

시스플라틴 항암제에 의해 유발되는 식욕부진과 신경병증성 통증이 쥐의 뒷다리근에 미치는 영향

양지수¹ · 최명애²

¹매릴랜드대학교 간호대학, ²서울대학교 간호대학

Effect of Anorexia and Neuropathic Pain Induced by Cisplatin on Hindlimb Muscles of Rat

Yang, Gee Su¹ · Choe, Myoung-Ae²

¹School of Nursing, University of Maryland, Baltimore, MD, U.S.A.

²College of Nursing, Seoul National University, Seoul, Korea

Purpose: The purpose of this study was to examine the effect of anorexia and neuropathic pain induced by cisplatin on hindlimb muscles of rats. **Methods:** Adult male Sprague-Dawley rats were divided into two groups, a cisplatin-treated group (n = 10) and a control group (n = 10). In the cisplatin-treated group, cisplatin at a dose of 2 mg/kg was injected intraperitoneally two times a week up to a cumulative dose of 20 mg/kg over 5 weeks, and in the control group saline (0.9% NaCl) was injected intraperitoneally at the same dose and duration as the cisplatin-treated group. At 34 days all rats were anesthetized, after which the soleus and plantaris muscles were dissected. Withdrawal threshold, body weight, food intake, activity, muscle weight, Type I and II fiber cross-sectional areas and myofibrillar protein content of the dissected muscles were determined. **Results:** Compared with the control group, the cisplatin-treated group showed significant decreases ($p < .05$) in withdrawal threshold, activity, food intake, body weight, Type I and II fiber cross-sectional areas, myofibrillar protein content and weight of the soleus and plantaris muscles. **Conclusion:** Muscular atrophy in hindlimb occurs due to anorexia and neuropathic pain induced by the cisplatin treatment.

Key words: Cisplatin, Neuropathic pain, Anorexia, Muscular atrophy

서론

1. 연구의 필요성

Cisplatin (Cis-diamine dichloroplatinum (II), Pt (NH₃)₂Cl₂)은 유방암, 난소암, 방광암, 위암, 폐암 등 다양한 고형암 치료에 사용되며 (Krarup-Hansen, Helweg-Larsen, Schmalbruch, Røth, & Krarup, 2007) 세포분열 억제를 통해 항암작용을 한다. 시스플라틴은 혈관

장벽에 의해 효과적으로 보호되지 않는 말초신경계에 신경독성 손상(peripheral neurotoxicity)을 주는 것으로 알려져 있으며(Nicolao & Giometto, 2003), 시스플라틴의 투여 직후 혹은 만성적인 축적작용에 의해 말초신경조직의 파괴나 독성 효과가 나타나 시냅스 전달이 증가된다(Kang, 2008). 이로 인해, 축삭에서 신경체세포 방향으로 뉴런의 세포편성이 일어나 말초신경병증이 나타나게 되며 주로 근위부 보다는 원위부에서 대칭성의 근쇠약과 감각소실이 발생한다 (Lee, 2003). Windebank와 Grisold (2008)의 연구에 따르면, 시스플라

주요어: 시스플라틴, 신경병증성 통증, 식욕부진, 근위축

* 이 논문은 제1저자 양지수의 석사학위논문 일부 발췌한 것임.

* This manuscript is based on a part of the first author's master's thesis from Seoul National University.

Address reprint requests to : Yang, Gee Su

School of Nursing, University of Maryland, 655 West Lombard Street, Room 404, Baltimore, MD 21201, U.S.A.

Tel: +1-310-424-0756 Fax: +1-410-706-3769 E-mail: gsyang@umaryland.edu

투고일: 2012년 9월 10일 심사외뢰일: 2012년 9월 26일 게재확정일: 2013년 3월 22일

틴 치료를 받은 환자의 30-40%가 주로 원위부, 양측성을 특징으로 하는 사지의 감각장애를 호소하고 치료가 중단된 후에도 몇 개월 간 통증을 겪는 것으로 나타났다.

또한, 시스플라틴은 오심과 구토를 비롯한 식욕부진을 유발시킬 수 있는데, 시스플라틴을 투여 받은 대상자의 경우 수분섭취량이 유의하게 낮아 영양불량에 취약한 집단이 될 수 있는 것으로 보고되었다(Yang, 2004). 시스플라틴은 7-14일마다 교체되는 위장관 점막 상피세포의 재생을 방해하기 때문에 위장관 점막염을 가장 잘 일으키는 항암제로 알려져 있으며(Park & Kim, 2009), Vera 등(2011)은 동물실험에서 위장세포가 반복적으로 시스플라틴에 노출되는 경우 세포의 형태학적, 면역조직화학적 변화에 따라 상부 위장의 음식물 운반능력과 결장의 수축력 및 근전도 활동이 감소되어 장관 신경병증(enteric neuropathy)에 의해 체중감소가 초래됨을 확인하였다. Vera, Chiarlone, Martín과 Abalo (2006)는 시스플라틴을 투여 받은 실험군의 일일섭취량이 대조군에 비해 작고, 시스플라틴 투여가 식욕부진과 이식증(pica)을 유발한다고 하였다.

이와 같이 시스플라틴은 말초신경독성에 의한 신경병증성 통증과 식욕부진을 초래하는 것으로 여겨지는데, 신경병증성 통증은 주로 상지보다 하지에 심한 통증을 일으키기 때문에 움직이는데 제한이 있어 기동성을 저하시키고(Sweeney, 2002), 활동이 감소하게 되면 단백질분해의 증가와 단백질합성의 감소로 인해 근위축이 발생하게 된다(Choe, Ji, & Kim, 1995). 또한, 영양섭취저하는 근위축을 초래할 수 있는데, Kim (2005)은 7일간 실험군에게 대조군이 섭취한 양의 37%만을 먹도록 한 결과 쥐 뒷다리에 근위축이 유발되었음을 보고하였고, Almurshed와 Grunesward (2000)는 동물실험에서 30일 동안 식이를 73%로 제한한 결과 족척근과 가자미근의 무게가 감소하였음을 규명하였다.

