

KAS ATROFİSİ MEKANİZMALARI

*Nazan Ş. KOŞAR, **Haydar A. DEMİREL

*Hacettepe Üniversitesi Spor Bilimleri ve Teknolojisi Yüksekokulu

**Hacettepe Üniversitesi Spor Bilimleri ve Teknolojisi Yüksekokulu ve
Spor Hekimliği Anabilim Dalı

ÖZET

Kas atrofisi kassal inaktivite, yaşlılık ve açlık gibi fizyolojik koşulların yanı sıra akut diyabet, sepsis, kanser, asidoz ve böbrek yetmezliği gibi katabolik hastalıklarda oluşan ciddi bir komplikasyondur. Kas kuvveti ve dayanıklılığının azalmasına bağlı olarak fiziksel çalışma kapasitesinin düşmesine neden olarak yaşam kalitesini olumsuz yönde etkiler. Kas atrofisini başlatan uyarılar besin öğelerinin miktarı, hormonal dengenin bozulması, proinflatuar sitokinlerin miktarında artış, nöromüsküler uyum eksikliği ve inaktivite şeklinde sıralanabilir. Kas atrofisine yol açan katabolik koşulların oluşmasında hem protein sentez hızındaki azalma hem de protein yıkım hızındaki artış rol oynamakla beraber kas proteini kaybının önemli bir bölümünden sorumlu olan süreç protein yıkım hızındaki artıştır. İskelet kası protein yıkımı ile ilgili olarak öne çıkan mekanizmalar, lizozomal proteazlar, Ca^{+2} bağımlı calpain proteazları, ATP bağımlı ubiquitin proteasome sistemi ve caspase-3 proteazıdır. Denervasyon atrofisi ve yüksüzleştirme modelinin yanı sıra katabolik hastalıklarda oluşan iskelet kası atrofisinden sorumlu temel mekanizmalar ATP bağımlı ubiquitin proteasome sistemi ve Ca^{+2} bağımlı calpain proteazlarıdır. Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar caspase-3 adı verilen bir proteazın da iskelet kası protein yıkımında Ca^{+2} bağımlı calpain proteazlarına benzer şekilde önemli bir rol aldığını göstermektedir. Öte yandan, kassal aktivitenin azalması ve sepsise bağlı olarak oluşan kas atrofisinde lizozomal proteazların da aktif olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Kas atrofisi, gerek protein yıkım mekanizmaları ve bu mekanizmaları tetikleyen uyarılar gerekse kas atrofisinin önlenmesine yönelik yöntemleri inceleyen çalışmalar ile geniş bir araştırma alanına sahiptir. Ancak bu derlemenin amacı, sadece iskelet kası atrofisinde rol oynayan mekanizmalar hakkında güncel literatürün sunulmasıdır. Bu kapsamda, normal fizyolojik koşullarda düzenli olarak gerçekleşen protein yıkımının fizyolojik fonksiyonlarına da kısaca değinilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Kas atrofisi, Ubiquitin proteasome, Calpain, Caspase-3, Lizozom

MECHANISMS OF MUSCLE ATROPHY

ABSTRACT

Skeletal muscle atrophy is a significant complication that occurs as a consequence of muscular inactivity, aging, starvation and many catabolic diseases such as acute diabetes, sepsis, cancer, acidosis and chronic renal failure. Loss of muscle strength and endurance as a result of muscle atrophy leads to decreased physical working capacity and thus reduced quality of life. Triggers that stimulate the muscle atrophy are nutritional state, disturbances in hormonal level, increase in the amount of proinflammatory cytokins, decrease in neuromuscular stimulation and muscular inactivity. Although both the decrease in protein synthesis and increase in protein degradation contribute muscle atrophy it has been shown that the latter is responsible for the bulk of muscle protein loss. Several mechanisms responsible for the protein degradation during muscle atrophy are: lysosomal proteases, Ca^{+2} dependent calpain proteases, ATP dependent ubiquitin proteasome system and caspase-3 protease. There is overwhelming evidence that ATP dependent ubiquitin proteasome system and Ca^{+2} dependent calpain proteases are the major mechanisms by which most of the protein degradation occurs during several conditions including denervation, hindlimb suspension as well as catabolic diseases. Some recent works have revealed that caspase-3 protease also plays significant role similar to Ca^{+2} dependent calpain proteases. Moreover, there is some evidence showing increase in the activity of lysosomal proteases during muscle atrophy due to muscle disuse and sepsis. Research on the triggers that stimulate the activity of these proteolytic mechanisms and the countermeasures for skeletal muscle atrophy is going on and will not be addressed in this study. Primary aim of this study is to present current knowledge on muscle atrophy mechanisms. In this regard, the physiological functions of constant protein degradation have also been addressed briefly.

Key Words: Muscle atrophy, Ubiquitin proteasome, Calpain, Caspase-3, Lysosome

GİRİŞ

Kas lifi sayısında değişiklik olmaksızın lif boyutunun küçülmesi olarak tanımlanan kas atrofisi, açlık (Busquets, Alvarez, Lopez-Soriano ve Argiles, 2002), uzun süreli yatak istirahati (Blomfield, 1997; Kasper, Talbot ve Gaines, 2002; Kawakami, Muraoka, Kubo, Suzuki ve Fukunaga, 2000; LeBlanc ve ark., 1992), denervasyon, immobilizasyon (alçı vb.), mekanik yükün ortadan kalkması ya da mikro yerçekimi (Castro, Apple ve Robert, 1999; Fitts, Danny ve

Widrick, 2001; Furuno, Goodman ve Goldberg, 1990; Haddad, Roy, Zhong, Edgerton, ve Baldwin, 2003a, 2003b; Jones ve ark., 2004; Machida ve Booth, 2004; Pramperoa ve Narici, 2003; Tailandier ve ark., 1996) ve yaşlılık (Doherty, 2001, 2003) gibi koşulların yanı sıra çeşitli patolojik durumlarda (sepsis, kronik böbrek yetmezliği, diyabet, kronik kalp yetmezliği, kronik obstrüktif akciğer hastalıkları, kanser vb.) oluşan (Koşar, 2003; Mador ve Bozkanat, 2001; Minnard ve ark., 2005; Mitch ve ark., 1998;

Price ve ark., 1996; Vescovo ve ark., 2000) önemi uzun süre gözden kaçmış ciddi bir komplikasyondur. Kas atrofisi, kas kuvveti ve dayanıklılığının azalmasına ve fiziksel yetersizliğe neden olarak yaşam kalitesini düşürmekte, hastalık progresini olumsuz etkilemekte, hastanede kalış süresini uzatmakta, morbidite ve mortaliteyi artırmaktadır (Costelli ve Baccino, 2003; Machida ve Booth, 2004; Vescovo ve ark., 2000; Wagenmakers, 2000). Bu bağlamda kas atrofisini önleyici yöntemlerin geliştirilmesi, bunun için de öncelikle kas atrofisi mekanizmalarının ve bu mekanizmaları tetikleyen uyaranların anlaşılması zorunludur.

Vücut ağırlığımızın % 40-45'ini ve toplam vücut proteininin % 50'sini oluşturan iskelet kası kitlesinin korunması, protein sentezi ve protein yıkım hızının dengelenmesi ile mümkündür. Protein sentezindeki düşüş ve/veya protein yıkım hızındaki minimal bir artış dahi önemli düzeyde kas proteini kaybına neden olarak kas atrofisi ile sonuçlanır. Ancak, iskelet kası atrofisinde protein sentez hızında azalma gözlenmekle beraber belirleyici etken protein yıkım hızındaki artıştır (Furuno, Goodman ve Goldberg, 1990). Bu nedenle kas atrofisinin aydınlatılmasına yönelik çalışmalar son yıllarda protein yıkım mekanizmaları üzerinde yoğunlaşmıştır.

İnsanlarda iskelet kası atrofisine yol açan fizyolojik koşullar immobilizasyon, yatak istirahati, uzay uçuşları ve diyaframın mekanik ventilasyon yoluyla devre dışı bırakılmasıdır (Powers, Kavazis ve DeRuisseau, 2005). Bu koşullardaki kas

atrofisinin incenmesinde yararlanılan deneysel hayvan modelleri ise immobilizasyon, arka bacağın yüksüzleştirilmesi ve mekanik ventilasyondur (Powers, Kavazis ve DeRuisseau, 2005). Öte yandan kas atrofisi mekanizmalarına ilişkin çalışmaların çoğu katabolik koşullarda oluşan kas atrofisinin incelendiği çalışmalardan elde edilmiştir. Farklı yöntemlerle deney hayvanları üzerinde oluşturulabilen bu katabolik koşullar, açlık, kanser, kronik böbrek yetmezliği, kronik kalp yetmezliği, diyabet ve sepsistir.

Gerek fizyolojik gerekse katabolik koşullarda protein yıkım mekanizmalarını tetikleyerek kas atrofisinin oluşmasında rol alan çeşitli uyaranlar vardır. Bu uyaranlardan bazıları: proinflamatuvar sitokinlerin miktarında artış (interlökin 1 (IL-1), interlökin 6 (IL-6) ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α), hormonal dengenin bozulması (insülin yetersizliği, glukokortikoid ve tiroid hormonlarının miktarında artış vb.), nöromüsküler uyırım eksikliği (denervasyon), inaktivite (yüksüzleştirme, yatak istirahati), reaktif oksijen radikalleri, miyostatin ve NF-kappaB'dir (Costelli ve Baccino, 2003; Jackman ve Kandarian, 2004; Mitch ve Price, 2001; Powers, Kavazis ve DeRuisseau, 2005). Bütün bu uyaranlar gerek protein sentez hızını azaltarak gerekse protein yıkım hızını artırarak kas atrofisine yol açmaktadır.

