

Sıçanlarda REM Uyku Yoksunluğunun İskelet Kası Myostatin Düzeylerine Etkisi

İsmetcan İLERİ¹, İnci TURAN²

¹Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıp Öğrencisi, Zonguldak, Türkiye

²Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye

Bu makaleye yapılacak atıf: İleri İ ve Turan İ. Sıçanlarda REM uyku yoksunluğunun iskelet kası myostatin düzeylerine etkisi. Turk J Diab Obes 2023;2: 93-101.

ÖZ

Amaç: Uyku, kas metabolizması için önemli faktörlerden biridir. Uyku yoksunluğunun (UY) kas rejenerasyonunu bozduğu gösterilmiştir. Myostatin iskelet kası hücreleri tarafından eksprese edilir ve kas büyümesini sınırlandırır. Çalışmamızın amacı, sıçanlarda akut uyku yoksunluğunun iskelet kası myostatin düzeyleri üzerindeki etkilerini değerlendirmektir.

Gereç ve Yöntemler: Yirmi bir erkek Wistar albino sıçan (200-250g) rastgele üç gruba (n=7) ayrılmıştır: Kontrol grubu, Geniş platform (GP) grubu ve UY grubu. REM UY, 72 saat boyunca modifiye çoklu platform yöntemi kullanılarak indüklenmiştir. Lökomotor aktivite gruplar arasında açık alan testi (OFT) kullanılarak değerlendirilmiştir. Gastroknemius ve soleus kas dokuları alınmış ve kas dokularında myostatin, malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH) ve glikojen seviyeleri ölçülmüştür.

Bulgular: Bu çalışma, akut UY'nin kontrol grubuna kıyasla soleus kasında myostatin (1161±39,55) ve MDA (115,37±8,47) seviyelerinde artışa neden olduğunu göstermiştir (sırasıyla p=0,036 ve p=0,01). OFT'de geçilen kare sayısı diğer gruplarla karşılaştırıldığında artmıştır (56,33±22,02) (p=0,001 ve p=0,044). Gastroknemius kasında GSH (4,86±0,26) ve glikojen seviyeleri (5,13±0,21) UY grubunda azalmıştır (sırasıyla p=0,007 ve p=0,028).

Sonuç: Bu veriler, REM uyku yoksunluğunun iskelet kasındaki myostatin seviyelerini ve oksidatif stres parametrelerini farklı kas tiplerinde farklı miktarlarda değiştirerek kas metabolizmasını etkilediğini gösterebilir.

Anahtar Sözcükler: Akut REM uyku yoksunluğu, Myostatin, İskelet kası

The Effects of REM Sleep Deprivation on Skeletal Muscle Myostatin Levels in Rats

ABSTRACT

Aim: Sleep is one of the crucial factors for muscle metabolism. It has been shown that sleep deprivation (SD) impairs muscle regeneration. Myostatin is expressed by skeletal muscle cells and limits muscle growth. The purpose of our study was to evaluate the effects of acute sleep deprivation on skeletal muscle myostatin levels in rats.

Material and Methods: Twenty one male Wistar albino rats (200-250g) were randomly allocated in to three groups (n=7): Control group, Wide platform (WP) group and SD group. REM SD was induced by using the modified multiple platform method for 72 hours. The locomotor activity were evaluated among groups using open field test (OFT). Gastrocnemius and soleus muscle tissue were harvested and the levels of myostatin, malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) and glycogen was measured in the muscle tissues.

Results: This study showed that acute SD caused an increase in myostatin (1161±39.55) and MDA levels (115.37±8.47) in the soleus muscle compared to the control group (respectively p=0.036 ve p=0.01). Compared with the other groups, the number of crossing square was increased in OFT (56.33±22.02) (p=0.001 ve p=0.044). GSH (4.86±0.26) and glycogen levels (5.13±0.21) in gastrocnemius muscle was decreasead in SD group (respectively p=0.007 ve p=0.028).

Conclusion: These data may represent that REM sleep deprivation affects muscle metabolism by changing myostatin levels and oxidative stress parameters in skeletal muscle to different extents in different muscle types.

Keywords: Acute REM sleep deprivation, Myostatin, Skeletal muscle

ORCID: İsmetcan İleri / 0009-0002-4712-6017, İnci Turan / 0000-0003-2211-3914

Yazışma Adresi / Correspondence Address:

İnci TURAN

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Zonguldak, Türkiye
Tel: 0 (210) 210 38 74 • E-posta: dr.incituran@gmail.com

DOI: 10.25048/tudod.1342082

Geliş tarihi / Received : 12.08.2023

Revizyon tarihi / Revision : 22.08.2023

Kabul tarihi / Accepted : 23.08.2023



GİRİŞ

Uyku canlıların çoğu için vazgeçilmezdir ve yapılan çalışmalar uykunun statik bir dinlenme sürecinden çok doğası gereği heterojen ve dinamik bir süreç olduğunu göstermiştir. Uyku, hızlı göz hareketleri (REM) ile kendini gösteren aktif bir dönemden, yavaş dalga uykusu olarak (non-REM) bilinen aktif olmayan veya durgun bir döneme geçiş yapan dönemlerden oluşmaktadır (1). Uyku, metabolizma, iştahın düzenlenmesi, bağışıklık, hormonal süreçler ve kardiyovasküler sistemlerin işleyişi dahil olmak üzere normal fizyolojinin devam ettirilmesinde kritik bir rol oynar (2). Uyku aynı zamanda vücudun onarıcı süreçlerinde önemli bir role sahiptir (2). Yapılan çalışmalar, uyku yoksunluğunun hipokampal öğrenme ve sinaptik plastisitenin değişmesiyle ilişkili hafıza konsolidasyonunda bozulmaya neden olduğunu göstermiştir. (3,4). Uyku aynı zamanda bilişsel işlevi ve ruh halini etkiler; ve bu nedenle, uyku yoksunluğu anksiyete ve depresif benzeri davranışlara yol açar (5, 6). Uyku yoksunluğu tüm vücut homeostazisini bozarak kısa ve uzun vadede istenmeyen metabolik etkilere yol açmaktadır. Karaciğer, kas ve yağ dokusu dahil olmak üzere metabolik olarak aktif dokular uyku yoksunluğundan etkilenmektedir (7). Uyku yoksunluğu hipotalamus/hipofizer/adrenal aks aktivasyonuna neden olarak hormonal dengeyi bozmaktadır (8). Hormon ve metabolitler incelendiğinde, uyku yoksunluğu aşırı yemeye yatkınlık yaratacak bir metabolik profile yol açıyor görünmektedir (9). Bu durum vücutta kas/yağ oranının bozulmasına neden olabilmektedir. Yapılan çalışmalar uykunun kas metabolizması üzerinde modülatör rolü olduğunu düşündürmektedir. Uyku yoksunluğunun kas atrofisine neden olduğu ve kas rejenerasyonunu engellediği gösterilmiştir (10,11). Ancak bu durumun altında yatan olası mekanizmalar hormonal olarak açıklanmaya çalışılsa da hâlâ tam olarak anlaşılamamıştır. Myostatin iskelet kas gelişimi için oldukça önemli olan Transforming Growth Factor-Beta (TGF- β) süperailisinin üyelerinden olan bir proteindir. Myostatin normal şartlar altında kas hipertrofisini engellerken, myostatinin inhibe olması kas hipertrofisini tetiklemektedir (12). Diyabet, obezite ve immobilizasyon gibi çeşitli patolojik süreçler myostatin düzeylerini artırarak kas atrofisine neden olmaktadır (12-14). Ancak uyku yoksunluğunun kas myostatin düzeyleri üzerindeki etkisi bilinmemektedir. Çalışmamızın amacı, sıçanlarda akut REM uyku yoksunluğunun neden olduğu iskelet kası değişikliklerini incelemek ve olası mekanizma olarak myostatin düzeylerini değerlendirmektir.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalışmamızda 200-250 gr ağırlığında, genç erişkin, 21 adet erkek Wistar albino cinsi sıçan kullanılmış olup, aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip denekler seçilmiştir.