Prado 등(2007)의 연구에 따르면 암환자의 근육소실(muscle wasting)은 항암제의 심각한 독성과 관련이 있는 것으로 알려져 있다. 암환자의 절반정도가 항암치료 중 근육소실이라는 부작용을 경험하였고, 근육소실이 발생하지 않았던 환자는 불과 20%이며, 47%는 낮은 활동기능점수를 받은 것으로 나타났다(Prado et al., 2007; Prado et al., 2008). 또한, 유방암으로 인해 항암치료를 받는 환자의 경우, 일반적으로 하부체간과 하지에 실질체중(lean body mass)의 감소를 겪는 것으로 확인되었다(Demark-Wahnefried et al., 2001). 이와 같이 근위축은 체중과 상관없이 생존율 및 기능상태 저하를 유발하기 때문에 암환자에게 있어 중요한 문제이나(Prado et al., 2008), 시스플라틴 투여가 어떠한 과정으로 근위축을 유발하는지에 대한 국내외 연구는 거의 없어 임상에서 암환자의 근위축 문제를 어떻게 접근해야 하는지 알기 어려운 실정이다. 따라서, 본 연구는 원인으로 생각되는 시스플라틴 유발 식욕부진과 신경병증성 통증이 근

육에 어떠한 영향을 미치는지 살펴보고자 한다. 이에 시스플라틴 유발 신경병증성 통증 모델을 이용하여 장기간(5주간)의 시스플라틴 투여가 식욕부진과 신경병증성 통증을 유발하는지 확인하고, 그 기능과 구성이 다른 가자미근(soleus)과 족척근(plantaris)을 이용하여 하지근에 미치는 영향을 파악할 것이다.

2. 연구 목적

본 연구의 목적은 시스플라틴 항암제 투여 후 식욕부진과 신경병증성 통증이 유발되는지를 확인하고 식욕부진과 말초신경독성 유발 신경병증성 통증이 쥐의 뒷다리에 미치는 영향을 규명하는 것으로 그 구체적인 연구 목적은 다음과 같다.

첫째, 식이섭취량과 체중을 측정하여 시스플라틴 항암제 투여 후 식욕부진이 유발되는지 확인한다.

둘째, 회피반응역치와 활동점수를 측정하여 시스플라틴 항암제 투여 후 말초신경독성에 의해 신경병증성 통증이 유발되는지 확인한다.

셋째, 식욕부진과 말초신경독성 유발 신경병증성 통증이 쥐의 뒷다리에 미치는 영향을 규명한다.

연구 방법

1. 연구 설계

본 연구는 순수실험연구로서 S대학교 실험동물 자원관리원 동물실험 위원회의 승인을 받은 후 규정에 따라 수행되었다(IRB 승인 번호: SNU-110705-4). 실험동물은 시스플라틴을 처치한 실험군과 용매를 투여한 대조군으로 무작위 배정되었다. 시스플라틴 투여군(cisplatin-treated group)은 시스플라틴을 5주 동안 총 10회(1주에 2회, 총 축적용량 20 mg/kg) 투여한 군이고, 대조군(control group)은 시스플라틴의 용매인 생리식염수를 5주간 투여한 군이다. 실험기간은 시스플라틴 투여기간동안 이질통(allodynia) 등의 통증관련 행동변화를 관찰한 선행 연구(Authier, Gillet, Fialip, Eschaliere, & Coudore, 2003)에 따라 5주로 정하였다.

2. 연구 대상

본 연구에서는 체중 180-210g의 6주령 male Sprague-Dawley (Koatech Co., Pyeongtaek, Korea) 쥐 20마리를 실험대상으로 사용하였다. 실험 시작 시에는 말초신경독성이 유발되지 않거나, 항암제 투여로 인해 사망할 가능성 등으로 22마리의 쥐를 대상으로 하였으나 이

중 실험 전 회피반응역치가 낮게 측정된 2마리를 제외하고 총 20마리가 연구대상이 되었다. 20마리의 회피반응역치가 모두 18 g(정상치)이었으므로 각 군의 평균무게를 고려하여 실험군과 대조군에 각 10마리씩 무작위 배정하였다.

실험대상 쥐들은 온도 $22 \pm 2^\circ\text{C}$ 와 습도 50%, 일주기리듬을 위해 12시간은 밝게 12시간은 어둡게 하는 동일한 환경(Seonnam 대학 학 실험동물실)에 수용하였고, 모든 연구대상 쥐들에게 고형사료(Cargill Agri Purina Inc., Seongnam, Korea)와 물은 마음대로 먹을 수 있게 하였다. 실험에 이용된 쥐들은 동물실에 반입된 후 7일간 실험실 환경에 적응하는 기간을 두었다.

3. 실험 방법

1) 시스플라틴 투여

Authier 등(2003)의 시스플라틴 유발 신경병증성 통증 동물 모델(rat model of cisplatin-induced peripheral neuropathy)에 따라 본 연구의 시스플라틴 투여용량과 방법, 투여 기간, 신독성 손상 예방을 위한 처치 및 대조군의 생리식염수 투여 용량을 결정하였다.

시스플라틴(cis-Diammineplatinum (II) dichloride, Sigma, St.Louis, MO, USA)을 생리식염수(normal saline)에 희석시켜 최종 농도가 0.08-0.15 mg/mL가 되도록 하여 투여 직전에 용매에 섞었다. 복강 내에는 5 mL 이상 투여되지 않도록 하였다. 시스플라틴을 1주에 2회(월요일과 목요일) 2 mg/kg/day의 용량으로 총 축적용량(cumulative dose)이 20 mg/kg이 되도록 5주 동안 복강 내 주사하였다. 신장 손상을 예방하기 위해 Authier 등(2003)의 방법에 따라 시스플라틴 투여 전에 생리식염수를 2mL 피하주사 하였다. 수화요법(hydration)은 이미 임상치료의 표준요법으로서 시스플라틴에 의한 신독성을 현저히 감소시키고(Gandara, Perez, Phillips, Lawrence, & DeGregorio, 1989), 쥐를 대상으로 한 실험에서도 신독성을 완화하는 것으로 나타났다(Ahn, Kim, Ha, & Kim, 2007) 신독성을 예방하기 위한 처치로 생리식염수 투여를 선택하였다.

대조군(Control group)에는 생리식염수를 시스플라틴과 동일한 용량으로 동일한 시간에 복강 내로 투여하였다.

2) 회피반응역치 측정

시스플라틴 투여에 의해 신경병증성 통증이 유발되었는지 확인하고자 Authier 등(2003)이 이용한 Von Frey filament test를 본 연구에 적용하였다. 실험시작 시 두 군의 회피반응역치(withdrawal threshold)를 측정하였으며 처음 시스플라틴을 투여한 날인 1일째와 이후 7일 간격으로 회피반응역치를 측정하였다. 회피반응역치란 회피반응을 일으키는 최저 강도를 뜻하며, 측정하는 구체적인

방법은 다음과 같다.

