

전기자극치료가 흰쥐 탈 신경근연접부에서 NT-3의 발현에 미치는 영향

대구대학교 재활과학대학 물리치료학과 신경재생실

남 기 원

대구대학교 대학원 재활과학과 물리치료전공

구 현 모, 천 송 희, 이윤섭

대구대학교 재활과학대학원 재활과학과 물리치료전공

강 중 호

대구대학교 재활과학대학 물리치료학과

김 진 상

The effects of Electrical Stimulation Therapy on NT-3 Expression in the Denervated Neuromuscular Junction in Rat

Nam, Ki-Won, P.T., Ph.D.

Nerve Regeneration Laboratory, Dept. of Physical Therapy, College of Rehabilitation Science, Daegu University

Koo, Hyun-Mo, P.T., M.S., Cheon, Song-Hee, P.T.

Major in Physical Therapy, Dept. of Rehabilitation Science, Graduate School, Daegu University

Kang, Jong-Ho, P.T.

Major in Physical Therapy, Dept. of Rehabilitation Science, Graduate School of Rehabilitation Science, Daegu University

Kim, Jin-Sang, D.V.M., Ph.D.

Dept. of Physical Therapy, College of Rehabilitation Science, Daegu University

<Abstract>

Denervated skeletal muscle produces muscle atrophy as well as changes at the neuromuscular junction which leads to terminal axonal sprouting and an ultrastructural remodeling. NT-3 is expressed in adult muscle and motoneurons. Normally NT-3 has a potential role in regulating adult neuromuscular junction and recovering following muscle atrophy. Also, it could influence synaptic neurotransmission between motoneurons and skeletal muscle cells. The purpose of this study was to investigate the effect of electrical stimulation therapy(EST) on NT-3 expression in neuromuscular junction following sciatic nerve transection in rats. After EST application during 7 days, the immunoreactivity of NT-3 was increased in neuromuscular junction

I. 서론

말초신경 손상 시 손상된 말초신경은 손상 정도에 따라 자연회복이 일어나기도 하지만 (Kurer와 Regan, 1990), 그 회복속도가 느리고 회복정도도 불완전한 경우가 많다(Lundborg, 2000; Rochkind 등, 2001). 특히, 절단성 신경손상 시 양쪽 절단단 사이로 결합조직이 형성되거나 근위 절단단에 신경종이 형성되어 신경 재성장에 장애가 초래되고 신경전도도 차단된다(Payne 등, 2002). 또한 신경이 절단됨에 따라 신경영양성 인자의 공급에도 문제를 일으켜 세포가 사망하게 된다(Yin 등, 1998).

NT-3는 신경영양성 인자의 일종으로 신경원의 발달 및 유지, 신경의 손상 방지, 축삭의 성장 유도 및 최종적 기능 회복에 중요한 역할을 하는 물질이다(Rosenthal 등, 1990; Hanamura 등, 2004). 신경영양성 인자는 NGF(Levi-Montalcini와 Hamburger, 1953), BDNF(Barde 등, 1982), NT-3(Rosenthal 등, 1990), NT-4/5(Berkmeier 등, 1991), NT-6(Gotz 등, 1994) 등이 발견되었으며, 이중 NT-3는 근육, 해마, 소뇌, 척수 및 심피질 등에서 발현이 확인되었다(Kucera 등, 1995). 특히 NT-3 mRNA는 성숙한 근육과 운동신경에서도 발현되며(Copray와 Kernell, 2000; Griesbeck 등, 1995), 이미 탈신경 되었거나 위축된 근섬유 및 신경근연접부를 선택적으로 정상화시키는 역할을 한다(Sterne 등, 1997).

신경근연접부는 척수 운동신경과 골격근 섬유 사이에 형성된 특수한 연접의 한 형태로(Personius와 Balice-Gordon, 2002), 신경말단 부위에서 근섬유의 운동중판 부위에 화학물질을 통해 정상적으로 화학적 신호를 전달해 주어야 근수축을 일으킬 수 있으며(Salpeter, 1999; Wood와 Slater, 2001), 근위축이 발생되면 이러한 신경근연접부의 변성(Kitahara 등, 1996), 근의 생리학적 변화(Herbert 등, 1988), 조직화학적 및 생화학적 변화가 발생한다(Thomason 등, 1987).

