

İskelet Kas Lifi Tipleri

SKELETAL MUSCLE FIBER TYPES

Dr.Jale ÖNER,^a Dr.Hakan ÖNER^a

^aHistoloji ve Embriyoloji AD, Akdeniz Üniversitesi Veteriner Fakültesi, BURDUR

Özet

İskelet kası lif tipleri gelişimin 20. haftasına kadar ayırt edilememektedir. 20.haftadan itibaren tip 1 ve tip 2 liflerin öncül şekilleri ayırt edilebilir.

Kas lifi tiplerinin histokimyasal farklılıkları doğumdan sonraki ilk yıllarda şekillenir. İskelet kası lif tipleri morfolojik, fizyolojik ve histokimyasal özelliklerine göre farklılıklar gösterir. Lif tiplerini ayırt etmede kullanılan en güvenilir yöntem histokimyasal tekniklerdir. Bunlar; miyofibriler Adenozin trifosfataz (ATP-az) reaksiyonu ve oksidatif enzim reaksiyonudur. ATP-az boyama işlemi esnasında pH değeri değiştirilerek reaksiyonun spektrumu genişletilebilir. Standart veya alkali ATP-az reaksiyonunda (pH 9.4) 2 lif tipi ayırt edilir. Tip 1 lifler açık, Tip 2 lifler koyu boyanır. Eğer inkübasyon solüsyonunun pH'ı asidik seviyelere çekilirse (pH 4.6) Tip 2'nin de 2 tipi ayırt edilir. Tip 2A lifleri hemen hemen hiç boyanmaz iken, Tip 2B orta seviyede, Tip 1 lifler ise koyu olarak boyanır. Oksidatif enzimler ile yoğun boyanan lifler Tip 1, açık boyananlar ise Tip 2 lifler olarak ayırt edilir. Son yıllarda kas lifi tiplerini ayırt etmede immunohistokimyasal teknikler de kullanılmaktadır.

Anahtar Kelimeler: İskelet, kas lifleri

Türkiye Klinikleri J Med Sci 2004, 24:503-507

Abstract

Discrimination of skeletal muscle fiber types can not be performed with assurance until up to 20 weeks gestation. The primitive forms of type 1 and 2 fibers can be discriminated after this time. Indeed, the main histochemical differences occur in the first years after birth.

Skeletal muscle fiber types evidence differences in their morphologic, physiologic and histochemical features. The most reliable method in the discrimination of fiber types has been through histochemical techniques. The most common of these are based upon myofibrillar ATPase and oxidative enzyme reactions. The spectrum of reactions can be extended by modifying the pH during the ATPase staining procedure. In the standard or alkaline ATPase reaction, which is conducted at pH 9.4, two fiber types are seen. Type 1 fibers are pale in staining intensity, whereas Type 2 fibers are dark. If the pH of the incubating solution is brought into the acidic range (pH 4.6), type 2 muscle fibers exhibit two different subtypes. Type 2A fibers are virtually unstained and type 2B fibers are intermediately stained, while type 1 fibers are extremely dark. The oxidative enzyme reaction also reveals two differently stained muscle fibers as type 1 and type 2. Recently, these immunohistochemical techniques have been increasingly employed in the discrimination of muscle fiber types.

Key Words: Skeletal, muscle fibers

İskelet kas lifleri gelişimin 5. ayında histokimyasal olarak farklılaşmaya başlar. Gebeliğin 15. ve 20. haftaları arasında bütün miyotüpler ve miyofibriller yüksek adenozin trifosfataz (ATP-az) ve oksidatif enzim aktivitesine sahiptir. Gebeliğin 20. haftasından itibaren liflerin yaklaşık %10'u daha geniş çaptadır, ayrıca yüksek oksidatif enzim aktivitesine ve azalmış ATP-az

aktivitesine sahiptir. Hematoksilin ve Eozin ile bazofilik boyanan bu lifler, Wohlfort B lifleri olarak adlandırılır ve gelişen kasta Tip 1'in erken örneği olarak ayırt edilirler. Liflerin geri kalan %90'ı (Wohlfort Tip A) yüksek ATP-az aktivitesine sahiptir ve Tip 2 olarak adlandırılır. Tip 2A ve Tip 2B lifleri doğuma kadar görülmezler. Ancak birkaç Tip 2C lifi hem asit hem de alkali şartlarda koyu boyanmalarından ve ATP-az reaksiyonu göstermelerinden dolayı ayırt edilebilirler. Bu lifler; hem hızlı, hem de yavaş miyosin'e karşı antikorlar ile tipik boyanırlar. Doğumda, kasların histokimyasal özellikleri, olgun ve yetişkin kasın histokimyasal özelliğine benzer. Liflerin yaklaşık %80'i Tip 1 ve Tip 2 olarak ayırt edilebilir. Geri kalan %20'si fark-

