</sup>  
<sup>1</sup>부산대학교 식품영양학과 <sup>2</sup>경남과학기술대학교 식품과학부 <sup>3</sup>(주)내츄럴웰테크

## Effect of Microcurrent Wave Superposition on Cognitive Improvement in Alzheimer's Disease Mice Model

Min Jeong Kim<sup>1</sup>, Ah Young Lee<sup>2</sup>, Dong Shik Cho<sup>3</sup>, Eun Ju Cho<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Science and Nutrition, Pusan National University

<sup>2</sup>Department of Food Science, Gyeongnam National University of Science and Technology

<sup>3</sup>Natural Well Tech. Co. Ltd

**요약** 본 연구에서는 Alzheimer's disease(AD) 마우스 모델에서 미세전류의 적용을 통한 인지능력 개선 효과를 확인하였다. ICR 마우스에 amyloid beta(A $\beta$ )를 뇌 내 주입하여 인지능력 손상을 유도한 후, 4가지 파형의 미세전류를 각각 적용하여 손상된 인지능력에 미치는 미세전류의 영향을 검토하였다. AD 마우스의 공간 및 물체 인지능력을 확인하기 위해 행동실험을 실시한 결과, novel object recognition test와 Morris water maze test에서 A $\beta$ 로 인해 손상되었던 인지능력이 미세전류 적용군에서 유의적으로 개선됨을 확인하였으며, 지질과산화 반응으로 인한 malondialdehyde의 뇌 내 생성량 또한 감소하였다. 뇌 조직에서 AD 관련 단백질 발현을 측정된 결과, 특히 미세전류 Wave4 [STEP FORM 파형(0, 1.5, 3, 5V), 중첩Hz 적용] 적용군에서 A $\beta$  생성 관련 단백질인  $\beta$ -secretase, presenilin 1, presenilin 2의 발현이 감소하였고 신경영양인자인 brain-derived neurotrophic factor 단백질 발현이 증가하였다. 이 결과를 바탕으로 AD 마우스에서 미세전류를 이용한 손상된 인지능력에 대한 개선 효과를 확인하였으며, AD 예방 및 치료를 위한 비약물적인 방법으로서 적용할 수 있을 것으로 기대된다.

**Abstract** In the present study, we investigated the effect of microcurrent against cognitive impairment in Alzheimer's disease (AD) mice model. The cognitive impairment was induced by intracerebroventricularly injection of amyloid beta (A $\beta$ ) to ICR mouse brain, and four kinds of microcurrent wave were applied to AD mice. We observed the improved cognitive ability in microcurrent-applied AD mice through novel object recognition test and Morris water maze test, compared to A $\beta$ -injected control group. The contents of malondialdehyde generated by A $\beta$  in the brain were also reduced by microcurrent application. These effects of microcurrent were related to the modulation of A $\beta$  producing and brain-derived neurotrophic factor (BDNF). Microcurrent down-regulated  $\beta$ -secretase, presenilin 1, and presenilin 2 which were related amyloidogenic pathway, and up-regulated human brain-derived neurotrophic factor in the mice brain, especially Wave4 group [STEP FORM wave form (0, 1.5, 3, 5V), wave superposition]. These results suggest that microcurrent application could provide help for improvement learning and memory ability, at least partly.

**Keywords** : Microcurrent, Alzheimer's Disease, Cognitive Ability, Amyloid Beta, Mouse

\*Corresponding Author : Eun Ju Cho(Pusan National Univ.)

Tel: +82-51-510-2837 email: ejcho@pusan.ac.kr

Received February 12, 2019

Revised March 27, 2019

Accepted May 3, 2019

Published May 31, 2019

## 1. 서론

최근 의학 기술 발달로 인간의 평균 수명이 연장되고 있으며, 노령인구도 급속하게 증가하고 있는 추세다. 이에 따라 치매, 뇌졸중, 당뇨, 암 등 다양한 만성퇴행성질환 유병 인구가 점차 증가하고 있으며, 그 중 대표적인 신경 퇴행성 질환인 치매는 기억력 장애, 판단력 상실 등 정신기능의 전반적인 장애가 나타나는 것을 특징으로 한다. 치매로 인한 기억력 손상과 인지 능력 저하는 일상생활을 유지하는 데에 있어 상당한 불편함을 초래하며, 이를 치료하기 위한 사회 경제적 부담 역시 나날이 증가하고 있다[1,2]. 치매의 약 60-70%를 차지하는 Alzheimer's disease(AD)형 치매는 amyloid beta(A $\beta$ )단백질이 뇌에 비정상적으로 침착되어 신경독성을 일으키고, 시냅스 소실, 또는 신경세포 사멸을 유도하여 인지기능 저하와 행동장애로 이어진다고 알려져 있다[3,4]. 이러한 질환의 대표적인 병리학적 원인이라고 알려진 A $\beta$  단백질은 amyloid precursor protein(APP)라는 단백질이  $\beta$ -secretase와  $\gamma$ -secretase에 의해 분해되어 생성되며, 정상인의 경우 A $\beta$ 를 생성하지 않는 경로를 통해 비독성의 물질로 대사되지만, 노화 등으로 인해 A $\beta$ 의 생성이 증가할 경우 뇌에 침착하여 병변을 초래할 수 있다[5,6]. 오늘날 AD를 치료하기 위한 여러 가지 약물이 개발되었으나 장기간 복용 시 간독성과 같은 심각한 부작용을 초래하기 때문에 보다 안전한 방법을 통해 AD를 예방 및 치료하고자 하는 시도가 활발히 이루어지고 있다[7].

임상에서 전기치료는 골관절염이나 근골격계 질환에 의한 통증감소 또는 손상된 조직의 치유를 돕는 수단으로 많이 사용되고 있으며, 이 중 미세전류 자극치료는 인체에서 거의 느낄 수 없는 1000  $\mu$ A 미만의 전류를 이용하는 치료 방법으로써, mA 단위를 사용하고 있는 기존의 전기치료와 구별이 된다[8]. 이전 연구에 따르면, 미세전류 자극 치료는 생체전기이론과 세포 내 이온 통로를 통해 세포들 사이의 특정한 신호 전달 체계에 영향을 받는다는 세포통신이론을 근거로 하고 있으며, 안정성이 탁월하고 부작용도 거의 없는 등의 장점을 가지고 있다[9]. 또한, 장기간 사용으로도 인체에 피로감을 주지 않으므로 일상생활 중 지속적으로 적용할 경우 긍정적인 효과를 기대할 수 있다[10]. 미세전류 자극치료와 관련한 국외 연구결과에 따르면, 지연성 근육통(delayed onset muscle soreness) 환자에게 미세전류를 적용했을 때 세포내 Ca $_2^+$ 항상성을 조절하여 근육통을 감소시켰고, 경추 외상으로 인한 섬유근육통(fibromyalgia) 환자에게서는