Bütün hayvanlar standart sıçan yemi ve su ile beslenerek 12 saat aydınlık ve karanlık siklusunda tutulmuştur. Sıçanlar Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilmiştir. Tüm deneysel prosedür Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (Etik Kurul no: 2022-14-02/06). Sıçanlar rastgele olacak şekilde; her bir grupta 7 hayvan olmak üzere toplam 3 gruba ayrılmıştır.

Deney grupları:

1. Kontrol grubu-Normal kafeslerde tutulup herhangi bir işlem yapılmayan grup.

2. Uyku yoksunluğu (UY) grubu: Bu gruptaki deneklere 72 saat süre ile uyku yoksunluğu uygulanmıştır. Uyku yoksunluğu oluşturmak için modifiye multiple platform metodu kullanılmıştır (15). Bu methoda denekler içerisinde su ve platformların bulunduğu polipropilen kafeslere konulmaktadır. Kafes içerisinde 12 adet 6,5 cm çapında ve 10 cm yüksekliğinde platform bulunmaktadır. Platformların arasında 10 cm'lik mesafe vardır. Sıçanlar platformlar arasında rahatça hareket edebilmektedir. Kafesin içi platformların yaklaşık 1 cm altına kadar su ile doludur. Böylece platforma konulan sıçanlar REM uykusuna giriş yaptıklarında kas tonusunun kaybolması sonucu suya düşmektedir ve uyumaları engellenerek REM uyku yoksunluğu oluşturulmaktadır. Uyku yoksunluğu sıçanlara 72 saat süreyle uygulanmıştır.

3. Geniş platform (GP) grubu: Bu gruptaki deneklere uyku yoksunluğu oluşturulmamıştır, yalnızca çevresel faktörlerin etkisi olup olmadığını araştırmak için uyku yoksunluğu oluşturulacak grup ile aynı zamanda ve sürede geniş platformların olduğu kafeslerde barındırılmıştır. Geniş platform grubundaki denekler 14 cm lik platformların bulunduğu içi su dolu benzer kafeslerde barındırılmıştır.

Çalışmada tüm deneklerin ilk ve son gün ağırlıkları ölçülmüştür. Uyku yoksunluğu prosedürü tamamlandıktan sonra lökomotor aktiviteyi değerlendirmek için sıçanlara açık alan testi uygulanmıştır. Davranış testinin tamamlanmasından sonra hayvanlar feda edilerek gastrocnemius ve soleus kas dokuları sağ bacaklarından izole edilmiştir ve yaş ağırlıkları ölçülmüştür, ardından biyokimyasal analizler için -80°C'de saklanmıştır. Kas doku ağırlığı/vücut ağırlığı oranlanarak kas indeksleri elde edilmiştir.

Açık Alan Testi (Open Field Test)

Lökomotor aktivite açık alan testi ile değerlendirilmiştir (16). Açık alan testi, kemirgenlerde anksiyeteyi ve lökomotor aktiviteyi ölçmek için kullanılmaktadır. Açık alan, 30 cm yüksekliğinde bir duvarla çevrili olan 16 kareye bölünmüş bir alandan meydana gelmektedir. Ortada bulunan kareler,

alanın “merkezi” olarak kabul edilmektedir. Test, sıçanın alanın ortasına bırakılmasıyla başlamaktadır. Test 5 dakika boyunca sürmekte ve bu sırada kamera kaydı alınmaktadır. Bu süre boyunca merkezde geçirilen süre ve geçilen kare sayısı kayıtlardan izlenerek hesaplanmıştır. Açık alan testinde geçilen kare sayısı lökomotor aktivitenin artmasıyla ilişkilidir. Davranış testi bittikten sonra sıçanlar feda edilmiş ve gastroknemius ve soleus kas dokuları izole edilerek ağırlıkları tartılmıştır. Ardından kas dokularında myostatin düzeyleri, glikojen tayini ve oksidatif stres parametrelerinden malondialdehid (MDA) ve indirgenmiş glutatyon (GSH) düzeyleri ölçülmüştür.

Myostatin Düzeyleri

İskelet kası dokusunda myostatin düzeyi ticari kit (Sunred Biological Technology Co., Ltd, China, cat #: 201111071) kullanılarak ölçülmüştür. Bu amaçla ticari kitin önerdiği şekilde çalışma prosedürüne uygun olarak myostatin düzeyleri belirlenmiştir. Ticari kitin kullanma kılavuzuna göre ELISA ölçümü gerçekleştirilmiştir.

Kas Dokusu Glikojen Düzeyinin Ölçümü

Kas dokusunda glikojen düzeyleri spektrofotometrik yöntem ile ölçülmüştür (17). Bu amaçla alınan doku örnekleri KOH ile kaynar su banyosunda 30 dk bekletilip, ardından %95'lik etanol eklenerek 2400 rpm'de santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant atılarak kalan peletler distile su ile sulandırılmıştır. Bu örnekten 1ml alıp üzerine %5'lik fenol ve sülfirik asit (H_2SO_4) eklenmiştir. Su banyosunda 20 dakika bekletilen örnekler spektrofotometrede 490 nm'de okunmuştur. Örneklerin glikojen düzeyleri hazırlanan standart eğrinin optik dansite değerine göre hesaplanmıştır.