Geliş Tarihi/Received: 23.09.2003

Kabul Tarihi/Accepted: 01.07.2004

Yazışma Adresi/Correspondence: Dr.Jale ÖNER
Akdeniz Üniversitesi Veteriner Fakültesi
Histoloji-Embriyoloji AD, BURDUR
jalee@iname.com

Copyright © 2004 by Türkiye Klinikleri

İlaşmamıştır ve oksidatif enzim aktivitesine sahiptir, hem de rutin ATP-az reaksiyonları ile koyu boyanır. Kasların histokimyasal profilindeki asıl düzenleme doğumdan sonra oluşur. Yeni doğmuş bebeklerde, dama tahtası boyama örneği, alkali ATP-az reaksiyonunda belirgindir. Bununla beraber, lif tipleri genelde oksidatif enzim reaksiyonu ile ayırt edilemez.¹

İskelet kas lifleri morfolojik, fizyolojik ve histokimyasal özelliklerine göre birbirlerinden ayrılır. Morfolojik olarak kas lifleri çap ve renk bakımından farklılıklar gösterir. Beyaz kas lifleri kalın, kırmızılar ise, ince çaplıdır. Renk farklılıkları Hematoksilen ve Eozin ile boyanmış kesitlerde çok belirgin değildir. Bununla birlikte, oksidatif enzim aktivitelerine dayanan özel sitolojik ve histokimyasal reaksiyonlar birkaç lif tipini ayırt etmede yeterli olabilir. Bu tipler arasında en belirgin olanları kırmızı, beyaz ve orta tip liflerdir. Bu üç tip iskelet kasının enzim aktiviteleri ve histokimyasal boyanma özellikleri onların fonksiyonel farklılıklarını yansıtır.^{2,3}

Lif tipleri miyogloblin ve mitokondri içeriğine göre de farklılık gösterir. Kırmızı lifler çok miktarda miyogloblin, sitokrom ve mitokondrion içeren küçük liflerdir. Beyaz lifler daha az miyogloblin, sitokrom ve mitokondrion içeren büyük liflerdir. Orta tip lifler ise pigment içeriği ve mitokondrion miktarı bakımından bu iki lif tipinin arasında olan orta boyuttaki liflerdir.²

Damar zenginliği bakımından da iskelet kası lifleri birbirinden farklıdır. Beyaz kas liflerinin etrafında az sayıda kapiller damar bulunmasına karşılık, kırmızı kas lifleri kapillerden çok zengindir. Enine kesitlerde, her bir beyaz kas lifinin etrafında sadece 1-2 adet, kırmızı kas liflerinin etrafında ise 3 veya 5 adet kapiller damar bulunduğu görülür. Kapiller damarlar kas lifleri boyunca kıvrımlı olarak seyrederek ve yan kollarla birbirine bağlanırlar.³

Kas lifleri arasında farklılıklardan birisi de Z bandının yapısıdır. Z bandı, kırmızı kas liflerinde, daha kalın ve daha düzensizdir.³

Fizyolojik olarak kas lifleri, twitch lifler ve tonik lifler olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Twitch

