



Gastrosoleus kas fonksiyonu üzerine tibial uzatmanın etkileri: Elektrofizyolojik çalışma

The effect of tibial lengthening on gastrosoleus muscle function: an electrophysiological study

Bartu SARISÖZEN, Muhammet Sadık BİLGİN, Mustafa DİNÇ, Ahmet Murat AKSAKAL, Ergür COŞKUN

Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı

Amaç: Deneysel tibial uzatma sırasında gastrosoleus kas grubunda gerilmeye bağlı meydana gelen kas kasılma kuvvetlerindeki değişiklikler elektrofizyolojik olarak değerlendirildi.

Çalışma planı: Ağırlıkları 600-800 gr arasında değişen 22 kobay (guinea pig) üzerinde distraksiyon histiogenezi uygulandı. Kobayların sağ tibialarına, semisürküler eksternal fiksator uygulanmasından sonra osteotomi yapıldı ve latent periyot beklenmeden 15 gün boyunca günde iki kez 0.25 mm hızla distraksiyon gerçekleştirildi. Hayvanlar rastgele iki gruba ayrıldı. Bir gruba eksternal fiksatöre sabitlenen ve plantar fleksiyonu engelleyen ayak pedalı eklendi. Kontrol grubundaki deneklerin ayak bilek hareketleri serbest bırakıldı. Distraksiyonun 5, 10 ve 15. günlerinde posterior tibial sinir, sinir uyarıcısı ile sabit frekansta uyarıldı. Gastrosoleus kas kontraksiyonları elektriksel uyarım çeviricisi ile ölçülerek kaydedildi.

Sonuçlar: Beşinci günde, deney grubunda ölçülen ortalama kas kasılma kuvvetleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0.05$). Onuncu günde, deney grubunda kas kasılma kuvvetlerinde hızlı bir düşüş saptandı; 15. günde, başlangıç değerlerine göre kas kasılma kuvvetlerinde %81 oranında azalma vardı ($p<0.05$). Bununla birlikte, kas kuvvetleri başlangıçtan sona kadar kontrol grubundan yüksekti ($p<0.05$). Deney grubunda 10. günden sonra kas kasılma kuvvetlerindeki düşüşün yavaşladığı ve gastrosoleus fonksiyonunun daha iyi korunduğu izlendi. Kontrol grubundaki deneklerin ayak bileklerinde giderek ilerleyen ekinus deformitesi gelişti. Bu grupta da kas kasılma kuvvetlerinin deney süresince giderek azaldığı görüldü ($p<0.05$).

Çıkarımlar: Klinik uygulamada, tibial uzatma sırasında ekinus deformitesinin engellenmesi ve ayak bileği fonksiyonlarının sağlanması için gastrosoleus kompleksinin kuvvetinin korunması; bu amaçla, uzatma sırasında kasın kademeli gerilmesinin sağlanması gerekmektedir. Kasta kısalık varsa veya kasta gerilme ve deformite bekleniyorsa, distraksiyon osteogenezisinden önce önlem alınması ve kas boyunun korunması önem taşımaktadır.

Anahtar sözcükler: Kemik uzatma/yöntem; elektrofizyoloji; ekin deformitesi; eksternal fiksator; kobay; kas, iskelet; osteogenez, distraksiyon; rejenerasyon; tibia.

Objectives: We evaluated the changes in electrophysiological characteristics of the contraction forces of the gastrosoleus complex due to stretching in experimental tibial lengthening.

Methods: Distraction histiogenesis was performed in 22 guinea pigs weighing 600 to 800 g. Following the application of a semicircular external fixator and right tibial osteotomy, distraction was applied at a rate of 0.25 mm two times a day for 15 days without a latency period. The animals were randomized to two groups. In the study group, a foot plate preventing ankle plantar flexion was affixed to the external fixator, while ankle motions were unrestricted in the control group. On days 5, 10, and 15, the posterior tibial nerve was stimulated with a nerve stimulator at a constant frequency. Gastrosoleus muscle contractions were measured with a transducer and contraction forces were recorded.