Oksidatif Stres Parametrelerinin Ölçümü

Malondialdehid Düzeyi

MDA seviyesi, lipid peroksidasyon göstergesidir ve spektrofotometrik olarak değerlendirilmiştir (18). Kısaca elde edilen kas doku örnekleri tartılmıştır. Tartılan dokuya 9 kat olacak şekilde soğuk %10'luk triklorasetik asit eklenmiştir. Örnek mekanik homojenizatörde homojenize edilip (18-20 °C'de) 3000g'de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Elde edilen süpernatant üzerine 10 µl %1'lik butilhidroksi toluen eklenmiştir. Ardından tiyobarbitürik asit eklenip 15 dakika kaynatma işlemi yapılmıştır. Son olarak örnekler spektrofotometrede (535 nm'de) okunmuştur.

GSH Tayini

GSH seviyesi spektrofotometrik değerlendirilmiştir (19). GSH major endojen bir antioksidandır. MDA tayininde elde edilen süpernatana 1 ml 0,3M Na_2HPO_4 eklenir. Ditio-

bisnitrobenzoat eklendiğinde vorteksleme sonrası örnekler 412 nm'de spektrofotometrede okunmuştur.

İstatistiksel Değerlendirme

SPSS 22 paket programı kullanılarak gruplar arasında farklılıkları değerlendirmek için one-way ANOVA testi kullanılmıştır. Farklılığın bulunması durumunda grup içi değerlendirme Bonferroni testi ile yapılmıştır. Verilerin normallik testi Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirilmiştir. p değerinin 0,05'den küçük olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

BULGULAR

OFT Bulguları

Açık alan testinde UY grubu, hem kontrol hem de GP grubu ile kıyaslandığında geçilen kare sayısında anlamlı şekilde artış bulunmaktadır ($p=0,001$ ve $p=0,044$) (Şekil 1A). Yani uyku yoksunluğu lökomotor aktiviteyi artırmıştır. Gruplar arasında merkezde ve periferde geçirilen süreler karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 1B,1C).

Vücut Ağırlıkları, Kas İndeksleri ve Myostatin Düzeyleri

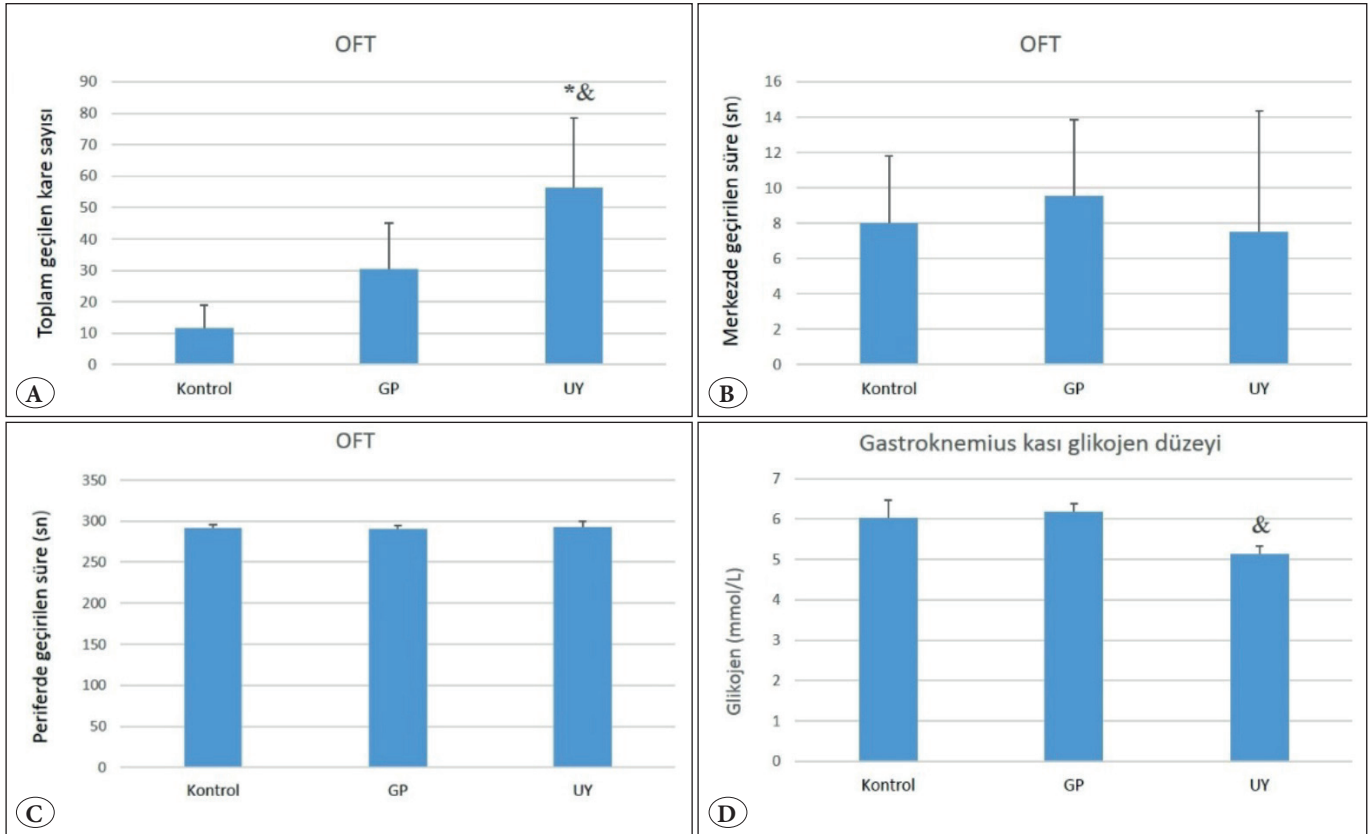
Vücut ağırlıkları incelendiğinde, gruplar arasında ve grupların ilk ve son gün ağırlıkları arasında istatistiksel fark saptanmamıştır ($p>0,05$) (Şekil 2A). REM UY ve GP gruplarının ağırlıklarında azalma gözlenmesine rağmen bu azalma anlamlı değildir.

Gastroknemius kas indeksi ve soleus kas indeksi incelendiğinde gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır (sırasıyla $p=0,75$ ve $p=0,0145$) (Tablo 1, Şekil 2B ve Şekil 2C).