özelliğindeki bir kas lifine tek bir uyarı geldiğinde kas lifinde aksiyon potansiyel şekillenir ve lif kontraksiyon yapar. Tonik liflerin kontraksiyon yapabilmeleri için peş peşe seri halde uyarı gelmesi gerekir, kontraksiyonları da twitch liflere göre daha uzun zaman alır. Tonik kas lifleri memelilerde ender olarak bulunur. Twitch lifler kontraksiyon hızına göre; slow-twitch ve fast-twitch olmak üzere 2 gruba ayrılır.³ Kırmızı lifler, slow-twitch motor üniteler yaparlar. Kırmızı liflerde bulunan çok miktardaki mitokondrion güçlü succinic dehidrogenase ve nicotinamide adenine dinucleotide-tetrazolium (NADH-TR) histokimyasal boyama reaksiyonları ile ilişkilidir. Enerji için daha çok lipidleri kullanırlar ve enerji üretimi aerobik yolla olur. Lipidler, sarkoplazmadan mitokondrionlara yağ asidi düzeyinde girerek, enzimler tarafından aerobik yolla parçalanırlar. Bu tip kaslar, yorulmaksızın uzun süre kısıp gevşeyebilirler. Memeli ekstremite kasları, insanların uzun sırt kasları ve göçmen kuşların göğüs kasları kırmızı lif tipindedir. Beyaz lifler, fast-twitch motor üniteler yaparlar. Yüksek oranda miyogloblin içerirler, az miktarda sitokrom içerirler ve bu nedenle az sayıda mitokondriona sahiptirler. Bunlar enerjini, daha çok sitozolde glikojeni aerobik yolla piruvata, piruvatı da anaerobik yolla laktata parçalayarak elde ederler. Beyaz kaslar, güçlü fakat kısa süreli kontraksiyonlar yaparlar. Tavuğun göğüs kasları ve insan gözünün ekstraoküler kasları beyaz liflerden oluşmuştur. İntermediyer kaslar, yukarıda belirtilen özellikler yönünden beyaz ve kırmızı kaslar arasında yer alırlar.¹⁻³

Kasların özelliklerinin histokimyasal tekniklerle tanımlanması mümkündür. Lif tiplere rutin Hematoksilen-Eozin boyaması ile yapılamaz, ancak frozen kesitlerde (-22°C) histoenzimatik reaksiyonlarla yapılabilir. Lif tiplerini ayırt etmede 2 histokimyasal prosedür uygulanır. Bunlardan en güvenilir olanı, miyofibriller ATP-az reaksiyonudur. Prosedür esnasında pH değeri değiştirilerek boyama reaksiyonunun spektrumu genişletilebilir. Standart veya alkali ATP-az reaksiyonunda (pH 9.4) 2 lif tipi ayırt edilir. Tip 2 (beyaz) lifler koyu boyanır, Tip 1 (kırmızı) lifler açık boyanır. Eğer

inkübasyon solüsyonunun pH'ı asidik seviyelere çekilirse (pH 4.6) Tip 2'nin de 2 alt tipi ayırt edilir. Tip 2A lifleri hemen hemen hiç boyanmaz iken, Tip 2B orta seviyede, Tip 1 lifler ise koyu olarak boyanır.^{1,4}

Lif tipleri ayırımı sadece ATP-az reaksiyonuna göre değil, aynı zamanda oksidatif enzim reaksiyonuna bakılarak da yapılabilir. Laboratuvarlarda oksidatif enzim reaksiyonlarının hepsi (NADH-TR gibi) kullanılabilir. Koyu boyanan lifler, oksidatif Tip 1 (kırmızı) lifler olarak, açık boyananlar ise Tip 2 (beyaz) lifler olarak ayırt edilir. Oksidatif enzim reaksiyonları sonucunda Tip 2 lifleri de 2'ye ayrılır. Tip 2B lifler, Tip 2A'ya göre zayıf boyanır. Boyama yoğunluğu orta olanlar Tip 1 ve Tip 2B arasındadır. Bütün kas lif tipleri glikojen ve fosforilaz enzim içermektedir, ancak Tip 2 liflerde daha boldur.^{1,5} Lif tiplerini ayırt etmede glikojeni tespit eden bir metod olan PAS boyaması ve histokimyasal fosforilaz reaksiyonu da kullanılabilir. Ancak bu teknikler kas lifi tiplerini ayırt etmede pek güvenilir değildir.¹

Frozen kesitlerde, ATP-az gibi, histokimyasal boyalar kas lifi tiplerini ayırt etmede kullanılırken, son yıllarda lif ayırımı, hızlı (fast-Tip 2) ve yavaş (slow-Tip 1) miyosinlere karşı antikolar kullanılarak da yapılabilmekte ve Tip 1 ve Tip 2 lifler tespit edilmiş dokularda da ayırt edilebilmektedir.⁶⁻¹² Ayrıca Tip 2 lifler de; Tip 2A ve Tip 2B olarak ayırt edilebilirler. Bunun yanı sıra rejenere olan lifler immunohistokimyasal metotlarla ayırt edilebilir. Rejenere olan lifler, fetal miyosinler içerirler ve vimentin ve desmine karşı pozitif reaksiyon verirler.¹