말초신경 손상 시 치료적 목적으로 사용되는 물리치료적 도구로는 저주파 전기자극치료(EST)(Snow와 Wilson, 1990; Bao 등, 1993), 기능적 전기자극치료(FES)(Tam 등, 2001), 초음파(Lazar 등, 2001; Crisci와 Ferreira, 2002), 레이저치료(Maslovskaja, 2003) 등이 사용되고 있으며, 임상에서 그 활용도 또한 높다.

따라서 본 연구의 목적은 탈신경근에 물리치료 도구인 저주파 전기자극치료를 실시하여 신경근연접부를 정상화 시키는데 중요한 작용을 하는 신경영양성 인자인 NT-3의 발현양상을 살펴봄으로써, 탈신경근에 대한 전기자극치료의 치료적 기전을 제시하고자 한다.

II. 연구 방법

1. 실험동물

실험에 사용된 동물은 생후 8~10주, 체중 250~300g의 건강한 Sprague-Dawley계 웅성 흰쥐를 사용하였다. 실험동물은 대조군(n=6)과 실험군(n=6)으로 구분하였다.

2. 실험방법

1) 탈신경 및 전기자극치료

대조군은 우측 대퇴 후부를 절개한 후 좌골신경을 절단하여 탈신경 시켰으며, 절개 부위를 봉합한 후 일주일간 아무런 실험적 처치없이 표준 사육장에서 사육하였다. 실험군은 우측 좌골신경을 절단하여 탈신경 시킨 후 일주일간 표준 사육장에서 사육하며 1일 1회 10분간 전기자극치료기(MIOELECTOLE, ITO CO., LTD, JAPAN)를 이용하여 전기자극치료를 실시하였다. 도자는 약 5mm의 표면전극을 이용하였으며 자극강도는 가시적 근수축이 보이는 강도로 하였고, 주파수는 5Hz로 전경골근의 근복에 실시하였다.

2) 광학현미경용 슬라이드 제작

실험적 처치를 마친 각 군의 실험 동물들은 심장관류(0.9% NaCl)를 통해 희생시켰으며, 조직 전고정(4% paraformaldehyde, pH 7.4)을 실시한 후 오른쪽 뒷다리의 전경골근을 채취하였다. 채취한 조직은 12시간 동안 후고정(4% paraformaldehyde, pH 7.4)을 실시한 후 탈수, 청명, 파라핀 포매의 일반적 조직절편 제작 과정에 따라 처리하였다. 파라핀에 포매한 조직은 미세절단기(SM 2000R, LEICA, Germany)를 사용하여 5 μ m 두께로 잘라 슬라이드를 제작하였고, 40 $^{\circ}$ C의 슬라이드 건조기(C-SLS, Chang Shin Scientific Co., Korea)에서 하루 동안 건조시킨 후 NT-3 항체에 대한 면역반응 양상을 살펴보기 위해 면역조직화학법을 시행하였다.

3) 면역조직화학법

탈신경 이후 전기자극치료가 신경근 연결부의 NT-3에 대한 발현 양상을 살펴보기 위해 통상적인 면역조직화학법을 실시하였다. 제작된 조직절편은 탈파라핀과 함수의 과정을 거쳐 증류수에서 10분간 수세하였으며, 메탄올 200ml에 H₂O₂ 1ml을 첨가해 0.5%로 만든 용액에 30분 동안 침수시켜 내재적 과산화효소(endogenous peroxidase)를 제거하였다. 증류수와 0.01M phosphate buffer로 각각 10분씩 수세한 이후 1차 항체(mouse monoclonal anti-neurotrophin-3, Chemicon, USA, 1:200)를 실온에서 24시간 동안 처리하였다. 일차 항체 처리 후 0.01M phosphate buffer로 각 10분씩 3회 수세 후 2차 항체(anti-mouse IgG, Vector Laboratories Inc, USA, 1:25)를 실온에서 90분 동안 처리하였다. 2차 항체 처리 후 0.01M phosphate buffer로 각 10분씩 3회 수세 이후 실온에서 60분간 ABC-kit(Vector Laboratories Inc, USA)을 이용하여 3차 항체를 처리하였으며, 0.01M phosphate buffer로 각 10분씩 3회 수세 이후 10분간 DAB에 반응시켰다. DAB 반응 후 0.01M phosphate buffer로 각 10분씩 3회, 증류수에 10분씩 3회 수세 이후 탈수와 청명의 과정을 거쳐 광학현미경적 관찰을 위해 봉입을 실시하였다.