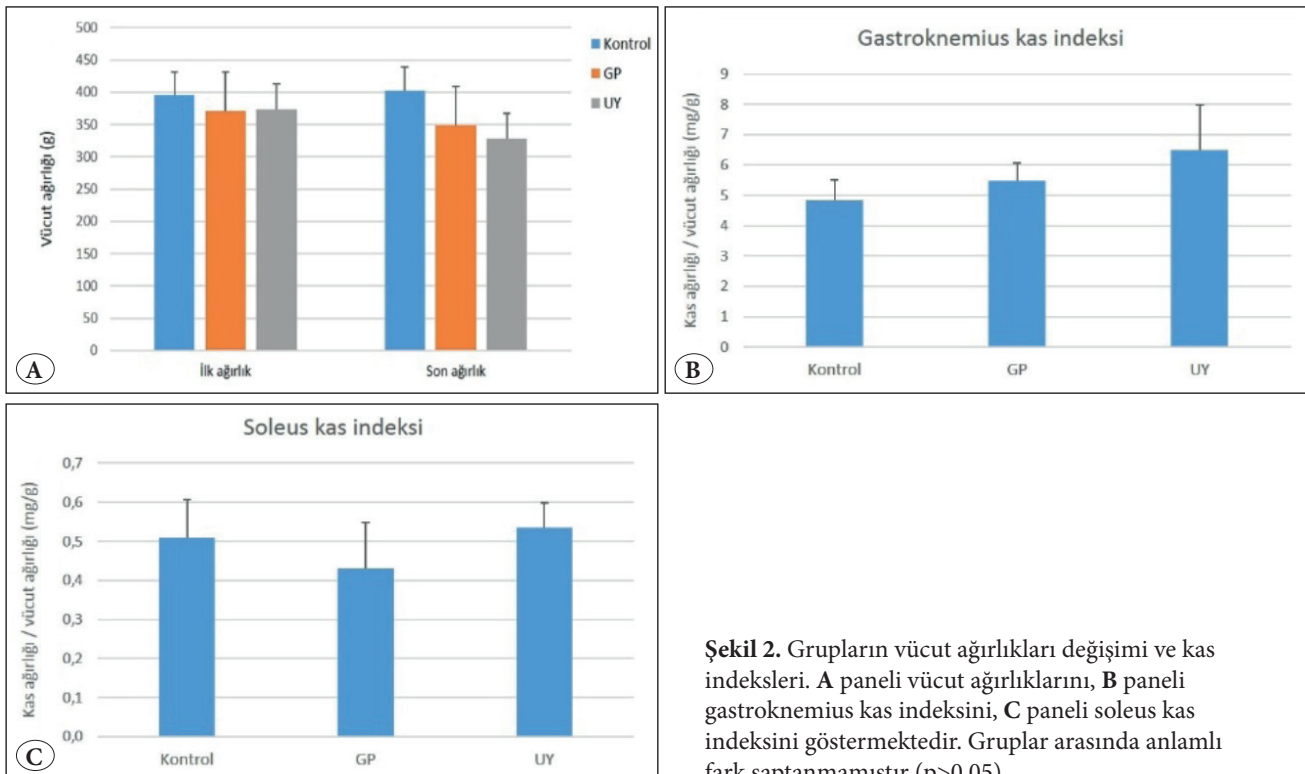
Gastroknemius kası myostatin düzeyleri UY grubunda GP grubuna göre anlamlı şekilde artmıştır ($p=0,035$) (Tablo 1, Şekil 3A). Soleus kası myostatin düzeyleri UY grubunda kontrol grubuna oranla yükselmiştir ($p=0,036$) (Tablo 1, Şekil 3B).

Kas Oksidatif Stres Parametreleri ve Glikojen Düzeyleri

Gastroknemius kası MDA düzeyleri açısından gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır. ($p>0,05$) (Tablo 1, Şekil 4A). Soleus kası MDA düzeyi UY grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur ($p=0,01$) (Tablo 1, Şekil 4B). Gastroknemius kası GSH düzeyi UY grubunda kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur ($p=0,007$) (Tablo 1, Şekil 4C). Soleus kası GSH düzeyleri açısından gruplar arasında fark bulunmamıştır ($p=0,117$) (Tablo 1, Şekil 4D). Gastroknemius kası glikojen düzeyi UY grubunda GP grubuna göre düşük saptanmıştır ($p=0,037$) (Tablo 1, Şekil 1D).



Şekil 1. Gruplar arasında OFT sonuçları ve glikojen düzeyi. A paneli toplam geçirilen kare sayısını, B paneli merkezde geçirilen süreyi, C paneli periferde geçirilen süreyi ve D paneli gastroknemius kası glikojen düzeyini göstermektedir. * $p < 0,05$ Kontrol grubuna göre, & $p < 0,05$ GP grubuna göre farklılığı göstermektedir.

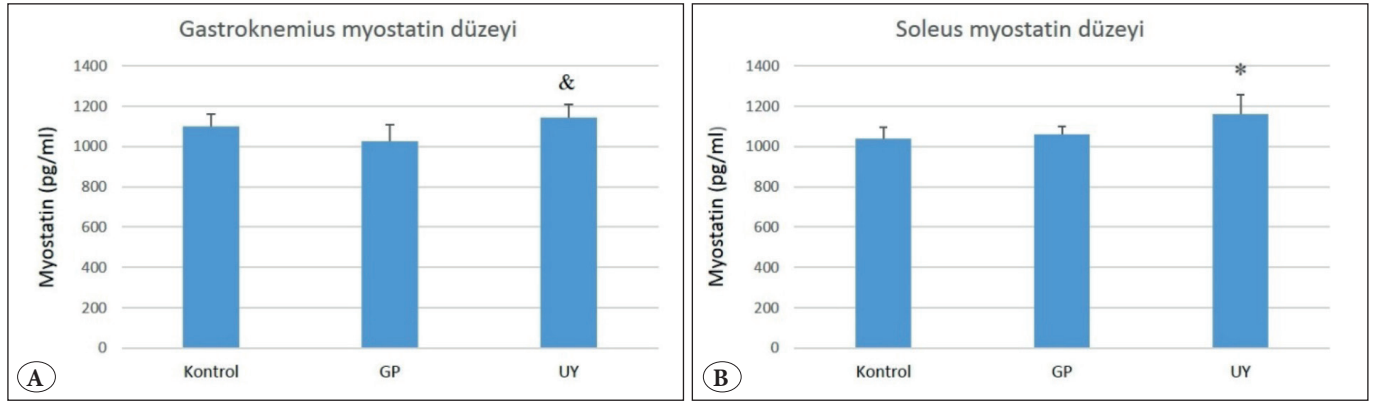


Şekil 2. Grupların vücut ağırlıkları değişimi ve kas indeksleri. A paneli vücut ağırlıklarını, B paneli gastroknemius kas indeksini, C paneli soleus kas indeksini göstermektedir. Gruplar arasında anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 1: Uyku yoksunluğunun iskelet kası MDA, GSH, myostatin ve kas indeksleri düzeylerine etkisi.

