

전기자극이 개의 대퇴골절 치유에 미치는 영향

박경철 · 이주명 · 윤영민 · 강태영 · 김희석 · 이경갑 · 강윤호 · 정종태¹

제주대학교 수의학과

Effects of Electrical Stimulation on Femoral Fracture Healing in a Dog Model

Kyong chul Park, Joo myoung Lee, Young min Yun, Tae young Kang, Hee seok Kim,
Kyoung kap Lee, Yoon ho Kang and Jong tae Cheong¹

Department of Veterinary Medicine, Cheju National University, Jeju, Korea, 690-756

Abstract : This study was performed to investigate the effects of electrical stimulation on femoral fracture healing in dogs. Eight healthy dogs from 4 to 5 β³ were used in this experiment. In the treatment group, anode and cathode were connected to proximal and distal site apart from the fracture line by 2 cm and electrical stimulation was applied to the fracture site for 15minutes by 2 V, 25 Hz and for a month. The control group was connected to electrostimulator as the treatment group, but no electrical stimulation was applied. Various parameters were evaluated including radiograph and serum levels of total-ALP(TALP), bone-ALP(BALP) and osteocalcin. The radiography revealed more rapid callus formation in the treatment group than in the control by about a week. The total-ALP levels of the treatment group were higher than those of the control group from the 2nd to the 24th day(p<0.05). The bone-ALP levels of the treatment group were significantly higher than those of the control from the 2nd to the 24th day(p<0.05). The bone-ALP/total-ALP ratios of the treatment group were higher than those of control throughout this experiment but there were no significance. There were no significance in the osteocalcin levels between two groups. In conclusion, the electrical stimulation on femoral fracture site was effective for bone healing in dogs.

Key words : Electrical stimulation, femoral fracture, osteocalcin, Alkaline phosphatase, Bone-ALP, Bone-ALP/Total-ALP, dog

서 론

골에 물리적인 압박을 가하면 골면에서 음전위가 발생되어 가골 형성이 촉진된다. 골에 장력을 가하면 양전위가 발생되고 골의 흡수가 유발되는 압전기적 성질을 이용하여 활동성 에너지 대신 직접 전기적 에너지를 골에 가함으로써 가골 형성을 촉진시킬 수 있다¹⁹.

전기 자극은 전극을 골에 삽입하는 방식에 따라 삽입성, 준삽입성 및 비삽입성 방법이 있다²⁰. 전극을 연결 할 때, 삽입성 및 준삽입성 방법은 수술을 필요로 하지만 비삽입성 방법은 수술이 필요하지 않고 감염의 위험이 적으며 체중 부하가 가능한 장점이 있다. 또한 비삽입성 방법은 삽입 부위에 따른 전기 자극부위 선정의 어려움이 없고 저전압, 고주파수를 이용할 경우에는 휴대용으로도 사용이 가능하다²⁷.

Alkaline phosphatase(ALP)는 membrane-bounded metalloenzyme으로 가수분해와 세포 내로의 물질 이동에 관여한다³⁰. 혈액에 함유되어 있는 total alkaline phosphatase(TALP)는 1932년 Robinson 등¹⁷은 사람의 골 질환 시 증가하는 것으로 보고된 이래 골 형성 지표로 이용되었으나, 간, 장 및 태반 등 다른 기관에서도 TALP가 생성되어 골에 대한 특이적인 지표로 이용하기에는 적합하지 못하다고 하였다.

그러나 골아세포의 세포막에만 존재하는 bone alkaline phosphatase(BALP)의 존재가 증명되면서 골아세포 활성의 지표로 사용되고 있다^{10,17,20}. BALP를 측정하기 위해 chromatography, RIA⁸, RIMA, electrophoresis 및 heat-inactivation, spectrophotometer 등 여러 가지 분리 측정법이 이용된다. 이런 방법들 중 lectin 침전법은 spectrophotometer를 이용하여 용이하게 BALP를 측정할 수 있다²⁰. 또한 개에서의 TALP나 BALP는 정상범위의 폭이 넓어 어떤 개체의 BALP가 정상 범위에 있는지 파악하기 어려운 점이 있어 TALP에 대한 BALP 비율(B/T)을 계산하여 BALP의 활성도를 측정하였다²². 또 다른 골 형성 지표인 osteocalcin은 Vitamin K 의존성 단백질로 골아세포와 거핵아구에서 합성된다. Osteocalcin은 골 내에 존재하는 비collagen성 단백질로 골아세포의 활성도를 반영한다⁷. Osteocalcin은 다른 골 형성 지표와 연관성이 크고, 골 밀도와 상관관계를 가진다¹.