Kas atrofisinde rol alan protein yıkım mekanizmaları ve bu mekanizmaları uyaran etkenlerin aydınlatılmasına yönelik çalışmaların yanı sıra kas kitlesinin korunması ve kas atrofisinin önlenmesi-

ne yönelik yöntemler üzerinde araştırmalar çeşitli laboratuvarlarda devam etmektedir. Kas atrofisine yol açan fizyolojik koşullarda temel etkenlerin kassal inaktivite ve kassal uyarım eksikliğinin olduğu anımsanırsa kas kitlesinin korunması ve atrofisinin önlenmesinde egzersizin ayrı bir yeri olduğu açıktır. Öte yandan, kas kaybına neden olan katabolik koşullarda uygun bir egzersiz programının kas kitlesi, kuvveti ve dayanıklılığını artırarak kişilerin günlük yaşam aktivitelerinde daha bağımsız olmalarını sağladığı bildirilmiştir (Zinna ve Yarasheski, 2003). Keza, uzun süreli egzersiz programları iskelet kası sitokrom c oksidaz aktivitesini ve lokal IGF-I üretimini artırırken lokal pro-inflamatur sitokin ve indüklenebilen nitrik oksid sentez ekspresyonunu azaltmaktadır (Schulze, Gielen, Schuler ve Hambrecht, 2002). Tüm bu etkileri nedeni ile düzenli egzersizin kronik kalp yetmezliğinde kardiyak kaşeksi ve ölüme yol açan katabolik süreci azaltabileceği bildirilmiştir (Schulze ve ark., 2002). Bir başka çalışmada ise (Sandri, 2002), büyüme hormonu, insülin benzeri büyüme faktörü I (IGF-I) ve egzersiz kombinasyonunun apoptozisi ve morfolojik olarak anormal yapılı nükleusa sahip lif sayısını azalttığı belirlenmiştir. Nitekim, uzay uçuşları nedeni ile mikroyerçekimine maruz kalan astronotlarda kas atrofisinin önlenmesi için de egzersiz önerilmekte ve mikroyerçekimi koşullarında etkili egzersiz yapma yöntemleri araştırılmaktadır (Pramperoa ve Narici, 2003). Beslenme, hormonlar (büyüme hormonu, insülin benzeri büyüme faktö-

rü I, IGF-I) ve miyosatin kas kitlesinin korunması ve atrofisinin önlenmesi konusunda araştırılan diğer konulardır (Chkravarthy, Davis ve Booth, 2000; Glass, 2003; Ma ve ark., 2003; Libera ve ark., 2004; Roth ve Walsh, 2004).

Başlı başına farklı derleme konuları olabilecek olan kas kitlesinin korunması ve atrofisinin önlenmesi ile kas atrofisi mekanizmalarını uyaran etkenlere bu derlemede değinilmemiştir. Bu konularda ayrıntılı bilgi için okurlar diğer derlemelere (Booth ve Criswell, 1997; Doherty, 2001; Glass, 2003; Lecker, Solomon, Mitch ve Goldberg, 1999; Rennie, Wackerhage, Spangenburg ve Booth, 2004; Roth ve Walsh, 2004) başvurabilirler.

Bu derlemenin öncelikli amacı iskelet kası atrofisinde rol oynayan mekanizmalar hakkında güncel literatürün sunulmasıdır. Ancak, vücudumuzdaki hücresel proteinlerin büyük bir bölümünün düzenli olarak sentezi ve yıkımı sözkonusudur. Bu nedenle, gereksiz bir kayıp gibi görünen bu düzenli protein yıkımının fizyolojik fonksiyonlarına da kısaca değinilmiştir.

HÜCRESEL PROTEİN YIKIMININ FİZYOLOJİK FONKSİYONLARI

Memeli hücrelerindeki proteinlerin neredeyse tamamı sürekli bir dönüşüm içindedir. Bir başka deyişle vücudumuzdaki proteinlerin önemli bir bölümü düzenli olarak yıkılır ve yerine yenileri sentezlenir. Normal fizyolojik fonksiyonların gerçekleştirilebilmesi ve homeostatik dengenin korunabilmesi için protein yı-

kım hızı ve protein sentez hızı arasındaki dengenin korunması zorunludur. Bazı fizyolojik ve patolojik koşullarda protein sentez hızındaki azalma ve/veya protein yıkım hızındaki artış protein dönüşümünün kontrolünün kaybına yol açarak negatif nitrojen dengesi ile birlikte yağsız vücut ağırlığı kaybı ile sonuçlanabilir. Yetişkin bir kişide vücut ağırlığı kilogramı başına günde yaklaşık 3.5-4.5 g protein kaybı gerçekleşir (Mitch ve Price, 2001). Dolayısıyla vücut ağırlığı 70 kg olan bir birey için günlük protein dönüşüm miktarı yaklaşık 280gr'dır. Bu miktar 1.0-1.5kg ağırlığındaki kasta bulunan protein miktarına eşittir (Mitch ve Price, 2001).

Hücre proteinlerinin düzenli olarak yıkılması ilk bakışta gereksiz bir kayıp gibi görünmekle beraber bunun önemli homeostatik fonksiyonları vardır. Protein yıkımının fonksiyonlarından biri proteinlerin yaşam süresinin kontrol edilmesidir. Büyüme ve metabolizmanın kontrolü için gerekli olan siklinler ve hız-sınırlayıcı enzimler gibi kısa ömürlü proteinlerin hızlı yıkılması gerekir (Glickman ve Ciechanover, 2002; Lecker ve ark., 1999; Mitch, 1998). Örneğin, açlık durumunda glikoz depolanması için gerekli olan karaciğer enzimleri kaybolurken, glukoneogenezde rol oynayan enzimlerin miktarı artar; yeniden yemek yenmesini takiben geçen saatler içerisinde ise bu durum tersine döner. Kısa ömürlü düzenleyici bir proteininin yıkılamaması hücre fonksiyonlarında önemli değişikliklere neden olabilir (Mitch, 1998). İkinci olarak, bazı proteinlerin yıkılması hücrenin

belirli özel koşullara uyum sağlamasına olanak verir. Örneğin, IKB inflamasyon mediatörlerini bloke eden, normalde stabil bir proteindir. Ancak, inflamasyon, endotoksin veya tümör nekrozuna yanıt olarak hızlı bir şekilde yok edilir (Mitch, 1998). Protein yıkımının üçüncü fonksiyonu, gerek yeni sentezlenen gerekse farklı etkenlerle sonradan hasara uğramış, anormal olarak bağlanmış olan proteinlerin seçici olarak elimine edilmesini sağlayarak kalite kontrolü yapmaktır (Cuervo ve Dice, 1998; Donohue ve Osna, 2003). Örneğin, yeni sentezlenen proteinlerin biyolojik fonksiyonlarını kazanabilmeleri ve hücrede uygun lokalizasyonlarına yönlendirilebilmeleri için olgunlaşma süreci gereği kısmi olarak yıkılmaları gerekir (Cuervo ve Dice, 1998). Öte yandan, kistik fibrozis faktörü, biyosentetik hatalar, oksijen radikalleri veya farklı kimyasal etkilerle hasara uğrayan proteinler birikerek hücrede toksik etki oluşturmamaları için yıkılarak hücreden uzaklaştırılmalıdır (Cuervo ve Dice, 1998; Mitch, 1998). Dördüncü olarak, bağışıklık sisteminin anormal hücreleri (kanseri veya virüsle enfekte olmuş hücreler gibi) fark edebilmesi için hücre proteinleri düzenli olarak yıkılmalıdır. Son olarak, enerji alımı yetersiz ise veya hastalıklara yanıt olarak hücre proteinlerinin, özellikle iskelet kası proteinlerinin parçalanması enerji metabolizması ve protein sentezi için gerekli olan ancak vücutta sentezlenemeyen elzem amino asitlerin sağlanması için gereklidir (Cuervo ve Dice, 1998; Mitch, 1998). Bu fonksiyon uzun süreli açlık veya katabo-

lik hastalıklarda hücrenin canlılığının korunabilmesini sağlar. Anlaşılabacağı üzere düzenli ve sürekli protein yıkımı normal fizyolojik fonksiyonların devamı için gerekli bir süreçtir. Nitekim, yaşlanma ile beraber bu sürecin yavaşlaması gerek yaşlılığa bağlı özelliklerin kazanılması gerekse bu dönemde gözlenen patolojik koşullarla ilişkilidir (Cuervo ve Dice, 2000).

ISKELET KASI PROTEİN YIKIMI

Vücut ağırlığımızın % 40-45'ini ve toplam vücut proteininin % 50'sini oluşturan iskelet kasi kitlesinin korunması, protein sentezi ve protein yıkım hızının dengelenmesi ile mümkündür. Kassal aktivitenin azalmasının yanı sıra açlık, kontrol edilemeyen diyabet, kanser ve sepsis gibi katabolik koşullarda kas protein yıkımı artarken protein sentezlenme hızı düşer (Kadowaki, Harada, Takahashi, Noguchi ve Naito, 1989 ; Thomason, Biggs ve Booth, 1989; Thomason ve Booth, 1990). Protein yıkımı sonucu oluşan aminoasitlerin büyük bir bölümü, karaciğerde glukoneogenezde kullanılır, bir bölümü ise (özellikle lösin, izolösin ve valin) kaslarda enerji kaynağı olarak kullanılır. Yukarıda sayılan katabolik hastalıklarda öncelikli olarak yıkılan iskelet kasi proteinleridir (Kadowaki ve ark., 1989). Bu koşullarda böbrek ve karaciğer gibi iç organlarda oluşan protein yıkımı çok düşüktür (Cuervo ve Dice, 1998).

Katabolik durumlarda oluşan veya denervasyonu takiben görülen kas kitlesi kaybı uzun ömürlü miyofibril proteinle-

rinin (aktin ve miyozin) parçalanması sonucu gerçekleşir ki bu proteinler bütün kas proteinlerinin % 60-70'ini oluştururlar. Öte yandan, inaktiviteye bağlı kas atrofisinde miyozin ağır zincirindeki kayıp aktinle karşılaştırıldığında daha fazladır (Haddad ve ark., 2003a). Nitekim, spinal kord izolasyonu yöntemi ile oluşturulan inaktivite atrofisi modelinde 4. ve 15. günler arasında soleus kasında %50 atrofi gerçekleşmiş, toplam protein miktarına göre miyozin ağır zincirinin %50'si kaybedilmiş, aktin miktarı ise relatif olarak kontrol değerleri ile aynı kalmıştır (Haddad ve ark., 2003a). Diğer proteinlerin aksine, aktin ve miyozin özel bir amino asit olan 3-metilhistidin içerirler. Miyofibriller proteinlerin yıkımı 3-metilhistidin miktarı ölçülerek gözlenebilir. Katabolik durumlarda 3-metilhistidin miktarı anlamlı derecede artar (Smith, Wong ve Gelfand, 1989).

