Review Article / Derleme

Spor Hekimliği Dergisi, 54(2):133-142, 2019
Turkish Journal of Sports Medicine
DOI: 10.5152/tjsm.2019.125

Molecular Mechanisms Regulating Skeletal Muscle Mass

İskelet Kas Kütlesini Düzenleyen Moleküler Mekanizmalar

Şenay Akın[1],Berkay Özerkliğ[1], İbrahim Türkel[1], Haydar A. Demirel[2]

[1]*Exercise and Sports Physiology Department, Faculty of Sport Sciences, Hacettepe University, Ankara, Turkey*
[2]*Sports Medicine Department, Faculty of Medicine, Hacettepe University, Ankara, Turkey*

Ş. Akın
0000-0001-5729-5944

B. Özerkliğ
0000-0002-9678-8001

İbrahim Türkel
0000-0002-5187-8847

H. A. Demirel
0000-0002-0629-8229

Geliş Tarihi / Date Received: 10.08.2018
Kabul Tarihi / Date Accepted: 05.09.2018
Yayın Tarihi / Published Online: 08.10.2018

Yazışma Adresi / Corresponding Author:
Şenay Akın
Hacettepe Üniversitesi Spor Bilimleri Fakültesi, Egzersiz Ve Spor Fizyolojisi Anabilim Dalı, Ankara, Turkey

E-mail:
senaya@hacettepe.edu.tr

*©**2019** Türkiye Spor Hekimleri Derneği. Tüm hakları saklıdır.*

ABSTRACT

Skeletal muscle is a plastic tissue and one of the responses to various physiological and pathological conditions is changes in protein synthesis or degradation rate. Various anabolic stimuli lead to muscle hypertrophy, while inactivity, denervation, spinal cord section, and other disuse conditions cause skeletal muscle atrophy. Today, skeletal muscles are considered as an endocrine organ and have important functions such as power production, movement, and breathing as well as glycemic control, metabolic homeostasis and regulation of metabolic genes. Therefore, loss of muscle mass affects homeostasis and leads to insulin resistance, type 2 diabetes, and obesity and results in increased morbidity and mortality. While the major anabolic pathway regulating protein synthesis in skeletal muscle is IGF1-PI3K-Akt-mTOR signaling pathway, the myostatin-Smad2/3 pathway plays a major role in the suppression of protein synthesis. On the other hand, the ATP-dependent ubiquitin-proteasome system, the cytosolic calcium-dependent calpain system, and lysosomal proteases play an important role in muscle atrophy. The pathways that control protein synthesis and degradation work in a coordinated fashion. Elucidating the molecular mechanisms playing role in controlling protein balance in skeletal muscle is of crucial importance to develop therapies and rehabilitation strategies for preservation of muscle tissue function.

Keywords: Skeletal muscle, atrophy, protein degradation, ubiquitin-proteasome system

ÖZ

İskelet kasları plastisitesi yüksek bir dokudur. Çeşitli fizyolojik ve patolojik koşullara verdiği yanıtlardan birisi de, protein yapım veya yıkım hızında görülen değişikliklerdir. Bu çerçevede, çeşitli anabolik uyaranlar hipertrofiye yol açarken; inaktivite, denervasyon, spinal kord kesisi gibi genel olarak kullanmamaya yol açan koşullar kas atrofisine neden olur. İskelet kaslarının bir endokrin organ olarak anıldığı ve güç üretimi, hareket ve nefes alma işlevinin yanı sıra glisemik kontrol, metabolik homeostazisin sağlanması ve metabolik genlerin düzenlenmesi gibi önemli fonksiyonlara sahip olduğu düşünüldüğünde, kas kütlesinde ortaya çıkan kayıpların kan glukoz dengesini etkileyerek insulin direnci, tip 2 diyabet ve obezite gibi sorunlara neden olmakta, morbidite ve mortaliteyi artırmaktadır. Kas lifinde protein yapımı IGF1–PI3K–Akt–mTOR sinyal yolağı tarafından uyarılırken, miyostatin-Smad2/3 yolağı temel olarak protein yapımını baskılar. Diğer yandan, özellikle kullanmama atrofisinde başta ATP-bağımlı ubikütin-proteozom sistemi olmak üzere, sitozolik kalsiyum bağımlı kalpain sistemi ve lizozomal proteazlar önemli rol oynar. Protein yapımı ve yıkımını kontrol eden yolaklar kompleks bir iş birliği içerisinde çalışırlar. Böylece protein yapımının

aktivasyonu, yıkımın baskılanmasını veya yıkımın uyarılması yapımın bir ölçüde azalmasını da beraberinde getirir. İskelet kas kütlesi kayıplarının önlenmesinde ve/veya geri kazandırılması için gerekli rehabilitasyon stratejilerinin geliştirilmesinde iskelet kasında protein dengesini kontrol eden moleküler mekanizmaların aydınlatılması ciddi bir önem taşımaktadır.

Anahtar sözcükler: İskelet kası, atrofi, protein degradasyonu, ubikütin-proteazom sistem

Available at: http://journalofsportsmedicine.org and http://dx.doi.org/10.5152/tjsm.2019.125

Cite this article as: Akin S, Ozerklig B, Turkel I, et al. The molecular mechanisms regulating skeletal muscle mass. *Turk J Sports Med.* 2019;54(2):133-42.