Anatomik yerleşimi ve fonksiyonuna bağlı olarak, kaslarda Tip 1 ve Tip 2 liflerin oranı değişiktir. Genel olarak kaslar, %60-65 Tip 2, %35-40 Tip 1 lif içerirler.¹

Cinsiyete göre de kasların lif oranları değişiklik göstermektedir. Erkeklerde kas lifleri kadınlardan daha büyüktür. Erkekler kadınlardan daha uzun ve ağırdırlar ve vücut boyutlarına göre kas kitleleri de daha fazladır. Androjenlerin erkeklerde kas liflerinin boyutunda önemli olduğu ve kas liflerinde hipertrofi oluşturduğu bilinmektedir. Erkek-

lerde Tip 2 lifler genellikle Tip 1 liflerden daha büyüktür. Erkeklerin tersine, kadınlarda Tip 1 lifler daha büyük çapa sahiptirler. Yapılan çalışmalarda, erkekler ve kadınlar arasındaki farklılığın kas çeşidine bağlı olduğu gösterilmiştir. Örneğin vastus lateralis kasında Tip 1 ve Tip 2 liflerin çapları arasında önemli bir farklılık yoktur. Biceps kasında erkeklerde tip 2 liflerin oranı daha fazladır, oysa kadınlarda hemen hemen eşittir. Diğer taraftan vastus lateraliste hem erkek hem de kadınlarda Tip 1 ve Tip 2 liflerin oranları benzerdir.¹ Soleus kasında ise Tip 1 liflerin oranı fazla iken extensor digitorum longus (EDL) kasında Tip 2 liflerin oranı fazladır.⁴

Yaşa bağlı olarak da iskelet kas lifi kompozisyonunda değişiklikler meydana gelmektedir. Suzuki ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada lateral thyroarytenoid ve lateral cricoarytenoid kaslarında yaşlanma ile beraber Tip 2B oranının azaldığını ve daha yavaş kontraksiyon yapan Tip 2X isoform oranının arttığını bildirmişlerdir.¹³

Sıçan diyafram kasında başlıca 3 ana kas lifi tipi ayırt edilir. Bunlar Tip 1, Tip 2A ve Tip 2B'dir. Bu liflerin yaklaşık 2/3'ü yüksek oksidatif aktivite (Tip 1 ve Tip 2A) gösterir. Bununla birlikte, interkostal kaslarda, liflerin 2/3'ü yüksek miyofibriler ATP-az, düşük oksidatif kapasiteye sahip olan, Tip 2B veya 2B lifleridir.⁵

İskelet kası lif tipleri üzerine hormonların ve çeşitli deneysel durumların etkilerini araştıran çok sayıda çalışma mevcuttur. Son 25 yıldır iskelet kası üzerine ekzersiz ve antrenmanın etkisi araştırılmaktadır.¹⁴⁻¹⁷ İskelet kası aşırı ekzersize önemli derecede adaptasyon gösterir. Bu uyum esnasında, kas lifi tipi kompozisyonunda ve enine kesit alanında önemli değişiklikler meydana gelir. Örneğin ağırlık kaldırma programlarında kas liflerinin enine kesit alanları artar, oysa kasın gerilmesi durumunda kas lif boyutu değişmez ya da azalır.^{18,19} Ekzersiz ve antrenman, kas lifi çaplarında artışa neden olur. Uzun süreli koşucularda Tip 1 lifler, daha çok büyür. Birçok araştırmacı, ağırlık kaldırma gibi güç uygulamalarından sonra Tip 1 liflerde genişleme kaydetmişler, bununla beraber özellikle Tip 2 liflerde hipertrofi olduğunu göstermişlerdir. Kısa mesafe koşucularında ise, uzun mesafe koşu-

cularının tersine, Tip 2 liflerin miktarı kontrollere göre daha fazladır. Hareketsizlik ve kaşeksi sonrasında hayvanlarda Tip 2 liflerde atrofi gözlenmiştir. Atrofik liflerin hemen hepsi alkali ATP-az ile koyu boyanır ve glikolitik tiptedir ve oksidatif enzimler ile de koyu boyanırlar. Müsküler distrofik hayvanlarda, Tip 1 liflerin oranı, kontrollere göre artarken, Tip 2 liflerin oranı değişmemiştir.¹