Katabolik koşullarda kas kaybı ile sonuçlanan kas protein yıkım hızındaki artışa yol açan mekanizmalar tam olarak açıklanamamış olmakla beraber protein dönüşümü birbirleri ile yakın etkileşimde olan farklı etkenler tarafından düzenlenmektedir. Bu etkenler: besin öğelerinin miktarı, proinflatuar sitokinlerin miktarında artış, hormonal dengenin bozulması, nöromüsküler uyarım eksikliği ve inaktivitedir (Costelli ve Baccino, 2003; Jackman ve Kandarian, 2004; Mitch ve Price, 2001; Powers, Kavazis ve DeRuisseau, 2005). Deneysel olarak fazla kortizol verilmesi veya insülin miktarının azaltılması gibi hormonal müdahaleler kas protein yıkımını artırmaktadır. Ben-

zer şekilde denervasyon veya immobilizasyon nedeni ile kasların kullanılmaması, dolaşımdaki sitokinlerin (IL-1, IL-6 ve TNF- α gibi) deneysel olarak artırılması iskelet kasındaki protein yıkım hızını artırmaktadır (Costelli ve Baccino, 2003; Jackman ve Kandarian, 2004; Reid ve Li, 2001).

PROTEİN YIKIM MEKANİZMALARI VE KAS ATROFİSİ

Vücudumuzdaki proteinlerin yıkımından sorumlu çok sayıda protein yıkım mekanizması bulunmaktadır. İskelet kası protein yıkımı ile ilgili olarak üzerinde en fazla çalışma yapılan mekanizmalar, lizozomal proteazlar, Ca^{+2} bağımlı calpain proteazları ve ATP bağımlı ubiquitin proteasome sistemidir (Jackman ve Kandarian, 2004; Powers, Kavazis ve DeRuisseau, 2005). Son yıllarda caspase-3 proteazının kas atrofisindeki rolünü inceleyen çalışmaların sayısında da artış gözlenmektedir (Du ve ark., 2004; Du, Hu ve Mitch, 2005; Willoughby, Sulzemeire ve Brown, 2003).

Denervasyon atrofisi, yüksüzleştirme modeli ve mekanik ventilasyonun yanı sıra akut diyabet, sepsis, kanser, asidoz ve böbrek yetmezliği gibi patolojik koşullarda iskelet kası atrofisinden sorumlu temel mekanizmalar Ca^{+2} bağımlı calpain proteazları ve ATP bağımlı ubiquitin proteasome sistemidir (Bailey ve Mitch, 2000; Busquets ve ark., 2002; Du, Hu ve Mitch, 2005; Furuno, Goodman ve Goldberg, 1990; Haddad ve ark., 2003b; Hasselgren, 2002; Lecker ve ark., 1999; Mitch ve Goldberg, 1996; Price ve ark.,

1996; Powers, Kavazis ve DeRuisseau, 2005; Shanely ve ark., 2002; Taillandier ve ark., 1996; Voison ve ark., 1996). Son yıllarda yapılan bazı çalışmalar caspase-3 adı verilen bir proteazın da iskelet kası protein yıkımında Ca^{+2} bağımlı calpain proteazlarına benzer şekilde önemli bir rol aldığını göstermektedir (Jones ve ark., 2004; Willoughby, Sulzemeire ve Brown, 2003). Öte yandan, kassal aktivitenin azalması (Taillandier ve ark., 1996), sepsis (Voison ve ark., 1996) ve kafa travmasına (Mansoor ve ark., 1996) bağlı olarak oluşan kas atrofisinde lizozomal proteazların da aktif olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır.

Kas proteinlerinin %60-70'i aktomyozin kompleksinde bulunur ve bu kontraktıl proteinlerin yarı ömrü genç sıçanlarda 1-2 haftadır (Lee ve Goldberg, 1998). Ubiquitin proteasome sistemi, kas lifindeki normal yapısal düzenleri içinde aktin ve miyozin gibi kontraktıl proteinlerin yıkımını gerçekleştirmez (Solomon ve Goldberg, 1996). Ubiquitin proteasome sisteminin aktin ve miyozinin yıkımını gerçekleştirebilmesi için bu proteinlerin sarkomerlerden ayrılarak monomerik şekle dönüştürülmeleri bir başka deyişle serbest bırakılmaları gerekir. İşte bu aşamada Ca^{+2} bağımlı calpain proteazları ve caspase-3 proteazı devreye girerek kontraktıl proteinlerin sarkomerden serbest bırakılmasını sağlar. Dolayısıyla, kas atrofisi sırasında iki veya daha fazla protein yıkım mekanizması rol oynar (Du, Hu ve Mitch, 2005; Furuno, Goodman ve Goldberg, 1990). Nitekim, spinal kord izolasyonu yöntemi ile nöro-

müsküler aktivitenin neredeyse tamamen önlendiği sıçanlarda gözlenen kas atrofisi calpain-I ve ubiquitin proteasome sistemi enzimlerinde artışla birlikte gerçekleşmiştir (Haddad ve ark., 2003b). Arka bacağın askıya alınmasıyla oluşturulan yüksüzleştirme modelinde ubiquitin proteasome sisteminin yanı sıra lizozomal ve calpain mekanizmalarının aktivitesinde önemli düzeyde artış belirlenmiştir (Taillandier ve ark., 1996). İnsanlarda yapılan bir çalışmada da ayak kabı yardımı ile gastrocnemius kasının boyunun 28 gün boyunca kısaltılmış pozisyonunda tutularak immobilize edilmesi ile oluşturulan kas atrofisinde ubiquitin ve caspase-3 protein yıkım mekanizmalarının aktivitelerinin arttığı ortaya konmuştur (Willoughby, Sulzemeire ve Brown, 2003).

Aşağıda iskelet kası atrofisinde rol oynayan bu mekanizmaların yapısı, normal fizyolojik koşullardaki fonksiyonları ve kas atrofisindeki rolleri sunulmuştur.

Lizozomal Proteazlar: Lizozomların 1950'de keşfinden sonra hücre içi protein yıkımındaki rolleri üzerinde çok sayıda araştırma yapılmıştır. Lizozomlar, membranla çevrili asit ortamı nedeniyle protein yıkımında rol alan ve genel olarak *proteaz* adı verilen enzimler için çok uygun bir ortam oluştururlar. Lizozomal sisteminin yıkımından sorumlu olduğu proteinler hücre içine alınan ekstrasellüler proteinler ve membran yüzeyinde bulunan proteinleridir. Normal koşullarda sitoplazmik proteinlerin fizyolojik yıkımındaki rolleri daha düşüktür (Cuervo ve Dice, 1998; Lecker ve ark., 1999).

Lizozomlar, endo ve ekzo olmak üzere çok sayıda proteaza sahiptir. Bu proteazların işbirliği halinde çalışmaları substrat proteinlerinin hidrolize olmasını sağlar (Demartino ve Ordway, 1998). Lizozomlar endositoz ve otofaji yolu ile hücre içindeki proteinlerin yıkımını gerçekleştirir (Cuervo ve Dice, 2000; Demartino ve Ordway, 1998). Hücre içine dolan fazla miktarda sıvı ve maddeler, hücre yüzeyinde bulunan reseptörler gibi membrana bağlı proteinler sitoplazmadaki membranlar tarafından hapsedilerek endositoz yolu ile yıkılır. Hücre içi çözünebilir proteinler ve bazı organel proteinleri seçici olmayan makro-otofaj mekanizması ile yıkılırlar (Demartino ve Ordway, 1998). Makro-otofaj yoluyla yıkılacak olan proteinler önce yutulur ve membrana bağlı yapılar içinde tecrit edilir. Bu yapılar lizozomlar tarafından eritilip yok edilir. Bu mekanizma, özellikle karaciğer ve böbrek dokusunda aktiftir. Son mekanizma ise, yıkılacak proteinlerin HSC70 benzeri sitoplazmik bir protein ve lizozomal bir proteinle etkileşimini sağlayan ATP bağımlı bir mekanizmadır. Çözünebilir hücrel proteinlerin % 20-35'i bu mekanizma yolu ile lizozom membranından geçer. Yaşlanma ile birlikte gözlenen lizozom aktivitesindeki azalmanın yaşlılık özellikleri ve yaşlılığa bağlı bazı patolojilerde rol oynadığı bildirilmektedir (Cuervo ve Dice, 2000; Szwedra, Friguet ve Szwedra, 2002).

Lizozomal protein yıkımı aminoasitler ve hormonlar tarafından kontrol edilir (Mortimore, Poso ve Lardeux, 1989). Bu nedenle, lizozomal protein yıkımının ak-

tivitesi açlık, insülin yetersizliği ve katabolik hastalıklar gibi hücrenin enerji kaynağına aşırı gereksinim duyduğu koşullarda artar (Argiles ve Lopez, 1996; Demartino ve Ordway, 1998; Helliwel ve ark., 1998; Kettelhut, Pepato, Migliorini, Medina ve Goldberg, 1994). Bu ekstrem koşullarda lizozomal protein yıkımı protein metabolizmasında önemli rol oynar (Mortimore, Miotto, Venerando, Kadowaki, 1996) ve yıkılan proteinler sonucu oluşan aminoasitler enerji kaynağı olarak kullanılır (Donohue ve Osna, 2003). Örneğin, 48 saatlik açlık otofaji ve lizozomal protein yıkımındaki artış nedeni ile karaciğerdeki proteinlerin %20'sinin yıkılmasına yol açar. Bu sistemin aktif olduğu spesifik dokular karaciğer, böbrekler ve kalp kasıdır (Cuervo ve Dice, 1998). Öte yandan, Busquets ve arkadaşları (2002) 48 saatlik açlığı takiben ATP bağımlı ubiquitin proteasome sistemi ve Ca^{+2} bağımlı calpain proteazlarının aktivitesinde anlamlı artış gözlerken lizozomal proteaz sisteminde artış gözlememişlerdir. Aynı çalışmada (Busquets ve ark., 2002) deneysel olarak tümör oluşturulan sıçanlarda ise incelenen her üç protein yıkım mekanizmasının aktivitesinde artış olduğu belirlenmiştir.