GİRİŞ

Günümüz sedanter yaşam koşullarında güç ve hareket gerektiren işlere duyulan gereksinimin giderek azalması, iskelet kaslarının daha çok sportif performans açısından önemli olan bir doku olarak algılanmasına neden olmuştur. Oysa insan vücut ağırlığının %40-45'ini oluşturan iskelet kasları, güç üretimi, hareket ve nefes alma işlevinin yanı sıra; dolaşım ve enerji ihtiyacının düzenlenmesi, glisemik kontrol, metabolik homeostaz ve metabolik genlerin düzenlenmesi gibi kritik fonksiyonlara sahiptir (1). Buna ek olarak, iskelet kasları salgıladığı miyokinler nedeniyle endokrin bir organ olarak kabul edilmekte olup; yağ dokusu, karaciğer, pankreas, kardiyovasküler sistem, beyin, kemik ve deri gibi diğer organ ve dokularla karşılıklı iletişimi sağlayarak tüm vücut homeostazisinde önemli görevler üstlenmektedir (2-5). Gerçekten de, kas kütlesinde ortaya çıkan kayıplar kan glukoz dengesini de etkileyerek insulin direnci, tip 2 diyabet ve obezite gibi metabolik sorunlara neden olmakta, morbidite ve mortaliteyi artırmakta ve hastalıklar sonrası toparlanma sürecinin uzamasına yol açmaktadır (6). Bütün bu bulgular, sağlıklı bir yaşamın sürdürülebilmesi için iskelet kas kütlesi korunmasının son derece önemli olduğunu göstermektedir (7). Bu yazıda iskelet kas kütlesini düzenleyen moleküler mekanizmaların kısaca tartışılması amaçlanmıştır.

İskelet kası normal koşullarda oldukça stabil bir miyofibriler protein yapım/yıkım dengesine sahiptir (8). Diğer yandan bu denge, organizmadaki fizyolojik ve patolojik koşullara uyum sağlamak için pozitif ya da negatif yönde değişmektedir (9). Nitekim iskelet kasında mekanik yükün artması ve anabolik hormon uyarısı kas kütlesinde artışa (hipertrofi) yol açarken; mekanik yükün azalması ve katabolik hormon salınımındaki artış kas kütlesinde azalmaya (atrofi) neden olur (10). Direnç egzersizleri, insulin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), dallı zincirli amino asitler (BCAA) veya büyüme hormonları gibi anabolik uyaranlar protein yapımını tetikleyip protein yıkımını baskılayarak hipertrofiyi gerçekleştirirler. İmmobilizasyon, denervasyon, periferik sinirde oluşan kısmen veya total zedelenme, spinal kord yaralanması ve yüksüzleştirme gibi kullanmama durumları; yaşlanma, açlık veya yetersiz beslenme ya da kanser kaşeksisi, böbrek ve kalp yetmezliği, diyabet, kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi çeşitli hastalık ve patolojik koşullar kas kütle ve kuvvet kaybına yol açar (11). Atrofi, uzun süreli yatak istirahatini gerektiren durumlarda özellikle vücut ağırlığını taşıyan bacak kaslarında olmak üzere inaktif iskelet kaslarının tamamını etkilerken, alçı veya atel yoluyla bir ekstremitenin immobilizasyonunu gerektiren spor yaralanmaları ya da çeşitli diğer travmatolojik yaralanmalarda, kasılmaya iştirak edemeyen kaslarda görülür. Atrofiye neden olan koşula bağlı olarak uyarılan sinyal yolakları ve moleküler mekanizmalar farklılık gösterse de ortak sonuç iskelet kası protein içeriği, lif çapı, kuvvet üretimi ve yorgunluğa dirençte azalmadır.

Protein yapım ve yıkım yolaklarında rol alan moleküllerin bir çoğu karşılıklı etkileşim halinde olup, aktive olduklarında aşağı akımda yer alan sinyal moleküllerini etkilerler. Bu yolaklarda yer alan moleküllerin bazıları ana düzenleyici

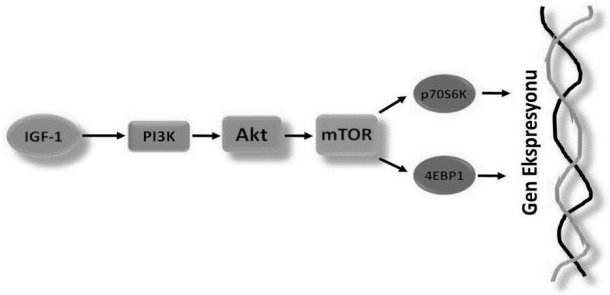
konumundadır ve uyarılmaları ilgili yolağın genel aktivasyonu konusunda bilgi verir. Böylece ilgili sinyal, protein yapımının artması ve yıkımın azalması ya da protein yapımının azalması ve yıkımın artması şeklinde ifade bulabileceği gibi, bu işlevlerden birinin daha baskın olarak gerçekleşmesine de neden olabilir.

İskelet Kası Protein Yapımı

Kas lifinde protein yapımını kontrol eden iki ana sinyal yolağı vardır. İnsulin benzeri büyüme faktörü1–fosfatidilinozitol-3-kinaz–Akt–rapamisin kompleksinin memeli hedefi (IGF1–PI3K–Akt–mTOR) yolağı kas gelişiminde pozitif düzenleyici olarak rol oynarken, dönüştürücü büyüme faktörü β (TGF-β) ailesinin bir elemanı olan miyostatin yolağı protein yapımının baskılanmasına neden olur (12, 13).

IGF1–PI3K–Akt–mTOR Sinyal Yolağı

IGF-1, iskelet kası anabolik yolaklar için son derece önemli bir düzenleyici rol üstlenir. IGF-1'in hücre zarında yer alan reseptörüne bağlanması, PI3K aktivasyonunu ve böylece sinyalin hücre içerisine aktarılmasına neden olur (Şekil 1). PI3K tarafından fosforillenen Akt, bu yolağın diğer bir elemanı olan mTOR'u aktifleştirerek protein yapım hızını artırır (12, 13). Kasa spesifik IGF-1 reseptörü inaktivasyonunun kas gelişimini negatif yönde etkileyerek kas lif sayısı ve çapında azalmaya neden olduğu (14), sistemik yolla verilen IGF1'in kas protein yapımını arttırdığı ve protein yıkımını baskıladığı bildirilmiştir (15).



Şekil 1. IGF1–PI3K–Akt–mTOR Sinyal Yolağı. *IGF-1'in reseptörüne bağlanması protein yapım hızını kontrol eden Akt'nin fosforilasyonunu sağlar. Akt'nin, bu yolağın aşağı akımında bulunan mTOR'u fosforillemesi ile gen ekspresyonu ve protein yapımı artar.*

Kasa spesifik IGF-1 ekspresyonunun gerçekleştirildiği transgenik farelerde kas kütle ve kuvvetinde artış görülmüştür (16, 17). Benzer şekilde, genç ve yaşlı farelerde tek taraflı ekstensor digitorum longus (EDL) kasına viral aracılı IGF1 gen transferi, diğer tarafa göre kas kütle ve kuvvetinde artışa yol açmıştır. Dahası, yaşlı farelerde görülen tipII kas lifi kaybı tamamen gerileyerek genç farelerdeki düzeye dönmüştür (18).