혈액 내 interleukin-1, interleukin-6, tumor necrosis factor- $\alpha$ 과 같은 사이토카인의 양을 감소시켜 통증을 경감시켰다[11,12]. 또한 미세전류를 이용한 상처 부위 드레싱은 세포 이동 및 증식, 혈관신생을 자극하고, 염증반응을 감소시켜 상처 치유 능력을 향상시켰으며, 우울증 및 외상 후 기억상실에 대한 개선효과도 나타난 것으로 보고되었다[13-15]. 국내에서는 토끼 경골 골절 후 미세전류자극을 통해 골형성단백질 BMP-4의 발현 증가를 확인하였다[16]. 또한 김지성과 민경옥[17]은 뇌 손상초기에 미세전류자극이 별아교세포 증식 활성화를 통해 뇌기능 회복을 시킬 수 있다고 보고하였다. 이러한 연구들은 미세전류가 체내 생리활성에 직·간접적으로 긍정적인 기능에 도움이 될 수 있다는 사실을 보여주며, 이를 근거로 최근에는 여러 가지 질환 환자들에게 행동학적, 신경학적 장애를 완화시키기 위해서 미세전류를 많이 활용하고 있다[18,19]. 그러나 AD를 일으키는 A $\beta$ 의 뇌내 주입으로 인지 능력이 손상된 마우스에서 미세전류 자극이 미치는 영향에 대한 연구는 국내외를 막론하고 전무한 실정이다. 또한 전류를 이용한 생체 치료 시 Waveform에 따라서 체내에 미치는 영향이 달라진다는 연구 결과가 보고됨에 따라 임상에 적용할 미세전류 디바이스를 개발하기 위해서는 다양한 파형의 미세전류를 적용하여 가장 효과적인 파형을 파악할 필요가 있다[20].

따라서 본 연구에서는 A $\beta$ 로 AD가 유도된 마우스 모델을 이용하여 미세전류를 적용하였을 때 인지능력에 미치는 영향을 확인하였으며, 4가지 파형 [Wave1, SAW\_Minus파형(중첩Hz 미적용); Wave2, SAW파형(중첩Hz 적용); Wave3, SQUARE파형(중첩Hz 적용); Wave4, STEP FORM파형(중첩Hz 적용)]의 비교연구를 통해 임상에서 가장 효과적으로 이용할 수 있는 파형을 알아보고 그 활용 가능성을 확인하고자 한다.

## 2. 연구방법

### 2.1 실험재료

실험에 사용한 A $\beta_{25-35}$ , malondialdehyde(MDA)는 Sigma Aldrich(Saint Louis, Missouri, USA)사 제품을 구매하였다. Sodium chloride(NaCl)은 Bio Basics Inc.(Ontario, Canada)에서 구입하였다. Zoletil은 Virbac Korea(Seoul, Korea)사 제품을 구매하여 사용하였다.

## 2.2 동물 사육 및 실험군 배치

본 실험에 사용된 동물인 5주령의 ICR 마우스(25-30 g, 수컷, 계통: CrJOri:CD1)는 한국 오리엔트(주) (Busan, Korea)에서 구입하였고, 물과 식이는 자유롭게 공급하였다. 사육실은 12시간 간격으로 light-dark cycle을 유지하였으며, 온도  $20 \pm 2^\circ\text{C}$ , 습도  $50 \pm 10\%$ 의 환경에서 사육하였다. 사료는 퓨리나(Sungnam, Korea)의 고형사료(조단백질 21.1%, 조지방 3.5%, 조섬유 5.0%, 조회분 8.0%, 칼슘 0.6%, 인 0.6%)를 공급하였으며, 음용수로 정수한 물을 자유롭게 먹을 수 있도록 하였다. 실험동물의 수는 기존 실험 결과 및 실험 도중 탈락가능성 20%를 고려하여 각 군당 8마리씩 총 6군으로 선정하였다 [21,22]. 군별로 마우스 체중에서 유의성이 나타나지 않도록 난괴법을 통해 마우스를 분류하였으며, 정상군(normal),  $A\beta_{25-35}$  처리군(control),  $A\beta_{25-35}$  처리 후 미세전류 파형1 적용군(Wave1),  $A\beta_{25-35}$  처리 후 미세전류 파형2 적용군(Wave2),  $A\beta_{25-35}$  처리 후 미세전류 파형3 적용군(Wave3),  $A\beta_{25-35}$  처리 후 미세전류 파형4 적용군(Wave4)으로 나누어 실험하였다. 모든 실험은 부산대학교 동물실험윤리위원회의 승인(승인번호: PNU-2018-1941)하에 수행되었다.

## 2.3 기억 손상 유발

ICR 마우스를 zoletil 50(10 mg/kg)을 사용하여 복강주사로 마취시킨 후  $37^\circ\text{C}$ 의 배양기에서 3일간 incubation 시켜 응집시킨  $A\beta_{25-35}$ 를 각 실험동물의 bregma(두개골 계측점)에서 caudal(꼬리쪽) 방향으로 0.5 mm, midline(정중선)에서 오른쪽으로 1.0 mm의 정수리에 2.2 mm 깊이로  $A\beta$ 를 5  $\mu\text{L}$ 의 양으로 약 30초 동안 천천히 뇌 내 주입하였다. 모든 주입은 26-gauge needle이 달려있는 10  $\mu\text{L}$  Hamilton microliter syringe를 이용하였으며, normal군의 경우는 같은 시술 과정으로  $A\beta$ 를 주입하는 대신 같은 양의 생리식염수를 주입하였다. AD 유도 후 인지 능력 향상 효과를 확인하기 위하여 마우스에 미세전류기를 적용하였으며, 본 연구의 실험 스케줄은 Figure 1과 같다.

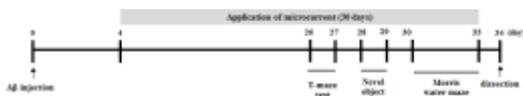


Fig. 1. Time schedules of application of microcurrent and behavioral tests in Alzheimer's disease mice model.

## 2.4 미세전류 적용

실험에 사용된 미세전류기(Natural Well Tech, Busan, Korea)는  $A\beta$ 를 주입한 4일 째 되는 날부터 적용하였다. 마우스의 발이 닿으면 전기 자극을 받도록 cage 밑바닥과 동일한 사이즈로 제작된 동판(38 cm × 23 cm × 1T)을 설치한 뒤 미세전류기를 연결하여 전기 자극을 가하였다. 전류기의 4가지 파형을 살펴보면, Wave1은 SAW\_Minus파형(중첩Hz 미적용), Wave2 파형은 SAW파형(중첩 Hz적용), Wave3는 SQUARE파형(중첩 Hz적용), Wave4 파형은 STEP FORM파형(중첩 Hz적용)으로 나누어 각 그룹에 적용하였다. 미세전류의 세기는 1  $\mu\text{A}$ (250 ohm), 전압은 5 V로 설정하였으며, 기본 주파수는 7 Hz에 Wave2,3,4는 중첩 주파수 44 KHz를 각각 적용하였다. 미세전류는 하루 12시간씩 총 30일간 자극을 가하였다.

## 2.5 T형 미로(T-maze)

T-maze 상자는 외부가 보이지 않는 흑색 아크릴로 시작 부분, 왼쪽 통로와 오른쪽 통로(폭 12 cm, 높이 20 cm, 출발부 76 cm, 오른팔 · 왼팔 각각 31.5 cm)를 구성하고, 오른쪽 통로는 분리 가능한 차단 문을 설치하여 사용하였다. 첫째 날에는 마우스를 T-maze 상자 시작 부분에 배치하고 오른쪽 통로의 문을 차단하여 10분간 자유롭게 탐색하도록 한 뒤, 왼쪽 통로에 들어간 횟수를 기록하였다(훈련기간). 24시간 후에는 차단 문을 제거하여 마우스를 동일하게 배치시키고, 10분간 왼쪽 통로(old route)와 오른쪽 통로(new route)에 들어간 횟수를 측정하였다(시험기간). 전체 통로에 들어간 횟수와 좌우 통로에 들어간 횟수를 기록하여 공간 지각 능력(%)을 산출하였다(Fig. 2)[23].