Lizozomal mekanizmanın iskelet kası protein yıkımındaki rolü henüz aydınlatılamamış olmakla beraber Ca^{+2} bağımlı calpain proteazları ve ATP bağımlı ubiquitin proteaz sisteminin rolü ile karşılaştırıldığında daha önemsiz olduğu anlaşılmaktadır. Nitekim, arka bacağın askıya alınmasıyla oluşturulan yüksüzleştirme modelinde ubiquitin proteasome sis-

teminin yanı sıra lizozomal ve calpain mekanizmalarının aktivitesinde önemli düzeyde artış (%254) gözlenmekle beraber bu mekanizmaların toplam kas atrofisindeki rolünün ubiquitin proteasome sistemi ile karşılaştırıldığında önemsiz olduğu ortaya konmuştur (Taillandier ve ark., 1996). Kasal aktivitenin azalmasına bağlı kas atrofisinin incelendiği diğer çalışmalarda da lizozomal proteazların aktivitesinin arttığı (Stevenson, Giresi, Koncarevic ve Kandarian, 2003) ancak lizozomal inhibitör kullanılmasının miyofibril protein yıkımını önemli düzeyde etkilemediği ve total protein yıkımını önemsiz düzeyde azalttığı bildirilmiştir (Tischler ve ark., 1990). Daha önce de belirtildiği gibi lizozomal proteazlar miyofibril proteinleri gibi sitoplazmik proteinlerin yıkımında önemli rol almazlar ancak atrofi oluşan kasın kas lifi fenotipinin değişiminde kritik rol oynayabilecek olan membran proteinlerinin yıkımını gerçekleştirirler. Jackman ve Kandarian (2004) kas atrofisi sırasında miyofibril protein yıkımının belirli aşamalarında lizozomal proteazların ubiquitin proteasome sistemi ile işbirliği yapıyor olabileceğine dikkat çekmektedirler. Nitekim, Helliwel ve arkadaşları (1998) yoğun bakımda yatan hastalar üzerinde yaptıkları biyopsi çalışmalarında anormal desmin dizilimi gösteren kas liflerinde lizozomal aktivitenin arttığını tespit etmişlerdir.

Ca^{+2} Bağımlı Calpain Sistemi: Kalsiyum bağımlı nötral proteasome olarak da bilinir. Calpain sistemi üç molekülden oluşur: iki Ca^{+2} bağımlı proteaz (μ -calpain ve m-calpain) ve calpastatin adı verilen bir polipeptid (Demartino ve Ordway,

1998; Goll, Thompson, Wei ve Cong, 2003). Calpastatinin fonksiyonu iki calpain proteazını inhibe etmektir (Goll ve ark., 2003). İskelet kasında μ -calpain ve m-calpain aktivitesinin yaklaşık olarak birbirine eşit olduğu calpastatin aktivitesinin ise her iki calpain aktivitesinin toplamından daha fazla olduğu bildirilmiştir (Goll ve ark., 2003). Bazı kaynaklarda μ -calpain ve m-calpain sırasıyla calpain I ve calpain II olarak ta isimlendirilmektedir. Ancak, bu kullanım sakıncalıdır çünkü μ -calpain, calpain I ve 28kDa'lık alt birimi, m-calpain ise calpain II ve 28kDa'lık bir alt birimi içermektedir (Goll ve ark., 2003). İskelet kası fonksiyonları ile ilgili olarak öne çıkan calpainlerden biri de iskelet kasına özel bir calpain olduğu belirlenen ve calpain 3 olarak da isimlendirilen p94'tür (Diaz, Moldoveanu, Kuiper, Campbell ve Davies, 2004; Ono ve ark., 2004; Williams ve ark., 1999).

Calpain sistemi hücrede çeşitli fizyolojik fonksiyonlara sahiptir. Bunlar: hücre iskeleti ile hücre zarı arasındaki bağlantıların yapılandırılması, farklı hücre uyarı iletim yollarında moleküllerin proteolitik modifikasyonu, hücre içi fonksiyonlarda rol alan enzimlerin yıkımı, gen ekspresyonunun ve apoptozisin düzenlenmesidir (Goll ve ark., 2003). Miyokard infarktüsü, felç ve beyin travması gibi vakalarda Ca^{+2} dengesinin bozulmasına bağlı olarak calpain aktivitesinin artması doku hasarına yol açar (Goll ve ark., 2003). Ayrıca, calpain sisteminin aktivitesindeki bozuklukların (genetik veya Ca^{+2} dengesi kaybı yolu ile), tip 2 diyabet, gastrik ülser, kas distrofileri, Alzhe-

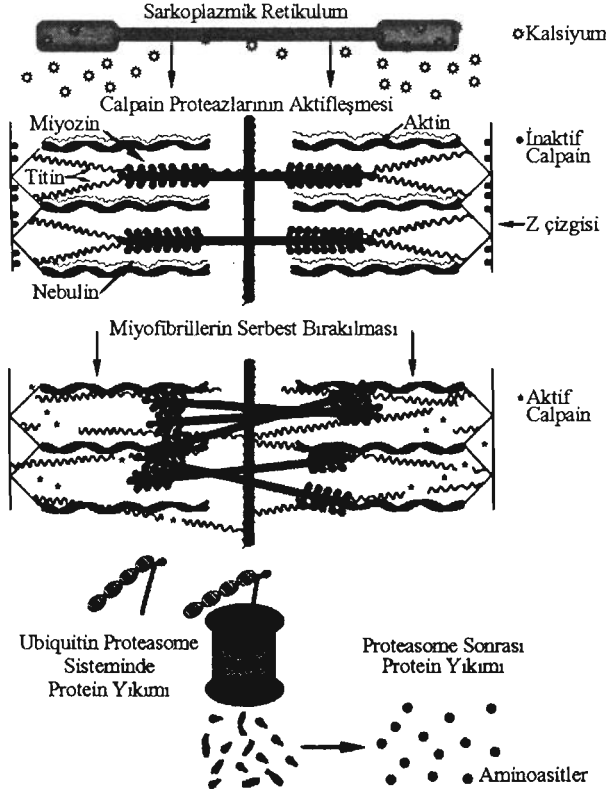
imer hastalığı, katarakt oluşumu, miyokard infarktüsü, felç, beyin ve spinal kord travması ve obsessif-kompulsif hastalıkların patolojisi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Goll ve ark., 2003).

Büyük oranda hücre içinde lokalize olan calpastatin, μ -calpain ve m-calpain spesifik olarak iskelet kasında miyofibriller, diğer hücrelerde ise hücre iskeleti, veziküller ve hücre zarı ile bağlantılıdır (Goll ve ark., 2003). Kalp ve iskelet kasında yapılan çalışmalar calpain ve calpastatinin çoğunun Z diskleri üzerinde veya yakınında, küçük bir bölümün I bandında daha az bir bölümünün ise A bandında lokalize olduğunu göstermiştir (Goll ve ark., 2003). Goll ve arkadaşları (2003) bir kas lifinin Z disklerindeki calpainlerin proteolitik aktivitesinin tamamen aktif olduğu varsayılacak olursa o lifteki tüm Z disklerinin 5dk'dan daha kısa bir süre içinde yıkılabileceğini ifade etmiştir. Bu nedenle calpainlerin normal koşullarda inaktif olması zorunludur. Bu sitoplazmik proteasomların aktivitesinin temel düzenleyicileri sitoplazmik kalsiyum konsantrasyonu ve endojenik calpain inhibitörü olan calpastatin miktarıdır. Bu nedenle, bu protein yıkım mekanizmasının aktivitesi hücre içi kalsiyum konsantrasyonunu artıran (kalsiyum iyonoforerleri, kontraksiyon ve depolarizasyon gibi) ve/vaya calpastatin miktarını azaltan koşullarda artar. Bu koşullardan biri de kassal inaktivitedir. Kassal aktivitenin azaldığı koşullarda artan oksidatif stres ürünleri hücre zarı Ca^{+2} ATPase aktivitesini azaltır (Powers, Kavazis ve DeRuisseau, 2005). Dolayısıyla Ca^{+2} hücreden uzaklaştırılmayarak hücrede

birikir. Sitoplazmik kalsiyum miktarının artması ise calpain aktivitesini artırarak miyofibril proteinlerinin yıkımını başlatır. Sitoplazmik kalsiyum miktarını artıran koşullardan biri de egzersizdir. Nitekim, alışık olunmayan veya aşırı egzersize bağlı kas hasarında calpain proteazının aktif olduğu bildirilmiştir (Belcastro, 1993; Gissel ve Clausen, 2001).

Ca²⁺ bağımlı calpain proteazları miyofibril proteinlerinin (aktin ve miyozin gi-

bi) yıkımını doğrudan gerçekleştiremezler. Bu mekanizmanın temel fonksiyonu, aktin ve miyozinin sarkomerdeki Z disklerine (titin ve nebulin) ve sarkolemmaya (desmin) tutunmasını sağlayan yapısal proteinleri yıkararak miyofibril bütünlüğünün parçalanmasını ve böylece aktin ve miyozinin serbest kalmasını sağlamaktır (Goll ve ark., 2003; Huang ve Forsberg, 1998; Kandarian ve Stevenson, 2002; Powers, Kavazis ve DeRuisseau, 2005) (Şekil 1).



Şekil 1. Ca²⁺ bağımlı calpain proteazı ve ubiquitin proteasome sistemi Ubiquitin proteasome sistemi (Kandarian ve Stevenson, 2002 ve Powers, Kavazis ve DeRuisseau, 2005'den uyarlanmıştır).