	Kontrol	GP	UY	P
Gastroknemius kası MDA (nmol/g)	48,46±4,83	40,25±4,52	55,83±5,56	>0,05
Soleus kası MDA (nmol/g)	57,60±4,26	92,94±16,74	115,37±8,47*	0,001
Gastroknemius kası GSH (µmol/g)	6,23±0,20	7,22±0,34	4,86±0,26*	0,007
Soleus kası GSH (µmol/g)	10,32±1,31	16,18±2,73	13,57±1,80	0,117
Gastroknemius kası myostatin (pg/ml)	1097,96±22,75	1027,01±33,69	1144,08±25,78*	0,035
Soleus kası myostatin (pg/ml)	1038,44±26,07	1058,71±16,52	1161±39,55*	0,023
Gastroknemius kası glikojen (mmol/L)	6,04±0,42	6,18±0,21	5,13±0,21*	0,028
Gastroknemius kas indeksi (mg/g)	4,83±0,68	5,49±0,57	6,48±1,49	0,075
Soleus kas indeksi (mg/g)	0,50±0,09	0,43±0,11	0,53±0,06	0,145

GP: Geniş Platform grubu, **UY:** Uyku Yoksunluğu grubu **MDA:** Malondialdehyde, **GSH:** Glutathione, *: kontrol grubuna göre, &: GP grubuna göre farklılığı göstermektedir. Değerler ortalama±standart hata olarak verilmiştir.



Şekil 3. Grupların myostatin düzeyleri. **A** paneli gastroknemius kası myostatin düzeyini, **B** paneli soleus kası myostatin düzeyini göstermektedir. * p<0,05 Kontrol grubuna göre, & p<0,05 GP grubuna göre farklılığı göstermektedir.

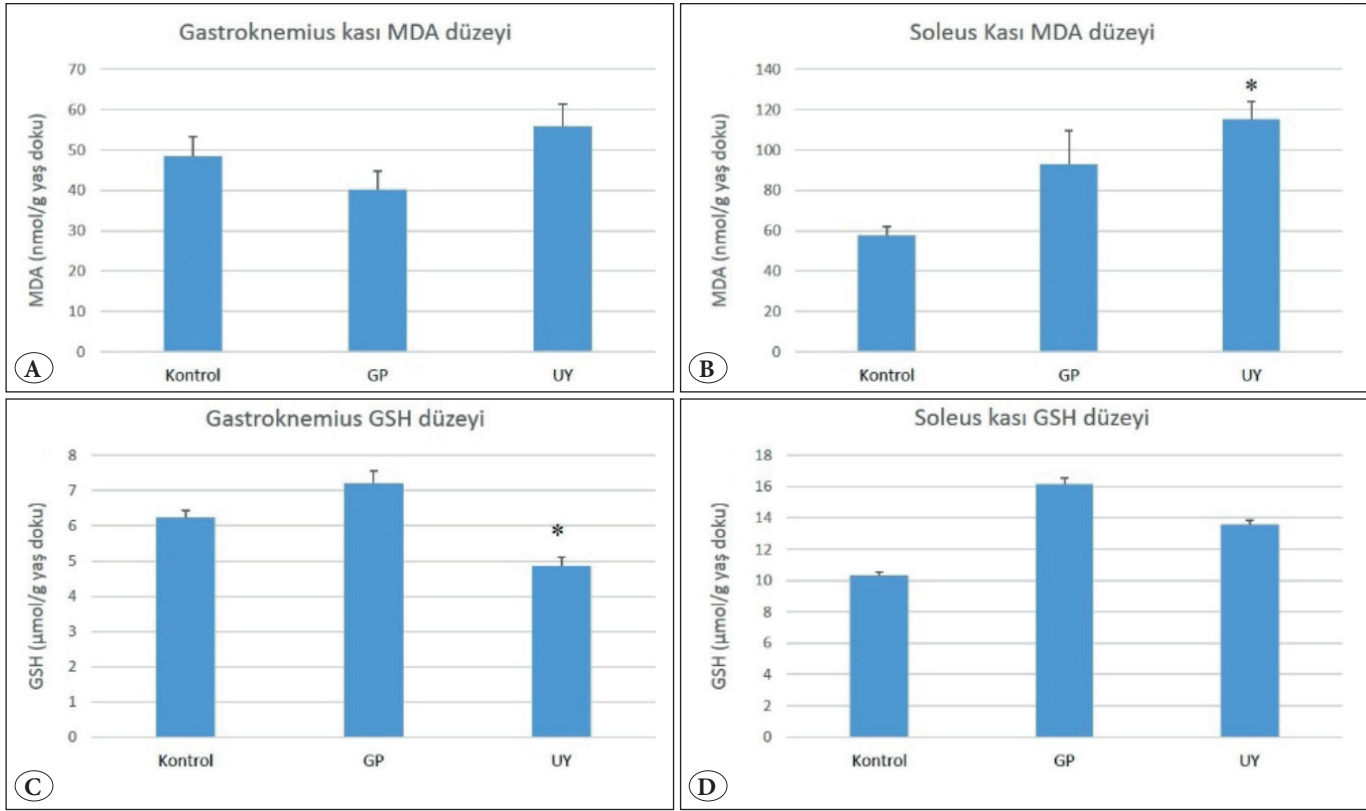
TARTIŞMA

Çalışmamız akut REM uyku yoksunluğu oluşturulan sıçanların gastroknemius ve soleus kasında bazı metabolik parametrelerin değişebileceğini göstermiştir. Sonuçlarımız uyku yoksunluğunun lökomotor aktiviteyi artırdığını, soleus kasında myostatin düzeylerini ve MDA düzeylerini artırdığını, gastroknemius kasında ise GSH seviyelerini düşürdüğünü göstermiştir.