본 연구는 개에서 골절 발생률이 높은 대퇴골에 골절을 유발시킨 후 골절 주위에 주기적으로 전기자극을 시행하여 골절 치유에 미치는 효과를 방사선학적 검사와 TALP, BALP 및 osteocalcin을 측정하여 알아보고자 수행하였다.

재료 및 방법

실험 동물

실험 동물로는 1~2년령, 체중 4~5 kg 중견견 8두를 암수

¹Corresponding author.
E-mail : cjt123@cheju.ac.kr

구별 없이 사용하였다. 물과 사료 (Purina ProPlan TM Performance Formula)는 자유 급여하였으며, 실험 동물은 두 군으로 나누어 실험군(전기 자극군) 및 대조군(비자극군)에 각각 4두씩 배치하였다.

골절 유발

수술 12시간 전부터 절식시키고 수술 부위를 삭모하였다. 수술 1시간 전 cephalosporin(세파졸린®, 종근당, 20 mg/kg, IM)을 투여하고 수술 15분 전 atropine sulfate(광명항산아트로핀®, 광명제약주식회사, 0.05 mg/kg, IM)를 투여한 뒤 tiletamine-zolazepam(Zoletil®, Virbac, 10 mg/kg, IM)으로 마취하였다. 대퇴골을 따라 전외측 피부를 절개하고, 통상적인 방법으로 대퇴골을 노출시킨 후 bone saw를 사용하여 사골절을 유발하였다. Steinmann pin을 이용해 역행 삽입기법으로 골절을 고정한 후 근육 및 피부를 봉합하였다. 수술 후 cephalosporin(세파졸린®, 종근당, 20 mg/kg, IM, q12h)을 7일간 주사하였고, 수술 후 한달 동안 활동을 제한하였다.

전기 자극 방법

1) 전원 장치와 전극: 전기 자극은 침전극치료기(Ohm Pulser LFP-4500, Zen Iryoki corp.)와 10호 침을 사용하였다.

2) 전기 자극 방법: 전기 자극은 수술 후 다음 날부터 한달간 실시하였다. 실험군에는 골절부위에서 약 2 cm의 간격을 두고 근위부 및 원위부에 각각 양전극과 음전극을 피하에 삽입하였다. 전기 자극은 매일 1회 15분씩 30일 동안 2 V, 25 Hz의 조건으로 실시하였고 대조군은 실험군과 동일하게 전극을 삽입한 후 전극은 연결하지 않은 상태로 15분간 유지하였다.

방사선학적 검사

수술 전, 수술 직후 그리고 수술 시행 후 7일 간격으로 6주 동안 방사선 촬영을 하여 가골 형성의 척도를 관찰하였다.

혈청검사

각 동물에서 5 ml의 혈액을 채취하여 1 ml의 혈액은 EDTA 채혈병에 넣어 일반 혈액 검사를 하였다. 나머지 4 ml는 항응고 처리가 되지 않은 시험관에 옮겨 원심 분리를 실시하여(2,500 rpm, 15분) 혈청을 분리한 후 생화학적 검사를 실시하였다. 혈청은 -72°C에서 보관하였다.

1) TALP의 측정: ALP-kit(영동알카리성인산효소시약, 영동제약)를 이용하여 spectrophotometer(Pharmacia LKB®, Pharmacia)로 6주간 측정하였다.

2) BALP의 측정: BALP의 침전은 wheat-germ agglutinin 이 혈청 내 BALP의 N-acetylglucosamine과 결합하는 성질을 이용한 Rosaki와 Foo의 변법²⁰을 이용하였다. Lectin 용액(*Triticum vulgaris* wheat germ lectin, Sigma, U.S.A.)과 Triton-X surfactant(Triton-X 100 sol.®, Sigma, U.S.A.)을 사용하여 얻은 혈청혼합액을 2,000 rpm에서 15분간 원심 분리하여 상층액과 침전물로 분리하였다. 상층액을 취하여

TALP의 측정법과 동일한 방법으로 ALP의 활성을 측정하였다. BALP는 TALP에서 상층액의 ALP를 뺀 값으로 하였고 6주간 측정하였다

3) Osteocalcin의 측정: OSTEO-RIACT Kit(CIS bio international)를 이용하여 two-site immunoradiometric assay (CANBERRA 727®, Canberra Industries Inc.)로 6주간 측정하였다.