Daha sonra, aktin ve miyozin diğer protein yıkım mekanizmaları (ATP bağımlı ubiquitin proteasome sistemi) tarafından parçalanır (DeFronzo ve Ferranini, 1992). Nitekim Williams ve arkadaşları (1999) septik sıçanların ekstanşör digitorum longus kası liflerinin Z bantlarında deformasyon, μ -calpain, m-calpain ve p94 ekspresyonunda artış olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, araştırmacılar sitoplazmaya kalsiyumun serbest bırakılmasını inhibe eden dantrolen kullanılmasının sepsise bağlı bu yanıtları önlediğini belirlemişlerdir. Voison ve arkadaşları ise (1996) kronik sepsiste protein yıkımından sorumlu temel mekanizmanın ATP bağımlı ubiquitin proteasome sistemi olmakla beraber özellikle hastalığın ilerleyen dönemlerinde lizozomal ve Ca^{+2} bağımlı calpain proteazlarının aktivitesindeki artışın protein yıkımındaki rolünün %20 oranında gerçekleştiğini ortaya koymuşlardır. Bu bulgular, sepsise bağlı kas atrofisinde Z bantlarında deformasyon gerçekleştiğini ve miyofilamentlerin yapısal proteinlerden serbest kalmasında Ca^{+2} bağımlı calpain proteazlarının önemli rol oynadığını ortaya koymaktadır. Ca^{+2} bağımlı calpain proteazlarının yüksüzleştirmeye bağlı kas atrofisindeki rolü Tidball ve Spencer (2002) tarafından transgenik fareler üzerinde yapılan bir çalışma ile belirlenmiştir. Bu çalışmanın bulguları, calpain inhibitörü calpastatin ekspresyonunun endojenik olarak %30-50 oranında artırıldığı transgenik farelerde 10 günlük yüksüzleştirme modeli ile oluşturulan kas atrofisinin %30 oranında azaldığını göstermiştir (Tidball ve Spencer, 2002)

Caspase-3 Proteazi: Bu proteaz, proteinlerin yıkımını sağlayan ve bazı koşullarda da programlı hücre ölümüne (apoptozis) neden olan caspaslar (*cysteine* bağımlı aspartat spesifik proteazlar) adı verilen bir grup endoproteazdan biridir (Zhang, Zhang ve Herman, 2003). Bugüne kadar caspasların 14 üyesi tanımlanmıştır (Zhang, Zhang ve Herman, 2003). Hücre içinde inaktif formda (pro-caspas) bulunan caspaslar aktifleştiklerinde protein yıkımı ve apoptozise yol açarlar. Caspaslarla ilgili çalışmalar daha çok apoptozis alanında yoğunlaşmıştır (Adhihetty ve Hood, 2003; Gastman, 2001). Son yıllarda kas atrofisinde apoptozisin de rolü araştırılmaya başlanmıştır (Tews, 2002; Vescovo ve ark., 2000) ve özellikle caspas-3'ün kas atrofisindeki rolünü inceleyen çalışmaların sayısı artmıştır (Allen ve ark., 1997; Dirks ve Leeuwenburg, 2002; Sandri, 2002).

Caspase-3'ün diyabet (Du ve ark., 2004), kronik böbrek hastalığı (Du, Hu ve Mitch, 2005), konjestif kalp yetmezliği (Libera ve ark., 2001) ve immobilizasyona (Jones ve ark., 2004) bağlı kas atrofisinde iskelet kası protein yıkımında rol oynadığı bildirilmiştir. Kasın caspase-3 inhibitörü Ac-DEVD-CHO ile inkübe edilmesi diyabete bağlı kaşekside (Du ve ark., 2004); angiotensin II blokleri kullanılması ise konjestif kalp yetmezliğine (Libera ve ark., 2001) bağlı iskelet kası protein yıkım hızını azaltmıştır. Yirmidört yaşında bir erkek üzerinde yapılan vaka çalışması da kassal aktivitenin azalmasına bağlı kas atrofisinde caspase-3 sis-

teminin rol oynadığını göstermiştir (Willoughby, Sulzemeire ve Brown, 2003). İlgili çalışmada, 28 günlük immobilizasyonu takiben gastrocnemius kasından alınan biyopsi örneğinde kas protein miktarında %25, DNA miktarında %66 oranında azalma olduğu ve caspase-3 aktivitesinin %582 oranında arttığı belirlenmiştir (Willoughby, Sulzemeire ve Brown, 2003).

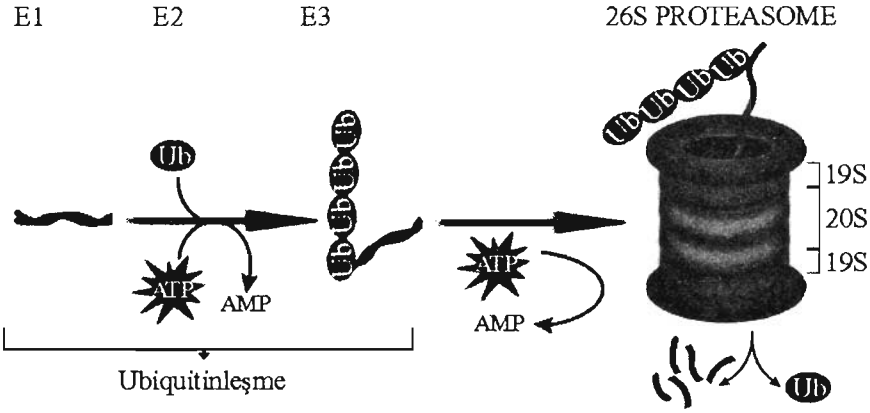
Caspase-3, Ca²⁺ bağımlı calpain proteazları gibi aktomyozin kompleksinin yapısal proteinlerinin (titin, nebulin, desmin vb.) yıkımını sağlayarak aktin ve miyozinin serbest kalmasını sağlamaktadır (Du, Hu ve Mitch, 2005). Serbest kalan aktin ve miyozin ATP-bağımlı ubiquitin proteasomu tarafından yıkılmaktadır. Öte yandan, caspase-3 proteazının oksijen radikallerinin yanı sıra kalsiyum uyarımı yolu ile calpain sistemi tarafından da desteklenildiği bildirilmiştir (Powers, Kavazis ve DeRuisseau, 2005). Ayrıca, calpain sisteminin inhibitörlerinden biri olan calpastatin hem calpain hem de caspase-3 proteazları için bir substrattır. Bu nedenle, caspase-3 ve calpain aktivitesindeki artış hücredeki calpastatin miktarını düşürerek calpain aktivitesini artırır (Du ve ark., 2004; Goll ve ark., 2003). Bu anlamda caspase-3 sisteminin de Ca²⁺ bağımlı calpain proteazları gibi protein yıkımının ilk aşamalarında rol aldığı düşünülmektedir (Jackman ve Kandarian, 2004; Powers, Kavazis ve DeRuisseau, 2005).

Ubiquitin-Proteasome Sistemi: ATP bağımlı ubiquitin proteasome sisteminin iskelet kası atrofisindeki rolünü in-

celeyen çalışmalara geçmeden önce bu mekanizmanın genel yapısından söz etmek istiyoruz. Daha ayrıntılı bilgi için bu konuda hazırlanan derleme çalışmalarına başvurulabilir (Costelli ve Baccino, 2003; Demartino ve Ordway, 1998; Glickman ve Ciechanover, 2002; Lecker ve ark., 1999).

Ubiquitin proteasome yoluyla proteinlerin yıkılabilmesi için enerjiye (ATP), protein ko-faktörü olan ubiquitine ve 26S proteasome'ına gereksinim vardır. Proteasome 2000 kDa ağırlığı ile oldukça büyük bir yapıya sahiptir (Jagoe ve Goldberg, 2001; Lee ve Goldberg, 1998). Toplam hücresel proteinlerin %1'ini oluşturan en az 50 alt birimden oluşur. Proteasome, protein yıkımını gerçekleştiren ve 20S proteasome olarak bilinen silindirik yapıya sahip bir çekirdek ile bu çekirdeğin her iki ucunda yer alan ve 19S adı verilen iki düzenleyici kompleksten oluşur (Krüger, Kloetzel ve Enenkel, 2001; Lee ve Goldberg, 1998) (Şekil 2).

Proteinler 20S proteasome'ında ATP kullanımını gerektiren çok sayıda enzimi içeren bir süreçle parçalanırlar. Bu enzimler, E1, E2 ve E3'tür. E1 ubiquitin aktifleştirici, E2 ubiquitin birleştirici ve E3 ubiquitin bağlayıcı enzimdir (Costelli ve Baccino, 2003; Glickman ve Ciechanover, 2002; Lecker ve ark., 1999). Ubiquitin proteasome sisteminde proteinlerin parçalanabilmesi için önce küçük bir protein ko-faktörü olan ubiquitin'e kovalent bir bağla bağlanarak parçalanma işlemi için işaretlenmesi gerekir (Şekil 2). Ubiquitin'in karboksil ucu önce ATP kul-



Şekil 2. Ubiquitin proteasome sistemi (Kandarian ve Stevenson, 2002)'den uyarlanmıştır. Şekilde kullanılan kısaltmalar: Ub: Ubiquitin; E1: Ubiquitin aktiveleştirici enzim; E2: Ubiquitin birleştirici enzim; E3: Ubiquitini hedef proteine bağlayıcı enzim.

lanımını gerektiren bir enzim olan E1 tarafından thiol esterine dönüştürülerek aktiveleştirilir (Şekil 2). Aktifleşen ubiquitin, daha sonra E1 tarafından taşıyıcı veya birleştirici proteinler olarak bilinen E2 proteinler ailesinden birine transfer edilir ve ubiquitin karboksil grubu ubiquitin-protein bağlayıcı (E3) tarafından *lysines* ϵ -amino grubuna bağlanır (Demartino ve Ordway, 1998). Ubiquitin bağlantı reaksiyonları tekrarlanarak en az 4 veya daha fazla ubiquitinden oluşan zincirler birbirlerine ve daha sonra da protein substratına bağlanır (Costelli ve Baccino, 2003; Demartino ve Ordway, 1998; Glickman ve Ciechanover, 2002; Lecker ve ark., 1999). Böylece yıkılması gereken protein, protein yıkımını gerçekleştiren 26S proteasome'ı tarafından farkedilerek hızlı bir şekilde yıkılır (Şekil 2). Bu süreç ATP'ye gereksinim duyar. Proteasome'lar hücrel protein-

lerin bir çoğunun yıkıma uğradığı yerlerdir. Parçalanmış proteinlerin büyük bir bölümü aminoasitlere dönüştürülür (Şekil 2).

Hücrel proteinlerin bir çoğunu yıkıma uğratan bu yolun nasıl seçici olduğu merak konusudur. Seçicilik özelliğinin önemli bir bölümü ubiquitin bağlantısında rol alan enzimlerden kaynaklanmaktadır (Demartino ve Ordway, 1998). Bu anlamda özellikle E3 enzimleri ile farklı özelliklere sahip E2-E3 çiftlerinin önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Demartino ve Ordway, 1998; Glickman ve Ciechanover, 2002; Lecker ve ark., 1999).