실험쥐를 금속철망(망 간격, 0.5 cm×0.5 cm)으로 된 바닥 위에 올리고 투명한 아크릴 상자(8×8×24 cm) 안에 넣은 후 환경 변화에 따른 스트레스를 피하도록 15분간 적응시켰다. 쥐가 적응하여 움직임 등이 조용해지면 압력 범주가 0.356-18 g인 Von Frey 필라멘트(Semmes-Weinstein monofilaments, Stoelting, Wood Dale, IL, USA)가 부착된 자극기를 이용하여 철망 사이로 필라멘트를 일정한(좌측) 발바닥에 가해주면서 발의 통증 회피반응이 나타나는 무게를 기록하였다. 필라멘트를 좌측 발바닥에 수직으로 접촉시키고 5-6초간 유지시켜 발바닥에서 펄 때 즉시 움찔하거나 쥐가 신속한 회피반응을 보이거나 발바닥을 핥으면 양성 반응을 보인 것으로 간주하였다(Kim et al., 2004).

3) 체중 및 사료섭취량 측정

식욕부진 유발 여부를 확인하기 위해 체중은 매일 동일한 시간에 rat digital balance (Dae Jong Instrument Co., Seoul, Korea)를 이용하여 측정하였으며 사료섭취량은 매일 24시간 전에 제공한 사료의 무게에서 남은 사료의 무게를 빼서 산출하였다.

4) 활동 측정

두 사람의 관찰자가 일주일에 1회 일정한 시간에 별다른 자극을 가하지 않고 사육상자 속의 쥐가 보여주는 활동을 관찰하여 비활동성(inactivity) 1점, 몸치장활동(grooming) 2점, 활동성(activity) 3점을 부여하였다. 비활동성은 한 곳에 가만히 앉아 있거나 잠자는 듯한 모습을 주로 보일 때이고, 몸치장활동은 털갈기, 세수하기, 굽적거리기 활동을 할 때이며, 그 밖에 왕성하게 움직임, 사육상자 물어뜯기, 계속적인 이동행동, 앞발을 들고 일어서는 행동은 활동성으로 판정하였다. 각각의 쥐가 15초 동안 보이는 행동을 5분간 20회 관찰하여 위의 세 가지 행동기준 중 하나로 표시하였다. 두 관찰자 중 경험이 많은 측정자의 활동점수를 이용하여 5회의 총점을 구하고 평균을 산출하였다(Choe, Kim, An, Lee, & Choi, 2008).

5) 근육절제 및 근육무게 측정

34일째 뒷다리를 절제하는 날 pentobarbital sodium (50 mg/kg)을 복강 내 주사로 투여하여 마취하였다. 양쪽 뒷다리에서 가자미근과 족척근을 절제하여 생리식염수로 세척하고, 지방조직과 결합조직은 신중히 잘라내어 microbalance (FX-300, A&D, Tokyo, Japan)를 이용하여 무게를 측정하였다. 실험동물은 보건사회부고시 제 88-39호에 따라 근육절제 후 pentobarbital sodium을 추가로 복강 내 과량투여를 하여 신속히 안락사시켰다(Choe & An, 2011).

6) 근원섬유의 단백질 함량

뒷다리근을 절제한 이후, Choe와 An (2011)의 연구에서 제시된 방법에 따라 단백질 정량은 분광광도계 (UV1601, SHIMADZU, Tokyo, Japan)를 이용하여 Serva Blue G dye가 함유된 Bio-Rad (Bio-Rad Laboratories, USA) 1 mL를 10 µL의 sample을 100배 희석한 용액에 혼합하여 Bradford assay방법으로 분석하였다. 소 혈청 알부민(bovine serum albumin)을 표준용액으로 이용하여 분광광도계에서 나타난 흡광도(absorbance, A595) 수치(µg/mL)를 읽어 해당 근육의 단백질 함량(µg/mL)을 산출하였다.

7) Type I, II 근섬유의 횡단면적 측정

뒷다리근을 절제한 이후, Choe 등(2008)의 연구에서 제시된 방법에 따라 근섬유 형태를 Type I과 Type II로 구분하기 위해 myosin-ATPase (adenosinetriphosphatase) 조직화학법을 실시하였다.

myosin-ATPase로 염색된 근육표본을 광학현미경(CX-31, Olympus, Tokyo, Japan)으로 보아 어둡게 보이는 근섬유는 Type I, 밝게 보이는 근섬유는 Type II로 분류하고, 각 근섬유의 단면적은 microscopic image analyzer (Image-Pro Plus, Olympus, Tokyo, Japan)를 이용

하여 분석하였다. 100배 배율 하에 최소한 50-100개의 근섬유를 측정하여 Type I, II 근섬유 횡단면적을 구하였다(Table 1).

4. 자료 분석 방법

SPSS for WIN 17.0 프로그램을 이용하여 수집된 자료를 분석하였다. 두 군의 체중, 사료섭취량, 가자미근과 족척근의 무게 및 Type I, II 근섬유 횡단면적, 근원섬유 단백질함량, 회피반응역치, 활동측정 등은 평균과 표준편차로 산출하였고, 두 군 간의 차이는 independent-samples t-test로 분석하였으며, 각 군의 실험시작 시 체중과 근육절제 직전 체중은 paired t-test로 분석하였다. 회피반응역치, 체중 및 사료섭취량은 5주간 반복측정 하였으므로 repeated-measured ANOVA로 시간에 따른 차이를 측정하였으며, 구형성(sphericity) 가정을 만족하지 못하는 경우 Huynh-Feldt correction값을 구하였다. 활동점수의 두 관찰자간의 일치도는 Cohen's kappa (κ) 값을 산출하여 제시하였다. Kolmogorov-Smirnov test를 통해 수집한 자료가 정규분포 함을 확인하였고(각 측정항목에서 자료의 유의확률이 0.05 이상), *in vitro*가 아닌 동물실험에서 동물실험의 원칙상 대상자수는

Table 1 Experimental Procedures

Treatment and measurement	Procedures	Timing
1 Cisplatin injection	Cisplatin was administered intraperitoneally at a dose of 2 mg/kg (cumulative dose: 20 mg/kg).	Twice a week (Monday and thursday) for 5 weeks
2 Withdrawal threshold	After placing rats on a grid covered by a transparent box, they were allowed 15 min to adapt to the change in environment, after which the withdrawal response was evaluated by pricking the left hindpaw using a von Frey filament projected through the grid at a 5-6 second intervals using the up-down testing method.	Performed on the first day as baseline and then measured every 7 days for 5 weeks
3 Body weight and food intake	Body weight was measured using a rat digital balance, and amount of food was weighed before and after feeding.	Measured body weight and food intake daily at the fixed time
4 Activity score	Two research assistants were blinded to the group assignment. The two observers assessed the activity of rats one by one in front of each rat's individual cage. Physical movement was scored 1, grooming 2, and inactivity 3. Each rat was observed every 15 seconds for 5 min (total 20 observations).	Performed once a week (on the 5th, 12th, 18th, 25th and 32nd days of the experimental duration)
5 Muscle weight	Rats were anesthetized intraperitoneally with sodium pentobarbital at a dose of 50 mg/kg on the last day of experimental duration. The soleus and plantaris muscles were excised bilaterally and rinsed with normal saline. The weights of dissected individual muscles were measured using a microbalance after fat and connective tissue were trimmed.	On the dissection day
6 Myofibrillar protein content	Following centrifugation and removal of supernatant, the remaining pellet was analyzed by the Bradford assay method as described by Choe and An (2011), using a spectrophotometer, myofibrillar protein content (µg/mL) was calculated.	After the dissection of hindlimb
7 Cross-sectional area Type I and II fibers	With frozen soleus and plantaris, myosin ATPase reactions were performed on serial sections and fibers were classified as Type I (slow-twitch) or Type II (fast-twitch) as described in Choe et al. (2008). Fiber cross-sectional area was calculated from tracings of 50-100 muscle fibers at 100× magnification by a microscopic image analyzer.	After the dissection of hindlimb