통계 처리

통계 처리는 Student t-test를 이용하여 실험군과 대조군 간에 유의성을 검증하였다.

결 과

방사선학적 검사

실험군(Fig 1)과 대조군(Fig 2) 각 각의 방사선 사진을 통해 골절 치유가 진행되는 것을 관찰할 수 있었다. 가골의 형성은 실험군에서는 2~3주(평균 2.5주)에, 대조군에서는 3~4주(평균 3.8주)에 각각 관찰되었다.

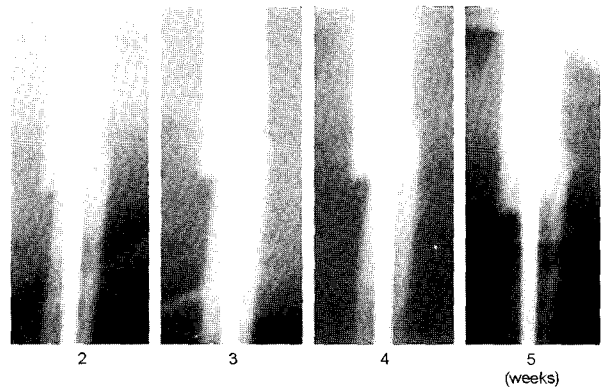


Fig 1. Radiograms of treatment group. The callus was formed at 2~3 weeks(average 2.5 weeks).

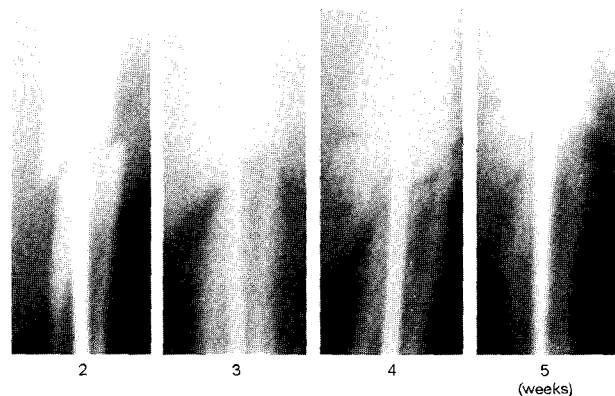


Fig 2. Radiograms of control group. The callus was formed at 3~4 weeks(average 3.8 weeks).

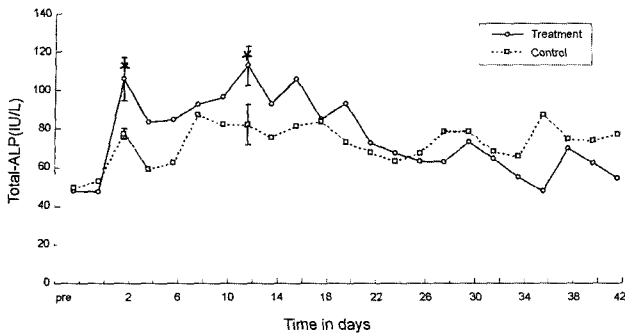


Fig 3. Changes of the serum TALP levels by electrical stimulation. The 'pre' means the day before the operation. The TALP levels of the treatment group were higher than those of control until the 24th day. There were significances at 2nd and 12th day(*; $p < 0.05$).

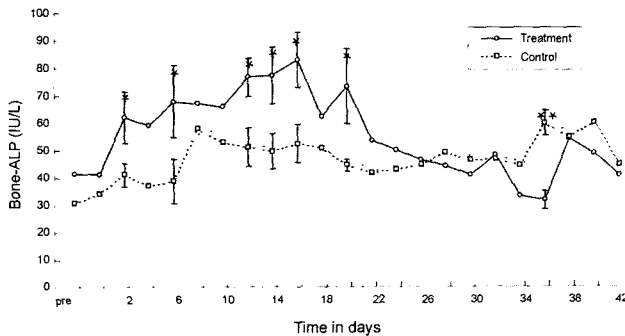


Fig 4. Changes of the serum BALP levels by electrical stimulation. The 'pre' means the day before the operation. The BALP levels of the treatment group were significantly higher than those of the control until the 24th day(*; $p < 0.05$, **; $p < 0.01$).