Bu proteolitik yolun çeşitli aşamaları, spesifik olmayan hücrel proteinlerin yıkımını önlemek için kontrol altına alınmıştır (Lecker ve ark., 1999). Öncelikle, proteasome'ın aktif bölümleri merkezi odacıkta izole edilmiştir ve sadece kat-

lanmamış proteinler 20S çekirdek proteasome'ın ucundaki dar alandan girebilirler. İkinci olarak, memelilerde ubiquitin bağlantısı birçok proteinlerin yıkımı için gerekli olan son derece spesifik bir süreçtir. Ubiquitine bağlanmış proteinlerin 26S proteasome içinde parçalanması 19S kompleksini gerektirir. 19S kompleksi yaklaşık 20 alt birim içerir. Bunların bazıları ubiquitine bağlı proteinleri bağlarken diğerleri ubiquitin zincirini bozarak ubiquitin'in kullanılmasını sağlar. 19S kompleksi, ayrıca proteinlerin bağlarının ayrılmasını katalize ettiği ve bunların 20S çekirdek proteasome'a girmelerini stimüle ettiği düşünülen 6 ATPaz içerir. Bu özellikler ve protein yıkımının çeşitli aşamalarında ATP hidrolizine ihtiyaç duyulması önemli düzeyde seçicilik, etkinlik ve kontrol sağlar. Bazı substratların ubiquitin proteasome'ı aracılığı ile yıkılmasında HSC70'in de rol aldığı bildirilmiştir (Demartino ve Ordway, 1998). HSC70'in, ubiquitinle bağlanması ve/veya yıkılabilmesi için substrat katlarının açılması sürecinde rol oynadıkları tahmin edilmektedir.

Bu derlemenin farklı bölümlerinde daha önce de ifade edildiği gibi gerek kassal aktivitenin azalması gerekse katabolik koşullarda oluşan iskelet kası atrofisinde protein yıkımının çoğundan enerji kullanımını gerektiren ubiquitin proteasome sistemi sorumludur (Bailey ve Mitch, 2000; Minnaard ve ark., 2005; Mitch ve Goldberg, 1996; Lecker ve ark., 1999; 2004; Price ve ark., 1996; Price, 2003).

Denervasyon atrofisi, kassal inaktivite, açlık ve katabolik hastalıklar gibi kas-

ta protein yıkımının maksimal olduğu koşullarda ubiquitin proteasome sistemi aktivitesi, proteasome enzim miktarları, proteasome alt birimleri ve ubiquitin'i kodlayan haberci RNA (mRNA)'ların miktarlarında artış gözlenmiştir (Jones ve ark., 2004; Minnaard ve ark., 2005; Price, 2003). Öte yandan bu koşullarda proteasome inhibitörleri kullanılması kas protein yıkımını önemli düzeyde azaltmaktadır (Jagoe ve Goldberg, 2001; Lee ve Goldberg, 1998; Tawa, Odessey ve Goldberg, 1997). Nitekim, denervasyon, tiroid hormonu ve sepsise bağlı kas atrofisi ubiquitin proteasome sisteminin inhibitörlerinden biri olan MG132'nin kullanılması ile sırasıyla, % 40-70, % 70 ve % 100 oranında inhibe edilmiştir (Tawa, Odessey ve Goldberg, 1997). Diyabette de kas protein yıkımından ATP bağımlı ubiquitin proteasome yolunun sorumlu olduğu bilinmektedir (Mitch ve Goldberg, 1996). Nitekim, açlık durumundaki sıçanlarda, denervasyon atrofisi veya asi-dozu olanlarda atrofiye olan kas lizozomal veya kalsiyum uyarımlı proteasome aktivitesini bloke eden ajanlarla aynı ortama konulduğunda protein yıkımının inhibe edilemediği saptanmıştır (Mitch ve Goldberg, 1996).

Kas protein yıkımını, hormonlar, beslenme durumu, yanık ve travma gibi yaralanmalar, enfeksiyon, nöral uyarım, mekanik aktivite gibi bir çok faktör etkiler (Argilés ve López-Soriano, 1996; Demartino ve Ordway, 1998; Hamel, Fawcett, Bennetta ve Duckworth, 2004; Kee ve ark., 2003; Tawa, Odessey ve Goldberg, 1997). İskelet kası protein yıkımını düzenleyen fizyolojik faktörler ve

bu faktörlerin ubiquitin proteasome sistemi üzerine etkisi olup olmadığına ilişkin çalışmaların bulguları Demartino ve Ordway (1998) tarafından tablo 1'de sunulduğu gibi özetlenmiştir.

Mitch ve ark., 1999; Price ve ark., 1996; Rodrigez ve ark., 1997). Ayrıca, kasta insülin direncinin geliştiği kronik böbrek yetmezliğinde de protein yıkım hızı ubiquitin proteasome sistemi yolu ile art-

Tablo 1. İskelet kası protein yıkımını düzenleyen fizyolojik faktörler ve koşullar (Demartino ve Ordway, 1998'den uyarlanmıştır).

| Fizyolojik Faktörler ve Koşullar | Protein Yıkımı Üzerine Etkisi | Ubiquitin Proteasome Sistemi Aktif mi ? |
|----------------------------------|-------------------------------|---|
| İnsülin yetersizliği | Artış | Evet |
| Glukokortikoidler | Artış | Evet |
| Tiroid hormonları | Artış | Evet |
| β_2 -Adrenerjik agonist | Düşüş | Evet |
| Dallı zincirli amino asitler | Düşüş | ? |
| Glikoz | Düşüş | ? |
| Açlık | Artış | Evet |
| Enfeksiyon | Artış | Evet |
| Tümör | Artış | Evet |
| Yüksüzleştirme | Artış | Evet |
| Mikro yerçekimi | Artış | Mümkün |
| Protein yetersizliği | Düşüş | Evet |
| Asidoz | Artış | Evet |
| Denervasyon | Artış | Evet |
| Yanıklar | Artış | Evet |

26S proteasome'ı yolu ile protein yıkımının kontrolünde ubiquitinleşme süreci önemlidir. Yukarıda sayılan faktörlerden, glukokortikoidlerin ubiquitin proteasome sisteminin üyelerinin gen kopyalanmasını artırarak kas hücrelerinin protein yıkım kapasitesini artırdığı bildirilmiştir (Hamel ve ark., 2004; Price Du, Bailey ve Mitch, 2001). Uyarılardan biri de insülin yetersizliğidir. Nitekim, akut diyabet sıçanlarda ciddi düzeyde kas atrofisine yol açmaktadır (Koşar, 2003;

maktadır (Price ve ark., 2001). İnsülin, hücre büyümesi ve çok sayıda anabolik ve katabolik fonksiyonların devamlılığının sürdürülmesinden sorumlu olmakla beraber protein metabolizması üzerine olan temel metabolik etkisi, hücre içi protein yıkımını inhibe etmektir (Duckworth, Bennett ve Hamel, 1994; Fryberg, Jahn, Hill, Oliveras ve Barret, 1995). İnsülinin bu etkisini, ATP bağımlı ubiquitin proteasome sisteminin bir parçası olan 26S proteasome'ın protein yıkıcı aktivi-

tesini inhibe ederek gerçekleştirdiği bildirilmiştir (Benneth, Hamel ve Duckworth, 2000). Tip 1 diyabette, yetersiz insülin düzeyi veya insülin yoksunluğu ubiquitin proteasome proteolitik sistemi üzerindeki inhibisyon etkisinin kalkarak protein yıkım hızının artmasına neden olur.

Ubiquitin proteasome sistemini oluşturan üyelerden birinin yapısındaki bir defekt çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir (Glickman ve Ciechanover, 2002; Myung, Kim ve Crews, 2001). Bu hastalıklar, Angelman ve Liddle sendromları, kistik fibrozis gibi genetik kaynaklı veya servikal kanser, kolorektal kanser ve Alzheimer hastalığı gibi sonradan kazanılmış hastalıklardır.

SONUÇ

İskelet kası atrofisi gerek bazı fizyolojik koşullarda gerekse katabolik koşullarda karşımıza çıkan önemli bir problemdir. Bu derleme çalışmasında sadece kas atrofisi sürecinde protein yıkımında rol alan mekanizmalar ele alınmıştır. İskelet kası atrofisinde protein kaybının

çoğundan sorumlu mekanizmanın ATP bağımlı ubiquitin proteasome sistemi olduğu anlaşılmaktadır. Öte yandan, bu mekanizma aktomyozin kompleksindeki kontraktıl proteinleri doğrudan yıkamadığı için bir başka mekanizmanın devreye girerek aktin ve miyozinin serbest kalmasını sağlaması gereklidir. Şimdiye kadar elde edilen bulgular bu aşamada rol alan mekanizmaların kalsiyum bağımlı calpain proteazı ile caspase-3 proteazı olduğunu göstermektedir. Bazı çalışmalar lizozomal proteazların da iskelet kasında benzer rol aldığına işaret etmekle beraber bu konuda bir yorumda bulunmak için henüz yeterli bulgu yoktur. Kas atrofisi mekanizmalarının ve bu mekanizmaların aktivitesini artıran uyarıların aydınlatılması kas atrofisinin önlenmesinde etkin yöntemlerin geliştirilmesine katkıda bulunacaktır.

Yazar Notu:

Bu derlemede yeralan şekilleri hazırlayan Türkan KOŞAR'a teşekkür ederiz.

Yazışma Adresi (Corresponding Address)

Dr. Nazan Ş. KOŞAR
Hacettepe Üniversitesi
Spor Bilimleri ve Teknolojisi Yüksekokulu
Beytepe / ANKARA
e-posta: nazank@hacettepe.edu.tr

KAYNAKLAR

Adhihetty, P.J. & Hood, D.A. (2003). Mechanisms of apoptosis in skeletal muscle. **Basic Appl Myol.**, 13(4), 171-179.

Allen, D., Linderman, J.K., Roy, R.R., Grindeland, R.E., Mukku, V. & Edgerton, V.R. (1997). Apoptosis: a mechanism contributing to remodeling of skeletal muscle in response to hindlimb unweighting. **Am J Physiol.**, 273, C579-C587.

Argilés, J.M. & López-Soriano, F.J. (1996). The ubiquitin-dependent proteolytic pathway in skeletal muscle: its role in pathological states. **TIPS.**, 17, 223-226.