통계분석이 가능한 최소수로 해야 하며 rat의 경우 최소수는 5-10마리이고 모수 검증이 가능하다는 원칙에 의해 모수검정하였다 (Kim & Choe, 2010).

모든 통계의 유의수준은 $p < .05$ 에서 채택하였다.

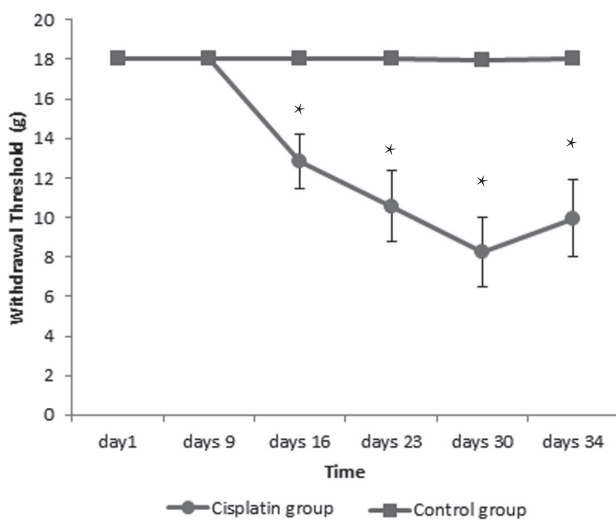
연구 결과

1. 회피반응역치

회피반응역치는 Figure 1에 제시된 바와 같이 실험시작 1일째와 9일째에 두 군 모두 자극에 정상반응을 보여 차이가 없었으나 실험시작 16일째(시스플라틴 4회째 투여)에 실험군의 회피반응역치는 12.84 ± 4.10 g로 대조군에 비해 유의하게 낮았다($t = -3.78, p = .001$).

실험시작 23일째와 30일째 그리고 실험 마지막 날인 34일째에도 실험군의 회피반응역치가 대조군에 비해 유의하게 낮은 것으로 나타났다(23일째: $t = -4.13, p < .001$; 30일째: $t = -5.56, p < .001$; 34일째: $t = -4.18, p < .001$). 실험시작 16일째 이후 실험군이 대조군에 비해 회피반응역치가 현저하게 저하됨을 알 수 있다. 또한, 시스플라틴군의 회피반응역치에 대한 각 시점별 자료를 실험 기간(5주) 동안의 시점을 동시에 고려하여 반복측정 분산 분석을 시행한 결과 통계적으로 유의한 차이를 보였다($F = 12.44, df = 3.88, p < .001$).

신경병증성 통증이 유발된 이후 발가락 걸음(toe walking)과 아치형 척추(arched back)를 특징으로 하는 신경병증성 걸음걸이(neuropathic gait) 및 입모근 수축(piloerection) 등의 말초신경독성 증상이



Values are mean \pm SEM (g);
*Significantly different between the control and cisplatin groups ($p < .05$).

Figure 1. Changes of withdrawal thresholds in the control and cisplatin groups.

나타남을 관찰하였다.

2. 활동측정

신경병증성 통증 발생시점인 실험시작 16일째를 기준으로 하여 전·후의 활동점수를 비교한 결과 신경병증성 통증이 유발되기 전 평균활동점수는 실험군이 30.25 ± 10.99 , 대조군이 26.80 ± 8.89 로 유의한 차이가 없었다($t = 1.09, p = .282$).

신경병증성 통증이 유발된 이후 평균활동점수는 실험군이 32.23 ± 12.89 , 대조군이 40.77 ± 12.77 로 실험군의 활동점수가 대조군에 비해 유의하게 낮은 것으로 나타났다($t = -2.58, p = .013$). 두 관찰자 간의 신뢰도(interrater reliability)는 Cohen's kappa를 구하였으며 0.82로 나타났다.

3. 체중

체중은 실험시작 시 실험군과 대조군 간에 차이가 없었으나, 신경병증성 통증이 유발되기 전인 15일째의 체중은 실험군이 247.07 ± 13.28 g, 대조군이 306.75 ± 16.31 g으로 실험군의 체중이 유의하게 작았다($t = -8.98, p < .001$). 근육절제 직전 체중은 실험군이 185.91 ± 19.57 g, 대조군이 390.52 ± 27.32 g으로 실험군이 유의하게 작은 것으로 나타났다($t = -19.25, p < .001$). 또한, 시스플라틴군의 체중에 대한 각 시점별 자료를 실험 기간 동안의 시점을 동시에 고려하여 반복측정 분산 분석을 시행한 결과 통계적으로 유의한 차이를 보였다($F = 40.58, df = 3.54, p < .001$).

실험시작 시 체중은 두 군 간에 차이가 없었으나 대조군의 체중은 점점 증가하였고, 실험군은 증가하는 경향을 보이다가 4회째 시스플라틴이 투여된 16일째 이후부터 체중이 지속적으로 감소하였다.

4. 사료섭취량

34일간의 총 사료섭취량은 실험군이 338.57 ± 39.34 g, 대조군이 734.30 ± 56.72 g으로 실험군이 대조군에 비해 유의하게 작았다($t = -11.79, p < .001$). 신경병증성 통증이 유발되기 전 15일간의 섭취한 사료량은 실험군이 대조군보다 유의하게 작았고($t = -7.71, p < .001$), 신경병증성 통증이 유발된 16일째 이후 실험이 종료될 때까지 19일간의 사료섭취량은 실험군이 대조군에 비해 유의하게 작은 것으로 나타났다($t = -22.19, p < .001$). 또한, 시스플라틴군의 사료섭취량에 대한 각 시점별 자료를 연구 기간 동안의 시점을 동시에 고려하여 반복측정 분산 분석을 시행한 결과 통계적으로 유의한 차이를 보였다($F = 14.99, df = 1.99, p < .001$). 두 군 모두 약물과 용매를

투여한 직후 일일섭취량이 하루 동안 급격히 감소하였다가 이후 2-3일에 걸쳐 원래대로 회복되는 양상을 보여주었다.