Results: On day 5, muscle contraction forces measured in the study group were much higher than the control group ($p<0.05$). On day 10, however, muscle contraction forces showed a rapid decline in the study group and, at the end of the study, muscle contraction forces decreased by 81% compared to the baseline values ($p<0.05$). Yet, throughout the study period, muscle contraction forces were always higher than the control group ($p<0.05$). In addition, the rate of the decrease in muscle strength slowed down after day 10 in the study group, and gastrosoleus function and strength were much better preserved. Equinus deformity developed progressively in the ankles of the control animals whose muscle contraction forces also showed significant decreases during the experiment ($p<0.05$).

Conclusion: In clinical applications of tibial lengthening, the strength of the gastrosoleus complex should be preserved to prevent equines deformity and maintain ankle functions. This can be achieved through gradual stretching of the muscle during distraction. If there is shortening before surgery or muscle stiffness is expected during lengthening, measures should be taken before distraction osteogenesis and muscle length should be preserved.

Key words: Bone lengthening/methods; electrophysiology; equinus deformity; external fixators; guinea pigs; muscle, skeletal; osteogenesis, distraction; regeneration; tibia.

Yazışma adresi / Correspondence: Dr. Bartu Sarisözen. Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ortopedi ve Travmatoloji Anabilim Dalı, 16059 Görükle, Bursa. Tel: 0224 - 295 28 14 e-posta: bartu@uludag.edu.tr

Başvuru tarihi / Submitted: 24.11.2008 **Kabul tarihi / Accepted:** 24.04.2009

© 2009 Türk Ortopedi ve Travmatoloji Derneği / © 2009 Turkish Association of Orthopaedics and Traumatology

Ekstremitte uzatmada ve yeni kemik oluşumunda, distraksiyon histiyogenezisi etkili bir yöntemdir. Bununla birlikte, bağlar, damarlar, kaslar ve sinir yapıları kısıtlayıcı faktörler olarak ortaya çıkmaktadır. Kasların uzatmaya karşı kısıtlı yanıtı sonucu, kontraktürler ve kas kuvvetsizlikleri meydana gelir. Tartışmalı bir konu olmakla birlikte, genel kanı, distraksiyon histiyogenezisi sırasında kas liflerinin büyüdüğü ve uzadığı yönündedir. Kemiğe uygulanan gerilme kuvveti sadece kemiği uyarmakla kalmamakta, aynı zamanda yumuşak dokuda yeniden oluşumu da uyarmaktadır.^[1-6]

Birçok çalışma ve klinik uygulamada, tibial uzatma sonucu ayak bileğinde ekinus deformitesinin gelişmesi sık gözlenen bir sorundur. Bu durumu önlemek için çeşitli yöntemler uygulanmıştır.^[7-12] Distraksiyon histiyogenezisi sırasında oluşan gerilmeye karşı kas ve sinir dokularının reaksiyonları ile ilgili birçok çalışma bulunmasına karşın, ekinus deformitesinin gastrosoleus kas kompleksi üzerine etkileri konusunda klinik çalışma azdır.^[8]

Bu çalışmanın amacı, deneysel tibia uzatma modelinde meydana gelen gerilmeye karşı gastrosoleus kas kompleksinin kasılma kuvveti ve elektrofizyolojik özelliklerinde yol açtığı değişiklikleri araştırmaktır.

Gereç ve yöntem

Bu çalışmada, cerrahi sırasında ağırlıkları 600-800 gr arasında değişen 22 kobay (guinea pig) kullanıldı. Çalışmadan önce, deneyde uygulanacak prosedürlerle ilgili olarak etik komite onayı alındı.