IGF-1 yolağının diğer iki elemanı olan Akt ve mTOR, kas hücresinde protein döngüsü açısından kritik öneme sahiptir. Nitekim, yapısal olarak aktif Akt formuna sahip transgenik farelerde *in vivo* Akt aktivasyonu hipertrofiye yol açmıştır (19). mTOR, Akt'nin aşağı akımında yer almakta ve Akt tarafından aktive edilmektedir. Normal koşullarda 4EBP1 (Eukaryotic translation initiation factor 4E-binding protein 1), eIF4E (Eukaryotic translation initiation factor 4E)'e bağlanarak translasyonu inhibe etmekle görevlidir (20). Akt tarafından aktive edilen mTOR'un 4EBP1'i fosforile etmesi, eIF4E'nin serbestleşerek aktif hale gelmesi ve protein translasyonunu başlatmasına neden olur (20).

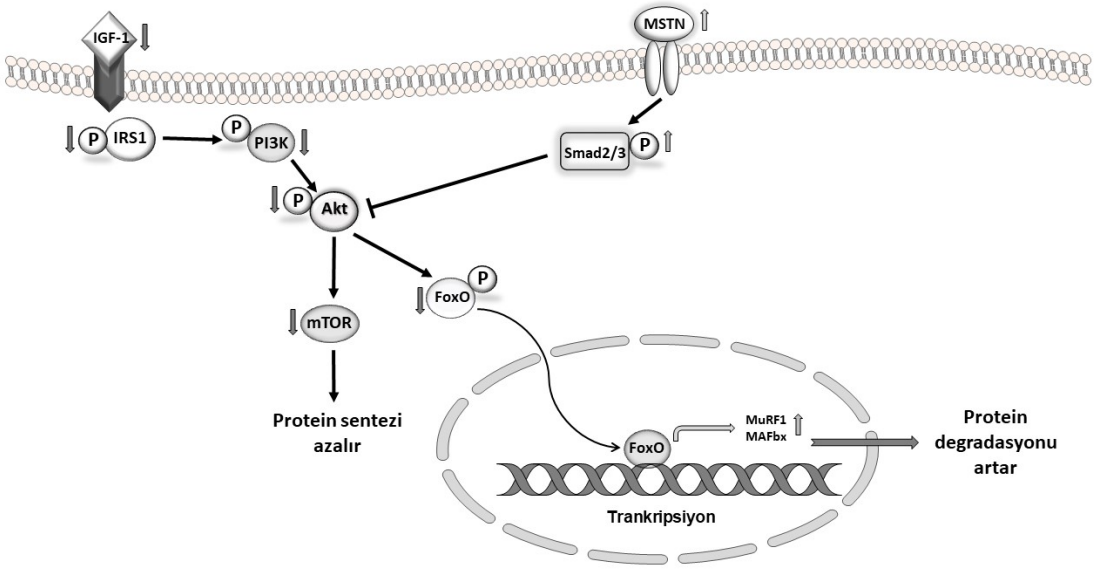
Translasyonu kontrol eden bir diğer sinyal molekülü olan ökaryotik elongasyon faktörü 2 (eEF2) ise, mTOR tarafından p70S6K (70kDa ribosomal protein S6Kinaz1) üzerinden dolaylı olarak olarak düzenlenir (21). mTOR yolağının kasa etki eden yük arttığında hemen aktive olduğu ve bir saat içinde protein yapımını artırdığı bildirilmiştir (22, 23). Direnç egzersizlerinden önce mTOR baskılandığında protein yapımının engellendiği gösterilmiştir (14). Akt/mTOR ve protein yapımında rol oynayan bu yolağın diğer molekülleri hipertrofi koşullarında üstayarlanım, kullanmamaya bağlı atrofide ise altayarlanıma uğrar, dahası hipertrofi modellerinde mTOR'un bloke edilmesi kasta hipertrofiyi %95 oranında engellemektedir (24). Akt ve mTOR, iskelet kas protein döngüsünün düzenlenmesinde yıkım yolağında görev alan moleküller üzerinde de etkili olurlar. Akt, FoxO (Forkhead box) transkripsiyon faktörleri aracılığıyla da protein yıkımını baskılar. mTOR ise bu işlevi miyostatin

yolağındaki Smad2'yi baskılayarak gerçekleştirir (25). Öyle ki, aktive Akt FoxO transkripsiyon faktörlerinin fosforilasyonunu engelleyerek protein yıkımında son aşamada rol oynayan, kasa spesifik ligazlar olan MuRF1 (muscle ring-finger protein-1) ve MAFbx ekspresyonunu baskılar (25, 26).

Sonuç olarak IGF1–PI3K–Akt–mTOR sinyal yolağı, protein yapım hızını artırmasının yanı sıra yolağın anahtar elemanı olan ve ana düzenleyici rolünü üstlenen Akt ve mTOR aracılığıyla protein yıkımının baskılanmasında da rol oynar.

Miyostatin-Smad2/3 Sinyal Yolağı

Kas gelişimini kontrol eden ikinci ana yolak dönüştürücü büyüme faktörü β (TGF-β) ailesinin bir üyesi olan miyostatin (GDF-8)'dir. İskelet kası tarafından üretilen miyostatin, hücre zarındaki aktivin reseptör tip IIB'ye (ActRIIB) bağlanarak protein döngüsünü negatif yönde kontrol etmektedir (27, 28). Öyle ki, miyostatinin ActRIIB'ye bağlanması ile Smad2 ve 3 (mothers against decapentaplegic homolog) aktifleşir ve Akt fosforilasyonunu baskılar (Şekil 2). Böylece, Akt'nin aktifleşmesi, dolayısıyla mTOR aktivasyonu ve protein yapımı engellenmiş olur. Diğer yandan Akt'nin FoxO transkripsiyon faktörleri üzerindeki etkisi de ortadan kalkacağı için FoxO transkripsiyon faktörleri aktif kalmaya devam eder. FoxO'nun fosforile olması çekirdeğe geçişini engellerken defosforile FoxO çekirdeğe girerek, MuRF1 ve MAFbx isimli iskelet kasına spesifik ubikitin ligaz transkripsiyonunu sağlar. Böylece Akt inaktif iken FoxO transkripsiyon faktörlerinin fosforillenememesi ve dolayısıyla çekirdeğe geçerek MAFbx ve MuRF1 transkripsiyonuna neden olur (26).