Uyku, vücut homeostazisinin sürdürülmesinde ve normal fizyolojik ve psikolojik fonksiyonların korunmasında kritik bir rol oynamaktadır (20). Uyku, metabolizma, bağışıklık sistemi, endokrin sistem, kas-iskelet sistemi ve bilişsel süreçleri etkilemektedir. Uyku vücuttaki birçok organ ve doku ile karmaşık ve genellikle çift yönlü bir ilişkiye sahiptir (20). Uyku yoksunluğu birçok sistemi etkilediği gibi, iskelet ve kas sistemini de negatif etkilemektedir. Uyku yoksunluğunun kas atrofisine katkıda bulunduğu birçok çalışma tarafından gösterilmiştir (10, 21, 22). REM UY oluşturulan sıçanlarda vücut yağında ve kasta bir azalma meydana gelmektedir. Dattilo ve ark. ratlarda 96 saatlik uyku yoksunlu-

ğunun vücut yağ ve kas kütlelerinde azalma meydana gelmesi nedeniyle vücut ağırlığında düşmeye neden olduğunu bildirmişlerdir (10). Dahası kas kütleindeki değişimi testosteron gibi anabolik hormonların azalışına ve kortikosteron gibi katabolik hormonların artışına bağlamışlardır. Bu hormonal dengesizliklerin, protein sentezi ve protein yıkımındaki dengeyi bozabileceği ve kas atrofisine neden olabileceği bildirilmektedir (10). Tek gecelik uyku yoksunluğunun dahi, sağlıklı genç yetişkinlerden oluşan bir popülasyonda iskelet kası protein sentezini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (7). Bizim çalışmamızda REM uyku yoksunluğu oluşturulan sıçanlarda ve GP grubunda vücut ağırlıkları düşme eğilimi gösterse de bu düşüş anlamlı çıkmamıştır.

Kas metabolizmasında ve kasılabilirliğinde etkili olan proteinlerin farklılık göstermesi farklı kas lifi tiplerinin oluşmasını sağlamıştır (23). Kas lifi tipleri metabolik ve kasılabilirlik özelliklerine göre temelde 3 gruba ayrılmaktadır. Tip 1 kas lifleri (yavaş kasılan oksidatif lifler), Tip 2A (hızlı kasılan oksidatif glikolitik lifler) ve Tip 2B (hızlı kasılan glikolitik lifler) liflerdir (23). Tüm kaslar bu kas lifi



Şekil 4. Grupların MDA ve GSH düzeyleri. **A** paneli gastrocnemius kası MDA düzeyini, **B** paneli soleus kası MDA düzeyini, **C** paneli gastrocnemius kası GSH düzeyini ve **D** paneli soleus kası GSH düzeyini göstermektedir. * $p < 0,05$ Kontrol grubuna göre farklılığı göstermektedir.

tiplerini içerse de bazı kaslarda bazı lif tipleri yoğun olarak görülmektedir. Örneğin soleus kasında tip 1 kas lifleri yoğun olarak bulunurken, gastrocnemius kasında tip 2 kas lifleri daha yoğun olarak bulunmaktadır (24-27). Bu yüzden çalışmamızda gastrocnemius ve soleus kasları incelenmiştir. Gastrocnemius ve soleus kas indeksleri gruplar arasında farklılık göstermemiştir. 96 saatlik uyku yoksunluğunun tip 2 kas liflerinde atrofiye neden olduğu ve kas rejenerasyonunu bozduğu gösterilmiştir (11,22). Bu durumun eş zamanlı olarak kas ve yağ kitlesinin azalmış olmasından yani ratların kilolarının azalmış olmasından kaynaklanabileceğini ya da uygulanan UY protokolünün farklılığından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Kas-iskelet sistemi, reaktif oksijen türlerinin (ROS) ana kaynağı olan mitokondriler açısından zengindir. Sitokrom P450, peroksizomlar, ksantin oksidaz ve nitrik oksit sentaz gibi metabolik yollar ve enzimler kasta ROS üretebilir. Yoğun kas kasılma aktivitesi sırasında, iskelet kası oldukça gelişmiş bir antioksidan sisteme sahip olmasının yanı sıra yüksek seviyelerde ROS üretir (28). ROS'un anormal miktarda birikimi hücreler için toksiktir ve organeller, proteinler, DNA ve hücre membranının yapısına hasar verebilir. İskelet kası, miyozin ekspresyonu ve oksidatif fosforilasyon

kapasitesi değişen farklı tipte kas liflerinden oluşmaktadır. Tip I lifler, tip II liflere sahip kasa kıyasla daha yüksek sayıda mitokondriye, oksidatif kapasiteye ve ROS metabolizasyonuna sahiptir (29). ROS'u nötralize edebilen enzimler, antioksidan sistemi oluşturur. Antioksidan aktivite, ROS'un neden olduğu yapısal hasarı engelleyemezse, hücrel bir hasar meydana gelebilir ve otofaji, apoptoz ve hatta nekroz gibi hücrel yolaklar aktive olabilir. Uyku yoksunluğu sırasında, metabolik aktivitelerdeki değişiklik ve oksijen tüketimindeki artış, daha fazla ROS üretimi ve mitokondriyal aktiviteye neden olmaktadır (30). MDA dokularda oksidatif stresi gösteren lipid peroksidasyonunun son ürünüdür. GSH ise antioksidan durum hakkında bilgi vermektedir. Çalışmamızda gastrocnemius kası MDA düzeylerinde anlamlı değişiklik olmazken, soleus kası MDA düzeylerinin uyku yoksunluğunda arttığı saptanmıştır. Gastrocnemius kası GSH düzeyleri ise uyku yoksunluğunda azalırken soleus kası GSH düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Bu bulgular REM UY'nin tip I lif baskın olan kaslarda (soleus kasında görüldüğü gibi) oksidan sistem üzerinden, tip II liflerin baskın olduğu kaslarda (gastrocnemius kasında görüldüğü gibi) antioksidan sistem üzerinden etkili olduğunu gösterebilir. Yapılan bir çalışmada 96 saatlik uyku

