

흰쥐 발목고정으로 유발된 비복근 위축에서 보조약물 투여가 미치는 효과

김범회¹ · 이태식^{2†}

¹동의대학교 한의과대학 한의학과, ²동의과학대학교 물리치료과

Effect of Adjuvant Administration on Gastrocnemius Atrophy Induced by Ankle Joint Fixation in Rats

Kim Bumhoi, Ph.D¹ · Lee Taesik, PT, Ph.D^{2†}

¹*Dept. of Dong-eui College of Korean Medicine*

^{2†}*Dept. of Physical Therapy, Dong-eui Institute of Technology*

Abstract

Purpose : In this study we tested the hypothesis that eucommia ulmoides (EU) extract would improve disuse-induced muscle atrophy following hindlimb immobilization.

Method : The hindlimb immobilization was performed with casting tape to keep the left ankle joint in a fully extended position. The rats in EU treated group were orally administrated with eucommia ulmoides water extract. After 2 weeks of immobilization, all animals were sacrificed, and the whole gastrocnemius muscles were dissected from both legs. The morphology of right and left gastrocnemius muscles in both EU and control groups were assessed by hematoxylin and eosin staining.

Results : Eucommia ulmoides extract represented the significant protective effects against the reductions of the gastrocnemius muscles weight and average cross section area to compared with Control group.

Conclusion : Eucommia ulmoides has protective effects against immobilization induced muscle atrophy.

Key Words : disuse muscle atrophy, eucommia ulmoides, gastrocnemius, hindlimb immobilization.

†교신저자 : 이태식, ptroom@dit.ac.kr

I. 서 론

근 위축(muscle atrophy)은 오랜 기간의 침상생활, 근육 운동 부족, 무중력 상태, 팔다리 고정 등 다양한 환경에서 발생할 수 있으며, 근육량의 손실과 기능의 저하는 삶의 질의 저하뿐만 아니라 노령 환자의 사망률을 증가시키는 원인이 되기도 한다(Wall & van Loon, 2013). 무용성 근위축(disuse muscle atrophy)이란 근육의 불사용 혹은 기능 저하에 의해 근육이 위축되는 것을 말하는데, 오랫동안 근육을 사용하지 않게 되면 신체의 심박출량, 최대 산소소모량, 심근수축력, 정맥환류 및 혈액용적이 감소하며 국소적으로 골격근의 위축을 초래하게 된다(Metter 등, 2002). 현재까지 근 위축을 개선하기 위한 다양한 치료법이 연구되어 왔는데, 운동치료, 물리치료, 초음파치료 등이 유의한 효과가 있는 것으로 제시되었다(Ziaaldini 등, 2017). 이처럼 근 위축을 치료하기 위한 다양한 치료법들이 제시되어 왔으나 이를 보조할 수 있는 약물요법에 대해서는 아직 연구가 미진한 편이며, 특히 천연약재가 이러한 근 위축의 치료에 미치는 영향에 대해서는 국내·외의 연구가 많이 부족한 것이 사실이다.

두충(杜仲)은 두충나무과(Eucommiaceae)에 속한 낙엽 교목인 두충(*Eucommia ulmoides* Oliver)의 나무껍질을 건조한 것으로 항염증, 항산화, 진통작용 등의 효능을 가지고 있어 고혈압, 요통, 관절통 및 관절염 등에 자주 사용되는 한방 약재이다(김성환과 김일출, 2008). 두충에 대한 실험적 연구로는 사염화탄소로 유발된 흰쥐의 간 손상에 미치는 효과(전정례와 박정룡, 2002), 골다공증에 미치는 효과(윤석주, 2008), 파골세포 분화에 미치는 영향(Jung, 2009), 좌골신경손상 흰쥐의 후지 근 위축에 미치는 영향(조재현 등, 2008) 등이 보고되었다. 이렇듯 두충이 다양한 근골격계통의 질환에 유의한 효능이 있으며 실제 임상에서도 활용되고 있으나 무용성 근 위축에 대한 연구는 아직 이루어진 바가 없다.