혈청검사 소견

1) TALP의 변화: 혈청 TALP는 두 군에서 수술 전보다 수술 후 2일에 급격히 상승하였다. 실험군에서 수술 후 12일에 TALP가 가장 높았고 대조군에서는 수술 후 8일이 수치가 가장 높았다. 대조군과 실험군에서 각각 수술 후 8일, 12일을 기점으로 TALP가 감소하였다. 수술 후 2~24일 사이에는 실험군의 수치가 대조군의 수치보다 높았고, 수술 후 2일 및 12일에는 유의성 있는 차이를 나타냈다($p < 0.05$) (Fig 3).

2) BALP의 변화: 혈청 BALP는 두 군에서 수술 전보다 수술 후 2일에 급격히 상승하였고 약 24일 후에는 수술 전의 수치와 비슷한 양상을 보였다. 실험군에서는 수술 후 16일에 BALP의 수치가 가장 높았고, 대조군에서는 수술 후 8일에 BALP가 가장 높았다. 실험군에서 수술 후 16일을 기점으로 BALP가 감소하였다. 대조군은 수술 후 8일에 높은 수치를 보였으며 8일을 기점으로 감소하였다. 수술 직후부터 수술 후 24일까지의 실험군의 BALP는 대조군에 비하여 유의성 있게 높은 값을 유지하였다($p < 0.05$). 실험군에서는 수술 후 16일

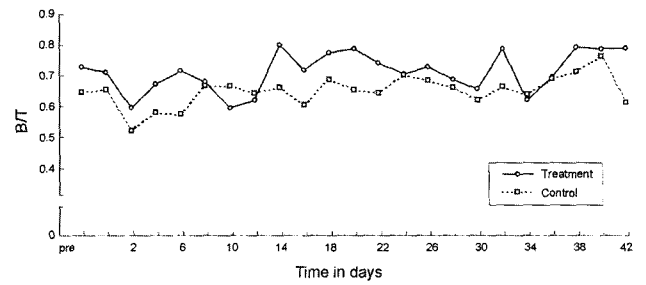


Fig 5. Changes of the B/T ratios by electrical stimulation. The 'pre' means the day before the operation. The B/T ratios have no significance between two groups.

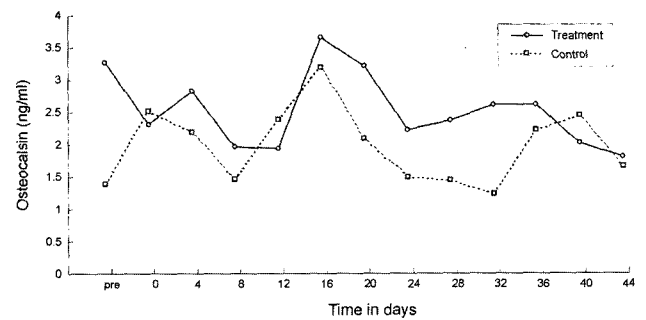


Fig 6. Changes of the serum osteocalcin by electrical stimulation. The 'pre' means the day before the operation. There were no significance between two groups.

에 최고 수치를 나타냈다(Fig 4).

3) B/T의 변화: 실험군의 B/T 비율은 대조군의 B/T 비율보다 전반적으로 높게 나타났으나 유의성은 없었다(Fig 5).

4) Osteocalcin의 변화: 실험군과 대조군에서 수술 후 16일에 가장 높은 수치가 나타났으며 수술 후 16일 이후에는 osteocalcin 수치가 감소하였다. 또한 두 군에서 osteocalcin의 변화는 유의성은 없었다(Fig 6).

고 찰

전기 자극 치료법은 Fukada와 Yasuda의 골의 압전기적 성상을 밝힌 이후부터²⁴ 골절 치유, 유합부전, 지연유합 및 선천적 가관절증 치료를 위한 대체요법으로 이용되어 왔다¹⁴. 전기 자극이 골 형성에 미치는 기전은 잘 알려져 있지 않지만, Brighton 등⁴은 음극에서 산소를 소모하여 $2H_2O + O_2^{4e-} \rightarrow 4OH^-$ 라는 반응을 나타내어 국소 조직의 산소 분압을 떨어뜨리고 pH를 증가시키게 되어 골생성을 촉진한다고 하였다. 이러한 근거로 골성장판의 연골부와 골절 시 신생되는 가골에서 산소 분압이 낮은 점과, 생체 실험에서 산소 환경이 낮은 곳에서 골 성장이 왕성하다는 점, 그리고 성장판에서의 골과 연골세포들은 주로 무기성 물질대사로를 갖는 점 등을 들었다.