III. 결 과

1. 대조군

우측 좌골신경을 절단하여 탈신경 시킨 후 일주일간 아무런 실험적 처치없이 표준 사육장에서 사육한 대조군의 전경골근을 채취하여 NT-3 항체에 대한 면역조직화학법을 실시하여

나타난 면역반응을 광학현미경을 통해 관찰한 결과, NT-3 항체에 대한 면역반응은 일부 신경근연접부에서만 관찰되었다(Fig. 1a, 1b).

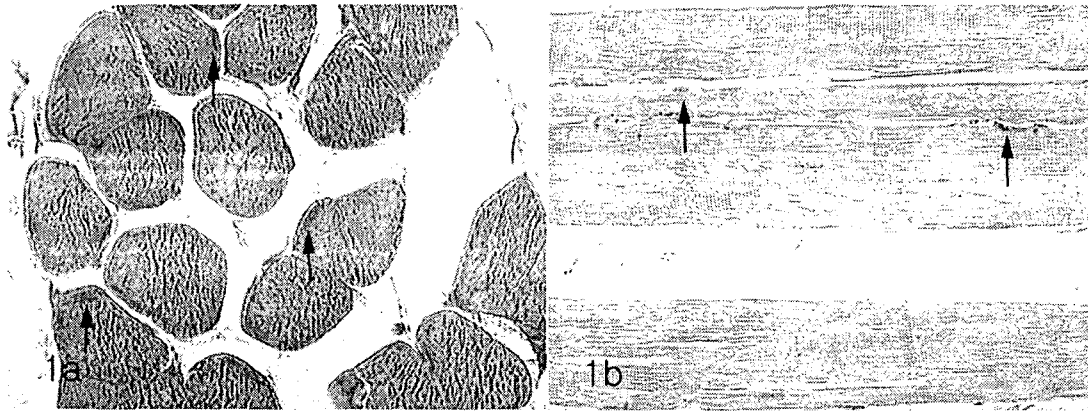
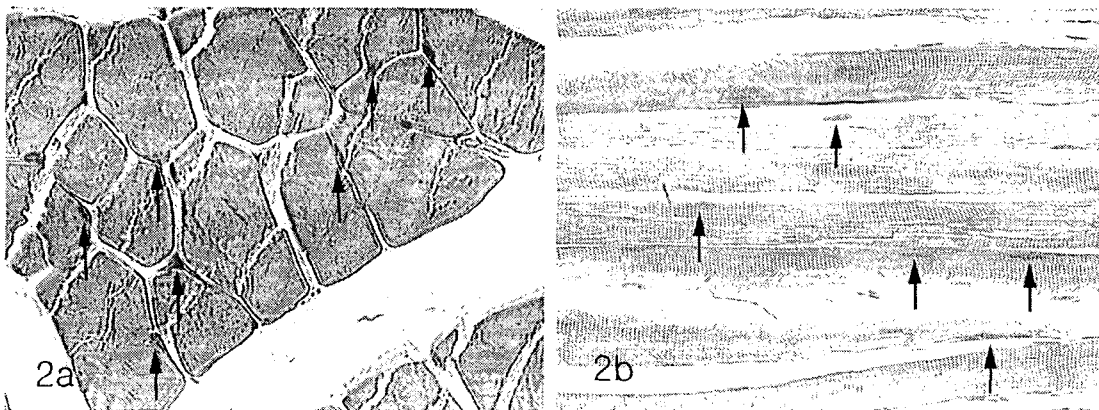