5. 근육무게

가자미근 무게는 실험군이 95.60 ± 9.30 mg, 대조군이 160.80 ± 19.10 mg로 실험군이 대조군에 비해 유의하게 작았고(t = -9.70, p < .001), 족척근 무게는 실험군이 194.80 ± 40.30 mg, 대조군이 420.20 ± 41.40 mg으로 실험군의 족척근 무게가 대조군에 비해 유의하게 작은 것으로 나타났다(t = -12.33, p < .001).

6. 근원섬유 단백질 함량

가자미근의 근원섬유 단백질 함량은 실험군이 71.90 ± 6.82 µg/mL, 대조군이 84.20 ± 5.10 µg/mL로 실험군이 대조군에 비해 유의하게 낮았다(t = -4.60, p < .001).

족척근의 근원섬유 단백질 함량은 실험군이 86.50 ± 4.43 µg/mL, 대조군이 93.50 ± 1.61 µg/mL로 실험군이 대조군에 비해 유의하게 낮은 것으로 나타났다(t = -4.68, p < .001).

7. Type I, II 근섬유 횡단면적

가자미근의 Type I 근섬유 횡단면적은 실험군이 2,573.08 ± 588.19 µm², 대조군은 3,359.47 ± 427.63 µm²로 실험군이 대조군에 비해 23.4% 유의하게 작았고(t = -3.11, p = .007), 가자미근의 Type II 근섬유

횡단면적은 실험군이 1,504.50 ± 689.48 µm², 대조군은 3,823.11 ± 1,138.77 µm²로 실험군이 대조군에 비해 60.6%정도 현저하게 작은 것으로 나타났다(t = -5.15, p < .001).

족척근의 Type I 근섬유 횡단면적은 실험군이 1,575.35 ± 482.70 µm², 대조군이 2,489.19 ± 784.20 µm²로 실험군이 대조군에 비해 36.7%정도 유의하게 작았고(t = -3.10, p = .007), 족척근의 Type II 근섬유 횡단면적은 실험군이 1,268.42 ± 396.58 µm², 대조군이 3,178.10 ± 641.32 µm²로 실험군이 대조군에 비해 60.1%정도 작은 것으로 나타났다(t = -7.91, p < .001) (Table 2).

논 의

본 연구는 시스플라틴을 투여한 후 발생한 식욕부진과 말초신경 독성에 의한 신경병증성 통증이 쥐 뒷다리에 위축을 유발하는 지 규명하기 위해 시도되었다. 연구 결과 실험군에서 시스플라틴 항암제 투여로 식욕부진과 말초신경독성에 의한 신경병증성 통증이 유발되었고, 이는 근육무게, Type I, II 근섬유 횡단면적, 근원섬유 단백질 함량의 감소를 나타냈으므로 근위축이 발생하였음을 제시하고 있다.

본 연구 결과 실험군의 뒷다리근 무게가 대조군에 비해 유의하게 감소한 것으로 나타났는데 이는 5주간의 시스플라틴 투여가 근위축을 유발하였음을 의미한다. Choe 등(2008)은 신경병증성 통증이 유발된 쥐의 환측 가자미근과 족척근의 무게가 유의하게 저하된 것으로 밝혔고, Almurshed와 Gruneswald (2000)는 30일간 실험군의 식이섭취량을 대조군의 73%로 제한한 연구에서 족척근과 가자미

Table 2. Experimental Results in the Control and Cisplatin Groups

Variables	Categories	Control group (n=10)		Cisplatin group (n=10)		t (p)
		M ± SD	M ± SD	M ± SD	M ± SD	
Activity score	Before the occurrence of NP	26.80 ± 8.89	30.25 ± 10.99	1.09 (.282)		
	After the occurrence of NP	40.77 ± 12.77	32.23 ± 12.89	-2.58* (.013)		
Food intake (g)	Days 1-15	346.89 ± 28.73	216.56 ± 6.32	-7.71* (<.001)		
	Days 16-34	409.97 ± 35.36	120.56 ± 21.24	-22.19* (<.001)		
	Total Intake	734.30 ± 56.72	338.57 ± 39.34	-11.79* (<.001)		
Pre- and postexperimental weights (g)	Pre	219.57 ± 8.80	216.56 ± 6.32	-0.88 (.391)		
	Days 15	306.75 ± 16.31	247.07 ± 13.28	-8.98* (<.001)		
	Post	390.52 ± 27.32	185.91 ± 19.57	-19.25* (<.001)		
Muscle weight (mg)	Soleus	160.80 ± 19.10	95.60 ± 9.30	-9.70* (<.001)		
	Plantaris	420.20 ± 41.40	194.80 ± 40.30	-12.33* (<.001)		
Myofibrillar protein content (µg/mL)	Soleus	84.20 ± 5.10	71.90 ± 6.82	-4.60* (<.001)		
	Plantaris	93.50 ± 1.61	86.50 ± 4.43	-4.68* (<.001)		
Cross-sectional areas (µm ²)	Type I in soleus	3,359.47 ± 427.63	2,573.08 ± 588.19	-3.11* (.007)		
	Type II in soleus	3,823.11 ± 1,138.77	1,504.50 ± 689.48	-5.15* (<.001)		
	Type I in plantaris	2,489.19 ± 784.20	1,575.35 ± 482.70	-3.10* (.007)		
	Type II in plantaris	3,178.10 ± 641.32	1,268.42 ± 396.58	-7.91* (<.001)		

NP=Neuropathic pain; *Significantly different between the control and cisplatin groups (p<.05).

근의 무게가 감소하였다고 보고하였으므로, 근위축 유발에 신경병증성 통증과 장기간의 영양섭취 감소가 관여되었을 것으로 생각된다. 또한, 실험군의 근육절제전 체중은 대조군과 비교했을 때 47.6%로 유의하게 감소한 것으로 확인되었는데 이는 Authier 등(2003)의 연구에서 실험군의 최종 체중이 대조군의 55.0%에 해당한다는 결과와 부합한다. 체중의 감소는 본 연구의 근육무게 감소로 설명될 수 있다.