그러나 정 등²⁹은 전기 자극 자체가 골 형성을 일으킨다기

보다는 골 치유를 도와주는 여러 환경적 요인 중 하나의 요인이라고 하였다.

Jorgensen¹²은 24예의 신선 경골골절에서 전기자극을 주어 골절 치유 기간을 30% 단축시켰다고 보고하였다. Connolly⁶는 비삽입성 방법으로 4명의 불유합 환자 중 50%가 성공적으로 유합 되었으며 전기 자극 시 적절한 고정이 골절 치유에 유리하다고 하였다. 우리나라에서는 이 등²⁵이 최초로 준삽입성 직류전기 자극으로 선천성 경골 가관절증의 치료에 성공한 이래 불유합을 치료하여 좋은 결과를 얻었다고 하였다. 정 등²⁹은 13예 중 9예의 불유합과 4예의 선천성 경골 가관절증 환자에서 85.7%의 골유합 성공률을 보였다고 하였다. 전기 자극에 대한 골 반응은 Friedenber²⁶에 의하면 전류에 좌우되는 것으로 5~20 μ A에서 가장 활발한 반응을 보이며 30 μ A 이상의 전류에선 음극에서도 골의 괴사가 일어났다고 하였다. Brighton²은 높은 전압의 자극을 주었을 때 골 형성 유도에 적합하지 않다고 하였다. 본 실험에서는 2 V, 25 Hz의 조건으로 전기자극을 가하여 골절 치유를 시도하였고 골의 괴사가 보이지 않았다.

방사선학적 검사에서는 이 등²⁶이 토끼에서 경골 골절 시 전기 자극을 주었을 때 8주간의 방사선학적 검사에서 신생골 형성을 관찰하여 대조군에 비해 빠르게 치유되었다고 하였다. 이 등²⁷은 역시 토끼에서 비삽입성 전기 자극을 주었을 때 높은 골절 치유를 보였다고 하였다. 김 등²³은 삽입성 전기 자극을 주었을 경우 6주에 많은 가골이 형성되었다고 하였다. 본 실험에서는 실험군의 가골 형성 시기가 평균 2.5주로 대조군의 가골 형성시기인 3.8주에 비하여 약 1주일 정도 빠르게 관찰되었다. 전기 자극 시 신생골 형성에 적절한 환경이 조성되어 골절된 골에 가골 형성이 빠르게 일어나는 것으로 사료된다.

골아 세포 활성을 반영하는 생화학적 지표로는 carboxyl-terminal procollagen type I, osteocalcin, ALP 등이 알려져 있다⁷. 골 형성 지표로 알려졌던 TALP는 사람에서 정상범위가 20~300 IU/L이고, 개에서는 10~225 IU/L이다. 이와 같이 정상 수치의 폭이 크고 골에 대한 특이성이 떨어지므로 골 형성 지표로는 이용되기가 곤란하였다. 그러나 BALP는 골아세포의 활성에 선택적으로 활성을 가지므로 BALP를 측정하여 골아세포의 활성을 예측할 수 있다¹. Hartig 등¹¹은 전기 자극이 뼈에 미치는 영향을 조사하기 위해 *in vitro* 실험으로 100 V, 16 Hz를 주었을 때 세포 부유액에서 측정된 ALP의 수치가 증가하였다고 보고하였다. 본 실험에서도 골절 치유 과정 중 2일과 12일에 실험군의 TALP가 대조군의 수치보다 유의성 있게 높았다. 실험군에서는 TALP의 최고 수치가 12일에 나타났는데 대조군에서는 8일에 최고 수치를 나타냈다. 24일 이후로는 대조군의 수치가 실험군의 수치보다 높게 올라가는 경향을 보여 실험군에서 대조군보다 빠른 치유 과정을 보였다고 사료된다.