Fig. 1. Immunoreactivity with the NT-3 antibody in control group.
 NT-3 immunoreactivity observed in some neuromuscular junction(arrow).
 a: trans-section of the rat tibialis anterior muscle($\times 400$)
 b: longitudinal section of the rat tibialis anterior muscle($\times 200$)

2. 실험군

우측 좌골신경을 절단하여 탈신경 시킨 후 일주일간 표준 사육장에서 사육하며 전기자극 치료를 실시한 실험군의 전경골근을 채취하여 NT-3 항체에 대한 면역조직화학법을 실시하여 나타난 면역반응을 광학현미경을 통해 관찰한 결과, 많은 근섬유의 신경근연접부에서



NT-3 항체에 대한 면역반응이 관찰되었다(Fig. 2a, 2b).

Fig. 2. Immunoreactivity with the NT-3 antibody in EST applicated group.

NT-3 immunoreactivity observed in neuromuscular junction broadly (arrow).

a: trans-section of the rat tibialis anterior muscle (×400)

b: longitudinal section of the rat tibialis anterior muscle (×200)

IV. 고 찰

골격근의 위축은 골고정(Fischbach와 Robbins, 1969), 탈신경(Woodcock 등, 1999), 석고고정(Kannus 등, 1998), 건절제술(Hashimoto 등, 2001) 및 장기간의 침상안정(Funato 등, 1997) 등에 의해 일어날 수 있으며, 근섬유의 위축과 더불어 신경근 연결부에서는 연결 전 신경말단 부위에서 신경말단의 변성과 발아(sprouting) 유도, 신경 말단의 파괴 등이 일어나고, 연결 후 운동종판에서는 연결주름의 감소, 연결하 근형질의 응집, 운동종판의 확장 등이 나타나며, 연결간격은 더욱 좁아지고 편평해져 구조적인 변화를 보이게 된다(Brown과 Ironton, 1977; Fahim과 Robbins, 1986; Pachter와 Eberstein, 1984; Prakash 등, 1999).

또한, 구조적인 변화와 더불어 Deschenes 등(2003)은 근위축이 진행됨에 따라 연결 전 신경말단의 연결소포 내에 있는 아세틸콜린의 양이 감소하며, 연결 후 운동종판에서는 아세틸콜린 수용체의 숫자가 감소됨을 확인하여 근위축시 신경전달물질의 감소와 그들의 수용체가 감소함으로써 신경전달이 효과적으로 이루어지지 않게 되고 결과적으로 근수축력이 떨어진다고 보고하였다.

신경근 연결의 형성은 복잡한 구조적 변화를 일으킬 수 있는 연결활동을 필요로 하며, 이러한 구조적 변화를 바꾸는 여러 가지 기전 중의 하나가 연결활동에 의해 특별한 연결 조절 인자의 발현을 조절하는 것이다(Loeb 등, 2002). 다양한 신경영양성 인자들 중 BDNF, NGF 및 NT-3가 신경근연접부의 형성 시기 동안 기능적으로 중요한 역할을 담당하고 있으며, 연결이 형성되는 시기의 골격근에서 이러한 인자들이 발견된다는 사실이 밝혀졌다(Loeb와 Fischbach, 1997; Stoop와 Poo, 1996). 이들 중 특히 NT-3는 발생시기 뿐만 아니라 성숙한 근육과 운동 신경에서도 발현되며, 말초신경 손상 후 운동신경의 기능 회복을 조절하고 위축된 근섬유를 선택적으로 정상화시키는 역할을 한다(Coprav와 Kernell, 2000).

Griesbeck 등(1995)은 배아 발생기와 출생 후 시기에 골격근에서 NT-3가 많이 발현됨을 관찰하였고, 특히 신경 손상 후 골격근에서 NT-3 mRNA가 많이 발현됨을 확인하여 NT-3가 성숙한 신경근연접부의 연결재형성에 중요한 역할을 담당하고 있음을 시사하였다.

Kust 등(2002)은 근위축성 측삭 경화증 환자를 대상으로 상완이두근의 근섬유에서 NT-3의 발현양상을 관찰한 결과, 발병 초기에 NT-3가 점차적으로 증가하며 말기에 최고조를 이룬다고 보고하였고, 그 발현 부위는 근섬유와 신경근 연결부라고 하였다. 본 연구에서도 좌골신경을 절단하여 탈신경근을 유발시킨 흰쥐의 전경골근에서 NT-3에 대한 면역조직화학법을 실시한 결과, 전기자극치료군의 신경근연접부에서 NT-3의 발현이 증가됨을 알 수 있었다.