본 연구 결과 가자미근과 족척근의 Type I, II 근섬유 횡단면적은 실험군에서 유의하게 감소한 것으로 나타났다. 가자미근에서 Type I 근섬유는 실험군이 대조군에 비해 23.4% 감소한 반면 Type II 근섬유는 60.6% 감소한 것으로 나타났고, 족척근에서는 Type I 근섬유가 36.7% 감소한 반면 Type II 근섬유는 60.1% 감소한 것으로 나타났다. 두 근육에서 모두 Type II 근섬유의 면적이 현저하게 감소하였음을 알 수 있는데, 이러한 결과는 2주 이상의 영양섭취 저하나 5일 이내의 단식으로 Type II 근육이 주로 위축되고(Almurshed & Grunewald, 2000), 영양섭취 저하 시 Type II 근섬유가 Type I 근섬유에 비해 더 크게 영향을 받아 Type II 근섬유 횡단면적이 감소되며(McLoughlin et al., 2000), 활동저하는 Type II 근섬유보다 Type I 근섬유를 더 위축시킨다는 선행문헌(Carrieri-Kohlman, Lindsey, & West, 2003)을 토대로 활동저하보다 영양섭취저하가 가자미근과 족척근 위축에 더 많은 영향을 주었을 것이라고 생각한다. 지근섬유(slow-twitch fiber)인 Type I 근섬유는 myoglobin과 산화효소 활성도가 높고, 속근섬유(fast-twitch fiber)인 Type II 근섬유는 글리코겐 분해 효소의 활성도가 높으므로(Houston, 2001) 영양섭취 감소는 글리코겐 분해 효소의 활성도를 높여 Type II 근섬유 위축에 영향을 미쳤을 것으로 본다.

또한, 실험군의 가자미근과 족척근의 근원섬유 단백질 함량이 유의하게 낮은 것으로 나타났다. Holecek (2001)은 식이를 제한시키는 경우 6일 이후 산화효소의 활성 증가로 단백질 분해가 가속화된다고 하였고, Adachi 등(2006)은 쥐 실험에서 식이섭취를 제한하면 콜레스테롤의 산화물인 oxysterol이 증가한다는 사실을 밝혔는데 oxysterol은 세포독성을 가지고 단백질 합성을 방해하기 때문에 영양저하가 단백질 합성을 저하시킨 것으로 설명할 수 있다. Choe 등(1995)은 7일간 쥐 뒷다리를 부유하여 활동을 저하시킨 결과 자세근의 근원섬유 단백질 함량이 저하되었음을 증명하였고, 활동저하는 단백질화호르몬(catabolic hormone)에 대한 근육의 감수성을 증가시킨다(Lieu et al., 1993)고 하였으므로 본 연구의 근원섬유 단백질 함량의 유의한 감소는 영양섭취와 활동량 저하 두 요인이 모두 작용하였을 것이라고 생각한다.

이와 같이 시스플라틴 투여로 가자미근과 족척근의 근육무게, Type I, II 근섬유 횡단면적, 근원섬유 단백질 함량이 유의하게 감소한 것으로 나타나 가자미근과 족척근에 근위축이 발생하였음을 입

증하였다. 이러한 근위축 발생이 신경병증성 통증과 식욕부진에 의한 것인가를 확인하기 위해 활동정도와 영양섭취량을 측정된 결과 모두 저하된 것으로 나타나 시스플라틴 투여에 의한 근위축 발생은 식욕부진과 신경병증성 통증에 의한 것임을 확인할 수 있었다.

본 연구 결과 실험군의 회피반응역치가 대조군보다 유의하게 낮은 것으로 나타나 말초신경독성으로 인해 신경병증성 통증이 유발되었음을 확인하였는데 선행 연구(Authier et al., 2003; Vera et al., 2011)에서는 이를 기계적 이질통(mechanical allodynia)이라고 하였다. 실험시작 16일째에 실험군의 회피반응역치가 유의하게 낮아지기 시작하였는데 이는 14일째부터 회피반응역치가 유의하게 감소한 Authier 등(2003)의 결과와 부합한다. 이러한 결과는 시스플라틴이 체내에 일정량 이상 축적이 되어야 말초신경독성에 의한 신경병증성 통증이 유발됨을 제시하는데 임상에서 체내 시스플라틴의 축적용량이 일정량 이상 축적되는 경우 감각 신경장애가 발생하는 것(Krarup-Hansen et al., 2007)과 유사하다고 할 수 있다.

또한, 본 실험에서 4번째 시스플라틴을 투여 받은 후(축적용량 8mg/kg) 실험군의 대부분 쥐들은 아치모양의 척추와 발끝으로 걷는 신경병증성 걸음걸이 그리고 신경독성의 한 증상인 입모근 수축을 나타냈다. 대조군의 유연한 척추움직임과는 달리 실험군은 허리가 심하게 굽어진 상태로 거의 한 자리에만 머무르는 경향을 보였고, 그 자리에서 머리만 아래로 숙여 불편한 자세로 수면을 취하는 등 활동의 제한성을 보였다. 시스플라틴 투여에 따른 이러한 신경병증성 통증 양상과 발생 시기는 선행 연구(Authier et al., 2003; Vera et al., 2006; Vera et al., 2011)에서 제시된 관찰내용과 거의 유사하다. 그러나 Kohn, Wixson, White와 Benson (1997)은 제한된 활동성과 머리를 아래로 내려뜨리는 행동은 각각 골격근 및 척추부위의 통증을 의미하지만 아치모양의 척추와 구부러진 자세는 복부의 통증을 나타내는 증상이라고 보고 있으므로 말초신경독성 뿐만 아니라 시스플라틴의 위장관에 대한 독성도 이러한 자세에 어느 정도 기여했을 것으로 생각된다.

실험군의 위와 같은 제한된 행동양상에서 알 수 있듯이 본 연구에서 신경병증성 통증이 유발된 이후 실험군의 평균 활동점수가 유의하게 낮은 것으로 나타났는데 이는 다음에서 설명하는 선행 연구들의 결과와 일치한다. 시스플라틴을 투여하여 말초신경독성을 유발한 연구(Authier et al., 2003; Vera et al., 2011)에서 시스플라틴을 4회째 투여한 후(축적용량 8 mg/kg) 활동성이 크게 감소하기 시작한 것으로 나타났고, 제 5.0수신경을 결찰하여 신경병증성 통증을 직접적으로 유발시킨 연구에서 실험군이 대조군에 비해 활동정도가 유의하게 낮았다(Choe et al., 2008). 이러한 활동저하는 근위축을 유발할 수 있다고 여겨지는데 근육 단백질이 근육 움직임에 따라 합성과 분해속도에 영향을 받으므로 부동이나 활동저하는

단백질을 분해시키는 ubiquitin을 증가시켜 근육 단백질 소실을 유발할 수 있다(Taillandier et al., 1996).