Şekil 2. Miyostatin-Smad2/3 Sinyal Yolağı.

Miyostatini aktive eden herhangi bir atrofi sinyali oluştuğunda, Smad2/3'ün fosforillenmesi protein yapım yolağının önemli moleküllerinden Akt'nin baskılanmasına neden olur. Akt'nin fosforilasyonunun azalması sadece protein yapımı için değil protein yıkımı açısından da önemlidir. Akt fosforilasyonu FoxO'ları fosforile ederek sitoplazmada kalmasını sağlar. Yetersiz Akt fosforilasyonu, FoxO'ların defosforile olarak aktif forma geçmesini ve çekirdeğe geçişine neden olur. Böylece DNA'ya bağlanan FoxO'lar atrogenler olarak da adlandırılan MuRF1 ve MAFbx'ın transkripsiyonunu artırır. Bütün bu süreçler sonunda protein yıkımı artar.

Sonuç olarak, Akt'nin yeterince aktif olamaması nedeniyle bir yandan protein yapımının azalacağı da göz önüne alındığında miyostatin aktivasyonu negatif bir protein yapım/yıkım dengesini beraberinde getirecektir. Nitekim, miyostatin geninden yoksun farelerde gastroknemius/plantaris, soleus ve kuadriseps kas kütlesinde 2-3 katı kütle artışı görülmüştür (29). Saflaştırılmış miyostatin ile inkübe edilen hücrelerde ise FoxO1 ve MAFbx ekspresyonundaki artış protein yıkımına neden olurken (30), fiziksel olarak aktif erkeklerde kuvvet ve güç antrenmanları miyostatin sinyal yolağı baskılayan moleküllerin düzeyinde artışa yol açmıştır (31). Sonuç olarak, miyostatin yolağı kas kütlesini negatif yönde kontrol ederek kas kütlesi artışını engeller.

İskelet Kası Protein Yıkımı

Yaşlanma (32), açlık gibi fizyolojik bazı süreçler veya kanser, AIDS, KOAH, böbrek ve kalp yetmezliği gibi patolojik durumlar (33), inflamatuvar sitokinlerin ve glukokortikoidlerin artması gibi stresler iskelet kasında kütle kaybına neden olur (34). Benzer şekilde kasa etki etken mekanik yükün ve nöral aktivitenin azalması; denervasyon (35), immobilizasyon (36, 37), yer çekiminin azalması (38, 39), uzun süreli yatak istirahati (40), sedanter yaşam tarzı veya fiziksel inaktivite de (41, 42) iskelet kasında protein yıkımını tetikleyerek kas atrofisine yol açar. Atrofi sürecinde asıl kayıpların çözünebilir proteinlerden ziyade kas proteinlerinin %60'ını oluşturan miyofibriler sistem elemanlarında olduğu bildirilmiştir (43). İnsan vücudundaki en büyük protein deposu olan iskelet kaslarındaki aşırı protein yıkımı kas kuvveti ve dayanıklılığında azalmaya (44) neden olarak yaşam kalitesini düşürmekte, hastalıklar sonrası toparlanma sürecini uzatmakta, morbidite ve mortaliteyi arttırmaktadır.

Kullanmamaya bağlı kas atrofisinin taklit edildiği alçılama ve kuyruktan asma gibi yüksüzleştirme modellerinin insan (45, 46) ve hayvan (47) iskelet kas protein yapımını negatif yönde etkilediği ve kas kütlesinde azalmaya neden olduğu bilinmektedir. Yedi gün süreli alçı yolu ile oluşturulan immobilizasyon, sıçan soleus kasında atrofiye yol açmıştır (48). Sıçanlarda üç hafta süresince uygulanan kuyruk askısı soleus kas kütlesinde %52'lik bir azalma ve negatif protein dengesi ile sonuçlanmıştır (49). Fare ayak bileğinde yapılan iki haftalık tek taraflı dorso tibial immobilizasyon, tibialis anterior kasında lizozomal ve proteozomal yolakları uyararak atrofiye yol açmıştır (50). Bu tip kas kaybında protein yapımı sürecinde ana düzenleyeci olan mTOR sinyali baskılanmasının da kas protein yıkımında rol oynadığı bildirilmiştir (51).

Ortaya çıkış nedenine göre kas atrofisinde devreye giren sinyal yolakları ve moleküler mekanizmalar farklılık gösterse de, kontraktil proteinlerde ve mitokondri yoğunluğunda meydana gelen azalma kas kuvvet ve dayanıklılığında gerileme ve yaşam kalitesinde düşüşü beraberinde getirir (39, 52-54).

Genel olarak iskelet kas kaybının ortaya çıkabilmesi için protein yıkımının artması ve/veya protein yapımının azalması gerekir. Kullanmama atrofisinde, erken dönemde protein yapımında azalma görülürken takip eden süreçte protein yıkımında bir artış söz konusudur.

Kullanmama atrofisinde protein yıkımından sorumlu üç ana proteolitik sistem; sitozolik kalsiyum bağımlı kalpain sistemi, lizozomal proteazlar ve ATP-bağımlı ubikütin-proteozom sistemdir (UPS) (55). Bunların içerisinde asıl aktif sistem olan UPS, proteinlerin übikütinlenerek parçalanmasını sağlayan proteolitik sistemin son basamağı olup iskelet kası miyofibriler proteinleri veya daha kısa ömürlü proteinlerin yıkımından sorumludur. Bununla birlikte, miyofibriler proteinlerin sarkomer üzerindeki sıkı bağlantıları nedeniyle bu sistemin aktin ve miyozin molekülleri başta olmak üzere miyofibriler proteinleri parçalayabilmesi için öncelikle miyoflamanların bağlantılarından ayrılması gerekir (56-58). Bu nedenle, kalpain ve kaspazlar yardımıyla önce miyofibrillerin sarkolemmadan ayrılması ve sonrasında da aktin ve miyozinin sarkomerden

kopartılması gerekir. Kalpain ve kaspazlar, serbest kalan miyofibriler proteinlerin daha küçük parçalara bölünmesini de sağlayarak görevi UPS'ye devreder.