따라서, 본 연구에서는 흰쥐에 인위적으로 유발된 무용성 근 위축에 대해 두충 투여가 미치는 영향을 검증하기 위하여 2주 동안 흰쥐의 왼쪽 뒷다리 발목관절을 고정시키고 두충 추출액을 경구 투여한 후 체중 변화, 좌우 비복근 근육의 무게 및 근 섬유 변화를 측정하였

다. 그 결과, 두충이 무용성 근 위축 손상에 대해 유의한 보호효과를 나타내어 이를 보고하는 바이다.

II. 실험 방법

1. 실험동물

본 연구를 위하여 10주령, 약 250 g 전·후의 Sprague-Dawley계 수컷 흰쥐 20마리를 사용하였고 (주)샘타코(대한민국)에서 구입하였다. 흰쥐의 사육환경은 조명 12시간 명/암, 온도 23~24 °C, 습도 40~60 %로 자동 유지되었다. 무균 음수와 사료를 자유롭게 공급하였고, 실험실 환경에 1주 이상 적응시킨 후 사용하였다.

본 연구의 모든 과정은 동의대학교 동물실험윤리위원회의 승인을 얻은 후 규정 및 방침에 따라 진행되었다(승인번호: R2017-023).

2. 약물의 제조와 실험군의 분리

시중에서 구매한 두충 200 g을 증류수 2 L와 함께 전탕기에서 2시간 동안 전탕한 다음 여과액을 감압 및 농축하여 물추출액을 얻었다. 최종 투여량은 60 kg 일반 성인의 하루 20 g 복용량으로 환산하여, 흰쥐 체중 100 g당 33.3 mg를 경구 투여하였다.

실험군을 분리하기 위해 흰쥐를 무작위로 10마리씩 나누어 EU(*Eucommia ulmoides*)군에는 두충을 투여하였고 대조군에는 동일량의 생리식염수를 투여하였으며, 물과 사료는 모든 군에서 전체 실험기간 동안 자유롭게 섭취할 수 있도록 하였다.

3. 무용성 근 위축 유발

흰쥐의 무용성 근 위축을 유발하기 위한 방법으로, 흰쥐의 왼쪽 발목관절을 완전히 신전(extension) 시킨 후 고정테이프(casting tape, type 82002A, 3M, USA)를 이용하여 발목관절을 고정하였다. 오른쪽 발목에는 아무런 처치도 하지 않아서 자유롭게 움직이도록 하였다. EU군에

는 매일 오전 정해진 시간에 두층 추출물을 1회 경구투여 하였으며, 대조군에는 동일량의 생리식염수를 같은 방식으로 투여하였다.

4. 체중측정 및 근육 중량의 변화

실험동물의 체중을 측정하기 위해 실험기간 동안 매일 오전 동일한 시간에 측정하였으며, 실험 마지막 날에는 부검 직전에 측정하였다. 실험 개시 2주 후 실험동물을 안락사 시켜 부검을 통해 실험동물의 오른쪽 후지로부터 비복근을 분리 채취하여 중량을 측정하였다. 근육의 무게는 실험동물의 체중을 측정한 다음 체중 100 g 당 근육 무게를 계산하였다.

각 실험군별 비복근의 근 위축의 정도는 아래 계산식으로 측정하였다.

$$\text{근위축비율(\%)} = \frac{\text{우측 근육 중량} - \text{좌측 근육 중량}}{\text{우측 근육 중량}} \times 100$$

이후 근육조직은 근육의 중앙 부분에서 약 3~5 mm 정도 두께로 절편하여 -50 °C의 드라이아이스-아이소펜탄(dry ice-isophentan) 용액으로 동결시키고 -80 °C에서 보관하였다.

5. 해부조직학적 관찰 및 근육단면적 측정

동결 보관된 근육조직 중에 비복근의 중앙부분(mid-belly)을 연속적으로 8 μm 두께로 냉동절편하여 헤마톡실린-에오신 염색법(hematoxylin and eosin staining, H&E staining)을 시행 후, 현미경 하에서 관찰하고 사진 촬영 후 영상분석용 소프트웨어(Axiovision LE software, Carl Zeiss Vision, ver 4.2, USA)를 이용하여 근육 단면의 면적(cross section area)을 측정하였다. 각 실험군의 근섬유의 평균 면적은 각각의 근육조직에서 최소 30개 이상의 근섬유를 관찰하여 측정하였다.