Cerrahi protokol

Enfeksiyon profilaksisi için, cerrahi girişimden 30 dakika önce deneklere 50 mgr/kg sefazolin sodium (Sefazol, Mustafa Nevzat İlaç Sanayi, İstanbul) kas içine uygulandı. Anestezi uygulamasında, 8 mgr/kg ksilazin hidroklorid (Rompun, Bayer Healthcare, Leverkusen, Almanya) ve 100 mgr/kg ketamin hidroklorid (Ketalar, Pfizer, ABD) kas

içine uygulandı. Standart cerrahi hazırlığı takiben, küçük kemirgenlerde ekstremitte uzatma için tasarlanmış semisirküler eksternal fiksator, 1.2 mm yivli çiviler kullanılarak deneklerin sağ tibia diyafizlerine uygulandı.^[13] Anteromedial yaklaşım ile distal tibia-fibular bileşke seviyesinden kemik osteotomize edildi.

Hayvanlar eşit sayıda iki gruba ayrıldı. Deney grubunda, ayak bileği hareketlerini engellemek amacıyla eksternal fiksatorün distaline özel olarak hazırlanmış bir pedal eklendi ve deney boyunca takılı kaldı. Geri kalan denekler kontrol grubu olarak ayrıldı ve deney sürecince ayak bilek hareketleri serbest bırakıldı. Cerrahi sonrasında, latent periyot beklenmeden, birinci günden başlayarak tüm hayvanlara 15 gün boyunca günde iki kez 0.25 mm uzatma uygulandı.

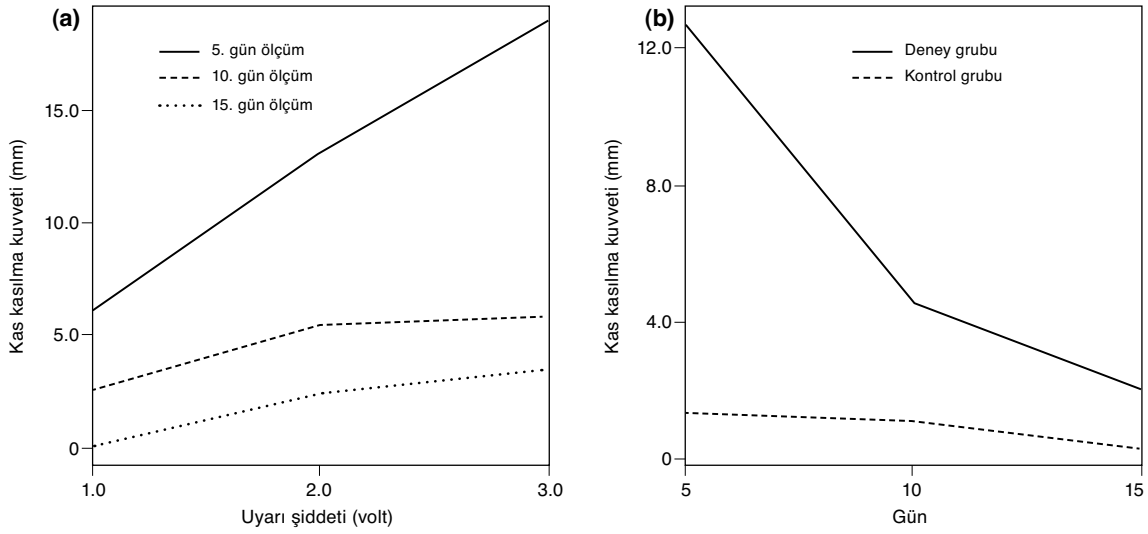
Elektrofizyolojik değerlendirme

Gastrosoleus kasının elektrofizyolojik özelliklerini değerlendirmek amacıyla posterior tibial sinir uyarımı uygulandı. Bu amaçla, distraksiyonun 5, 10 ve 15. günlerinde, cerrahi girişim sırasında uygulanan anestezi işlemi tekrarlanarak Aşil tendonunun kalkaneustaki yapışma yerine 2 numara emilmeyen naylon dikiş geçirildi ve ucu elektriksel uyarım çeviricisine (mechanical transducer) bağlandı. Unipolar elektrot yardımı ile perkütan olarak posterior tibial sinir bulundu. Sinire 50 Hz frekansta, 10 msn süreli ve giderek artan voltajlarda akım uygulandı (Grass S8800 Electrical Stimulator, ABD). Ölçülen elektrik potansiyelleri poligraf kaydedici (Grass 7D, USA) yardımı ile kaydedildi.