Kas atrofisinde, ubikütin-proteozom sistem ve lizozomal yolak birbirlerini farklı düzeylerde kontrol ettikleri gibi, farklı yolaklardaki bazı noktalarda koordineli bir şekilde çalışarak protein yapım/yıkım dengesi düzenler.

Atrofi Sürecinde Ubikütin-proteozom Sistem ve Lizozomal Yolak

Hücrede proteolitik sistemin aktivasyonu, çok sayıda genin transkripsiyonundaki artış ve azalma yolu ile düzenlenir. Normal koşullarda protein sentezini tetikleyen ve IGF-1 yolağında görev alan Akt, bir taraftan da FoxO transkripsiyon faktörleri üzerinden ubikütin-proteozom sistem ve otofaji-lizozom yolağının fonksiyonunu da düzenler. Bu düzenleme FoxO ailesi üyelerinden FoxO1, FoxO3 ve FoxO4 isoformlarının her üçünün de Akt tarafından fosforile edilerek sitoplazmadan çekirdeğe geçişinin engellenmesi ile gerçekleştir. Bu nedenle Akt sadece protein yapımı için değil, aynı zamanda ubikütin-proteozom sistem ve otofaji-lizozom yolağı açısından da kritik bir öneme sahiptir. Öyle ki, çeşitli atrofi modellerinde Akt aktivitesindeki azalmaya sitoplazmada fosforile FoxO seviyelerindeki azalma ve nükleer FoxO'daki artış, dolayısıyla atrogenlerdeki artış eşlik etmiştir (59, 60). Kuyruktan asma yöntemi ile uygulanan yüksüzleştirme modelinin sıçan iskelet kasında Akt fosforilasyonu, mTOR aktivasyonu ve protein ekspresyonunda azalmaya neden olması (24), Akt'nin iskelet kasına etki eden yükün yokluğuna doğrudan yanıt verdiğinin bir göstergesidir.

Parçalanmış proteinlere übikütin bağlanması süreci E1, E2 ve E3 enzimlerini içeren üç basamaktan oluşur. Bunlardan E1 ligazlar übikütinin aktifleşmesinden sorumludur. Aktif übikütin daha sonra E2 ligazlara taşınır. E3 ligazlar ise übikütinin E2 ligazdan yıkıma uğrayacak olan proteine transferinden sorumludur. Bu nedenle E3 ligazlar übikütin-proteazom sisteminin hız sınırlayıcı ligazları olup proteolizin özgüllüğünden, diğer bir ifade ile yıkıma uğrayacak proteinlere karar verilmesinden sorumludur (61, 62). MAFbx ve MuRF1 iskelet kasına spesifik E3 ligazlar olup, atrofi ile ilgili genler ya da "atrogenler" olarak da adlandırılırlar ve FoxO (Forkhead box) transkripsiyon faktörleri tarafından kontrol edilirler (60, 62). Böylece, übikütin-proteazom sisteminde önce yıkıma gidecek proteinlerin übikütin ile işaretlenmesi sağlanır. Bu süreçte poliübikütinlenen proteinler proteozomun katalitik birimine aktarılarak daha küçük peptidlere yıkılırken, mono veya diübikütinlenen proteinler ise lizozoma taşınarak lizozomal proteazlar tarafından aminoasitlere yıkılırlar.

Kasa özgü FoxO1 aşırı ekspresyonu, transgenik farelerde protein yıkımında artışa ve kas kütlesinde azalmaya neden olmaktadır (63). Farklı atrofi modellerinde, FoxO transkripsiyon faktörleri tarafından kasa spesifik ubikütin ligazlar olan MAFbx ve MuRF1 gen ekspresyonunun insanlarda (64-68) ve kemirgenlerde (60, 69) arttığı bilinmektedir. Siyatik sinir kesisi yolu ile oluşturulan 14 günlük denervasyon sonunda gastroknemius kas kütlesinin MAFbx nakavt farelerde %56, MuRF1 nakavt farelerde ise %36 civarında korunduğu gözlenmiştir (69). İnsanda 5 günlük alçı ile oluşturulan immobilizasyon, MAFbx ve MuRF1 gen ekspresyonunda artışa neden olmuştur (70). Bütün bu bulgular, kas atrofisinin spesifik sinyal yolakları ve genler tarafından kontrol edilen aktif bir süreç olduğunu göstermektedir. Atrofi sürecinde MAFbx ve MuRF1 düzeyleri hızla yükselmekte olup her iki molekül, atrofinin başladığını gösteren en önemli belirteçlerdir (71).

Sıçanlarda beş gün süreli kuyruktan asma yoluyla yüksüzleştirme gerçekleştirildiğinde soleus kasında MuRF1 düzeyleri önemli ölçüde artmıştır (72). Hücre kültüründe MAFbx düzeyleri ile meydana gelen protein yıkımı bire bir örtüşmektedir (73). Üç gün boyunca kısalmış durumda immobilize edilen soleus kasında MAFbx ve MuRF1 gen ekspresyonu artarken (74), kas gerilmiş durumda yapılan immobilizasyon söz konusu ligazların

transkripsiyonunda bir değişikliğe yol açmamıştır (74). Biz de laboratuvarımızda gerçekleştirdiğimiz bir çalışmada, soleus kası kısalmış durumda yapılan iki haftalık alçılama sonrası fosforile FoxO3a'da anlamlı bir azalma ve MAFbx ve MuRF1 protein düzeylerinde anlamlı artış gözledik (75).