6. 통계학적 분석

연구결과에 대한 분석은 PASW window 10.0을 이용하

였다. 스튜던트 T검정(student's t-test)를 사용하여 p<.05 및 p<.01의 유의수준으로 검증하였으며, 모든 값의 수치는 평균±표준오차(mean±standard error)로 표시하였다.

III. 결 과

1. 체중의 변화

실험 시작일에 각 군별 흰쥐의 평균 체중은 대조군에서 242.4±2.4 g, EU군에서 241.5±2.5 g이었으며, 2주 후 마지막으로 측정된 체중은 대조군에서 평균 329.1±7.1 g, EU군에서 333.7±12.4 g으로, EU군이 대조군에 비해 평균 체중이 약간 증가하였으나 유의성 있는 차이는 아니었다. 2주간의 실험기간 동안 모든 군에서 시간이 지남에 따라 체중이 점차 증가하는 양상이 나타났다.

2. 비복근 무게의 변화

실험 시작일로부터 2주 후 흰쥐의 양쪽 비복근을 적출하여 각 무게를 측정하고 체중 100 g당 근육 무게를 환산하여 좌우 근육 및 각각의 군 간의 근육 무게 변화를 비교하였다. 그 결과, 대조군의 경우 자유롭게 움직임이 가능하게 한 오른쪽 비복근은 506.8±3.6 mg/100 g인 반면, 붕대로 압박하여 움직이지 못하게 한 왼쪽은 418.1±3.6 mg/100 g로 측정되어 유의성 있는 감소가 나타났다(p<.01)(표 1). 오른쪽에 대한 왼쪽의 근육 무게의 감소율은 17.5±0.8 %로 계산되었다.

두층 추출물을 경구 투여한 EU군의 경우는 오른쪽이 510.0±4.0 mg/100 g로 측정된 반면, 발목관절을 고정시킨 왼쪽의 경우는 431.3±5.0 mg/100 g로 측정되어 대조군과 마찬가지로 근육 무게에 있어 유의성 있는 감소가 확인되었다(p<.01)(표 2). 오른쪽에 대한 왼쪽의 근육 무게의 감소량을 계산하였을 경우 15.4±1.3 %로 관찰되었다.

대조군과 EU군을 비교한 결과에서는 아무런 처치를 가하지 않은 오른쪽 비복근 무게는 유의성 있는 차이가 없었으나, 발목관절을 붕대로 고정시킨 왼쪽의 경우에는 근육감소량의 비교에 있어 EU군이 대조군에 비해 근 위

축이 유의성 있게 회복된 결과를 나타냈다($p < .05$)(표 1).

표 1. 비복근 중량의 변화

(unit: mg/100g)

Group	Right (intact)	Left (disuse)	Atrophy ratio (%)
Control	506.8±3.6	418.1±3.6**	17.5±0.8
EU	510.0±4.0	431.3±5.0***#	15.4±1.3#

EU; eucommia ulmoides

** $p < .01$ compared with right gastrocnemius

$p < .05$ compared with Control group

3. 근육 단면의 해부조직학적 변화

비복근의 중앙부를 8 μm 두께로 냉동 절편하여 H&E 염색을 시행하여, 현미경 하에서 근육 단면적의 변화를 관찰한 결과, 대조군과 EU군 모두에서 발목 고정을 시행한 왼쪽 비복근에서 아무런 처치도 가하지 않은 오른쪽에 비해 근섬유의 단면적이 감소되었음을 뚜렷이 확인할 수 있었다. 또한 근육 내 염증세포와 근육위성세포

의 증식을 보여주는 근섬유 주변에서의 핵(nucleus) 응집과 결합조직의 증가도 오른쪽에 비해 왼쪽 비복근에서 상대적으로 많이 관찰되었다(그림 1).