Yapılan benzer bir çalışmada ise, ekzersizin lif tipi kompozisyonunda önemli bir değişiklik oluşturmadığı, ancak Tip 1 ve Tip 2 liflerin enine kesit alanlarında azalmaya neden olduğu bildirilmiştir.¹⁴ Mekanik ventilasyondan sonra diyaframdaki Tip 1 ve Tip 2 miyosin isoformlarının arttığı gözlenmiştir.²⁰

Son çalışmalar hipotiroidizmin memeli ekstremitelerde kaslarında Tip 1 liflerin oranında artışa neden olduğunu göstermiştir.⁵ Buna karşın, deneysel hipertiroidizmde ise, Tip 1 lifleri azalmış, Tip 2C intermediate lifler artmıştır.^{5, 21} Bu değişikliklerin EDL (fast-twitch) ile karşılaştırıldığında, soleus gibi, slow-twitch kaslarda daha belirgin olduğu gözlenmiştir. Kas lif tipi profilindeki gözlenen değişiklikler, hem miyofibriler ATP-az aktivitesi hem de mitokondriyal oksidatif enzim aktivitesindeki değişiklikler ile birlikte. Tiroid hormonlarından T₃ ile muamele sonunda, soleus kasında lif tiplerinin toplam miktarının değişmediği buna karşın Tip 1'in, Tip 2'ye dönüştüğü bildirilmiştir.²²

Sillau yaptığı bir çalışmada, ATP-az aktivitesine göre pH 4.5'da preinkübe ettikten sonra, kontrol sıçan soleus kasında 3 tip kas lifi ayırt etmiştir. Tip 1 lifler güçlü ATP-az reaksiyonu verirken, Tip 2A lifler zayıf, Tip 2C lifler ise hafif ATP-az reaksiyonu vermişlerdir. T₃ hormonu verilmesi sonunda ise, Tip 2C liflerin oranının %18, Tip 1 liflerin oranı ise %74 olarak değişmiştir. İlacın kesilmesini takiben 21. güne kadar Tip 2C'nin oranı kontrollerdekinden yüksek kalırken, Tip 1 liflerin oranı 14. günden itibaren kontrol değerlerine geri dönmüştür. Tip 2A liflerin oranı ise tedavi periyodu ile değişmemiştir. Araştırmacı Tip 2C ve Tip 1 liflerin arasında negatif bir korelasyon bildirmiştir.²³ Tirotoksik insan iskelet kasında, Tip 2A liflerin çapında değişiklik ve oksidatif

kapasitesinde azalma bildirilmiştir.²⁴ Tiroid hormonlarına benzer şekilde, kortikosteroid hormonlar da, Tip 2 lif oranını arttırmıştır.²⁵