Diğer yandan, farelerde besin kısıtlamasından kaynaklanan kas atrofisinin MAFbx gen expresyonunun inhibisyonu ile engellendiği bildirilmiştir (76). Benzer şekilde, farede MAFbx ve MuRF1 genleri ortadan kaldırıldığında immobilizasyonun yol açtığı kas atrofisinde gerileme görülmüştür (69).

Kullanmama atrofisi sırasında kas proteazları ve otofaji de aktive olur. Mekanik yükün ortadan kaldırıldığı çalışmalarda kalsiyum bağımlı proteaz olan kalpain mRNA ve aktivasyonu artmaktadır (9, 56, 77, 78). Özellikle kaspaz-3, -6, -8 ve 12 yüksüzleştirme ile aktive olan diğer önemli proteazlardır.(9). Gerek insan ve gerekse kemirgenlerde yapılan çalışmalarda, kullanmama sırasında lizozomal sistem üzerinden otofajinin de arttığını bildirmektedir (9, 79, 80).

SONUÇ

Sonuç olarak iskelet kasları hareket ve güç üretmenin yanı sıra enerji ihtiyacının ve dolaşımın regülasyonu, glisemik kontrol, metabolik homeostazisin sağlanması ve metabolik genlerin düzenlenmesi gibi önemli fonksiyonlara sahip olup sağlıklı bir yaşamın sürdürülebilmesi için iskelet kas kütlesinin korunması ciddi bir öneme sahiptir. Normal koşullarda iskelet kaslarında oldukça stabil olan miyofibriler protein yapım/yıkım dengesi (8) organizmadaki fizyolojik ve patolojik koşullara uyum sağlamak için pozitif ya da negatif yönde değişmektedir.(9). Bu değişim, çok sayıda molekülün birbirleriyle etkileşim içerisinde rol oynadığı çeşitli sinyal yolaklarının oldukça kompleks bir işbirliği ile gerçekleştirilir. İskelet kası plastik bir doku olarak kendisine gelen uyarılardaki değişime yanıt verme yeteneğindedir. İskelet kası protein yapım ve yıkımında rol alan moleküllerin rolünün aydınlatılması, başta çeşitli hastalık veya fizyolojik koşullar nedeniyle hareketsiz kalmak durumunda olan kişiler olmak üzere, spor yaralanmalarından sonraki toparlanma dönemi için uygun rehabilitasyon stratejileri geliştirilmesi açısından önemlidir.

KAYNAKLAR

1. Egan B, Zierath JR. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. *Cell Metab.* 2013;17(2):162-84.
2. Febbraio MA, Pedersen BK. Contraction induced myokine production and release: Is skeletal muscle an endocrine organ? *Exerc Sport Sci Rev. 2005; 33(3):114-9.*.
3. Karstoft K, Pedersen BK. Skeletal muscle as a gene regulatory endocrine organ. *Curr Opin Clin Nutr.* 2016;19(4):270-5.
4. Pedersen BK, Edward F. Adolph Distinguished Lecture: Muscle as an endocrine organ: IL-6 and other myokines. *J Appl Physiol.*2009;107(4):1006-14.
5. Pedersen BK. Skeletal Muscle as an Endocrine Organ: The Role of Myokines in Muscle-Fat Cross-Talk. *Inflamm Res.* 2010;59:S275-S6.
6. Perry BD, Caldow MK, Brennan-Speranza TC, ve ark. Muscle atrophy in patients with Type 2 Diabetes Mellitus:roles of inflammatory pathways, physical activity and exercise. *Exerc Immunol Rev.* 2016;22:94-109.
7. Baskin KK, Winders BR, Olson EN. Muscle as a "mediator" of systemic metabolism. *Cell Metab.* 2015;21(2):237-48.
8. Stewart CE, Rittweger J. Adaptative processes in skeletal muscle: molecular regulators and genetic influences. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2006;673-86.
9. Taillandier D, Aurousseau E, Meynial-Denis D, et al. Coordinate activation of lysosomal Ca2ATP-ubiquitin-dependent proteinases in the unweighted rat soleus muscle. *Biochemical Journal.* 1996;316:65-72.
10. Bert S, Kenneth A, Stefano D, et al. Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. *FEBS J.* 2013;280:4294-314.
11. Polge C, Heng AE, Combaret L, et al. Recent progress in elucidating signalling proteolytic pathways in muscle wasting: potential clinical implications. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2013;23 Suppl 1:S1-5.
12. Schiaffino S, Dyar KA, Ciciliot S, et al. Febs: Mechanisms regulating skeletal muscle growth and atrophy. 2013.*FEBS J.* 280:4294-314.
13. Schiaffino S, Mammucari C. Regulation of skeletal muscle growth by the IGF1-Akt/PKB pathway: insights from genetic models. *Skeletal Muscle.*2011;24;1(1):4.
14. Mavalli MD, DiGirolamo DJ, Fan Y, et al. Distinct growth hormone receptor signaling modes regulate skeletal muscle development and insulin sensitivity in mice. *J Clin Invest.* 2010;120(11):4007-20.