본 연구 결과 실험군의 식이섭취량은 대조군에 비해 유의하게 작은 것으로 나타났는데 Choe 등(2008)은 신경병증성 통증으로 영양섭취가 저하될 수 있음을 규명하였으므로 이는 말초신경독성에 의한 신경병증성 통증 때문에 영양섭취가 감소할 수 있음을 제시한다.

그러나 본 연구와 선행 연구에서 신경병증성 통증이 발생하여 증상이 관찰된 시기가 실험시작 12-16일째이고, 통증 증상이 나타나기 전 두 군의 행동점수는 거의 차이가 없었으므로 초기 약 2주간의 식이섭취량 감소에는 신경병증성 통증 요인이 관여했다고 보기 어렵다. 본 연구 결과 실험시작 후 15일 동안 실험군은 대조군이 섭취한 양의 약 68.8%를 섭취한 것으로 나타났으므로 초기의 영양섭취 저하는 시스플라틴 투여 부작용인 식욕부진에 의해 유발된 것으로 보인다. 이러한 결과는 체중이나 식이섭취량 감소를 식욕부진으로 간주한 선행 연구(Yakabi et al., 2010)를 토대로 했을 때 시스플라틴 투여에 따른 식욕부진에 의해 초래되었다고 할 수 있다. 또한 쥐는 구토반사가 없어 오심 및 구토를 하지 못하기 때문에 항암제 투여와 같은 구토유발자극에 대한 간접적인 증상으로 식욕부진 혹은 이식증이 유발된다고 하였으므로(Vera et al., 2006) 시스플라틴 투여에 의한 식이섭취 저하가 식욕부진에 의한 것으로 생각할 수 있다.

신경병증성 통증이 발생된 16일째 이후에는 실험군이 대조군 사료섭취량의 30% 정도를 섭취하는 것으로 나타났는데 이는 초기에 발생한 식욕부진의 지속과 말초신경독성에 따른 신경병증성 통증이 복합적으로 작용하였기 때문이라고 생각한다. 시스플라틴 투여에 의한 식이섭취량의 유의한 감소는 Vera 등(2011)의 결과와 부합한다.

그리고 본 연구에서 시스플라틴을 투여 받은 다음 날 실험군의 식이섭취량이 급격히 감소하였다가 2-3일에 걸쳐 서서히 증가하는 양상이 나타났는데 이러한 결과는 시스플라틴 투여가 식이섭취를 방해하며 원래의 섭취량으로 회복되기까지는 어느 정도 시간이 필요하다는 것을 보여준다.

본 실험을 통해 5주간의 시스플라틴 항암제 투여에 의한 근위축 발생은 신경병증성 통증 발생 전에는 식욕부진에 의한 영양섭취 감소에 의한 것이라고 보며, 시스플라틴 축적으로 신경병증성 통증이 발생한 이후에는 통증에 의한 영양섭취저하와 활동저하가 추가되어 근위축이 초래된 것으로 설명할 수 있다. 그러나 세 변수간의 연관성은 실험데이터와 선행 연구를 바탕으로 추정한 것이므로 추후 연구를 통해 식욕부진, 신경병증성 통증 그리고 근위축 간의 직간접적인 관련성을 확인해야 할 필요성이 있다.

임상 현장에서 암환자의 식욕부진과 신경병증성 통증으로 초래되는 골격근 위축 문제에 관심을 갖게 될 때에는 근위축이 상당히

진행되고 있는 상태이므로 회복시간 연장으로 인해 입원시간이 길어지며, 퇴원 후에는 기능적 능력의 장애로 정상생활로 복귀하는 시기가 늦어지게 될 수 있다. 따라서, 의료인들은 시스플라틴 항암제를 투여 받는 암환자의 영양섭취와 신경병증성 통증에 관심을 가져야 한다. 또한, 임상현장에서 항암화학요법에 따른 근위축을 예방하기 위한 간호중재를 개발해야 할 것이다.

결론

본 연구의 결과 실험군의 회복반응역치가 대조군에 비해 유의하게 낮은 것으로 나타나 실험군에서 신경병증성 통증이 유발되었음을 확인하였고, 신경병증성 통증 유발 후 실험군의 활동이 대조군에 비해 유의하게 낮은 것으로 나타났다. 또한, 실험군의 사료섭취량과 근육절제직전 체중은 대조군에 비해 유의하게 작았고, 실험군의 가자미근과 족척근의 무게, Type I, II 근섬유 횡단면적과 근원섬유 단백질 함량은 대조군에 비해 유의하게 작았다.

이상의 연구 결과는 시스플라틴 항암제 치료 시 식욕부진에 의한 식이섭취량 저하와 말초신경독성 유발 신경병증성 통증에 의한 활동 및 식이섭취량 저하로 가자미근과 족척근에 근위축이 초래되었음을 제시한다.

이러한 결론을 토대로 임상현장에서 시스플라틴 항암제를 단독 혹은 병합요법으로 사용하는 경우 신경병증성 통증과 식욕부진 발생여부를 확인하고 근위축이 유발될 가능성이 있음을 고려하여, 주기적인 사정 및 근육약화를 예방할 수 있는 효과적인 간호중재가 개발되어야 함을 제언한다.

REFERENCES

- Adachi, J., Kudo, R., Asano, M., Ueno, Y., Hunter, R., Rajendram, R., et al. (2006). Skeletal muscle and liver oxysterols during fasting and alcohol exposure. *Metabolism Clinical and Experimental*, 55(1), 119-127. <http://dx.doi.org/10.1016/j.metabol.2005.08.003>
- Ahn, D. W., Kim, S. R., Ha, D. H., & Kim, S. H. (2007). Mechanism of amelioration of cisplatin nephrotoxicity by procaine treatment in mice. *Korean Journal of Anesthesiology*, 52(3), 318-327. <http://dx.doi.org/10.4097/kjae.2007.52.3.318>
- Almurshed, K., & Grunewald, K. (2000). The effects of dietary energy restriction on overloaded skeletal muscle in rats. *British Journal of Nutrition*, 84(5), 697-704.
- Authier, N., Gillet, J. P., Fialip, J., Eschaliere, A., & Coudore, F. (2003). An animal model of nociceptive peripheral neuropathy following repeated cisplatin injections. *Experimental Neurology*, 182(1), 12-20. [http://dx.doi.org/10.1016/S0014-4886\(03\)00003-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0014-4886(03)00003-7)
- Carrieri-Kohlman, V., Lindsey, A. M., & West, C. M. (Eds.). (2003). *Pathophysiological phenomena in nursing: Human response to illness* (3rd