Leung 등¹⁵은 골절 치유 과정 중 94%의 환자에서 8주~12주 사이에 BALP의 농도가 증가하였다고 하였고, 전 등²⁸은 rat에서 골절 유발 후 흉화씨 보충 급여가 BALP에 미치

는 영향을 연구한 결과 11일, 16일 그리고 21일에 흉화씨를 급여하지 않은 대조군에 비해 높게 증가하였다. 김과 최²²는 골절 후 BALP의 변화를 관찰한 실험에서는 2주 동안 BALP의 농도가 빠르게 증가하였다고 하였다. Yu-Yahiro 등²¹은 골절과 골 밀도와의 상관 관계를 측정한 실험에서 골반 골절 환자에서 3~60일 사이에 BALP가 증가하였다고 하였다. Kawaguchi 등¹³의 원숭이에서 척골 골절 후 fibroblast growth factor-2가 미치는 영향을 관찰한 실험에서는 골절이 치유되는 시기에 BALP가 증가하였다. 본 실험에서도 실험군이 대조군에 비해 술 후 24일까지 BALP가 높았으며 이중에서 2일부터 20일까지는 실험군의 BALP의 농도가 대조군 보다 유의성 있게 증가하였다($p < 0.05$). 실험군과 대조군의 BALP는 각각 16일 및 8일에 최고치를 보였으나 대조군은 실험군에 비해 BALP가 빠르게 증가 후 감소하였다. 실험군의 BALP는 대조군의 BALP가 최고치에 도달한 술 후 8일에도 지속적인 증가를 보여 술 후 16일에 최고치를 보였다. 이는 실험군의 골 형성 과정이 대조군의 골 형성 과정보다 원활히 일어나기 때문이라 사료된다. TALP의 수치는 실험군에서 2일 및 12일에 유의성 있게 대조군보다 높은 경향을 보였으나 유의성이 연속적으로 보이지 않아 골절 치유 과정을 반영하는 기준으로는 유용하지 못하였다.

BALP와 가골 형성과의 상관관계는 김과 최²²의 실험에서 새로운 가골 형성이 있던 시기에는 BALP가 증가하였고 새로운 가골 형성이 보이지 않았던 8주 후부터는 BALP가 증가하지 않았다. 본 실험에서 실험군의 술 후 14일에 방사선학적 검사로 새로운 가골 형성을 관찰하였다. 이 시기의 실험군의 BALP는 대조군의 수치보다 높았는데, 실험군의 BALP는 술 후 16일까지 지속적인 증가를 나타낸 후 급격한 감소를 보였으며 술 후 26일부터는 대조군보다 낮게 유지하였다. 따라서 방사선 검사상으로 실험군이 대조군에 비하여 조기에 가골 형성이 유도된 이유는 실험군의 혈청 BALP가 대조군에 비해 높은 농도로 장기간 유지되기 때문이라고 판단된다.

B/T의 비율은 김과 최²²의 실험에서 골절 후 방사선 사진과 조직학적 소견에서 신생골의 형성이 인정된 군에서 시술 전에 비하여 20%~40%의 증가율을 나타내었고 신생골 형성이 없었던 군에서는 시술 전과 같거나 낮은 변화를 보였다고 하였다. 본 실험에서는 가골 형성이 인정되는 14일~22일까지 B/T의 비율이 대조군에 비해 높게 나타났지만 유의성은 보이지 않았다.

골아 세포에서 합성되는 osteocalcin은 뼈에 특이적인 효소로 뼈와 혈장에 축적되며 골아세포의 활동성을 평가하고 골 형성 지표로 사용된다^{9,28}. Liesegang 등¹⁶은 beagle 개에서 하루 중의 osteocalcin 농도를 측정된 결과 일주기성을 보이며 오후 6시에서 오전 8시 사이 높은 농도를 나타내었다. 본 실험에서는 혈액 채취를 하루 중 높은 수치를 나타내는 오전 8시에 실시하였다. Ohishi 등¹⁸은 대퇴골두 골절 환자 7명에서 골절 정복 후 4에서 8주 사이에 현저한 증가를 보였다. 전 등²⁸은 흉화씨 보충 급여가 골절 시 osteocalcin 농

도에 미치는 영향을 관찰한 결과 늑골 골절군과 비골절군 두 군 모두 거의 동일한 수준으로 나타났고 치유 과정에서 시간 경과에 따른 차이도 보이지 않았다고 하였다. Yu-Yahiro 등²¹ 역시 골절 환자에서 osteocalcin의 농도가 증가함을 보고하였다. 본 실험에서는 osteocalcin의 농도가 수술 후 16일에 실험군과 대조군에서 높은 수치를 나타내었으나 BALP와 같이 가골이 형성되는 시기에 실험군의 수치가 대조군과 비교해 별다른 유의성은 나타나지 않았다.