yoksunluğunun ardından bizim çalışmamıza benzer şekilde soleus kasında MDA seviyelerinin arttığı bulunmuştur (30). İskelet kasının önemli bir negatif düzenleyicisi olan myostatin, iskelet kasının sağlıklı olmasında önemli bir rol oynamaktadır (31). Farelerle yapılan çalışmalarda immobilizasyonun iskelet kası atrofisiyle beraber reversibl bir şekilde myostatin ekspresyonunu artırdığı bildirilmiştir (13). İnsan çalışmalarında da benzer olarak myostatin ve HIV enfeksiyonuna bağlı iskelet kası atrofisinde pozitif bir ilişki bulunmuş (32), obezite ve tip 2 diyabette (14), kronik obstrüktif akciğer hastalığında (33), siroz hastalığına sahip bireylerde hem dolaşımdaki hem de iskelet kası dokusundaki myostatin oranının arttığı gözlemlenmiştir (34). Ancak yaşlanma ilişkili sarkopenide myostatinin seviyesinin anlamlı olarak değişmemesi, myostatin seviyelerindeki artışın daha çok patolojik durumlarla ilişkili olduğunu düşündürmektedir (35,36). Myostatin iskelet kas ve gelişimi üzerinde çok önemli bir etkiye sahiptir; öyle ki myostatin'in herhangi bir şekilde inhibisyonu iskelet kasında yüksek miktarda hipertrofiye neden olmaktadır. Myostatin gen eksikliği ya da myostatinin inhibe edilmesiyle ortaya çıkan kas hipertrofisi fareler, çiftlik hayvanları ve insanlar gibi farklı memeli hayvanlarda gözlenmiştir ve bu durum, myostatinin kas üzerindeki etkisini net bir biçimde göstermektedir (37-39). Yetişkin iskelet kasında da myostatin, spesifik olarak satellite hücrelerinde de eksprese edilmektedir. Myostatin yoksunu farelerin toplam ve aktive satellite hücre sayısının normal farelere kıyasla yüksek olduğu gösterilmiştir (36). Myostatinin iskelet kası yıkımı üzerine de etkisi vardır. İnteramyoküler myostatin enjeksiyonu, farelerde kaşeksi benzeri bir tabloya yol açmaktadır. Bu durum, myostatinin iskelet kas proteinlerinin yıkımına, aynı zamanda yeni protein sentezi inhibisyonuna neden olmasıyla ilişkilendirilmiştir (30). Bu nedenlerle çalışmamızda gastroknemius ve soleus kasları myostatin düzeylerini inceledik. Çalışmamızda uyku yoksunluğu oluşturulan ratların soleus kası myostatin düzeyleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Gastroknemius kasında ise UY sıçanlarda geniş platform grubuna göre myostatin düzeyleri yüksek bulunmuştur. Çalışmamız uyku yoksunluğunda kas myostatin düzeylerini değerlendiren ilk çalışmadır. Bu önemli bulgu ile uyku yoksunluğunun özellikle tip I kas lifi içeren soleus gibi kaslarda myostatin düzeylerini artırarak kas metabolizması üzerinde etkili olabileceği düşünülebilir.

Çalışmamızda açık alan testinde toplam geçilen kare sayısının uyku yoksunluğunda diğer gruplara göre artmış olması lökomotor aktivitenin arttığını göstermektedir. Yapılan bir çalışmada uyku yoksunluğunun lökomotor aktivitede artışa neden olabildiğini göstermiştir (40). Merkezde ve periferde geçirilen sürenin gruplar arasında farklı olmaması ratlarda

anksiyete düzeylerinin benzer olduğunu göstermektedir. Aynı zamanda çalışmamızda gastroknemius kası glikojen düzeyleri incelendiğinde uyku yoksunluğunun geniş platform grubuna göre daha düşük oranda glikojen içerdiği tespit edilmiştir. Bu durum uyku yoksunluğunda artan lökomotor aktiviteden kaynaklanmış olabilir. Gastroknemius ve soleus kasının histolojik olarak analiz edilmemiş olması çalışmanın kısıtlılığını oluşturmaktadır.

Çalışmamız uyku yoksunluğunun lökomotor aktiviteyi artırdığını, soleus kasında myostatin seviyelerinde artışa neden olabileceğini göstermektedir. Aynı zamanda uyku yoksunluğunun kaslarda oksidan/antioksidan dengeyi bozarak kas metabolizmasını değiştirebileceğini göstermiştir. Ancak kasta meydana gelen değişimlerin altında yatan mekanizmaları anlayabilmek için yapılacak daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

Teşekkür

Çalışmanın yürütülmesindeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Hale Sayan Özçamak'a teşekkür ederiz.

Yazarların Makaleye Katkı Beyanı

Fikir: **İsmetcan İleri, İnci Turan**, Deneysel uygulamalar: **İsmetcan İleri, İnci Turan**, Biyokimyasal ölçümler: **İsmetcan İleri, İnci Turan**, Makale Yazımı: **İsmetcan İleri, İnci Turan**.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması bildirmemiştir.

Finansal Destek

Bu çalışma TÜBİTAK tarafından desteklenmiştir (TÜBİTAK 2209-A Proje Numarası: 1919B012112894)

Etik Kurul Onayı

Araştırma için gerekli etik kurul izni Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından alınmıştır (Etik Kurul no: 2022-14-02/06).

Hakemlik Süreci

Kör hakemlik süreci sonrası yayınlamaya uygun bulunmuştur.

KAYNAKLAR

1. Parmar S, Tadavarty R, Sastry BR. G-protein coupled receptors and synaptic plasticity in sleep deprivation. *World J Psychiatry*. 2021 Nov 19;11(11):954-980.
2. Medic G, Wille M, Hemels ME. Short- and long-term health consequences of sleep disruption. *Nat Sci Sleep*. 2017 May 19;9:151-161.
3. Turan I, Sayan Ozacmak H, Ozacmak VH, Ergenc M, Bayraktaroğlu T. The effects of glucagon-like peptide 1 receptor agonist (exenatide) on memory impairment, and anxiety- and depression-like behavior induced by REM sleep deprivation. *Brain Res Bull*. 2021 Sep;174:194-202.