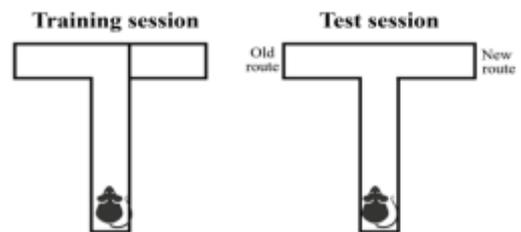


Fig. 2. T-maze test. During the training session, the only one arm is opened that is specified by the experimenter. After 24 h, both arm are opened and the mouse is required to choose between two arms.

## 2.6 물체 인지 실험(Novel object recognition test)

두 개의 모양과 크기가 같은 물체(A, A')를 흑색 아크릴 상자(40 × 40 × 40 cm<sup>3</sup>) 안에 고정시킨 후, 첫째 날에는 마우스를 상자의 중심에서 출발시켜 10분 간 자유롭게 각 물체를 만지도록 하여 그 횟수를 기록하였다(훈련기간). 24시간 후에는 두 개의 물체 중 하나를 새로운 물체로 바꾼 후(A, B) 마우스는 시험기간과 동일한 위치에서 출발시키고, 원래 있었던 물체(A)와 새로운 물체(B)를 만지는 횟수를 기록하였다(시험기간). 총 물체를 만진 횟수에 비교하여 원래 있었던 물체와 새로운 물체를 만지는 횟수를 기록하여 물체인지능력(%)을 산출하였다(Fig. 3)[24].

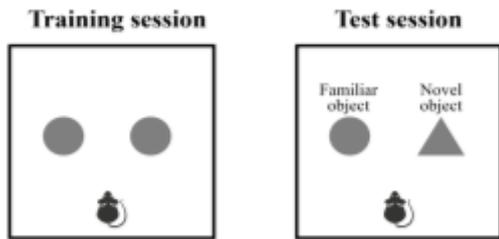


Fig. 3. Novel object recognition test. During the training session, two identical subjects are exist in the test box. After 24 h, one subject is changed and the mouse is required to choose between two different subjects.

## 2.7 수조 미로 실험(Morris water maze test)

동그란 수조(지름 150 cm, 높이 30 cm)를 무작위로 4부분으로 나누어, 한 사분면의 중앙에 눈에 보이지 않는 도피대(지름 8 cm)를 수면 1 cm 아래에 설치하였다. 물에 잘 녹으며 독성이 없는 흰색물감을 타서 마우스가 수영할 때 직접 숨겨진 도피대를 찾아 갈 수 없도록 물을 불투명하게 유지시켰다. 훈련 기간 동안 도피대의 위치를 변화시키지 않고, 수조의 각 사분면의 벽에 4개의 서로 다른 표식을 붙여 도피대를 찾아가도록 시각적 단서(visual clue)로써 제공하였다. 훈련 기간은 3일 동안 4시간 간격으로 3회씩 실시하였으며, 훈련 기간 동안 마우스를 임의의 시작점에서 수조에 넣어 60초 동안 자유롭게 숨겨진 도피대를 찾을 수 있도록 하고, 시간을 기록하였다. 도피대를 찾으면 보상으로 도피대에서 15초 동안 휴식을 허용하고, 60초 이내에 도피대를 찾지 못한 경우 마우스를 도피대로 유도하여 15초 동안 도피대 위에서 공간 단서를 인지시켜 도피대의 위치를 인식시켰다. 훈련

이 완료된 4일째에는 2가지 test를 실시하였다(시험기간). 첫 번째 test는 이전과 같은 방법으로 실험을 수행하여 숨겨진 도피대(hidden platform)를 찾는 시간을 기록하고, 두 번째 test 물을 투명하게하고 도피대(exposed platform)에 도달하는 시간을 측정하여 시각 능력과 운동능력이 실험 결과에 미치는 영향을 확인하였다(Fig. 4)[25].

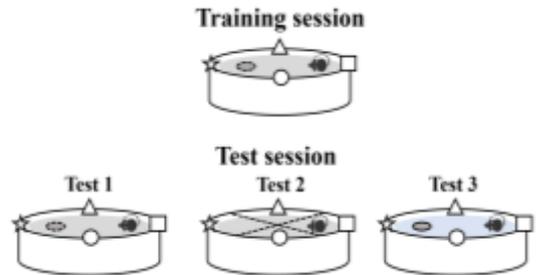


Fig. 4. Morris water maze test. During the training session, the mouse finds hidden platform that is located in a large round pool of opaque water. In the test session, At the 4th day, tests are carried out.

## 2.8 지질과산화 측정

적출한 뇌 조직을 homogenizer를 이용하여 생리식염수로 균질화 시킨 후 3,000 rpm에서 10분간 원심분리시켜 얻은 조직 상층액을 1% phosphoric acid와 0.67% Thiobarbituric acid를 혼합하여 95℃에서 45분간 반응시킨 후 ice에서 cooling하여 butanol 2 mL를 첨가하여 3,000 rpm에서 10분간 원심분리한 뒤 상층액을 540 nm에서 흡광도를 측정하였다. 지질과산화 정도는 MDA를 농도별로 제조하여 얻은 표준곡선으로 산출하였다[26].

## 2.9 Western blotting(웨스턴블롯팅)

적출한 뇌 조직은 homogenizer를 이용하여 균질화 시킨 후, RIPA buffer를 첨가한 다음 4℃, 12,000 rpm에서 30분간 원심분리하고 상층액을 tube에 옮겨, Bio-Rad protein assay kit를 이용하여 단백질 정량을 실시하였다. 각각의 시료를 10% 또는 13% SDS-polyacrylamide gel에서 전기영동하여 분리하고, nitrocellulose membrane에 transfer 하여 5% skim milk에서 1시간 blocking 하였다. APP processing 및 신경영양관련 1차 항체 [BACE(1:1000, Cell Signaling, Beverly, MA, U.S.A.);

presenilin 1(PS1, 1:1000, Cell Signaling); PS2 (1:1000, Cell Signaling); Brain derived neurotrophic factor(BDNF, 1:200, Santa Cruz) 및  $\beta$ -actin(1:200, Santa Cruz)들을 overnight 반응시킨 후, 2차 항체 (1:1000, Cell Signaling)와 상온에서 1시간 반응시켰다. 이후 PBS-T로 2번 세척 후 pico-enhanced peroxidase detection(ELPIS-Biotech, Daejeon, Korea)과 반응시켜 Chemiluminescence image system(Davinch-ChemiTM)을 통해 단백질 발현을 확인하였다.