EU군과 대조군을 비교한 결과에서는 오른쪽 비복근에서는 두 군 간에 차이점을 발견할 수 없었으나 왼쪽의 경우는 EU군에서 대조군에 비해 근섬유 단면적 감소의 정도가 상대적으로 덜한 편이었으며, 더불어 근섬유 주변에서의 핵 응집도 상대적으로 적게 관찰되었다.

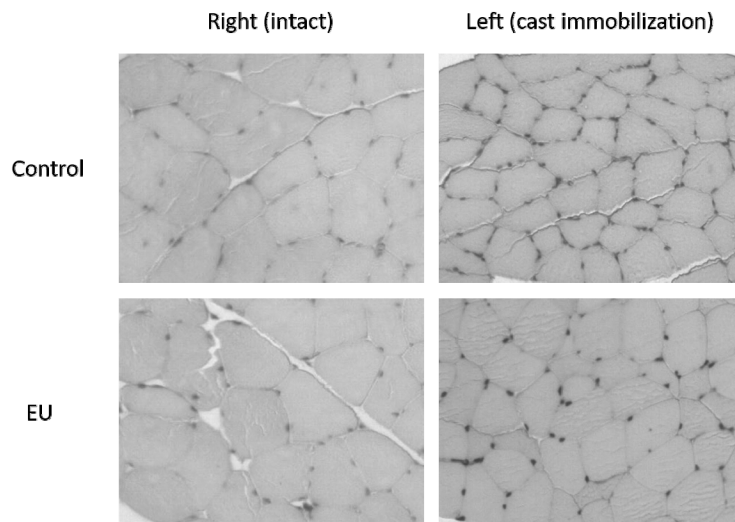


그림 1. 비복근 근섬유의 조직학적 변화

EU; eucommia ulmoides

The cast immobilization decreased myofibers of gastrocnemius in both Control and EU groups. The reduction of left myofibrils in the EU group was recovered to compared with that of the Control group. (Magnification, x400)

4. 근섬유의 단면적 크기의 변화

비복근 단면적의 변화를 영상분석을 통해 실제 수치화하여 비교한 결과에서도, 대조군에서는 자유로운 움직임이 가능했던 오른쪽 비복근의 경우 $4,356.2 \pm 82.1 \mu\text{m}^2$ 로 측정된 반면, 발목관절을 붕대로 압박하여 움직임을 제한한 왼쪽의 경우 $3,665.8 \pm 88.3 \mu\text{m}^2$ 로 측정되어 유의성 있는 감소가 나타났다($p < 0.01$)(표 2). 오른쪽에 대한 왼쪽의 근육 단면적의 평균 감소량은 $15.5 \pm 2.9 \%$ 로 계산되었다.

투여를 투여한 EU군의 경우는 아무런 처치를 하지 않은 오른쪽 비복근의 단면적은 $4,377.3 \pm 101.4 \mu\text{m}^2$ 로 측정

되었다. 발목관절을 압박한 왼쪽의 경우는 $3,897.8 \pm 60.2 \mu\text{m}^2$ 로 측정되어 대조군과 마찬가지로 유의성 있는 감소가 확인되었다($p < 0.01$, 표 2). 오른쪽에 대한 왼쪽의 근육 단면적의 평균 감소량은 $10.7 \pm 1.9 \%$ 로 계산되었다.

대조군과 EU군을 비교해 보았을 때, 아무런 처치도 가지지 않은 오른쪽의 경우는 두 군간에 유의성 있는 변화는 나타나지 않았다. 발목 고정을 시행한 왼쪽의 비교에서는 EU군이 대조군에 비해 근 위축이 회복된 결과를 보였으며, 통계적으로도 유의성 있는 변화를 나타냈다($p < 0.05$)(표 2).

표 2. 비복근 단면적 크기의 변화

(unit: μm^2)

Group	Right (intact)	Left (disuse)	Atrophy ratio (%)
Control	$4,356.2 \pm 82.1$	$3,665.8 \pm 88.3^{**}$	15.5 ± 2.9
EU	$4,377.3 \pm 101.4$	$3,897.8 \pm 60.2^{**\#}$	$10.7 \pm 1.9^{\#}$

The cast immobilization of left hindlimb resulted in significant reduction of Cross Sectional Area of Gastrocnemius in both Control and EU groups. The mean Area of left gastrocnemius in the EU group was recovered to compared with that of the Control group. The mean ratio of left gastrocnemius to right in the EU group was also significantly recovered to compared with that of the Control group.