4. Wang T, Niu K, Fan A, Bi N, Tao H, Chen XT, Wang HL. Dietary intake of polyunsaturated fatty acids alleviates cognition deficits and depression-like behaviour via cannabinoid system in sleep deprivation rats. *Behav Brain Res.* 2020;384:112545.
5. Killgore WD. Effects of sleep deprivation on cognition. *Prog Brain Res.* 2010;185:105-129.
6. Kordestani-Moghadam P, Nasehi M, Khodagholi F, Vaseghi S, Zarrindast MR, Khani M. The fluctuations of metabotropic glutamate receptor subtype 5 (mGluR5) in the amygdala in fear conditioning model of male Wistar rats following sleep deprivation, reverse circadian and napping. *Brain Res.* 2020;1734:146739.
7. Lamon S, Morabito A, Arentson-Lantz E, Knowles O, Vincent GE, Condo D, Alexander SE, Garnham A, Paddon-Jones D, Aisbett B. The effect of acute sleep deprivation on skeletal muscle protein synthesis and the hormonal environment. *Physiol Rep.* 2021;9(1):e14660.
8. Meerlo P, Sgoifo A, Suchecki D. Restricted and disrupted sleep: effects on autonomic function, neuroendocrine stress systems and stress responsivity. *Sleep Med Rev.* 2008;12(3):197-210.
9. St-Onge MP, O'Keefe M, Roberts AL, RoyChoudhury A, Laferrère B. Short sleep duration, glucose dysregulation and hormonal regulation of appetite in men and women. *Sleep.* 2012;35(11):1503-1510.
10. Dattilo M, Antunes HK, Medeiros A, Mônico-Neto M, Souza Hde S, Lee KS, Tufik S, de Mello MT. Paradoxical sleep deprivation induces muscle atrophy. *Muscle Nerve.* 2012;45(3):431-433.
11. Mônico-Neto M, Dáttilo M, Ribeiro DA, Lee KS, de Mello MT, Tufik S, Antunes HKM. REM sleep deprivation impairs muscle regeneration in rats. *Growth Factors.* 2017;35(1):12-18.
12. Pasquale Esposito, Daniela Picciotto, Yuri Battaglia, Francesca Costigliolo, Francesca Viazzi, Daniela Verzola, Chapter Five - Myostatin: Basic biology to clinical application, Editor(s): Gregory S. Makowski, *Advances in Clinical Chemistry*, Elsevier, Vol. 106, 2022;181-234.
13. Carlson CJ, Booth FW, Gordon SE: Skeletal muscle myostatin mRNA expression is fiber-type specific and increases during hindlimb unloading. *Am J Physiol* 1999;277:R601-R606.
14. Hittel DS, Berggren JR, Shearer J, Boyle K, Houmard JA. Increased secretion and expression of myostatin in skeletal muscle from extremely obese women. *Diabetes.* 2009;58(1):30-38.
15. Machado RB, Hipólido DC, Benedito-Silva AA, Tufik S. Sleep deprivation induced by the modified multiple platform technique: quantification of sleep loss and recovery. *Brain Res.* 2004;1004(1-2):45-51.
16. Rajizadeh MA, Esmaeilpour K, Haghparast E, Ebrahimi MN, Sheibani V. Voluntary exercise modulates learning & memory and synaptic plasticity impairments in sleep deprived female rats. *Brain Res.* 2020;1729:146598.
17. Lo S, Russell JC, Taylor AW. Determination of glycogen in small tissue samples. *J Appl Physiol.* 1970;28(2):234-236.
18. Casini AF, Ferrali M, Pompella A, Maellaro E, Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene-intoxicated mice. *Am J Pathol.* 1986;123(3):520-531.
19. Aykaç G, Uysal M, Yalçın AS, Koçak-Toker N, Sivas A, Oz H. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology.* 1985;36(1):71-76.
20. Morrison M, Halson SL, Weakley J, Hawley JA. Sleep, circadian biology and skeletal muscle interactions: Implications for metabolic health. *Sleep Med Rev.* 2022;66:101700.
21. Mônico-Neto M, Antunes HK, Dattilo M, Medeiros A, Souza HS, Lee KS, de Melo CM, Tufik S, de Mello MT. Resistance exercise: a non-pharmacological strategy to minimize or reverse sleep deprivation-induced muscle atrophy. *Med Hypotheses.* 2013;80(6):701-705.
22. de Sá Souza H, Antunes HKM, Dáttilo M, Lee KS, Mônico-Neto M, de Campos Giampa SQ, Phillips SM, Tufik S, de Mello MT. Leucine supplementation is anti-atrophic during paradoxical sleep deprivation in rats. *Amino Acids.* 2016;48(4):949-957.
23. Lloyd EM, Pinniger GJ, Murphy RM, Grounds MD. Slow or fast: Implications of myofibre type and associated differences for manifestation of neuromuscular disorders. *Acta Physiol (Oxf).* 2023;238(4):e14012.
24. Armstrong RB, Phelps RO. Muscle fiber type composition of the rat hindlimb. *Am J Anat.* 1984;171(3):259-272.
25. Sugama S, Tachino K, Haida N. Effect of immobilization on solubility of soleus and gastrocnemius muscle collagen: -biochemical studies on collagen from soleus and gastrocnemius muscles of rat. *J Jpn Phys Ther Assoc.* 1999;2(1):25-29.
26. Gelfi C, Viganò A, De Palma S, Ripamonti M, Begum S, Cerretelli P, Wait R. 2-D protein maps of rat gastrocnemius and soleus muscles: a tool for muscle plasticity assessment. *Proteomics.* 2006;6(1):321-340.
27. Umek N, Horvat S, Cvetko E. Skeletal muscle and fiber type-specific intramyocellular lipid accumulation in obese mice. *Bosn J Basic Med Sci.* 2021;21(6):730-738.
28. Jackson MJ. Reactive oxygen species and redox-regulation of skeletal muscle adaptations to exercise. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2005;360(1464):2285-2291.
29. Mishra P, Varuzhanyan G, Pham AH, Chan DC. Mitochondrial Dynamics is a distinguishing feature of skeletal muscle fiber types and regulates organellar compartmentalization. *Cell Metab.* 2015;22(6):1033-1044.
30. Mônico-Neto M, Lee KS, da Luz MHM, Pino JMV, Ribeiro DA, Cardoso CM, Sueur-Maluf LL, Tufik S, Antunes HKM. Histopathological changes and oxidative damage in type I and type II muscle fibers in rats undergoing paradoxical sleep deprivation. *Cell Signal.* 2021;81:109939.

31. Liu X, Zhang N, Sun B, Wang B. Time-specific effects of acute eccentric exercise on myostatin, follistatin and decorin in the circulation and skeletal muscle in rats. *Physiol Res*. 2022;71(6):783-790.
32. Gonzalez-Cadavid NF, Taylor WE, Yarasheski K, Sinha-Hikim I, Ma K, Ezzat S, Shen R, Lalani R, Asa S, Mamita M, Nair G, Arver S, Bhasin S. Organization of the human myostatin gene and expression in healthy men and HIV-infected men with muscle wasting. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998;95(25):14938-14943.
33. Ju CR, Chen RC. Serum myostatin levels and skeletal muscle wasting in chronic obstructive pulmonary disease. *Respir Med*. 2012;106(1):102-108.
34. García PS, Cabbabe A, Kambadur R, Nicholas G, Csete M. Brief-reports: elevated myostatin levels in patients with liver disease: a potential contributor to skeletal muscle wasting. *Anesth Analg*. 2010;111(3):707-709.
35. Wehling M, Cai B, Tidball JG. Modulation of myostatin expression during modified muscle use. *FASEB J*. 2000;14(1):103-110.
36. McCroskery S, Thomas M, Maxwell L, Sharma M, Kambadur R. Myostatin negatively regulates satellite cell activation and self-renewal. *J Cell Biol*. 2003;162(6):1135-1147.
37. Kambadur R, Sharma M, Smith TP, Bass JJ. Mutations in myostatin (GDF8) in double-muscled Belgian Blue and Piedmontese cattle. *Genome Res*. 1997;7(9):910-916.
38. 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.
39. Williams MS. Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. *N Engl J Med*. 2004;351(10):1030-1031; author reply 1030-1031.
40. Hadeiy SK, Habtemariam S, Shankayi Z, Shahyad S, Sahraei H, Asghardoust Rezaei M, Bahrami F. Amelioration of pain and anxiety in sleep-deprived rats by intra-amygdala injection of cinnamaldehyde. *Sleep Med X*. 2023;5:100069.