- Bailey, J.L. & Mitch, W. (2000). Mechanisms of protein degradation : what do the rat studies tell us. **Journal of Nephrology**, 13, 89-95.
- Belcastro, A.N. (1993). Skeletal muscle calcium-activated neutral protease (calpain) with exercise. **J Appl Physiol.**, 74(3), 1381-6.
- Benneth, R.G., Hamel, F.G. & Duckworth, W.C. (2000). Insulin inhibits the ubiquitin-dependent degrading activity of the 26S proteasome. **Endocrinology**, 141(7), 2508-2517.
- Bloomfield, S.A. (1997). Changes in musculoskeletal structure and function with prolonged bed rest. **Med Sci Sports Exerc.**, 29(2), 197-206.
- Booth, F.W. & Criswell, D.S. (1997). Molecular events underlying skeletal muscle atrophy and the development of effective countermeasures. **Int J Sports Med.**, 18 (Suppl 4), S265-S269.
- Busquets, S., Alvarez, B., Lopez-Soriano, F.C. & Argiles, J.M. (2002). Branched-chain amino acids: A role in skeletal muscle proteolysis in catabolic states? **J Cellular Physiology**, 191, 283-289.
- Castro, M.J., Apple, D.F. & Robert, J.R. (1999). Influence of complete spinal cord injury on skeletal muscle within 6 mo of injury. **J. Appl. Physiol.**, 86(1), 350-358.
- Chkravarthy, M.V., Davis, B.S. & Booth, F.W. (2000). IGF-I restores satellite cell proliferative potential in immobilized old skeletal muscle. **J Appl Physiol.**, 89, 1365-1379.
- Costelli, P. & Baccino, F.M. (2003). Mechanisms of skeletal muscle depletion in wasting syndromes: role of ATP-ubiquitin-dependent proteolysis. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, 6, 407-412.
- Cuervo, A.M. & Dice, J.F. (2000). When lysosomes get old. **Experimental Gerontology**, 35, 119-131.
- Cuervo, A.M. & Dice, J.F. (1998). Lysosomes, a meeting point of proteins, chaperones and proteases. **J Mol Med.**, 76, 6-12.
- DeFronzo, R.A. & Ferrannini, E. (1992). Insulin actions in vivo: protein metabolism. In Alberti, K.G.M.M., DeFronzo, R.A., Keen, H. & Zimmet, P. (Eds). **International Textbook of Diabetes Mellitus**, (pp 467-512) Oxford: John Wiley & Sons.
- Demartino, G.N. & Ordway, G.A. (1998). Ubiquitin-proteasome pathway of intracellular protein degradation: implications for muscle atrophy during unloading. **Exerc. Sport Sci. Rev.**, 26, 219-252.
- Diaz, B.G., Moldoveanu, T., Kuiper, M.J., Campbell, R.L. & Davies, P.L. (2004). Insertion sequence 1 of muscle-specific calpain, p94, acts as an internal propeptide. **J Biol Chem.**, 279(26), 27656-66.
- Dirks, A. & Leeuwenburg, C. (2002). Apoptosis in skeletal muscle with aging. **Am J Physiol.**, 282, R519-527.
- Doherty, T.J (2001). The influence of aging and sex on skeletal muscle mass and strength. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, 4(6), 503-8.

- Doherty, T.J. (2003). Aging and sarcopenia. **Appl Physiol.**, 95, 1717-1727.
- Donohue, T.M. & Osona, N.A. (2003). Intracellular proteolytic systems in alcohol-induced tissue injury. **Alcohol Research & Health**, 27(4), 317-324.
- Du, J., Hu, Z. & Mitch, W.E. (2005). Molecular mechanisms activating muscle protein degradation in chronic kidney disease and other catabolic conditions. **Eur J Clin Invest.**, 35(3), 157-63.
- Du, J., Wang, X., Miereles, C., Bailey, J.L., Debigare, R., Zheng, B., Price, S.R. & Mitch, W.E. (2004). Activation of caspase-3 is an initial step triggering accelerated muscle proteolysis in catabolic conditions. **J. Clin Invest.**, 113, 115-123.
- Duckworth, W.C., Bennett, R.G. & Hamel, F.G. (1994). A direct inhibitory effect of insulin on a cytosolic proteolytic complex containing insulin-degrading enzyme and multicatalytic proteinase. **The Journal of Biological Chemistry**, 269(40), 24575-24580.
- Fitts, R.H., Danny, R.R. & Widrick, J.J. (2001). Functional and structural adaptations of skeletal muscle to microgravity. **The Journal of Experimental Biology**, 204, 3201-3208.
- Fryberg, D.A., Jahn, L.A., Hill, S.A., Oliveras, D.M. & Barret, E.J. (1995). Insulin and insulin-like growth factor-I enhance human skeletal muscle protein anabolism during hyperaminoacidemia by different mechanisms. **J Clin Invest.**, 96, 1722-1729.
- Furuno, K., Goodman, M.N. & Goldberg, A.L. (1990). Role of different proteolytic systems in the degradation of muscle proteins during denervation atrophy. **The J Biol Chem.**, 265(15), 8550-8557.
- Gastman, B.R. (2001). Apoptosis and its clinical impact. **Head Neck**, 23, 409-425.
- Gissel, H. & Clausen, T. (2001). Excitation-induced Ca²⁺ influx and skeletal muscle cell damage. **Acta Physiol Scand.** 171(3), 327-34.
- Glass, D.J. (2003). Molecular mechanisms modulating muscle mass. **Trends in Molecular Medicine**, 9(8), 344-350.
- Glickman, M.H. & Ciechanover, A. (2002). The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway: Destruction for the sake of construction. **Physiol Rev.**, 82, 373-428.
- Goll, D.E., Thompson, V.F., Li, H., Wei, W. & Cong, J. (2003). Valery, F., Thompson, H.L., Wei, W. & Jinyang, C. The calpain system. **Physiol Rev.**, 83, 731-801.
- Haddad, F., Roy, R.R., Zhong, H., Edgerton, V.R. & Baldwin, K.M. (2003a). Atrophy responses to muscle inactivity. I: Cellular markers of protein deficits. **J Appl Physiol.**, 95, 781-790.
- Haddad, F., Roy, R.R., Zhong, H., Edgerton, V.R. & Baldwin, K.M. (2003b). Atrophy responses to muscle inactivity II: Molecular markers of protein deficits. **J Appl Physiol.**, 95, 791-802.
- Hamel, F.G., Fawcett, J., Bennetta, R.G. & Duckworth, W.C. (2004). Control of proteolysis: hormones, nutrients, and the changing role of the proteasome. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, 7, 255-258.

- Hasselgren, P.O. (2002). Stress and Muscle Cachexia. **J Anim Sci.**, 80(E. Suppl. 2), E50–E55.
- Helliwel, T.R., Wilkinson, A., Griffiths, A.D., McClelland, P., Palmer, T.E.A. & Bone, J.M. (1998). Muscle fiber atrophy in critically ill patients is associated with the loss of myosin filaments and the presence of lysosomal enzymes and ubiquitin. **Neuropathology & Neurobiology**, 24, 507-517.
- Huang, J. & Forsberg, N.E. (1998). Role of calpain in skeletal-muscle protein degradation. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, 95, 12100–12105.
- Jackman, R.W. & Kandarian, S.C. (2004). The molecular basis of skeletal muscle atrophy. **Am J Physiol Cell Physiol.**, 287, C834-C843.
- Jagoe, R.T. & Goldberg, A.L. (2001). What do we really know about the ubiquitin-proteasome pathway in muscle atrophy? **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, 4, 183-190.
- Jones, S.W., Hill, R.J., Krasney, P.A., O'Conner, B., Peirce, N. & Greenhaff, P.L. (2004). Disuse atrophy and exercise rehabilitation in humans profoundly affects the expression of genes associated with the regulation of skeletal muscle mass. **FASEB J.**, 18, 1025-1027.
- Kadowaki, M., Harada, N., Takahashi, S., Noguchi, T. & Naito, H. (1989). Differential regulation of the degradation of myofibrillar and total proteins in skeletal muscle of rats: Effects of streptozotocin-induced diabetes, dietary protein and starvation. **Journal of Nutrition**, 119(3), 471-477.
- Kandarian, S.C. & Stevenson, E.J. (2002). Molecular events in skeletal muscle during disuse atrophy. **Exerc Sport Sci Rev.**, 30(3), 111-6.
- Kasper, C.E., Talbot, L.A. & Gaines, J.M. (2002). Skeletal muscle damage and recovery. **AACN Clin Issues**, 13(2), 237-47.
- Kawakami, Y., Muraoka, Y., Kubo, K., Suzuki, Y. & Fukunaga, T. (2000). Changes in muscle size and architecture following 20 days of bed rest. **J Gravit Physiol.**, 7(3), 53-9.
- Kee, A.J., Combaret, L., Tilgignac, T., Souweine, B., Aurousseau, E., Dalle, M., Taillandier, D. & Attaix, D. (2003). Ubiquitin-proteasome-dependent muscle proteolysis responds slowly to insulin release and refeeding in starved rats. **J Physiol.**, 546(3), 765–776.
- Kettelhut, I.C., Pepato, M.T., Migliorini, R.H., Medina, R. & Goldberg, A.L. (1994). Regulation of different proteolytic pathways in skeletal muscle in fasting and diabetes mellitus. **Brazilian J Med Biol Res.**, 27, 981-993.
- Koşar, Ş.N. (2003). Sıcak şoku proteini 72 (HSP72)'nin diyabetik sıçanlarda kas atrofisi üzerine etkisi. Yayımlanmamış doktora tezi. Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Krüger, E., Kloetzel, P.M. & Enenkel, C. (2001). 20S proteasome biogenesis. **Biochimie**, 83, 289-293.
- LeBlanc, A.D., Schneider, V.S., Evans, H.J., Pientok, C., Rowe, R. & Spector, E. (1992). Regional changes in muscle mass following 17 weeks of bed rest. **J Appl Physiol.**, 73(5), 2172-8.