Simon 등(2000)의 연구에서는 좌골신경 절단 후 절단 부위에 NT-3를 주사로 주입하여 장지신근과 가자미근의 신경근연접부의 연결재형성을 연구한 결과, NT-3가 연결재형성에 효과적임을 알 수 있었고, NT-3는 서근보다는 속근에서 더 효과적으로 신경 재 지배에 도움

이 된다고 보고하였다.

본 연구에서는 흰쥐의 좌골신경을 절단하여 일주일 간의 실험적 중재로 신경근연접부에서 NT-3에 대한 면역반응을 관찰한 결과, 아무런 처치도 하지 않은 대조군 보다 전기자극치료를 실시한 실험군에서 면역반응이 증가했음을 알 수 있었다. 이는 Simon 등(2000)이 신경절단 후 직접적으로 NT-3를 주사하여 축삭의 성장과 신경근연접부의 형성에 미치는 영향을 연구한 반면, 본 연구에서는 물리치료 도구 중 하나인 저주파 전기자극치료기를 이용하여 신경절단 시 전기자극치료기가 신경근연접부에서 NT-3의 발현 양상에 미치는 영향을 살펴보고자 하였다. 결과적으로 Simon 등(2000)의 연구에서 NT-3가 신경의 성장과 신경근연접부의 형성에 중요한 역할을 담당한다는 사실을 알 수 있었으며, 본 연구의 결과 전기자극치료기에 의한 치료적 중재로 신경근연접부에서 NT-3의 발현이 증가함을 알 수 있었다. 따라서 탈신경근 위축의 회복에 관여하는 여러 가지 다양한 요인들 중의 하나인 NT-3의 발현에 전기자극치료기는 도움이 되며, 또한 NT-3의 발현이 탈신경 이후 근섬유의 형태유지 및 신경재생에 도움이 될 것으로 사료된다.

V. 결 론

본 연구에서는 흰쥐의 오른쪽 뒷다리를 절개하여 좌골신경을 절단한 후 일주일간 실험적 중재없이 표준사육장에서 사육한 대조군과 일주일간 전기자극치료를 적용한 실험군의 전경골근의 신경근연접부에서 신경근 연접재형성에 중요한 역할을 담당하는 물질인 NT-3에 대한 면역조직화학법을 실시하여 면역반응을 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1. 대조군의 전경골근을 채취하여 NT-3 항체에 대한 면역조직화학법을 실시하여 나타난 면역반응을 광학현미경을 통해 관찰한 결과, NT-3 항체에 대한 면역반응은 일부 신경근연접부에서만 관찰되었다(Fig. 1a, 1b).

2. 실험군의 전경골근을 채취하여 NT-3 항체에 대한 면역조직화학법을 실시하여 나타난 면역반응을 광학현미경을 통해 관찰한 결과, 많은 근섬유의 신경근연접부에서 NT-3 항체에 대한 면역반응이 관찰되었다(Fig. 2a, 2b).

이상의 결과에서 전기자극치료는 탈신경근의 신경근연접부에서 연접재형성 및 신경성장에 중요한 역할을 하는 것으로 알려진 NT-3의 발현에 도움이 됨을 알 수 있었다.

<참 고 문 헌>

Kust BM, Copray JC, Brouwer N, Troost D et al : Elevated levels of neurotrophins in human biceps brachii tissue of amyotrophic lateral sclerosis. *Exp Neurol*, 177(2):419-27, 2002.

Simon M, Terenghi G, Green CJ, Coulton GR : Differential effects of NT-3 on reinnervation of the fast extensor digitorum longus (EDL) and the slow soleus muscle of

rat. *Eur J Neurosci*, 12(3):863-71, 2000.

Copray S, Kernell D : Neurotrophins and trk-receptors in adult rat spinal motoneurons: differences related to cell size but not to 'slow/fast' specialization. *Neurosci Lett*, 11;289(3):217-20, 2000.