** $p < 0.01$ compared with right gastrocnemius

$\#p < 0.05$ compared with Control group

IV. 고 찰

붕대에 의한 신체 일부의 고정은 혈액순환 장애, 근육 염좌(muscle distortion), 인대 수축 및 유착을 일으키며 최종적으로 주변 근육들에 위축성 변화를 초래한다. 약 2~3주간의 고정으로 인해 근육량이 5~10% 가량 감소되며 동시에 근육의 힘도 10~20% 줄어드는 것으로 밝혀졌다(de Boer 등, 2007). 근육량과 근육의 힘은 근육 단면적의 크기와 밀접한 관련이 있으며, 단면적이 클수록 더 많은 수의 근섬유를 가지게 되므로, 붕대 고정 환자의 재활을 위해 근육 직경의 빠르고 효율적인 회복은 필수적인 요소이다(Glover 등, 2008).

근 위축은 근육량 감소뿐만 아니라 근력과 근 기능 감소까지를 포함하며, 노화, 운동부족, 신경손상, 영양의 불균형, 호르몬 감소, 염증반응, 단백질 합성과 분해조절

장애 등이 원인으로 알려져 있다(Cruz-Jentoft 등, 2010). 특히, 여러 원인 중에서 다양한 염증반응들은 근육의 정상 조직을 파괴하는 것으로 알려져 있는데, 비록 이후에 염증이 치유되더라도 근육조직은 섬유화 과정을 거치면서 그 근섬유의 수나 기능이 저하되어 근육의 힘이 약화되게 된다. 염증이 장기화되는 경우 근육조직이 손상되어 결과적으로 근 위축이 일어나게 된다(Londhe & Guttridge, 2015).

근 위축에 대한 연구를 위해 다양한 동물모델이 활용되는데, 대표적인 것이 신경차단(denervation), 꼬리매달기(tail suspension), 후지고정(hindlimb immobilization) 등의 방법이 있다(Udaka 등, 2011). 이 중에서 실험동물의 뒷다리를 인위적으로 고정시켜 움직이지 못하게 하는 후지고정법은 근 위축 연구에서 가장 많이 사용되는 방법으로, 오랜 침상생활, 근육 운동 부족 혹은 노년층의

근육의 불사용 등에 의해 유발되는 무용성 근 위축을 연구하기 위해 효과적인 방법이다. 이러한 근 위축은 주로 하지의 근육에서 뚜렷하게 나타나는 것으로 알려졌는데, 여러 근섬유 유형이 혼합된 근육에서 흔히 발견된다(Matsumoto 등, 2014). 종아리 뒤쪽에 위치한 비복근(gastrocnemius)은 발목관절의 발바닥쪽굽힘(plantar flexion)을 일으키는 주요 근육으로써, 미오신 H사슬(fast myosin-heavy chain)의 빠른 섬유와 느린 섬유를 모두 함유하고 있기 때문에 동물모델을 이용한 근 위축 연구에 자주 사용되는 부위이며, 여기서 관찰된 결과들은 다른 근육들에게도 적용이 가능하다(Calvani 등, 2013).

따라서, 본 연구에서도 임상에서 흔히 나타나는 무용성 근위축의 양상과 유사한 동물모델을 이용하여 실험 동물에 후지고정법을 채택하였으며, 흰쥐의 왼쪽 발목관절을 2주간 붕대로 고정시킴으로 종아리근육의 위축을 유발하고 비복근의 변화를 관찰하였다. 동시에 두층 추출물을 경구 투여하여 근 위축에 미치는 효과를 검증하였다. 그 결과, 2주간의 평균 체중의 변화에 있어서는 두층을 투여한 EU군과 동일량의 생리식염수를 투여한 대조군 간에 유의한 차이는 발견되지 않았다. 하지만, 비복근 무게의 변화에 있어서는 유의성 있는 차이가 발생하였는데, 발목관절을 붕대로 고정시킨 왼쪽 비복근에서 EU군이 대조군에 비해 근 위축이 유의성 있게 회복된 결과를 나타냈다($p<0.05$)(표 1). 이러한 결과는 두층이 근육 불사용으로 인한 근 위축에서 근육 무게의 감소에 유의성 있는 방어효과를 가지고 있음을 보여주는 것이라 할 수 있다.