Kayıtlarda saptanan en yüksek kasılma kuvveti değerleri istatistiksel değerlendirmede kullanıldı. Gruplararası değerlendirme için Kruskal-Wallis varyans analizi, grup içi değerlendirme için Mann-Whitney U-testi (Bonferroni düzeltilmesi ile) kullanıldı. P<0.05 olasılığı istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Tablo 1. Gruplarda ortalama kas kasılma kuvveti değerleri

		Ortalama kas kasılma kuvveti (mm)								
		5. gün			10. gün			15. gün		
		Deney	Kontrol	<i>p</i>	Deney	Kontrol	<i>p</i>	Deney	Kontrol	<i>p</i>
Uyarı	1	6.0	1.1	<0.05	2.5	0.3	<0.05	0	0	<0.05
şiddeti	2	13.0	1.3	<0.05	5.5	0.7	<0.05	2.4	0.5	<0.05
(volt)	3	19.1	1.9	<0.05	5.8	2.4	<0.05	3.6	0.8	<0.05



Şekil 1. (a) Deney grubunda günlere göre ortalama kas kasılma kuvvetleri. **(b)** Gruplarda 2 volt uyarımda ortalama kas kasılma kuvvetlerinin günlere göre karşılaştırılması.

Sonuçlar

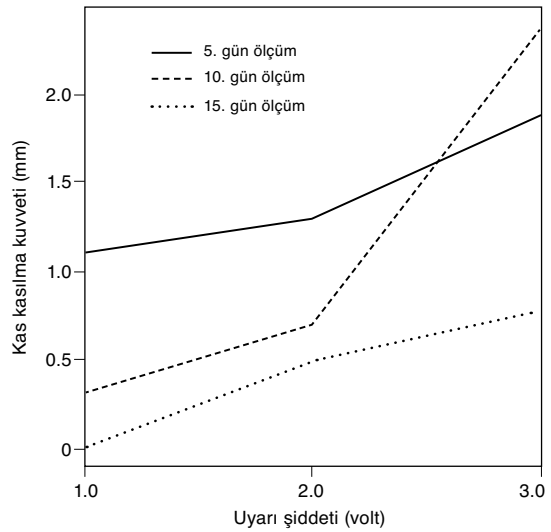
Distraksiyonun ikinci gününde deney grubunda yer alan bir denek solunum yetmezliğinden öldü. Veriler geri kalan 21 denek üzerinden toplandı. Deney grubunda iki ve kontrol grubundaki bir denekte tedavi gerektirmeyen yüzeysel yara enfeksiyonu gözlemlendi. Bunların dışında herhangi bir komplikasyon ile karşılaşılmadı. Distraksiyonun beşinci gününde, deney grubunda ölçülen ortalama kas kasılma kuvvetleri kontrol grubuna göre belirgin şekilde yüksek bulundu (1, 2, 3 volta deney grubunda sırasıyla 6.0, 13.0, 19.1 mm; kontrol grubunda 1.1, 1.3, 1.9 mm; $p < 0.05$) (Tablo 1). Onuncu günde, deney grubunda kas kasılma kuvvetlerinde hızlı bir düşüş saptandı ($p < 0.05$). Bu grupta çalışma sonunda, başlangıç değerleri ile karşılaştırıldığında, kas kasılma kuvvetlerinde ortalama %81 oranında azalma olduğu belirlendi ($p < 0.05$; Şekil 1a). Bununla birlikte, her iki grubun deney boyunca saptanan kas kuvvetleri incelendiğinde, deney grubunda başlangıçtan sona kadar bu değerler belirgin şekilde kontrol grubundan yüksekti ($p < 0.05$; Şekil 1b). Ancak, distraksiyonun 10. gününden sonra deney grubunda kas kasılma kuvvetlerindeki düşüşün yavaşladığı ve gastrosoleus fonksiyonunun daha iyi korunduğu saptandı.