### 2.10 통계처리

각 군들로부터 얻은 실험 결과들은 평균±표준편차(mean±SD)로 나타내었다. Statistical Package for the Social Sciences(SPSS) statistics version 23.0을 이용하여 T-maze, 물체 인지 실험에서는 각각 기존 통로와 새로운 통로 간, 또는 기존 물체와 새로운 물체간의 평균 간 유의성을 Student's *t*-test( $P < 0.05$ )를 이용하여 검증하였으며, 지질과산화실험과 단백질 발현 실험 결과는 analysis of variance(ANOVA)를 구한 후 Tukey's test( $P < 0.05$ )로 사후 검정하여 각 군의 평균 간 유의성을 검증하였다.

## 3. 결론 및 고찰

### 3.1 T형 미로를 통한 공간 인지능력 개선 효과

마우스는 새로운 물체나 공간에 대해 호기심이 많은 동물임을 착안하여 공간 기억 능력을 측정하기 위해 T-maze 실험을 수행하였다[27,28]. 마우스를 T-maze의 출발 지점에 놓고 두 팔 중에 한 팔 구역을 막아 다른 한 팔 구역에만 들어갈 수 있도록 훈련시킨 뒤 24시간 후 막았던 한 팔 장치를 치우고 새로운 구역에 들어가는 횟수를 기록하였다. 기존 route와 새로운 route에 들어가는 횟수의 비율을 측정하였을 때, normal군은 새로운 route로 들어가는 횟수가 기존의 route에 비해 유의적으로 증가하였으나(Student's *t*-test,  $P = 0.000155$ ), control군은 유의적인 차이가 나타나지 않아  $A\beta_{25-35}$ 에 의해 공간 인지 능력이 손상된 것을 확인할 수 있었으며(Student's *t*-test,  $P = 0.974981$ ), 미세전류를 적용한 군 또한 유의적인 차이를 나타내지 않았다(Student's *t*-test, Wave1:  $P = 0.130987$ , Wave2:  $P = 0.955480$ ,

Wave3:  $P = 0.353909$ , Wave4:  $P = 0.285335$ )(Fig. 5).

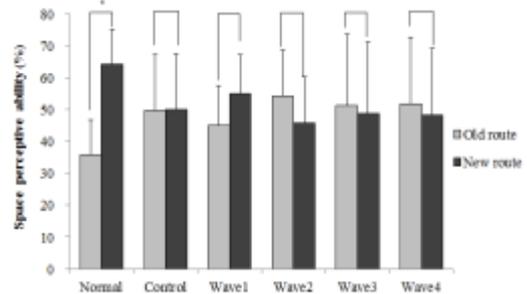


Fig. 5. Effect of microcurrent on spatial alternation test in  $A\beta_{25-35}$ -injected mice. Values are mean±SD. \*The space perceptible abilities for old and new routes are significantly different as determined by Student's *t*-test ( $P < 0.05$ ).

### 3.2 물체 인지 실험을 통한 물체 인지능력 개선 효과

물체 인지 실험은 이전에 봤던 물체와 새로운 물체 간의 탐구력 차이를 기억 행동의 지표로 측정한다. 마우스는 동일한 두 물체를 제시하면 자연스럽게 호기심이 유발되어 두 물체를 만지게 되고 이 때 통상적으로 두 물체를 만지는 횟수가 비슷하다. 두 물체 중 하나를 새로운 물체로 바꿔 놓으면 보통 마우스는 새로운 물체에 더 많은 호기심을 가져 만지는 횟수가 더 커지는 반면, 기억력이 손상된 마우스는 새로운 물체를 구분하지 못해 만지는 횟수의 증가가 나타나지 않는다[29,30]. 본 연구에서 normal군은 기존 물체와 새로운 물체의 탐구비율이 각각 41.74%과 62.37%로 유의적으로 증가한 것을 확인하였으나(Student's *t*-test,  $P = 0.000278$ ), control군은

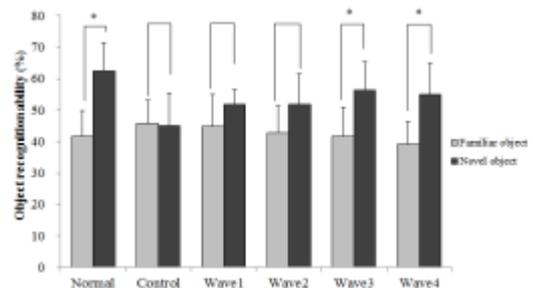


Fig. 6. Effect of microcurrent on novel object recognition test in  $A\beta_{25-35}$ -injected mice. Values are mean±SD. \*The perceptible abilities for familiar and novel object are significantly different as determined by Student's *t*-test ( $P < 0.05$ ).

두 물체를 만지는 횟수가 유의적인 차이가 나타나지 않아  $A\beta_{25-35}$ 에 의해 물체를 인지하는 능력이 손상되었음을 알 수 있었다(Student's *t*-test,  $P = 0.878510$ ). 그러나 미세전류기 Wave3과 Wave4를 적용한 군에서는 새로운 물체에 대한 탐지 비율이 유의적으로 높아지는 것으로 보아  $A\beta_{25-35}$ 로 손상된 물체인지 능력을 개선시키는 것을 확인할 수 있었다(Student's *t*-test, Wave1:  $P = 0.101939$ , Wave2:  $P = 0.067975$ , Wave3:  $P = 0.006160$ , Wave4:  $P = 0.002724$ )(Fig. 6).

### 3.3 수조 미로 실험을 통한 장기 기억 능력 개선 효과

마우스는 천부적으로 수영능력이 상당히 뛰어난 것으로 알려져 있다. 또한, 마우스의 해마는 다른 동물과 비교해 상대적으로 크므로, 해마 의존적 공간학습 능력을 평가하는 수중미로 실험을 실행하였다[31,32]. 훈련기간 3일 동안 normal군, 파형이 다른 4가지 미세전류기 적용군은 도피대에 도달하는 시간이 줄어드는 것을 확인할 수 있었지만,  $A\beta_{25-35}$ 를 뇌 내 주입한 control군은 도피대에 도달하는 시간이 다른 실험군에 비하여 상대적으로 길었다(Fig. 7).

마지막 날의 실험에서 마우스가 도피대를 찾아가는 것이 인지능력이 아닌 단순히 운동능력이나 시각능력을 이용하여 찾아가는 것인지 알아보기 위해 숨겨진 도피대와 노출된 도피대로 두 가지 실험을 실시하였다(Fig. 7). 마우스가 숨겨진 도피대를 찾아가는 시간을 측정하였을 때 control군은 normal군에 비해 도피대를 찾아가는 시간이 유의적으로 느렸고[F(5,42) = 3.50,  $P < 0.005$ ], 미세전류를 적용한 군은 모두 도피대를 찾아가는 시간이 control군과 비교하여 감소하는 경향을 보였으나 유의성은 나타나지 않았다. 반면, 노출된 도피대를 찾아가는 시간은 모든 군에서 유의성이 없었다. 이로 인해 Morris water maze 실험 결과에서 마우스가 운동능력 차이나 시각능력 차이로 인한 문제가 아닌, 기억력 손상으로 인한 공간인지능력의 차이로 일어나는 것임을 확인할 수 있었다(Fig. 8).