근육의 변화를 좀 더 구체적으로 확인하기 위해 비복근을 8 μm 두께로 냉동 절편하여 H&E 염색을 통해 근육 단면적의 변화를 관찰하였다. 그 결과, 발목관절 고정에 의해 왼쪽 비복근이 오른쪽에 비해 근섬유의 단면적의 크기가 현저히 감소되었음을 확인할 수 있었다. 아울러, 2주간의 발목관절 고정에 의해 비복근의 근육세포에서 염증반응과 핵의 응집이 관찰되었는데, 비복근에서의 염증반응은 형태학적으로 일정한 형태 없이 근섬유 다발 사이에 핵들이 응집되어 있는 특징을 나타내었다(그림 1). 또한, 간혹 핵의 침윤현상이 관찰되었는데, 이는 근섬유다발 속에 죽은 세포 또는 감염된 세포를 처리하기 위해 대식세포(macrophage)가 침입하였음을 보여주는 것

이다. 이렇듯 발목고정을 시행한 왼쪽 비복근에서 단면적 감소와 염증반응이 뚜렷이 관찰되었으나, 두층 추출물을 경구 투여한 EU군이 대조군에 비해 근섬유 단면적 감소의 정도가 상대적으로 줄어들었으며, 근섬유 다발 사이의 핵 응집도 적게 관찰되었다. 이러한 결과는 두층이 2주간 발목고정으로 유발된 근 위축에서 근섬유의 감소를 줄이고, 근육 세포에서 염증반응을 억제시킴으로써 방어효과를 가지고 있음을 보여주는 것이라 할 수 있다.

현미경으로 관찰한 근섬유 직경의 변화를 수치화하기 위하여, 본 연구에서는 영상분석을 통해 비복근의 근섬유 단면적을 측정하여 비교하였다. 그 결과 대조군에서는 오른쪽에 대한 왼쪽의 근육 단면적의 평균 감소량은 $15.5\pm 2.9\%$ 로 계산된 반면, 두층 추출물을 투여한 EU군의 경우는 오른쪽에 대한 왼쪽의 근육 단면적의 평균 감소량은 $10.7\pm 1.9\%$ 로 계산되어, EU군이 대조군에 비해 근육위축이 유의성 있게 회복된 결과를 보였다($p<0.05$)(표 2).

위의 결과들을 종합하면, 두층 추출물은 실험동물의 후지 고정으로 유발된 근 위축 손상에서 비복근의 중량 감소를 억제하였으며, 근섬유의 감소를 억제함으로써 단면적 감소를 줄이고, 또한 근육 안에서의 염증반응을 줄여주는 효과가 있는 것으로 판단된다. 앞서 언급한 바와 같이, 최근 붕대고정에 의한 근 위축의 치료에 다양한 물리치료 방법들이 유효한 효과를 발휘하는 것으로 밝혀졌다. 이러한 무용성 근 위축의 재활에 있어서 다양한 물리치료 기법과 더불어 천연 약재 병용은 더 나은 효과를 발휘하리라 생각된다. 본 연구를 통해 근 위축에 유의한 방어효과가 있는 것으로 밝혀진 두층이 무용성 근 위축 치료에 유용한 약물로 활용되길 기대해본다. 다만, 본 연구에서는 후지 고정 후의 근 위축에 대한 약물의 효과를 해부조직학적 관찰을 통해 검증하였는데 다양한 근 위축 기전에 미치는 영향에 대해서도 이후 추가적인 연구가 진행되어야 할 것이다.