실험군에서는 BALP 최고치가 대조군에 비해 8일 먼저 도달하였고 방사선학적 검사에서도 가골 형성이 대조군보다 약 1주 정도 빠르게 형성되었다. 따라서 BALP의 수치와 방사선학적 검사에 유의성을 보인다고 판단된다. 이상의 결과로 보아 전기 자극이 개의 대퇴 골절 시 빠른 회복을 보이는 것으로 사료된다.

결 론

개에서 전기 자극이 대퇴 골절 치유에 효과적임을 알아보기 위해, 체중 4~5 kg의 건강한 개 8마리를 4마리씩 실험군과 대조군으로 나누어 골절을 일으킨 후 실험군에는 매일 1회 15분 동안 2 V, 25Hz의 자극을 한 달간 실시하였고 대조군은 전기 장치를 연결시킨 후 아무런 자극 없이 15분간 방치하여 방사선학적 검사 및 TALP, BALP, B/T비율과 osteocalcin 등의 혈청학적 검사를 실시하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

방사선학적 검사에서 가골 형성의 최초 관찰 시기는 실험군에서 2.5주로 대조군의 3.8주 보다 1주 정도 빠르게 나타났다. 실험군에서는 대조군에 비해 TALP는 2일에서 12일에 유의성 있게 높은 수치를 보였다($p < 0.05$). BALP의 수치는 실험군이 대조군 보다 수술 후 2일에서 20일까지 높은 유의성 보였다($p < 0.05$). B/T 비율은 방사선학적 검사에서 골 형성이 인정되는 14일에서 22일 사이에 실험군의 비율이 대조군의 비율보다 높게 나타났으나 유의성이 인정되지 않았다. Osteocalcin은 두 군에서 유의성을 관찰 할 수는 없었다.

이상의 결과로 보아 개에서 대퇴 골절 후 전기 자극이 골절 치유를 촉진하는 것으로 사료된다.

참 고 문 헌

- Allen MJ, Hoffmann WE, Richardson DC, Breur GJ. Serum markers of bone metabolism in dogs. *Am J Vet Res* 1998; 59: 250-254.
- Brighton CT. Current concepts review: The treatment of non-unions with electricity. *J Bone and Joint Surge* 1981; 63A: 847-851.
- Brighton CT, Black J, Friedenberg Z.B. A multicenter study of the treatment of non-union with constant direct current. *J Bone and Joint Surge* 1981; 63A: 2-11.
- Brighton CT, Friedenberg ZB, Mitchell EI, Booth RE. Treatment of non-union with constant direct current. *Clin Orthop* 1977; 124: 106-123.
- Brighton CT, Pollack SR. Treatment of recalcitrant non-union with a capacitively coupled electrical field. *J Bone and Joint Surge* 1985; 67A: 577-585.
- Connolly JF. Selection, evaluation and indications for electrical stimulation of ununited fracture. *Clin Orthop* 1981; 161: 39-53.
- Delmas PD. Biochemical markers of bone turnover for the clinical assessment of metabolic bone disease. *Endocrinol Metab Clin N Am* 1990; 19(1): 1-18.
- Duda RD, O'Brien JF, Katzmann JA, Peterson JM, Mann KG, Riggs BL. Concurrent assays of circulating bone GLA-protein and bone alkaline phosphatase: Effects of sex, age, and metabolic bone disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 66(5): 951-1186.
- Eastell R, Delmas PD, Hodgson SF, Eriksen EF, Mann KG, Riggs BL. Bone formation rate in older normal women: Concurrent assessment with bone histomorphometry, calcium kinetics, and biochemical markers. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67(4): 741-748.
- Garnero P, Delmas PD. Assessment of serum levels of bone alkaline phosphatase with a new immunoradiometric assay in patients with metabolic bone disease. *J Clin Endocrinol Metab* 1993; 77: 1046-1053.
- Hartig M, Joos U, Wiesmann HP. Capacitively coupled electric fields accelerate proliferation of osteoblast-like primary cells and increase bone extracellular matrix formation in vitro. *Eur Biophys J* 2000; 29: 499-506.
- Jorgensen TE. Electrical stimulation of human fracture healing by means of a slow pulsating, asymmetrical direct current. *Clin Orthop* 1977; 124: 124-127.
- Kawaguchi H, Nakamura K, Tabata Y, Ikada Y, Aoyama I, Anzai J, Nakamura T, Hiyama Y, Tamura M. Acceleration of fracture healing in nonhuman primates by fibroblast growth factor-2. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86(2): 875-880.
- Lagey CLRS, Roelofs JMM, Janssen LWM, Breedijk M, Lentferink RHF, Visser WJ, Akkermans LMA, Wittebol P, Renooij W. Electrical stimulation of bone growth with direct current. *Clin Orthop* 1986; 204: 303-312.
- Leung KS, Fung KP, Sher AHL, Li CK, Lee KM. Plasma bone-specific alkaline phosphatase as an indicator of osteoblastic activity. *J Bone and Joint Surge* 1992; 75B: 288-292.
- Liesegang A, Reutter R, Sassi M, Risteli J, Kraenzlin M, Riond J, Wanner M. Diurnal variation in concentrations of various markers of bone metabolism in dogs. *Am J Vet Res* 1999; 60(8): 949-953.
- Moss DW. Alkaline phosphatase isoenzymes. *Clin Chem* 1982; 28(10): 2007-2016.
- Ohishi T, Takahashi M, Kushida K, Hoshino H, Tsuchikawa T, Naitoh K, Inoue T. Changes of biochemical markers during fracture healing. *Arch Orthop Trauma Surg* 1998; 118: 126-130.
- Paterson DC, Hillier TM, Carter RF, Ludbrook J, Maxwell GM, Savage JP. Experimental delayed union of the dog tibia and its use in assessing the effect of an electrical bone growth stimulator. *Clin Orthop* 1977; 128: 340-250.
- Rosaki SB, Foo AY. Two new methods for separating and quantifying bone and liver alkaline phosphatase isoenzymes in plasma. *Clin Chem* 1984; 30(7): 1182-1186.
- Yu-Yahiro JA, Michael RH, Dubin NH, Fox KM, Sachs M,