이전 연구에 따르면 두뇌 자극은 신경 및 정신의학적인 질환에 대한 개선효과를 나타내었으며, 특히 뇌에 전기적 자극을 가했을 때, 두뇌의 기능적 활성화를 유도하고, 신경전달물질들의 분비를 변화시키는 것으로 보고되었다[33-35]. 또한 권용현 등[36]은 지속적인 전기 자극을 적용함으로써 뇌 세포가 활성화되는 것을 관찰하여 두뇌 전기 자극을 뇌 세포 활성을 통한 인지 및 운동기능 손상

에 대한 효과적인 치료방법으로 제시하였다. 따라서 본 연구에서 행동실험을 통해 확인한 마우스의 인지능력 및 학습·기억능력 개선 효과는 미세전류 자극에 의한 것으로 사료된다.

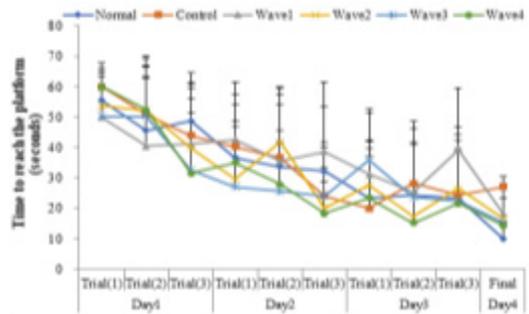


Fig. 7. Effect of microcurrent on spatial learning memory impairment in Morris water maze test in  $A\beta_{25-35}$ -injected mice. Values are mean  $\pm$  SD.

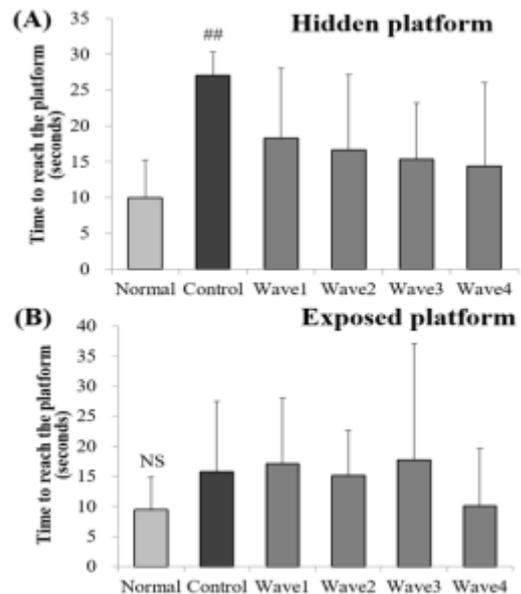


Fig. 8. Effects of microcurrent on latency to reach the hidden (A) and exposed (B) platform in the Morris water maze test on the final test day in  $A\beta_{25-35}$ -injected mice. Values are mean  $\pm$  SD. ## $P < 0.005$  compared to normal group. NS: No significance.

### 3.4 뇌 조직에서의 지질과산화 억제 효과

지질과산화 반응은 활성산소종이 체내 구성분자의 변

화를 일으키고, 세포막의 불포화 지방산과의 연쇄반응을 통하여 지질과산화물을 촉진하며, 그 결과 최종산물인 MDA 함량이 증가하게 된다. MDA는 지질과산화의 척도로 사용되어지며  $A\beta$ 를 뇌에 주입하게 되면 MDA의 양이 현저하게 증가한다고 보고되었다[37-39]. 본 연구에서는  $A\beta_{25-35}$ 에 의해 유발된 지질과산화에 대한 미세전류기의 보호 효과를 측정하였다. Figure 9에 나타난 바와 같이, MDA 수치가 normal군은 55.36 nmol/mg protein인 반면 control군은 81.17 nmol/mg protein으로  $A\beta_{25-35}$  주입으로 인하여 지질과산화가 진행되었음을 알 수 있었다( $F(5,42) = 13.74, P < 0.001$ ). 반면, 미세전류기를 적용하였을 때, MDA 생성량이 유의적으로 억제된 것을 확인할 수 있었으며, 특히 Wave4군에서 42.79 nmol/mg protein으로 감소한 것으로 보아  $A\beta_{25-35}$ 로 유도된 지질과산화에 대한 억제효과가 있는 것을 확인할 수 있었다( $F(5,42) = 13.74, \text{Wave1: } P < 0.001, \text{Wave2: } P < 0.05, \text{Wave3: } P < 0.001, \text{Wave4: } P < 0.001$ ).

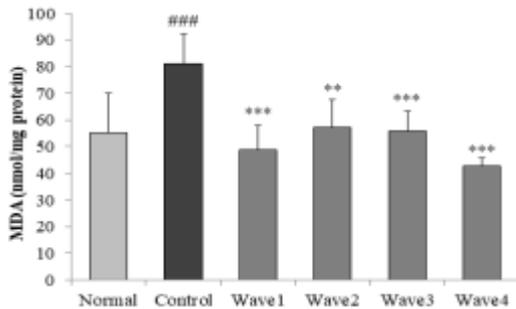


Fig. 9. Effect of microcurrent on lipid peroxidation in  $A\beta_{25-35}$ -injected mice. Values are mean  $\pm$  SD. ###  $P < 0.001$  compared to normal group; \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$  compared to control group.

### 3.5 $A\beta$ 생성 관련 단백질 발현에 대한 미세전류의 효과

APP는 amyloidogenic pathway를 통해 대사될 경우,  $\beta$ -secretase의 작용을 받아 APP의 아미노 말단이 절단되어 CTF- $\beta$ 를 생성하고, 이는 PS1과 PS2로 구성된  $\gamma$ -secretase에 의해 분할되어  $A\beta$ 를 생성한다. 이로 인해 축적된  $A\beta$ 는 뇌의 hippocampus, cortex 등에서 신경세포에 독성을 일으켜 인지능력의 손상을 일으킨다[40]. 미세전류기의 적용이  $A\beta$  생성 기전에 미치는 영향을 확인하기 위해 뇌 조직에서 BACE, PS1, PS2 단백질을

발현을 확인한 결과,  $A\beta_{25-35}$ 를 뇌 내 주입한 control군에서  $A\beta_{25-35}$ 를 주입하지 않은 normal군에 비해 유의적으로 BACE, PS1, PS2의 발현이 증가하여 amyloidogenic pathway에 의한  $A\beta$ 생성이 증가됨을 확인하였다 [ $F_{\text{BACE}}(5,12) = 176.29, P < 0.001; F_{\text{PS1}}(5,12) = 43.71, P < 0.001; F_{\text{PS2}}(5,12) = 170.26, P < 0.001$ ](Fig. 10). 반면, 미세전류기를 적용했을 때, Wave4군에서 BACE, PS1, PS2의 단백질 과발현이 유의적으로 저해된 것을 확인하여 미세전류기 적용이  $A\beta$ 생성을 억제시킬 수 있