V. 결 론

본 연구는 무용성 근 위축 손상에서 두층이 미치는 방

어효과를 검증하기 위한 실험으로, 무용성 근 위축을 유도하기 위하여 흰쥐의 발목관절을 2주간 붕대로 고정시키고 두충 물추출물을 경구 투여한 후, 2주 후에 실험동물의 체중 변화, 비복근 무게, 비복근의 근섬유 단면적 변화를 관찰한 결과, 다음과 같은 결론을 얻었다.

두충은 장기간의 근육 불사용으로 인한 실험동물의 체중 변화에는 영향을 미치지 않았으나, 비복근의 중량 감소를 유의성 있게 방어하는 효과가 있었다. 이러한 방어효과는 비복근의 근섬유의 단면적 감소를 유의성 있게 억제시키고, 근육 내 염증세포와 근육위성세포의 증식을 억제시키기 때문인 것으로 사료된다. 이와 같은 결과로 두충은 근육 불사용에 따른 근 위축 변화에 유의한 보호효과를 가지고 있으며, 실제 임상에서 무용성 근 위축의 개선에 있어서 유용한 보조적 약물로써 활용될 수 있으리라 사료된다.

참고문헌

- 김성환, 김일출(2008). 두충, 단삼, 진피 및 천궁의 항산화 활성 및 미백 효과. *동아시아식생활학회지*, 18(4), 618-623.
- 윤석주, 김경윤, 김계엽 등(2008). 두충 추출물 투여와 트레드밀 운동이 골다공증 유발 백서의 골대사에 미치는 영향. *동의생리병리학회지*, 22(4), 884-890.
- 전정례, 박정룡(2002). 두충잎 물추출물이 사염화탄소를 투여한 흰쥐의 간손상에 미치는 영향. *한국식품영양과학회지*, 31(1), 124-130.
- 정연태, 최윤홍, 송정훈 등(2009). 두충의 물 추출물이 파골세포의 분화에 미치는 영향. *동의생리병리학회지*, 23(3), 613-618.
- 조재현, 김건식, 최현 등(2008). 두충이 좌골신경손상 흰쥐의 후지 근육위축에 미치는 영향. *동의생리병리학회지*, 22(6), 1454-1461.
- Calvani R, Joseph AM, Adhietty PJ, et al(2013). Mitochondrial pathways in sarcopenia of aging and disuse muscle atrophy. *Biol Chem*, 394(3), 393-414.
- Cruz-Jentoft AJ, Baeyens JP, Bauer JM, et al(2010). Sarcopenia: European consensus on definition and diagnosis: Report of the european working group on sarcopenia in older people. *Age Ageing*. 39(4), 412-423.
- de Boer MD, Selby A, Atherton P, et al(2007). The temporal responses of protein synthesis, gene expression and cell signalling in human quadriceps muscle and patellar tendon to disuse. *J Physiol*, 585(1), 241-251.
- Glover EI, Phillips SM, Oates BR, et al(2008). Immobilization induces anabolic resistance in human myofibrillar protein synthesis with low and high dose amino acid infusion. *J Physiol*, 586(24), 6049-6061.
- Londhe P, Guttridge DC(2015). Inflammation induced loss of skeletal muscle. *Bone*, 80, 131-142.
- Matsumoto Y, Nakano J, Oga S, et al(2014). The non-thermal effects of pulsed ultrasound irradiation on the development of disuse muscle atrophy in rat gastrocnemius muscle. *Ultrasound Med Biol*, 40(7), 1578-1586.
- Metter EJ, Talbot LA, Schragger M, et al(2002). Skeletal muscle strength as a predictor of all-cause mortality in healthy men. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 57(10), 359-365.
- Udaka J, Terui T, Ohtsuki I, et al(2011). Depressed contractile performance and reduced fatigue resistance in single skinned fibers of soleus muscle after long-term disuse in rats. *J Appl Physiol*, 111(4), 1080-1087.
- Wall BT, van Loon LJ(2013). Nutritional strategies to attenuate muscle disuse atrophy. *Nutr Rev*, 71(4), 195-208.
- Ziaaldini MM, Marzetti E, Picca A, et al(2017). Biochemical pathways of sarcopenia and their modulation by physical exercise: A narrative review. *Front Med*, 4, 167.