- Hawkes WG, Hebel JR, Zimmerman SI, Shapiro J, Magaziner J. Serum and urine markers of bone metabolism during the year after hip fracture. *J Am Geriatr Soc* 2001; 49(7): 877-83.
22. 김남수, 최인혁. 골 형성 지표로써 bone alkaline phosphatase(BALP)와 TALP치에 대한 비율(B/T)의 응용. *대한수의학회지* 1999; 39(6): 1197-1209.
 23. 김영민, 이춘기, 김희중, 김용민, 정성수. 골내 삽입한 Porous Coated 금속의 골성유합을 위한 전기 자극의 효과. *대한정형외과학회지*. 1992; 27(1): 318-326.
 24. 배춘식, 조용성, 장경진. 전기 자극과 vitamin AD3E가 랫드 골절 치유에 미치는 영향. *대한수의학회지*. 1997; 37(4): 863-873.
 25. 이덕용, 최인호, 이상훈. 전기 자극을 이용한 선천성 경골 가관절증-치험 1례 보고. *대한정형외과학회지*. 1980; 15(2): 350-355.
 26. 이덕용, 정문상, 정상철, 김명호. 전기 자극 기간이 신생골 형성에 미치는 영향. *대한정형외과학회지*. 1984; 19(5): 757-763.
 27. 이한구, 정문상, 최인호, 장관환, 백구현. 비삽입성 용량결합 전장자극이 골절 치유에 미치는 영향. *대한정형외과학회지*. 1986; 21(4): 521-530.
 28. 전선민, 김준환, 이희자, 이인규, 문광덕, 최명숙. 한국산 홍화씨분말 보충식이의 급여가 골절된 흰쥐의 골대사지표에 미치는 영향. *한국영양학회지*. 1998; 31(6): 1049-1056.
 29. 정문상, 한문식, 이덕용, 이상훈, 김용훈. 전기 자극을 이용하여 치료한 선천성 가관절증과 불유합의 임상 경험. *대한정형외과학회지*. 1981; 16(3): 518-527.
 30. 조성진, 김남수, 최인혁. 정상적인 개에서 Serum Bone Alkaline Phosphatase의 활성치. *한국임상수의학회지*. 1997; 14(1): 65-69.