15. Zdanowicz MM, Moyse J, Wingertzahn MA, et al. Effect of insulin-like growth factor I in murine muscular dystrophy. *Endocrinology.* 1995;136(11):4880-6.
16. Coleman ME, DeMayo F, Yin KC, et al. Myogenic vector expression of insulin-like growth factor I stimulates muscle cell differentiation and myofiber hypertrophy in transgenic mice. *J Biol Chem.* 1995;270(20):12109-16.
17. Musaro A, McCullagh K, Paul A, et al. Localized Igf-1 transgene expression sustains hypertrophy and regeneration in senescent skeletal muscle. *Nat Genet.* 2001;27(2):195-200.
18. Barton-Davis ER, Shoturma DI, Musaro A, et al. Viral mediated expression of insulin-like growth factor I blocks the aging-related loss of skeletal muscle function. *Proc Natl Acad Sci.* 1998;95(26):15603-7.
19. Lai KM, Gonzalez M, Poueymirou WT, et al. Conditional activation of akt in adult skeletal muscle induces rapid hypertrophy. *Mol Cell Biol.* 2004; 24(21):9295-304.
20. Gingras AC, Kennedy SG, O'Leary MA, et al. 4E-BP1, a repressor of mRNA translation, is phosphorylated and inactivated by the Akt(PKB) signaling pathway. *Genes Dev.* 1998:12(4):502-13.
21. Li X, Alafuzoff I, Soininen H, et al. Levels of mTOR and its downstream targets 4E-BP1, eEF2, and eEF2 kinase in relationships with tau in Alzheimer's disease brain. *FEBS J.* 2005;272(16):4211-20.
22. Bolster DR, Kubica N, Crozier SJ, et al. Immediate response of mammalian target of rapamycin (mTOR)-mediated signalling following acute resistance exercise in rat skeletal muscle. *J Physiol.* 2003;553(Pt 1):213-20.
23. Kubica N, Bolster DR, Farrell PA, et al. Resistance exercise increases muscle protein synthesis and translation of eukaryotic initiation factor 2Bepsilon mRNA in a mammalian target of rapamycin-dependent manner. *J Biol Chem.* 2005;280(9):7570-80.
24. Bodine SC, Stitt TN, Gonzalez M, et al. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. *Nat Cell Biol.* 2001;3(11):1014-9.
25. Egerman MA, Glass DJ. Signaling pathways controlling skeletal muscle mass. *Crit Rev Biochem Mol Biol.* 2014;49(1):59-68.
26. Allen DL, Unterman TG. Regulation of myostatin expression and myoblast differentiation by FoxO and SMAD transcription factors. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2007;292(1):C188-99.
27. Lee SJ, McPherron AC. Myostatin and the control of skeletal muscle mass. *Curr Opin Genet Dev.* 1999;9(5):604-7.
28. Lee SJ, McPherron AC. Regulation of myostatin activity and muscle growth. *Proc Natl Acad Sci.* 2001;98(16):9306-11.
29. McPherron AC, Lawler AM, Lee SJ. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature.* 1997;387(6628):83-90.
30. Lokireddy S, McFarlane C, Ge X, et al. Myostatin induces degradation of sarcomeric proteins through a Smad3 signaling mechanism during skeletal muscle wasting. *Mol Endocrinol.* 2011;25(11):1936-49.
31. Santos AR, Lamas L, Ugrinowitsch C, et al. Different Resistance-Training Regimens Evoked a Similar Increase in Myostatin Inhibitors Expression. *Int J Sports Med.* 2015;36(9):761-8.
32. Lexell J. Human aging, muscle mass, and fiber type composition. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 1995; 50 Spec No:11-6.
33. Gordon BS, Kelleher AR, Kimball SR. Regulation of muscle protein synthesis and the effects of catabolic states. *Int J Biochem Cell Biol.* 2013;45(10):2147-57.
34. Bodine SC. Disuse-induced muscle wasting. *Int J Biochem Cell Biol.* 2013;45(10):2200-8.
35. Castro MJ, Apple DF, Jr., Staron RS, et al. Influence of complete spinal cord injury on skeletal muscle within 6 mo of injury. *J Appl Physiol (1985).* 1999;86(1):350-8.
36. Phillips SM, Glover EI, Rennie MJ. Alterations of protein turnover underlying disuse atrophy in human skeletal muscle. *J Appl Physiol (1985).* 2009;107(3):645-54.
37. Machida S, Booth FW. Regrowth of skeletal muscle atrophied from inactivity. *Med Sci Sports Exerc.* 2004;36(1):52-9.
38. Lalani R, Bhasin S, Byhower F, et al. Myostatin and insulin-like growth factor-I and -II expression in the muscle of rats exposed to the microgravity environment of the NeuroLab space shuttle flight. *J Endocrinol.* 2000;167(3):417-28.
39. Baldwin KM. Effect of spaceflight on the functional, biochemical, and metabolic properties of skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc.* 1996;28(8):983-7.
40. Kasper CE, Talbot LA, Gaines JM. Skeletal muscle damage and recovery. *AACN Clin Issues.* 2002;13(2):237-47.
41. Sieck GC, Mantilla CB. Effect of mechanical ventilation on the diaphragm. *N Engl J Med.* 2008;358(13):1392-4.
42. Thyfault JP, Booth FW. Lack of regular physical exercise or too much inactivity. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care.* 2011;14(4):374-8.
43. Cohen S, Brault JJ, Gygi SP, et al. During muscle atrophy, thick, but not thin, filament components are degraded by MuRF1-dependent ubiquitylation. *J Cell Biol.* 2009;185(6):1083-95.
44. Clark BC. In vivo alterations in skeletal muscle form and function after disuse atrophy. *Med Sci Sports Exerc.* 2009;41(10):1869-75.
45. Glover EI, Phillips SM, Oates BR, et al. Immobilization induces anabolic resistance in human myofibrillar protein synthesis with low and high dose amino acid infusion. *J Physiol.* 2008;586(24):6049-61.
46. Paddon-Jones D, Sheffield-Moore M, Cree MG, et al. Atrophy and impaired muscle protein synthesis during prolonged inactivity and stress. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(12):4836-41.
47. Kelleher AR, Kimball SR, Dennis MD, et al. The mTORC1 signaling repressors REDD1/2 are rapidly induced and activation of p70S6K1 by leucine is defective in skeletal muscle of an immobilized rat hindlimb. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2013;304(2):E229-36.
48. Kelleher AR, Pereira SL, Jefferson LS, et al. REDD2 expression in rat skeletal muscle correlates with