Sonuç olarak; histokimyasal ve immunohistokimyasal teknikler kullanılarak belirlenen iskelet kası lif tipi oranları, iskelet kası türüne, cinsiyete, yaşa, fiziksel aktivasyona ve çeşitli hormonal değişikliklere bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Steenberg SS. Histology for pathologists. Skeletal muscle. 2nd ed. Philadelphia-New York: Lippincott&Raven; 1997. p.197-220.
2. Ross MH, Romrell LJ, Kaye GI. Histology; a text and atlas. Muscle tissue. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams&Wilkins; 1995.p.214-26.
3. Sağlam M, Aştı RN, Özer A. Genel histoloji. Kas dokusu. 6. Baskı. Ankara: Yorum Matbaacılık; 2001:245-67.
4. Carnwath JW, Shotton DM. Muscular dystrophy in the Mdx mouse: Histopathology of the soleus and extensor digitorum longus muscles. J Neurol Sci 1987;80:39-54.
5. Johnson MA, Olmo JL, Mastaglia FL. Changes in histochemical profile of rat respiratory muscles in hypo- and hyperthyroidism. Q J Exp Psychol 1983;68:1-13.
6. Semper AE, Fitzsimons RB, Shotton DM. Ultrastructural identification of type 1 fibres in human skeletal muscle. Immunogold labelling of thin cryosections with a monoclonal antibody against slow myosin. J Neurol Sci 1988; 83(1):93-108.
7. Harris AJ, Fitzsimons RB, McEwan JC. Neural control of the sequence of expression of myosin heavy chain isoforms in foetal mammalian muscles. Development 1989; 107(4):751-69.
8. Narusawa M, Fitzsimons RB, Izumo S, et al. Slow myosin in developing rat skeletal muscle. J Cell Biol 1987; 104(3):447-59.
9. Narusawa K, Nakamura T, Suzuki K, et al. The effects of recombinant human insulin-like growth factor (rhIGF)-1 and rhIGF-1/IGF binding protein-3 administration on rat osteopenia induced by ovariectomy with concomitant bilateral sciatic neurectomy. J Bone Miner Res 1995; 10(12):1853-64.
10. Carter RL, Jameson CF, Philp ER, Pinkerton CR. Comparative phenotypes in rhabdomyosarcomas and developing skeletal muscle. Histopathology 1990;17(4):301-9.
11. Naumann K, Pette D. Effects of chronic stimulation with different impulse patterns on the expression of myosin isoforms in rat myotube cultures. Differentiation 1994;55(3): 203-11.
12. Havenith MG, Visser R, Schrijvers-van Schendel JM, Bosman FT. Muscle fiber typing in routinely processed skeletal muscle with monoclonal antibodies. Histochem 1990;93:497-9.

13. Suzuki T, Connor NP, Lee K, et al. Age-related alterations in myosin heavy chain isoforms in rat intrinsic laryngeal muscles. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 2002;111:962-7.
14. Deschenes MR, Kraemer WJ, Crivello JF, Maresh CM, Armstrong LE, Covault J. The effects of different treadmill running programs on the muscle morphology of adult rats. *Int J Sports Med* 1995;16:273-7.
15. Deschenes MR, Maresh CM, Crivello JF, Armstrong LE, Kraemer WJ, Covault J. The effects of exercise training of different intensities on neuromuscular junction morphology. *J Neurocytol* 1993;22:603-15.
16. Desplanches D, Hoppeler H, Linossier LT, et al. Effects of training in normoxia and normobaric hypoxia on human muscle ultrastructure. *Pflugers Arch* 1993;425:263-7.
17. Dimauro J, Balnave RJ, Shorey CD. Effects of anabolic steroids and high intensity exercise on rat skeletal muscle fibres and capillarization. *Eur J Appl Physiol* 1992;64:204-12.
18. Goldspink G, Ward PS. Changes in rodent muscle fibre types during postnatal growth, under nutrition and exercise. *J Physiol* 1979;296:453-69.
19. Staron RS, Malicky ES, Leonardi MJ, Falkel JE, Hagerman FC, Dudley GA. Muscle hypertrophy and fast fiber type conversions in heavy resistance-trained women. *Eur J Appl Physiol* 1990;60:71-99.
20. Yang L, Luo J, Bourdon J, Lin MC, Gottfried SB, Petrof BJ. Controlled mechanical ventilation leads to remodeling of the rat diaphragm. *Am J Respir Crit Care Med*. 2002; 166:1135-40.
21. Angeras U, Oldfors A, Hasselgren PO. The effect of β -adrenergic blockade on the myopathic changes in experimental hyperthyroidism in rats. *Acta Path Microbiol Immunol Scand Sect A* 1986;94:91-9.
22. Johnson MA, Turnbull DM. Mitochondrial oxidative enzyme activity in individual fibre types in hypo-and hyperthyroid rat skeletal muscles. *Q J Exp Psychol* 1984;69: 257-70.
23. Sillau AH. Changes in soleus muscle capillarity, oxidative capacity and fiber composition in rats recovering from hyperthyroidism. *Pflugers Arch* 1985;404:67-72.
24. Klein I, Ojamaa K. Thyroid (neuro) myopathy. *Lancet* 2000;356:614.
25. Roy BD, Bourgeois JM, Mahoney DJ, Tarnopolsky MA. Dietary supplementation with creatine monohydrate prevents corticosteroid-induced attenuation of growth in young rats. *Can J Physiol Pharmacol* 2002; 80:1008-14.