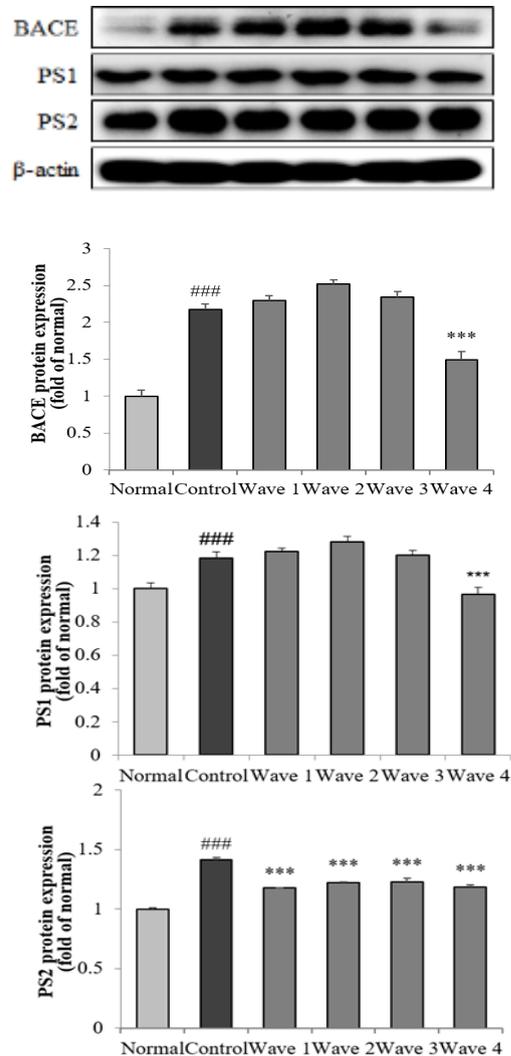


Fig. 10. Effect of microcurrent on the protein levels of BACE, PS1, and PS2 in the brain of  $A\beta_{25-35}$ -injected mice. Values are mean  $\pm$  SD. ###  $P < 0.001$  compared to normal group; \*\*\*  $P < 0.001$  compared to control group.

는 것으로 사료된다( $F_{BACE}(5,12) = 176.29$ , Wave4:  $P < 0.001$ ;  $F_{PS1}(5,12) = 43.71$ , Wave4:  $P < 0.001$ ;  $F_{PS2}(5,12) = 170.26$ , Wave1:  $P < 0.001$ , Wave2:  $P < 0.001$ , Wave3:  $P < 0.001$ , Wave4:  $P < 0.001$ ).

### 3.6 BDNF 단백질 발현에 대한 미세전류의 효과

BDNF는 신경세포의 성장과 발달에 중요한 역할을 할 뿐만 아니라, 신경 가소성에도 관여한다.  $A\beta$ 로 인해 뇌 내 BDNF 단백질 발현이 억제될 경우, 기억능력의 손상으로 이어질 수 있다고 보고되고 있다[41]. 본 연구 결과에서  $A\beta$ 를 주입한 control군에서는 BDNF의 단백질 발현이 normal군에 비해 현저히 감소된 것을 확인하였다 ( $F(5,12) = 553.26$ ,  $P < 0.001$ ) (Fig. 11). 그러나 Wave3과 Wave4를 적용한 그룹에서  $A\beta_{25-35}$  처리로 인해 억제되었던 BDNF의 발현이 유의적으로 증가하였으며 특히 Wave4군에서 BDNF의 발현이 더욱 효과적으로 증가함을 확인하였다 ( $F(5,12) = 553.26$ , Wave3:  $P < 0.01$ , Wave4:  $P < 0.001$ ).

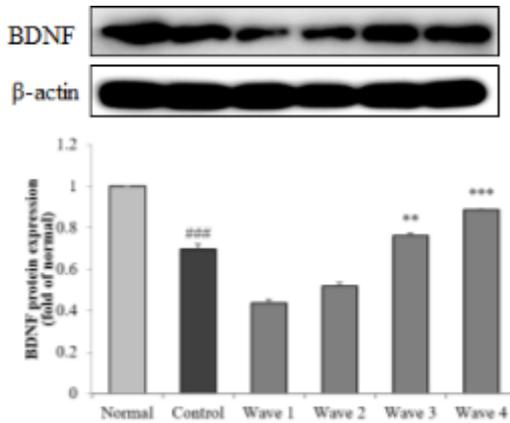


Fig. 11. Effect of microcurrent on the protein levels of BDNF in the brain of  $A\beta_{25-35}$ -injected mice. Values are mean  $\pm$  SD. ### $P < 0.001$  compared to normal group; \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$  compared to control group.

이전 연구에 따르면 지각능력, 작업 기억능력, 의사 결정과 같은 인지능력은 신경회로(neural circuit)를 통해 조절되며, 미세 전류를 이용한 대뇌 피질의 자극은 이러한 인지 상태를 조절하는데 도움이 된다고 보고된 바 있다[42,43]. 소아 뇌성마비 환자에 대한 언어 기능 재활 치료의 일환으로 미세전류 요법을 실시한 결과, 언어 기

능 회복에 도움이 되는 것으로 나타났으며[44], 또한, 미세전류를 적용했을 때 혈장 세로토닌, 엔돌핀을 증가시키고 코르티솔을 감소시키면서 불면증 및 우울증 증상을 호전시켰다[45]. 이들 연구 결과는 미세전류를 이용한 치료가 인지능력에 영향을 줄 수 있음을 시사하며, 앞선 연구와 더불어 본 연구에서는  $A\beta$ 로 유도된 인지능 손상 동물모델에서 미세전류의 인지능력 보호 효과를 확인하였다. 특히 미세전류의 4가지 파형 중 Wave4를 적용했을 때 손상된 인지가 가장 효과적으로 개선됨을 확인하여 AD 환자에서 인지를 개선을 위해 Wave4의 파형을 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

또한 AD는  $A\beta$ 로 인한 신경독성과 산화적 스트레스가 주요 원인으로 알려져 있으나, 이외에도 타우 단백질의 과인산화, 아세틸콜린에스터라제의 비정상적인 작용 등 다양한 원인이 복합적으로 작용하여 발생하는 것으로 알려져, AD에 대한 미세전류의 개선 효과에 대한 Wave4의 추가적인 메커니즘 연구가 필요할 것으로 생각된다.

## 4. 요약

본 연구에서는  $A\beta$ 로 기억력 손상을 유도한 마우스 모델에서 미세전류 자극의 효과를 확인하기 위해 행동실험과 뇌 조직을 이용한 지질과산화 억제 실험 및 단백질 발현 측정을 수행하였다. 질병을 예방 또는 치료하기 위한 비약물적인 방법 중 하나인 미세전류를 4종류의 파형으로 구분하여 적용한 결과, 물체 인지 실험과 수중미로 실험에서 미세전류가 마우스 기억력 개선 효과를 나타내었다. 특히 Wave4 적용군(STEP FORM파형(0, 1.5, 3, 5V), 중첩Hz 적용)은 뇌 내 MDA생성량이 유의적으로 감소하였으며,  $A\beta$  생성 관련 단백질의 발현을 유의적으로 억제시키고 신경영양인자인 BDNF 단백질 발현을 증가시켰다. 따라서  $A\beta$ 로 인지능력 손상을 유도한 마우스에서 미세전류의 적용은 손상된 기억력을 개선하는 데 도움을 줄 것으로 기대된다.