nutrient-induced activation of mTORC1: responses to aging, immobilization, and remobilization. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2015;308(2):E122-9.
49. Bederman IR, Lai N, Shuster J, et al. Chronic hindlimb suspension unloading markedly decreases turnover rates of skeletal and cardiac muscle proteins and adipose tissue triglycerides. *J Appl Physiol (1985).* 2015;119(1):16-26.
50. Caron AZ, Drouin G, Desrosiers J, et al. A novel hindlimb immobilization procedure for studying skeletal muscle atrophy and recovery in mouse. *J Appl Physiol (1985).* 2009;106(6):2049-59.
51. Bonaldo P, Sandri M. Cellular and molecular mechanisms of muscle atrophy. *Dis Model Mech.* 2013;6(1):25-39.
52. Batt J, dos Santos CC, Cameron JI, et al. Intensive care unit-acquired weakness: clinical phenotypes and molecular mechanisms. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187(3):238-46.
53. Bloch S, Polkey MI, Griffiths M, et al. Molecular mechanisms of intensive care unit-acquired weakness. *Eur Respir J.* 2012;39(4):1000-11.
54. Stevens RD, Marshall SA, Cornblath DR, et al. A framework for diagnosing and classifying intensive care unit-acquired weakness. *Crit Care Med.* 2009;37(10 Suppl):299-308.
55. Jackman RW, Kandarian SC. The molecular basis of skeletal muscle atrophy. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2004;287(4):834-43.
56. Talbert EE, Smuder AJ, Min K, et al. Calpain and caspase-3 play required roles in immobilization-induced limb muscle atrophy. *J Appl Physiol.* 2013;114:1482-9.
57. Huang J, Zhu X. The molecular mechanisms of calpains action on skeletal muscle atrophy. *Physiol Res.* 2016;65(4):547-60.
58. Huang J, Forsberg NE. Role of calpain in skeletal-muscle protein degradation. *Proc Natl Acad Sci.* 1998;95(21):12100-5.
59. Calnan DR, Brunet A. The FoxO code. *Oncogene.* 2008;27(16):2276-88.
60. Bodine SC, Baehr LM. Skeletal muscle atrophy and the E3 ubiquitin ligases MuRF1 and MAFbx/atrogin-1. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2014;307(6):E469-84.
61. Rom O, Reznick AZ. The role of E3 ubiquitin-ligases MuRF-1 and MAFbx in loss of skeletal muscle mass. *Free Radic Biol Med.* 2016;98:218-30.
62. Sandri M, Sandri C, Gilbert A, et al. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase 1atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. *Cell.* 2004;117:399-412.
63. Kamei Y, Miura S, Suzuki M, et al. Skeletal muscle FOXO1 (FKHR) transgenic mice have less skeletal muscle mass, down-regulated Type I (slow twitch/red muscle) fiber genes, and impaired glycemic control. *J Biol Chem.* 2004;279(39):41114-23.
64. Chen YW, Gregory CM, Scarborough MT, et al. Transcriptional pathways associated with skeletal muscle disuse atrophy in humans. *Physiol Genomics.* 2007;31(3):510-20.
65. Gustafsson T, Osterlund T, Flanagan JN, et al. Effects of 3 days unloading on molecular regulators of muscle size in humans. *J Appl Physiol.* 2010;109(3):721-7.
66. Jones SW, Hill RJ, Krasney PA, et al. Disuse atrophy and exercise rehabilitation in humans profoundly affects the expression of genes associated with the regulation of skeletal muscle mass. *FASEB J.* 2004;18(9):1025-7.
67. Salanova M, Schiffl G, Puttmann B, et al. Molecular biomarkers monitoring human skeletal muscle fibres and microvasculature following long-term bed rest with and without countermeasures. *J Anat.* 2008;212(3):306-18.
68. Murton AJ, Constantin D, Greenhaff PL. The involvement of the ubiquitin proteasome system in human skeletal muscle remodelling and atrophy. *Biochim Biophys Acta.* 2008;1782(12):730-43.
69. Bodine SC, Latres E, Baumhueter S, et al. Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science.* 2001;294(5547):1704-8.
70. Dirks ML, Wall BT, Snijders T, et al. Neuromuscular electrical stimulation prevents muscle disuse atrophy during leg immobilization in humans. *Acta Physiol (Oxf).* 2014;210(3):628-41.
71. Foletta VC, White LJ, Larsen AE, et al. The role and regulation of MAFbx/atrogin-1 and MuRF1 in skeletal muscle atrophy. *Pflugers Arch.* 2011;461(3):325-35.
72. Wu CL, Cornwell EW, Jackman RW, et al. NF-κB but not FoxO sites in the MuRF1 promoter are required for transcriptional activation in disuse muscle atrophy. *AJP Cell Physiol.* 2014;306(8):C762-C7.
73. Sacheck JM, Hyatt JP, Raffaello A, et al. Rapid disuse and denervation atrophy invol,transcriptional changes similar to those of muscle wasting during systemic diseases. *FASEB J.* 2007;21:140-55.
74. Kelleher AR, Gordon BS, Kimball SR, et al.Changes in REDD1, REDD2, and atrogene mRNA expression are prevented in skeletal muscle fixed in a stretched position during hindlimb immobilization.*Physiol Rep.* 2014;25;2(2):e00246.
75. Akin Suljevic S: İskelet Kasında Tüm Vücut Titreşimi ve İmmobilizasyonun Protein Sentez ve Yıkımında Rol Oynayan Sinyal Yolakları Üzerine Etkisi. Doktora Tezi. *Hacettepe Üniversitesi; 2015.*.
76. Cong HL, Sun LQ, Liu CM, et al. Inhibition of Atrogin-1/MAFbx Expression by Adenovirus-Delivered Small Hairpin RNAs Attenuates Muscle Atrophy in Fasting Mice. *Hum Gene Ther.* 2011;22(3):313-24.
77. Shanely RA, Zergeroglu MA, Lennon SL, et al. Mechanical ventilation-induced diaphragmatic atrophy is associated with oxidative injury and increased proteolytic activity. *Am J Respir Crit Care Med.* 2002;166:1369-74.
78. Andrianjafiniony T, Dupre-Aucouturier S, Letexier D, et al. Oxidative stress, apoptosis, and proteolysis in skeletal muscle repair after unloading. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2010;299(2):C307-15.

79. Brocca L, Longa E, Cannavino J, et al. Human skeletal muscle fibre contractile properties and proteomic profile: adaptations to 3 weeks of unilateral lower limb suspension and active recovery. *J Physiol.* 2015;593(24):5361-85.
80. Ikemoto M, Nikawa T, Takeda S, et al. Space shuttle flight (STS-90) enhances degradation of rat myosin heavy chain in association with activation of ubiquitin-proteasome pathway. *FASEB J.* 2001;15(7):1279-81.