Kontrol grubundaki deneklerin ayak bileklerinde, deney süresince giderek ilerleyen ekinus deformitesi gelişti ve deney grubundakine benzer şekilde, bu grupta da kas kasılma kuvvetlerinin deney süresince giderek azaldığı görüldü (Şekil 2). Örneğin, 3 voltluk uyarımda saptanan kas kuvveti değeri beşinci günde

1.9 mm, 15. günde 0.8 mm bulundu ($p < 0.05$). Kontrol grubunda, deney grubuna göre başlangıç değerlerinin çok daha düşük olması nedeniyle kas kuvvetindeki azalma oranı da daha küçüktü (%57.8) (Şekil 2).

Tartışma

Ekstremitelerin başarılı bir şekilde uzatılabilmesi için kas ve sinir fonksiyonlarının yeterli olması ve kemikteki distraksiyonu takiben oluşan yeni ekstremitenin uzunluğuna bu dokuların adaptasyonu gerekmektedir. Özellikle kruris segmentinde posterior ve medialdeki kas grupları, antagonist kas gruplarına göre uzatmaya daha dirençlidir.^[13] Tibial uzatma sırasında, ayak bi-



Şekil 2. Kontrol grubunda günlere göre ortalama kas kasılma kuvvetleri.

leğinin plantar fleksiyonda durması dorsifleksörlerin kademeli olarak uzamasına yol açar; sonuçta, plantar fleksörlerin gerilmesine ve kontraktürüne neden olur. Gerilmeye karşı kas dokusu yanıtını incelemek için yapılan deneysel çalışmalarda, büyük memelilerden küçük kemirgenlere kadar farklı birçok hayvan kullanılmıştır. Küçük kemirgenler, miyozin izoform transformasyonunu göstermek için, maliyeti az ve uygulama kolaylığı nedeniyle tercih edilen iyi adaylardır.^[13]

İnsanlardaki klinik uygulamaya paralel olarak, çalışmamızda ayak bilekleri serbest bırakılarak uzatma uygulanan deney hayvanlarında ekinus deformitesi gelişmiştir. Posterior kas gruplarının gerilmeye karşı artan direnç göstermesinin, anterior kas gruplarındaki miyozinin, ağır zincir izoform oranlarının posterior gruptan daha fazla olmasına bağlı olduğu bildirilmiştir.^[8,13] Klinik uygulamalarda, fizyoterapi, yük verme, alçılama, Aşil tenotomisi, ortez veya gece splintlerinin kullanımı ve ayağın eksternal fiksatöre dahil edilerek ayak bileğinin sabitlenmesi gibi birçok yöntem tibial uzatma sırasında ekinus deformitesi gelişimini engellemek için kullanılmaktadır.^[8]

Bu çalışmada, eksternal fiksatöre eklenen ayak pedalı ile ayak bileğinin nötral pozisyonda tutulması amaçlandı. Diz eklemine sabitlenmemesi gastrosoleus kas kompleksinin fonksiyonunu etkileyen bir faktör olmasına rağmen, bu faktörün aynı şekilde kontrol grubunu da etkilemesinden dolayı bu etki gözardı edildi. Ayrıca, küçük kemirgenlerin tüm yaşam süreçlerini dört ayak üzerinde geçirmeleri, laboratuvar koşullarında dizlerini tam fleksiyon pozisyonunda tutmaları ve diğer memelilere göre diz pozisyonlarını daha az değiştirmeleri nedeniyle, diz eklemine ek bir tespit uygulanması gereksizdir. Bunun yanında çalışmada, posterior kas kompartmanlarının, eksternal fiksatörü tutan anterior yerleşimli çivilerden etkilenmediği ve bu nedenle gastrosoleus kas kompleksinin standart elektrofizyolojik değerlendirme koşullarının sağlandığı kabul edildi.