Griesbeck O, Parsadanian AS, Sendtner M, Thoenen H : Expression of neurotrophins in skeletal muscle: quantitative comparison and significance for motoneuron survival and maintenance of function. *J Neurosci Res*, 42(1):21-33, 1995.

Stoop R, Poo MM : Synaptic modulation by neurotrophic factors : differential and synergistic effects of brain-derived neurotrophic factor and ciliary neurotrophic factor. *J Neurosci*, 16:3256-3264, 1996.

Loeb JA, Fischbach GD : Neurotrophic factors increase neuregulin expression in embryonic ventral spinal cord neurons. *J Neurosci*, 17:1416-1425, 1997.

Kurer MHJ, Regan MW : Completely displaced supracondylar fracture of the humerus in children : a review of 1708 comparable cases. *Clin Orthop*, 256:205-214, 1990.

Lundborg GA : 25-year perspective of peripheral nerve surgery : Evolving neuroscientific concepts and clinical significance. *J Hand Surg*, 25:391-414, 2000.

Rochkind S, Nissan M, Alon M, Shamir M, et al : Effects of laser irradiation on the spinal cord for the regeneration of crushed peripheral nerve in rats. *Lasers in Surg Med*, 28:216-219, 2001.

Payne CE, Hunt SP, Lamberty BGM : Primary sciatic nerve repair using titanium staples. *British J Plast Surg*, 55:330-334, 2002.

Yin Q, Kemp GJ, Prostick SP : Neurotrophins, neurones and peripheral nerve regeneration. *J Hand Surg*, 23B:433-437, 1998.

Snow PJ, Wilson P : Blind axonal endings and plasticity in the mammalian CNS. *News Physiology Science*, 5:215-219, 1990.

Bao J, Reier PJ, Munson JB : Enhancement of c- τ expression in neurons of the rat spinal cord after partial denervation : Evidence for functional plasticity. *Experimental Neurology*, 122:189-195, 1993.

Crisci AR, Ferreira AL : Low-intensity pulsed ultrasound accelerates the regeneration of the sciatic nerve after neurotomy in rats. *Ultrasound Med Biol*, 28(10):1335-41, 2002.

Lazar DA, Curra FP, Mohr B, McNutt LD et al : Acceleration of recovery after injury to the peripheral nervous system using ultrasound and other therapeutic modalities. *Neurosurg Clin N Am*, 12(2):353-7, 2001.

Maslovskaja SG, Gusarova SA, Gorbunov FE, Strel'tsova EN : Laser therapy and cryomassage in rehabilitation of patients with facial nerve neuropathy. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult*, Sep-Oct;(5):28-30, 2003.

Rosenthal A, Goeddel DV, Nguyen T, Lewis M et al : Primary structure and biological activity of a novel human neurotrophic factor. *Neuron*, 4(5):767-73, 1990.

Hanamura K, Harada A, Katoh-Semba R, Murakami F et al : BDNF and NT-3 promote thalamocortical axon growth with distinct substrate and temporal dependency. *Eur J Neurosci*. 19(6):1485-93, 2004.

Levi-Montalcini R, Hamburger Y : A diffusible agent of mouse sarcoma, producing hyperplasia of sympathetic ganglia and hyperneurotization of viscera in the chick embryo. *J Exp Zool*, 123:133-288, 1953.

Barde YA, Edgar D, Thoenen H : Purification of a new neurotrophic factor from mammalian brain. *EMBO*, 1:549-553, 1982.

Berkmeier LR, Winslow JW, Kaplan DR, Nikolics K et al : Neurotrophin-5 : a novel neurotrophic factor that activates trk and trkB. *Neuron*, 7:857-866, 1991.

Gotz R, Koster R, Winkler C, Raulf F et al : Neurotrophin-6 is a new member of the nerve growth factor family. *Nature*, 372:266-269, 1994.

Kucera J, Fan G, Jaenisch R, Linnarsson et al : Dependence of developing group Ia afferents on neurotrophin-3. *J Comp Neuro*, 363:307-320, 1995.