- ed.). Philadelphia, PA: Saunders.
- Choe, M. A., & An, G. J. (2011). Effects of nitric oxide synthase inhibitor on hindlimb muscles in rats with neuropathic pain induced by unilateral peripheral nerve injury. *Journal of Korean Academy of Nursing*, 41(4), 520-527. <http://dx.doi.org/10.4040/jkan.2011.41.4.520>
- Choe, M. A., Ji, J. K., & Kim, E. H. (1995). Effect of intermittent low-intensity, short duration exercise on Type II muscle of suspended rats. *The Journal of Nurses Academic Society*, 25(2), 193-209.
- Choe, M. A., Kim, K. H., An, G. J., Lee, K. S., & Choi, J. A. (2008). Hindlimb muscle atrophy of rat induced by neuropathic pain. *Journal of Korean Biological Nursing Science*, 10(1), 88-95.
- Demark-Wahnefried, W., Peterson, B. L., Winer, E. P., Marks, L., Aziz, N., Marcom, P. K., et al. (2001). Changes in weight, body composition, and factors influencing energy balance among premenopausal breast cancer patients receiving adjuvant chemotherapy. *Journal of Clinical Oncology*, 19(9), 2381-2389.
- Gandara, D. R., Perez, E. A., Phillips, W. A., Lawrence, H. J., & DeGregorio, M. (1989). Evaluation of cisplatin dose intensity: Current status and future prospects. *Anticancer Research*, 9(4), 1121-1128.
- Holecek, M. (2001). Effect of starvation on branched-chain alpha-keto acid dehydrogenase activity in rat heart and skeletal muscle. *Physiological Research*, 50(1), 19-24.
- Houston, M. E. (2001). *Biochemistry primer for exercise science* (2nd ed.). Champaign, IL: Human Kinetics.
- Kang, Y. H. (Ed.). (2008). *Encyclopedia of life science*. Seoul: Academybook.
- Kim, J. Y. (2005). *Effects of short-term undernutrition on type I and II muscles in rat*. Unpublished master's thesis, Seoul National University, Seoul.
- Kim, T. K., Kim, Y. S., Yoon, J. R., Han, I. S., Kim, J. S., & Lee, C. W. (2004). The effect of an intraperitoneal injection of ketamine and ketorolac on mechanical allodynia in rats with spinal nerve ligation. *Korean Journal of Anesthesiology*, 46(6), 719-723.
- Kim, Y. B., & Choe, M. A. (2010). Effect of decreased locomotor activity on hindlimb muscles in a rat model of Parkinson's disease. *Journal of Korean Academy of Nursing*, 40(4), 580-588. <http://dx.doi.org/10.4040/jkan.2010.40.4.580>
- Kohn, D. F., Wixson, S. K., White, W. J., & Benson, G. J. (1997). *Anesthesia and analgesia in laboratory animals*. San Diego, CA: Academic Press.
- Krarup-Hansen, A., Helweg-Larsen, S., Schmalbruch, H., Roth, M., & Krarup, C. (2007). Neuronal involvement in cisplatin neuropathy: Prospective clinical and neurophysiological studies. *Brain*, 130(Pt 4), 1076-1088. <http://dx.doi.org/10.1093/brain/awl356>
- Lee, D. H. (2003). *The clinical neurology II*. Seoul: Korea University Press.
- Lieu, F. K., Powers, S. K., Herb, R. A., Criswell, D., Martin, D., Wood, C., et al. (1993). Exercise and glucocorticoid-induced diaphragmatic myopathy. *Journal of Applied Physiology*, 75(2), 763-771.
- McLoughlin, D. M., Wassif, W. S., Morton, J., Spargo, E., Peters, T. J., & Russell, G. F. (2000). Metabolic abnormalities associated with skeletal myopathy in severe anorexia nervosa. *Nutrition*, 16(3), 192-196.
- Nicolao, P., & Giometto, B. (2003). Neurological toxicity of ifosfamide. *Oncology*, 65(Suppl 2), 11-16. <http://dx.doi.org/73352>
- Park, Y., & Kim, Y. H. (2009). Chemotherapy related oral and gastrointestinal mucositis. *Journal of the Korean Medical Association*, 52(9), 897-906. <http://dx.doi.org/10.5124/jkma.2009.52.9.897>
- Prado, C. M., Baracos, V. E., McCargar, L. J., Mourtzakis, M., Mulder, K. E., Reiman, T., et al. (2007). Body composition as an independent determinant of 5-fluorouracil-based chemotherapy toxicity. *Clinical Cancer Research*, 13(11), 3264-3268. <http://dx.doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-06-3067>
- Prado, C. M., Lieffers, J. R., McCargar, L. J., Reiman, T., Sawyer, M. B., Martin, L., et al. (2008). Prevalence and clinical implications of sarcopenic obesity in patients with solid tumours of the respiratory and gastrointestinal tracts: A population-based study. *Lancet Oncology*, 9(7), 629-635. [http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045\(08\)70153-0](http://dx.doi.org/10.1016/s1470-2045(08)70153-0)
- Sweeney, C. W. (2002). Understanding peripheral neuropathy in patients with cancer: Background and patient assessment. *Clinical Journal of Oncology Nursing*, 6(3), 163-166. <http://dx.doi.org/10.1188/02.cjon.163-166>
- Taillandier, D., Aourousseau, E., Meynial-Denis, D., Bechet, D., Ferrara, M., Cottin, P., et al. (1996). Coordinate activation of lysosomal, Ca²⁺-activated and ATP-ubiquitin-dependent proteinases in the unweighted rat soleus muscle. *Biochemical Journal*, 316(Pt 1), 65-72.
- Vera, G., Castillo, M., Cabezas, P. A., Chiarlone, A., Martin, M. I., Gori, A., et al. (2011). Enteric neuropathy evoked by repeated cisplatin in the rat. *Neurogastroenterology and Motility*, 23(4), 370-e163. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2982.2011.01674.x>
- Vera, G., Chiarlone, A., Martin, M. I., & Abalo, R. (2006). Altered feeding behaviour induced by long-term cisplatin in rats. *Autonomic Neuroscience*, 126-127, 81-92. <http://dx.doi.org/10.1016/j.autneu.2006.02.011>
- Windebank, A. J., & Grisold, W. (2008). Chemotherapy-induced neuropathy. *Journal of the Peripheral Nervous System*, 13(1), 27-46. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1529-8027.2008.00156.x>
- Yakabi, K., Sadakane, C., Noguchi, M., Ohno, S., Ro, S., Chinen, K., et al. (2010). Reduced ghrelin secretion in the hypothalamus of rats due to cisplatin-induced anorexia. *Endocrinology*, 151(8), 3773-3782. <http://dx.doi.org/10.1210/en.2010-0061>
- Yang, Y. H. (2004). Anorexia, nausea and vomiting, and food intake patterns in patients on chemotherapy. *Journal of Korean Academy of Fundamentals of Nursing*, 11(2), 177-185.