Distraksiyon histiyogenezisi boyunca oluşan kas değişikliklerini analiz eden deneysel çalışmalarda her zaman aynı ve uyumlu sonuçlar elde edilmemiştir. Bu çalışmaların bazılarında, kas liflerindeki ödem, fibrozis ve nekrotik değişikliklerin düşük düzeyde olduğu bildirilirken, bazılarında belirgin miyojenik değişiklikler gözlenmiştir.^[14-16] Benzer şekilde, hipertrofi ve hiperplazi gibi kastaki rejeneratif değişiklikler ile il-

gili sabit bulgular elde edilememiştir.^[2,14,17,18] Değişik sonuçlar olmasına rağmen, genel olarak kabul edilen, kas liflerinin distraksiyon histiyogenezisi sırasında genişlediği ve uzadığıdır. Ekstremitelerden ortaya çıkan en önemli yan etki, çevre yumuşak dokuların gerilme kuvvetine kemik doku gibi yanıt verememesidir. Ayak bileğinde ekinus deformitesini önlemenin gastrosoleus kompleksini nasıl etkileyeceği ile ilgili fazla çalışma olmamasına rağmen, distraksiyon osteogenezisi sırasında oluşan gerilmeye bağlı olarak kas ve sinir dokusunda meydana gelen değişiklikler ile ilgili çalışmalar artmaktadır. Gerilme sonucu oluşan nöropatik ve miyopatik hasarlanmanın mekanizması ve olası onarım ve adaptasyon mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Ek olarak, uzama sonucu kas ve sinirlerde meydana gelen değişikliklerin uzatmanın hızına, ritmine ve frekansına bağlı olduğu kabul edilmektedir.^[14,19-24] Makarov ve ark.^[14] distraksiyon yapmadan eksternal fiksatör ve osteotomi uygulamasının çevre yumuşak dokularda anormal bir gelişime yol açmadığını bildirmişlerdir. Çalışmamızda, distraksiyon histiyogenezisi sırasında, ayak bileğinin nötral açıda sabitlenmesinin gastrosoleus kas kompleksinin fonksiyonu üzerindeki etkisi incelendi. Ekinus deformitesinin engellenmesi ve uzatmanın başlangıcından itibaren kasın gerilmesinin sağlanması, fonksiyonunun daha iyi korunması ile sonuçlandı. Ayak bileğinde deformite gelişiminin önlenmesine karşın, uzatmanın miktarı ile orantılı olarak kas kasılma yanıtı ilerleyici şekilde düşüş gösterdi. Ayak bileğinin serbest bırakılması, sonuçta kasta gerilmenin ve bunun sonucu olan biyolojik uyarının eksikliği ise uzatmanın başlangıç anından itibaren kas kasılma kuvvetinde ani ve büyük miktarda azalmaya neden oldu.

Devamlı gerilme kuvveti uygulanması, kas dokusunun genişlemesine ve uzamasına neden olur. Bu durum egzersiz sonucu oluşan kas hipertrofinde meydana gelen, sarkomerlerin paralel uzamasından farklı olarak, kas liflerinde sarkomerlerin seri bir şekilde sayıca artması ile meydana gelmektedir.^[13,25-27] Caiozzo ve ark.^[25] distraksiyon osteogenezisi sırasında, sarkomerogenezin meydana gelebilmesi için sarkomer uzunluğunun belirli bir eşik değeri geçmesi gerektiğini bildirmişlerdir. Bu araştırmacılar, sarkomerin boyundaki bir eşik değerini aşılmasından sonra olası hücresel ve moleküler mekanizmalar tarafından sarkomerogenezin başlatıldığını belirtmişlerdir. Örneğin, fare soleus kasının günde 0.5 mm uzatılma-