Coprav B, Gragunow M : Neurotrophin and trk-receptors in adult rat spinal motoneurons : differences related to cell size but not to 'slow/fast' specialization. *Neurosci Lett*, 289:217-220, 2000.

Griesbeck O, Parsadanian A, Sendtner M, Thoenen H : Expression of neurotrophins in skeletal muscle : quantitative comparison and significance for motoneuron survival and maintenance of function. *J Neurosci Res*, 42:21-33, 1995.

Sterne G, Coulton G, Brown R, Green C et al : Neurotrophin-3 enhanced nerve regeneration selectively improves recovery of muscle fibers expressing myosin heavy chains 2b. *J Cell Biol*, 139:709-715, 1997.

Tam SL, Archibald V, Jassar B, Tyreman N, et al : Increased neuromuscular activity reduces sprouting in partially denervated muscles. *J Neurosci*, 21(2):654-67, 2001.

Personius KE, Balice-Gordon RJ : Activity-dependent synaptic plasticity : insights from neuromuscular junctions. *Neuroscientist*, 8:414-422, 2002.

Salpeter S : Calcium-channel blockade and hypertension. *N Engl J Med*, 341:372-373, 1999.

Wood SJ, Slater RS : Safety factor at the neuromuscular junction. *Progress in Neurobiology*, 64:393-429, 2001.

Kitahara Y, Make T, Torii K : Development of degenerative muscle weakness by chronic administration of β,β' -iminodipropionitrile in the drinking water to rats : A model for motoneuropathy. *Physiology & Behavior*, 62:443-451, 1996.

Herbert ME, Roy RR, Edgerton VR : Influence of one-week hindlimb suspension and intermittent high load exercise on rat muscles. *Exp Neurol*, 102(2):190-8, 1988.

Thomason DB, Herrick RE, Baldwin KM : Activity influences on soleus muscle myosin during rodent hindlimb suspension. *J Appl Physiol*, 63(1):138-44, 1987.

Loeb JA, Hmadcha A, Fischbach GD, Land SJ et al : Neuregulin expression at neuromuscular synapses is modulated by synaptic activity and neurotrophic factors. *J Neurosci*, 22(6):2206-14, 2002.

Fischbach GD, Robbins N : Changes in contractile properties of disused soleus muscles. *J Physiol*, 201(2):305-20, 1969.

Woodcock AH, Taylor PN, Ewins DJ : Long pulse biphasic electrical stimulation of

denervated muscle. *Artif Organs*, 23(5):457-9, 1999.

Kannus P, Jozsa L, Kvist M, Jarvinen T et al : Effects of immobilization and subsequent low- and high-intensity exercise on morphology of rat calf muscles. *Scand J Med Sci Sports*, 8(3):160-71, 1998.

Hashimoto K, Yamazaki S, Ogawa S, Senke H et al : Change of myosin heavy chain isoform expression and histochemical findings in skeletal muscular atrophy due to simulated weightlessness by hindlimb tenotomy. *Nippon Seirigaku Zasshi*, 63(10):252-60, 2001.

Funato K, Matsuo A, Yata H, Akima H et al : Changes in force-velocity and power output of upper and lower extremity musculature in young subjects following 20 days bed rest. *J Gravit Physiol*, 4(1):S22-30, 1997.

Brown MC, Ironton R : Motor neurone sprouting induced by prolonged tetrodotoxin block of nerve action potentials. *Nature*, 3:265(5593):459-61, 1977.

Fahim MA, Robbins N : Remodelling of the neuromuscular junction after subtotal disuse. *Brain Res*, 24:383(1-2):353-6, 1986.

Pachter BR, Eberstein A : Neuromuscular plasticity following limb immobilization. *J Neurocytol*, 13(6):1013-25, 1984.

Prakash YS, Miyata H, Zhan WZ, Sieck GC : Inactivity-induced remodeling of neuromuscular junctions in rat diaphragmatic muscle. *Muscle Nerve*, 22(3):307-19, 1999.

Deschenes MR, Will KM, Booth FW, Gordon SE : Unlike myofibers, neuromuscular junctions remain stable during prolonged muscle unloading. *J Neurol Sci*, 15:210(1-2):5-10, 2003.