- Lecker, S.H., Solomon, V., Mitch, W.E. & Goldberg, A.L. (1999). Muscle protein breakdown and the critical role of the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. **The Journal of Nutrition**, 29(1), 227S-237S.
- Lecker, S.H., Jagoe, R.T., Gilbert, A., Gomes, M., Baracos, V., Bailey, J., Price, S.R., Mitch, W.E. & Goldberg, A.L. (2004). Multiple types of skeletal muscle atrophy involve a common program of changes in gene expression. **FASEB J.**, 18, 39-51
- Lee, D.H. & Goldberg, A.L. (1998). Proteasome inhibitors: valuable new tools for cell biologists. **Trends in Cell Biology**, 8, 397-403.
- Libera, L.D., Ravara, B., Angelini, A. Rossini, K., Sandri, M., Thiene, G., Ambrosio, G.B. & Vescovo, G. (2001). Beneficial effects on skeletal muscle of the angiotensin II type 1 receptor blocker irbesartan in experimental heart failure. **Circulation**, 103, 2195-2200.
- Libera, L.D., Ravara, B., Volterrani, M., Gobbo, V., Barbera, M.D., Angelini, A., Betto, D.D., Germinario, E. & Vescovo, G. (2004). Beneficial effects of GH/IGF-1 on skeletal muscle atrophy and function in experimental heart failure. **Am J Physiol Cell Physiol.**, 286, C138-C144.
- Ma, K., Mallidis, C., Bhasin, S., Mahabadi, V., Artaza, J., Gonzalez-Cadavid, N., Arias, J. & Salehian, B. (2003). Glucocorticoid-induced skeletal muscle atrophy is associated with upregulation of myostatin gene expression. **Am J Physiol Endocrinol Metab.**, 285, E363-E371.
- Machida, S. & Booth, F.W. (2004). Regrowth of skeletal muscle atrophied from inactivity. **Med Sci Sports Exerc.**, 36(1), 52-59.
- Mador, M.J. & Bozkanat, E. (2001). Skeletal muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease. **Respir Res.**, 2, 216-224.
- Mansoor, O., Beaufrere, B., Boirie, Y., Ralliere, C., Taillandier, D., Aurousseau, E., Pschoeffler, P., Arnal, M. & Attix, D. (1996). Increased mRNA levels for components of the lysosomal, Ca²⁺-activated, and ATP-ubiquitin-dependent proteolytic pathways in skeletal muscle from head trauma patients. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, 93, 2714-2718.
- Minnaard, R., Drost, M.R., Wagenmakers, A.J.M., Van Kranenburg, G.P., Kuipers, H. & Hesselink, M.K.C. (2005). Skeletal muscle wasting and contractile performance in septic rats. **Muscle Nerve**, 31, 339-348.
- Mitch, W.E., Goldberg, A.L. (1996). Mechanisms of muscle wasting: The role of the ubiquitin-proteasome pathway. **The New England Journal of Medicine**, 335 (25), 1897-1905.
- Mitch, W.E. (1998). Mechanisms causing loss of lean body mass in kidney disease. **Am J Clin Nutr.**, 67, 359-66.
- Mitch, W.E. & Price, S.R. (2001). Mechanisms activated by kidney disease and the loss of muscle mass. **American Journal of Kidney Diseases**, 38(6), 1337-1342.
- Mortimore, G.E., Miotto, G., Venerando, R. & Kadowaki, M. (1996). Autophagy. **Subcell Biochem.**, 27, 93-135.

- Mortimore, G.E., Poso, A.R. & Lardeux, B.R. (1989). Mechanism and regulation of protein degradation in liver. **Diabetes Metab Rev.**, 5, 49–70.
- Myung, J., Kim, K.B. & Crews, C.M. (2001). The ubiquitin-proteasome pathway and proteasome inhibitors. **Medicinal Research Reviews**, 21(4), 245-273.
- Ono, Y., Kakinuma, K., Torii, F., Irie, A., Nakagawa, K., Labeit, S., Abe, K., Suzuki, K. & Sorimachi, H. (2004). Possible regulation of the conventional calpain system by skeletal muscle-specific calpain, p94/calpain 3. **J Biol Chem.**, 279(4), 2761-71.
- Powers, S.K., Kavazis, A.N. & DeRuisseau, K.C. (2005). Mechanisms of disuse muscle atrophy: role of oxidative stress. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.**, 288, R337–R344.
- Pramperoa, P.E. & Narici, M. V. (2003). Muscles in microgravity: from fibres to human motion. **Journal of Biomechanics**, 36, 403–412.
- Price, S.R., England, B.K., Bailey, J.L., Wang, X., Jurkovitz, C., England, B.K., Phillips, L.S. & Mitch, W.E. (1996). Muscle wasting in insulinopenic rats results from activation of the ATP-dependent, ubiquitin-proteasome proteolytic pathway by a mechanism including gene transcription. **J. Clin. Invest.**, 98(8), 1703-1708.
- Price, S.R., Du, J., Bailey, J.L. & Mitch, W.E. (2001). Molecular mechanisms regulating protein turnover in muscle. **American Journal of Kidney Disease**, 37(1, suppl 2), S112-S114.
- Price, S.R. (2003). Increased transcription of ubiquitin-proteasome system components: molecular responses associated with muscle atrophy. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, 35, 617–628.
- Reid, M.B. & Li, Y.P. (2001). Tumor necrosis factor- α and muscle wasting: a cellular perspective. **Respir Res.**, 2, 269–272.
- Rennie, M.J., Wackerhage, H., Spangenburg, E.E. & Booth, F.W. (2004). Control of the size of the human muscle mass. **Annual Review of Physiology**, 66, 799-828.
- Rodriguez, T., Alvarez, B., Busquets, S., Carbo, N., Lopez-Soriano, F.J. & Argiles, J.M. (1997). The Increased Skeletal Muscle Protein Turnover of The Streptozotocin Diabetic Rat is Associated with High Concentrations of Branched-Chain Amino Acids. **Biochem Mol Med.**, 61(1), 87-94.
- Roth, S.M. & Walsh, S. (2004). Myostatin: a therapeutic target for skeletal muscle wasting. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, 7, 259–263.
- Sandri, M. (2002). Apoptotic signaling in skeletal muscle fibers during atrophy. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, 5, 249-253.
- Schulze, P.C., Gielen, S., Schuler, G., & Hambrecht, R. (2002). Chronic heart failure and skeletal muscle catabolism: effects of exercise training. **International Journal of Cardiology**, 85, 141–149.
- Shanely, R.A., Zengeroglu, M.A., Lennon, S.L., Sugiura, T., Yimlamai, T., Enns, D., Belcastro, A. & Powers, S.K. (2002). Mechanical ventilation-induced diaphragmatic atrophy is associated with oxidative injury and increased proteolytic activity. **Am J**

- Respir Crit Care Med.**, 166, 1369–1374.
- Smith, O.L., Wong, C.Y. & Gelfand, R.A. (1989). Skeletal muscle proteolysis in rats with acute streptozotocin-induced diabetes. **Diabetes**, 38(9), 1117–1122.
- Solomon, V. & Goldberg, A.L. (1996). Importance of the ATP-ubiquitin-proteasome pathway in the degradation of soluble and myofibrillar proteins in rabbit muscle extracts. **J. Biol. Chem.**, 271(43), 26690–26697.
- Stevenson, E.J., Giresi, P.G., Koncarevic, A. & Kandarian, S.C. (2003). Global analysis of gene expression patterns during disuse atrophy in rat skeletal muscle. **J Physiol.**, 551(1), 33–48.
- Szweda, P.A., Friguet, B. & Szweda, L.I. (2002). Proteolysis, free radicals, and aging. **Free Radical Biology & Medicine**, 33(1), 29–36.
- Taillandier, D., Aurousseau, E., Meynial-Denis, D., Bechet, D., Ferrara, M., Cottin, P., Ducastaing, a., Bigards, X., Guezennec, C.Y., Schimid, H.P. & Attaix, D. (1996). Coordinate activation of lysosomal, Ca²⁺-activated and ATP-ubiquitindependent proteinases in the unweighted rat soleus muscle. **Biochem J.**, 316, 65–72.
- Tawa, N.E., Odessey, R. & Goldberg, A.L. (1997). Inhibitors of the proteasome reduce the accelerated proteolysis in atrophying rat skeletal muscles. **J Clin Invest.**, 100, 197–203.
- Tews, D.S. (2002). Apoptosis and muscle fibre loss in neuromuscular disorders. **Neuromuscular Disorders**, 12, 613–622.
- Thomason, D.B., Biggs, R.B. & Booth, F.W. (1989). Protein metabolism and b-myosin heavy-chain mRNA in unweighted soleus muscle. **Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physiol.**, 257, R300–R305.
- Thomason, D.B. & Booth, F.W. (1990). Atrophy of the soleus muscle by hindlimb unweighting. **Am J Physiol.**, 68, 1–12.
- Tidball, J.G. & Spencer, M.J. (2002). Expression of a calpastatin transgene slows muscle wasting and obviates changes in myosin isoform expression during murine muscle disuse. **Journal of Physiology**, 545(3), 819–828.
- Tischler, M.E., Rosenberg, S., Satarug, S., Henriksen E.J., Kirby, C.R., Tome, M. & Chase, P. (1990). Different mechanisms of increased proteolysis in atrophy induced by denervation or unweighting of rat soleus muscle. **Metabolism**, 39, 756–763.
- Vescovo, G., Volterrani, M., Zennaro, R., Sandri, M., Ceconi, C., Lorusso, R., Ferrari, R., Ambrosio, G.B. & Dalla, L.L. (2000). Apoptosis in the skeletal muscle of patients with heart failure: investigation of clinical and biochemical changes. **Heart**, 84, 431–437.
- Voisin, L., Breuillé, D., Combaret, L., Pouyet, C., Taillandier, D., Aurousseau, E., Obled, C. & Attaix, D. (1996). Muscle wasting in a rat model of long-lasting sepsis results from the activation of lysosomal, Ca²⁺-activated, and ubiquitin-proteasome proteolytic pathways. **J. Clin. Invest.**, 7, 1610–1617.
- Wagenmakers, A.J.M. (2000). Muscle function in critically ill patients. **Clinical Nutrition**, 20(5), 451–454.

- Williams, A.B., Decourten-Meyers, G.M, Fischer, J.E., Luo, G., Sun, X. & Hasselgren, P.O. (1999). Sepsis stimulates release of myofilaments in skeletal muscle by a calcium-dependent mechanism. **FASEB J.** 13, 1435–1443.
- Willoughby, D.S., Sultemeire, S. & Brown, M. (2003). Human muscle disuse atrophy after 28 days of immobilization in a lower-limb walking boot: A case study. **Journal of Exercise Physiology**, 6(2), 88-96.
- Zhang, J.H., Zhang, Y. & Herman, B. (2003). Caspases, apoptosis and aging. **Ageing Research Reviews**, 2, 357–366.
- Zinna, E.M. & Yarasheski, K.E. (2003). Exercise treatment to counteract protein wasting of chronic diseases. **Curr Opin Clin Nutr Metab Care**, 6, 87-93.