sı sırasında sarkomer boyu 2.6 μm 'ye ulaşana kadar sarkomer miktarında artış görülmemekte, ancak sekizinci günden sonra sarkomer uzunluğu 2.7 μm 'yi geçmemesine karşın miktarında artmanın başladığı gözlenmektedir.^[25] Bu sonuçları destekleyen, uzatma sırasında kasların adaptasyonunu tarif ederek, bunun uzatmanın hızı, miktarı ve zamanına bağlı etkenlerle ilişkili olduğunu bildiren çalışmalar vardır.^[28-30] Tamai ve ark.^[12] deneysel distraksiyon osteogenezi modelinde, uzamış sarkomerler üzerindeki gerilme kuvvetinin bir haftadan fazla devam etmesinin sarkomerlerin eski uzunluklarına dönmesine neden olduğunu göstermişlerdir. Çalışmamızda, deney grubunda ayak bileğinin sabitlenerek gastrosoleus kasının uzunluğunun korunması ve kemikle birlikte uzamasının sağlanması sonucunda, distraksiyonun ilk 10 gününde kasılma kuvvetinde hızlı bir azalma gözlenmesine karşın, Şekil 2'de görüldüğü gibi, ilerleyen evrede düşme hızı azalmıştır. Aynı etki kontrol grubunda da gözlenmiş; fakat, bu grupta daha başlangıç evresinde kasılma kuvvetinin önemli kısmının kaybedilmesi nedeniyle bu etki çok sınırlı düzeyde kalmıştır. Bu bulgular, kaslarda izlenen rejeneratif etkinin tetikleyici bir mekanizma ile başladığını ve uzama miktarı ile bağlantılı olduğu görüşünü desteklemektedir.

Klinik uygulamalarda, tibial uzatma sırasında ekinus deformitesinin engellenmesi ve ayak bileği fonksiyonlarının sağlanması için gastrosoleus kas kompleksinin kuvvetinin korunması gerekmektedir. Bu çalışma, kruris segmentinde uygulanan distraksiyon osteogenezi sırasında kemik ile birlikte kasın eşzamanlı ve eş oranda kademeli uzamasının ekinus deformitesi gelişiminin engellenmesi ve kas kuvvetinin korunması bakımından önemli olduğunu göstermiştir. Bunu sağlamak için, uzatma sırasında kasın kademeli gerilmesinin ve bu etkinin distraksiyonun başından itibaren sağlanması gerektiği görülmüştür. Eğer cerrahi öncesinde kruris arkasındaki kas grubunda zaten kısalık varsa veya uzatmanın yan etkisi olarak kasta sertlik ve kısalma beklentisi yüksekse, distraksiyon osteogenezi uygulanmadan önce bununla ilgili önlemin alınması gerekir.

Kaynaklar

1. Wiedemann M. Callus distraction: a new method? A historical review of limb lengthening. *Clin Orthop Relat Res* 1996;(327):291-304.
2. Ilizarov GA. The tension-stress effect on the genesis and growth of tissues. Part I. The influence of stability of fixation and soft-tissue preservation. *Clin Orthop Relat Res* 1989;(238):249-81.
3. Calandriello B. The behaviour of muscle fibers during surgical lengthening of a limb. *Ital J Orthop Traumatol* 1975; 1:231-47.
4. Kochutina LN, Klishov AA. Characteristics of myohistogenesis during experimental mono- and bilocal distraction osteosynthesis. *Arkh Anat Gistol Embriol* 1989; 97:44-52.[Abstract]
5. Sun JS, Hou SM, Hang YS, Liu TK, Lu KS. Ultrastructural studies on myofibrillogenesis and neogenesis of skeletal muscles after prolonged traction in rabbits. *Histol Histo-pathol* 1996;11:285-92.
6. Kalenderer Ö, Dülgeroğlu AM. The effect of femoral lengthening on skeletal muscle: an experimental study in rats. *Ulus Travma Acil Cerrahi Derg* 2005;11:102-7.
7. Aquerreta JD, Forriol F, Cañadell J. Complications of bone lengthening. *Int Orthop* 1994;18:299-303.
8. Nakamura K, Kurokawa T, Matsushita T, Ou W, Okazaki H, Takahashi M. Prevention of equinus deformity during tibial lengthening. Comparison of passive stretching with an orthosis. *Int Orthop* 1996;20:359-62.
9. Eldridge JC, Bell DF. Problems with substantial limb lengthening. *Orthop Clin North Am* 1991;22:625-31.
10. Lehman WB, Grant AD, Atar D. Preventing and overcoming equinus contractures during lengthening of the tibia. *Orthop Clin North Am* 1991;22:633-41.
11. Paley D. Problems, obstacles, and complications of limb lengthening by the Ilizarov technique. *Clin Orthop Relat Res* 1990;(250):81-104.
12. Tamai K, Kurokawa T, Matsubara I. In situ observation of adjustment of sarcomere length in skeletal muscle under sustained stretch. *Nippon Seikeigeka Gakkai Zasshi* 1989; 63:1558-63.
13. Green SA, Horton E, Baker M, Utkan A, Caiozzo V. Distraction of skeletal muscle: evolution of a rat model. *Clin Orthop Relat Res* 2002;(403 Suppl):S126-32.
14. Makarov MR, Kochutina LN, Samchukov ML, Birch JG, Welch RD. Effect of rhythm and level of distraction on muscle structure: an animal study. *Clin Orthop Relat Res* 2001;(384):250-64.
15. Mizumoto Y, Mizuta H, Nakamura E, Takagi K. Distraction frequency and the gastrocnemius muscle in tibial lengthening. *Studies in rabbits. Acta Orthop Scand* 1996;67:562-5.
16. Fitch RD, Thompson JG, Rizk WS, Seaber AV, Garrett WE Jr. The effects of the Ilizarov distraction technique on bone and muscle in a canine model: a preliminary report. *Iowa Orthop J* 1996;16:10-9.
17. Gil-Albarova J, Melgosa M, Gil-Albarova O, Cañadell J. Soft tissue behavior during limb lengthening: an experimental study in lambs. *J Pediatr Orthop B* 1997;6:266-73.
18. Holly RG, Barnett JG, Ashmore CR, Taylor RG, Molé PA. Stretch-induced growth in chicken wing muscles: a new model of stretch hypertrophy. *Am J Physiol* 1980;238:62-71.