## References

- [1] M. Citron. "Alzheimer's disease: strategies for disease modification", *Nature Reviews Drug Discovery*, Vol.9, No.5, pp.387-398, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrd2896>
- [2] M. J. Cho. "The prevalence and risk factors of

- dementia in the Korean elderly", *Health Welfare Policy Forum*, Vol.156, pp.43-48, 2009.
- [3] M. S. Parihar, T. Hemnani. "Alzheimer's disease pathogenesis and therapeutic interventions", *Journal of Clinical Neuroscience*, Vol.11, No.5, pp. 456-467, 2004.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jocn.2003.12.007>
- [4] D. J. Selkoe, J. Hardy. "The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years", *EMBO Molecular Medicine*, Vol.8, No.6, pp.595-608, 2016.  
DOI: <https://doi.org/10.15252/emmm.201606210>
- [5] K. J. Barnham, W. J. McKinstry, G. Multhaup, D. Galatis, C. J. Morton, C. C. Curtain, N. A. Williamson, A. R. White, M. G. Hinds, R. S. Norton, K. Beyreuther, C. L. Masters, M. W. Parker, R. Cappai. "Structure of the Alzheimer's disease amyloid precursor protein copper binding domain. A regulator of neuronal copper homeostasis", *Journal of Biological Chemistry*, Vol.278, No.19, pp.17401-17407, 2009.  
DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M300629200>
- [6] G. F. Chen, T. H. Xu, Y. Yan, Y. R. Zhou, Y. Jiang, K. Melcher, H. E. Xu. "Amyloid beta: structure, biology and structure-based therapeutic development", *Acta Pharmacologica Sinica*, Vol.38, No.9, pp.1205-1235, 2017.  
DOI: <https://doi.org/10.1038/aps.2017.28>
- [7] P. B. Watkins, H. J. Zimmerman, M. J. Knapp, S. I. Gracon, K. W. Lewis. "Hepatotoxic effects of tacrine administration in patients with Alzheimer's disease.", *Jama*, Vol.271, No.13, pp. 992-998, 1994.  
DOI: <https://doi.org/10.1001/jama.1994.03510370044030>
- [8] J. O. Go. "Effects of self-microcurrent massage on delayed onset muscle soreness (DOMS) and sit and reach: A preliminary study", *Journal of Sport and Leisure Studies*, Vol.73, pp.463-470, 2018.
- [9] J. W. Jung "A study on the effect of microcurrent on pain relief" *The Journal of Korean Society of Physical Therapy*, Vol.12, No.2, pp.195-205, 1991.
- [10] H. J. Oh, J. Y. Kim, R. J. Park. "The effects of microcurrent stimulation on recovery of function and pain in chronic low back pain", *The Journal of the Korean Society of Physical Medicine*, Vol.3 No.1, pp.47-56, 2008.
- [11] M. I. Lambert, P. Marcus, T. Burgess, T. D. Noakes. "Electro-membrane microcurrent therapy reduces signs and symptoms of muscle damage", *Medicine and Science in Sports and Exercise*, Vol.34, No.4, pp.602-607, 2002.  
DOI: <https://doi.org/10.1097/00005768-200204000-00007>
- [12] C. R. McMakin, W. M. Gregory, T. M. Phillips. "Cytokine changes with microcurrent treatment of fibromyalgia associated with cervical spine trauma", *Journal of Bodywork and Movement Therapies*, Vol.9, No.3, pp.169-176, 2005.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ibmt.2004.12.003>
- [13] C. Yu, Z. Q. Hu, R. Y. Peng. "Effects and mechanisms of a microcurrent dressing on skin wound healing: a review", *Military Medical Research*, Vol.1, No.1, pp.24, 2014.  
DOI: <https://doi.org/10.1186/2054-9369-1-24>
- [14] S. Yennurajalingam, D. H. Kang, W. J. Hwu, N. S. Padhye, C. Masino, S. S. Dibaj, D. D. Liu, J. L. Williams, Z. Lu, E. Bruera. "Cranial electrotherapy stimulation for the management of depression, anxiety, sleep disturbance, and pain in patients with advanced cancer: a preliminary study", *Journal of pain and symptom management*, Vol.55, No.2, pp.198-206, 2018.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jpainsymman.2017.08.027>
- [15] A. Childs, M. L. Crismon. "The use of cranial electrotherapy stimulation in post-traumatic amnesia: a report of two cases", *Brain Injury*, Vol.2, No.3, pp.243-247, 1988.  
DOI: <https://doi.org/10.3109/02699058809150948>
- [16] M. S. Cho. "The effect of microcurrent stimulation on expression of BMP-4 after tibia fracture in rabbits", *The Journal of the Korea Contents Association*. Vol.7, No.1, pp.1124-1129, 2009.  
DOI: <https://doi.org/10.5392/JKCA.2010.10.3.196>
- [17] J. S. Kim, K. O. Min, "The effects of microcurrent stimulation on the astrocytes proliferation at injured brain of rabbit", *Journal of Korean Physical Therapy Science*, Vol.9, No.3, pp.107-119, 2002.
- [18] S. U. Kim, J. S. Lee, S. S. Kim, H. D. Shin, S. H. Chung, "The effect of microcurrent electrical neuromuscular stimulation on stress-related hormones", *Journal of Rehabilitation Medicine*, Vol.13, No.4, pp.1-18, 2003.
- [19] R. J. Park, J. S. Kim, I. H. Lee, J. H. Park, D. U. Han, "Effects of electrotherapy on blood velocity of cranial artery in tension - type headache subjects", *The Journal of Korean Physical Therapy*, Vol.12, No.2, pp.349-359, 2000.
- [20] L. L. Baker, S. Rubayi, F. Villar, S. K. Demuth. "Effect of electrical stimulation waveform on healing of ulcers in human beings with spinal cord injury", *Wound Repair and Regeneration*, Vol.4, No.1, pp.21-28, 1996.  
DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1524-475X.1996.40106.x>
- [21] H. G. Oh, J. H. Kim, E. H. Shin, Y. R. Kang, B. G. Lee, S. H. Park, D. I. Moon, I. S. Kwon, Y. P. Kim, M. H. Choi, O. J. Kim, G. H. Park, H. Y. Lee. "Improving effects of platycodon extracts jelly on  $\beta$ -amyloid-induced cytotoxicity and scopolamine-induced cognitive impairment animal models", *Korean Journal of Plant Resources*, Vol.26, No.4, pp.417-425, 2013.  
DOI: <https://doi.org/10.7732/kipr.2013.26.4.417>
- [22] S. Y. Choi, J. Lee, D. G. Lee, S. Lee, E. J. Cho. "'Acer okamotoanum improves cognition and memory function in A $\beta$ <sub>25-35</sub>-induced Alzheimer's mice model", *Applied Biological Chemistry*, Vol.60, No.1, pp.1-9, 2017.  
DOI: <https://doi.org/10.1007/s13765-016-0244-x>