19. Aronson J, Shen X. Experimental healing of distraction osteogenesis comparing metaphyseal with diaphyseal sites. *Clin Orthop Relat Res* 1994;(301):25-30.
20. Fink B, Krieger M, Strauss JM, Opheys C, Menkhaus S, Fischer J, et al. Osteoneogenesis and its influencing factors during treatment with the Ilizarov method. *Clin Orthop Relat Res* 1996;(323):261-72.
21. Fischgrund J, Paley D, Suter C. Variables affecting time to bone healing during limb lengthening. *Clin Orthop Relat Res* 1994;(301):31-7.
22. Li G, Simpson AH, Kenwright J, Triffitt JT. Assessment of cell proliferation in regenerating bone during distraction osteogenesis at different distraction rates. *J Orthop Res* 1997;15:765-72.
23. Yasui N, Kojimoto H, Sasaki K, Kitada A, Shimizu H, Shimomura Y. Factors affecting callus distraction in limb lengthening. *Clin Orthop Relat Res* 1993;(293):55-60.
24. Shibukawa M, Shirai Y. Experimental study on slow-speed elongation injury of the peripheral nerve: electrophysiological and histological changes. *J Orthop Sci* 2001;6:262-8.
25. Caiozzo VJ, Utkan A, Chou R, Khalafi A, Chandra H, Baker M, et al. Effects of distraction on muscle length: mechanisms involved in sarcomerogenesis. *Clin Orthop Relat Res* 2002;(403 Suppl):S133-45.
26. Williams PE, Goldspink G. The effect of immobilization on the longitudinal growth of striated muscle fibres. *J Anat* 1973;116:45-55.
27. De Deyne PG. Lengthening of muscle during distraction osteogenesis. *Clin Orthop Relat Res* 2002;(403 Suppl):S171-7.
28. Hayatsu K, De Deyne PG. Muscle adaptation during distraction osteogenesis in skeletally immature and mature rabbits. *J Orthop Res* 2001;19:897-905.
29. De Deyne PG, Hayatsu K, Meyer R, Paley D, Herzenberg JE. Muscle regeneration and fiber-type transformation during distraction osteogenesis. *J Orthop Res* 1999;17:560-70.
30. Fink B, Neuen-Jacob E, Lehmann J, Francke A, R  ther W. Changes in canine peripheral nerves during experimental callus distraction. *Clin Orthop Relat Res* 2000;(376):252-67.