- [23] K. C. Montgomery. "A test of two explanations of spontaneous alternation", *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, Vol.45, No.3, pp.287-293, 1952.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.1037/h0058118>
- [24] R. A. Bevins, J. Besheer. "Object recognition in rats and mice: a one-trial non-matching-to-sample learning task to study 'recognition memory'", *Nature Protocols*, Vol.1, No.3, pp.1306-1311, 2006.  
DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.205>
- [25] R. Morris. "Developments of a water-maze procedure for studying a spatial learning in the rat", *Journal of Neuroscience Methods*, Vol.11, No.1, pp.47-60, 1984.  
DOI: [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(84\)90007-4](https://doi.org/10.1016/0165-0270(84)90007-4)
- [26] M. Mihara, M. Uchiyama. "Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test", *Analytical Biochemistry*, Vol.86, No.1, pp.271-278, 1978.  
DOI: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90342-1](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90342-1)
- [27] L. Asth, B. Loba~o-Soares, E. Andre', P. Soares Vde, E. C. Gavioli. "The elevated T-maze task as an animal model to simultaneously investigate the effects of drugs on long-term memory and anxiety in mice", *Brain Research Bulletin*, Vol.87, No.6, pp.526-533, 2012.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2012.02.008>
- [28] D. J. Sanderson, D. M. Bannerman. "The role of habituation in hippocampus-dependent spatial working memory tasks: Evidence from GluA1 AMPA receptor subunit knockout mice", *Hippocampus*, Vol.22, No.5, pp.981-994, 2012.  
DOI: <https://doi.org/10.1002/hipo.20896>
- [29] P. A. Dudchenko. "An overview of the tasks used to test working memory in rodents", *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, Vol.28, No.7, pp.699-709, 2004.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.09.002>
- [30] I. M. Mansuy, M. Mayford, B. Jacob, E. R. Kandel, M. E. Bach. "Restricted and regulated overexpression reveals calcineurin as a key component in the transition from short-term to long-term memory", *Cell*, Vol.92, No.1, pp.39-49, 1998.  
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80897-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80897-1)
- [31] N. J. Broadbent, L. R. Squire, R. E. Clark. "Spatial memory, recognition memory, and the hippocampus" *Proceedings of the National Academy of Sciences*, Vol.101, No.40, pp.14515-14520, 2004.  
DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.0406344101>
- [32] D. M. Bannerman, R. Sprengle, D. J. Sanderson, S. B. McHugh, J. N. Rawlins, H. Monyer, P. H. Seeburg. "Hippocampal synaptic plasticity, spatial memory and anxiety", *Nature Reviews Neuroscience*, Vol.15, No.3, pp.181-192, 2014.  
DOI: <https://doi.org/10.1038/nrn3677>
- [33] M. S. George, Z. Nahas, J. J. Borckardt, B. Anderson, M. J. Foust, C. Burns, E. B. Short "Brain stimulation for the treatment of psychiatric disorders", *Current opinion in psychiatry*, Vol.20, No.3, pp.250-254, 2007.  
DOI: <https://doi.org/10.1097/YCO.0b013e3280ad4698>
- [34] J. D. Feusner, S. Madsen, T. D. Moody, C. Bohon, E. Hembacher, S. Y. Bookheimer, A. Bystritsky "Effects of cranial electrotherapy stimulation on resting state brain activity", *Brain and behavior*, Vol.2, No.3, pp.211-220, 2012.  
DOI: <https://doi.org/10.1002/brb3.45>
- [35] R. B. Smith. "Microcurrent therapies: emerging theories of physiological information processing", *NeuroRehabilitation*, Vol.17, No.1, pp.3-7, 2002.
- [36] Y. H. Kwon, C. S. Kim, S. H. Jang. "Cortical activation in the human brain induced by transcranial direct current stimulation", *The Journal of Korean Physical Therapy*, Vol.21, No.4, pp.73-79, 2009.
- [37] W. R. Markesbery, J. M. Carney. "Oxidative alterations in Alzheimer's disease", *Brain Pathology*, Vol.9, No.1, pp.133-146, 1999.  
DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.1999.tb00215.x>
- [38] N. A. Avdulov, S. V. Chochina, U. Igbavboa, E. O. O'Hare, F. Schroeder, J. P. Cleary, W. G. Wood. "Amyloid beta-peptides increase annular and bulk fluidity and induce lipid peroxidation in brain synaptic plasma membranes", *Journal of Neurochemistry*, Vol.68, No.5, pp.2086-2091, 1997.  
DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.1997.68052086.x>
- [39] D. A. Butterfield, C. M. Lauderback. "Lipid peroxidation and protein oxidation in Alzheimer's disease brain: potential causes and consequences involving amyloid  $\beta$ -peptide-associated free radical oxidative stress", *Free Radical Biology and Medicine*, Vol.32, pp.1050-1060, 2002.  
DOI: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00794-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00794-3)
- [40] Y. Zhang, H. Xu. "Molecular and cellular mechanisms for Alzheimer's disease: understanding APP metabolism", *Current Molecular Medicine*, Vol.7, pp.687-696, 2007.  
DOI: <https://doi.org/10.2174/156652407782564462>
- [41] V. Echeverria, D. E. Berman, O. Arancio. "Oligomers of  $\beta$ -amyloid peptide inhibit BDNF-induced Arc expression in cultured cortical neurons", *Current Alzheimer Research*, Vol.4, pp.518-521, 2007.  
DOI: <https://doi.org/10.2174/156720507783018190>
- [42] I. Opris, V. P. Ferrera. "Modifying cognition and behavior with electrical microstimulation: implications for cognitive prostheses", *Neuroscience and Biobehavioral Review*, Vol.47, pp.321-35, 2014.  
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.09.003>
- [43] I. Opris. "Electrical Stimulation for Modification of Memory and Cognition", *Electroceuticals*, pp. 283-316, 2017.  
DOI: [https://doi.org/10.1007/978-3-319-28612-9\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-319-28612-9_12)
- [44] T. A. Ukhanova, F. E. Gorbunov. "Micro-current reflexotherapy in the rehabilitative treatment of the

speech function disorders in children with cerebral palsy", *Voprosy kurortologii, fizioterapii, i lechebnoi fizicheskoi kultury*, Vol.1, pp.3-6, 2011.

- [45] S. Liss, B. Liss. "Physiological and therapeutic effects of high frequency electrical pulses", *Integrative Physiological and Behavioral Science*, Vol.31, No.2, pp.88-95, 1996.  
DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02699781>

---

김민정(Min Jeong Kim)

[정회원]



- 2017년 2월 : 부산대학교 식품영양학과 (학사)
- 2019년 2월 : 부산대학교 식품영양학과 (석사)
- 2019년 3월 ~ 현재 : 부산대학교 식품영양학과 (박사과정)

<관심분야>

식품영양, 기능성식품

---

이아영(Ah Young Lee)

[정회원]



- 2012년 2월 : 부산대학교 식품영양학과 (학사)
- 2014년 2월 : 부산대학교 식품영양학과 (석사)
- 2018년 2월 : 부산대학교 식품영양학과 (박사)
- 2019년 4월 ~ 현재 : 경남과학기술대학교 식품과학부 (교수)

<관심분야>

식품영양, 기능성식품

---

조동식(Kil-Seo Hong)

[정회원]



- 1991년 2월 : 순천대학교 전기공학과 (학사)
- 2005년: 경주자연치유센터 부원장
- 2013년 ~ 현재 : ㈜내츄럴웰테크 의료기기회사 대표

<관심분야>

Quartz wave, Microcurrent& Wave, 인간복지, 동물복지

---

조은주(Eun Ju Cho)

[정회원]



- 1996년 2월 : 부산대학교 식품영양학과 (석사)
- 1999년 2월 : 부산대학교 식품영양학과 (박사)
- 2002년 3월 : 일본 토야마의과약과대학교 조교수
- 2003년 10월 ~ 현재 : 부산대학교 식품영양학과 (교수)

<관심분야>

식품영양, 기능성식품