

TALITA CRISTIANE CONTE

**INFLUÊNCIA DAS HSPs (*HEAT SHOCK PROTEINS*) E DO mTORC-1
(*MAMMALIAN TARGET OF RAPAMYCIN COMPLEX 1*) NA
REGENERAÇÃO DE MÚSCULOS ESQUELÉTICOS**

**Dissertação de Mestrado apresentada ao
Instituto de Ciências Biomédicas da
Universidade de São Paulo, para obtenção do
Título de Mestre em Ciências.**

**Área de Concentração: Ciências
Morfofuncionais**

Orientadora: Profa. Dra. Elen Haruka Miyabara

São Paulo

2009

RESUMO

CONTE, T. C. **Influência das HSPs (*heat shock proteins*) e do mTORC-1 (*mammalian target of rapamycin complex 1*) na regeneração de músculos esqueléticos**. 2009. 84 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Morfofuncionais) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

O objetivo deste trabalho foi contribuir para o melhor entendimento dos mecanismos intracelulares envolvidos na regeneração muscular esquelética, através do estudo da influência das proteínas de choque térmico (HSPs) e do mTORC1 (*mammalian target of rapamycin complex 1*) no processo regenerativo muscular. O tratamento com radicicol (indutor de HSPs) em músculos lesados induziu aumento da área de secção transversal das fibras musculares em 10 e 21 dias após lesão e aumento do número de células satélites e de fibras musculares em diferenciação em 1 e 10 dias após lesão, respectivamente, quando comparado aos seus respectivos controles apenas lesados. O tratamento com rapamicina (inibidor de mTORC1) em músculos lesados induziu uma diminuição maior da área de secção transversal das fibras musculares em 10 e 21 dias após lesão e menor síntese protéica muscular em 10 dias após lesão quando comparado aos músculos somente lesados. Nossos resultados sugerem que as HSPs e o mTORC1 são importantes para o processo de regeneração muscular esquelética.

Palavras-chave: Músculo esquelético; regeneração; HSP; Crotoxina; mTORC1.

ABSTRACT

CONTE, T. C. **Influence of HSPs (*heat shock proteins*) and mTORC1 (*mammalian target of rapamycin complex 1*) in skeletal muscle regeneration**. 2009. 84 p. Master thesis (Morphofunctional sciences) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.

The goal of this work was to contribute to a better understanding about the intracellular mechanisms involved in skeletal muscle regeneration by studying the influence of heat shock proteins (HSPs) and mTORC1 (mammalian target of rapamycin complex 1) in the muscle regeneration process. The treatment with radicicol (a HSP inducer) in injured muscles induced increase of myofiber cross section area at 10 and 21 days post lesion and increased number of satellite cells and differentiating myofibers at 1 and 10 days post lesion, respectively, when compared to their respective injured controls. The treatment with rapamycin (a mTORC1 inhibitor) in injured muscles induced a more accentuated decrease in myofiber cross section area at 10 and 21 days post lesion and decreased muscle protein synthesis at 10 days post lesion when compared to only-injured muscles. Our results suggest that HSPs and mTORC1 are important to the process of skeletal muscle regeneration.

Keywords: Skeletal muscle; regeneration; HSP; Crotoxin; mTORC1.

1 INTRODUÇÃO

O tecido muscular esquelético compõe aproximadamente metade da massa corporal total, sendo considerado o tecido mais abundante do corpo humano (KEYNES e AIDLEY, 2001; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004). O músculo esquelético é capaz de produzir movimentos corporais precisos e coordenados na locomoção, e também exerce importante papel na manutenção da postura, na respiração, na alimentação, na produção de gestos e expressões faciais e na termogênese (LIEBER, 1992; KEYNES e AIDLEY, 2001; WILMORE e COSTILL, 2001; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004). Além disso, o músculo esquelético é um dos tecidos responsáveis pela produção de glutamina, aminoácido não essencial que serve como importante substrato energético para células do sistema imune (NEWSHOLME *et al.*, 1996; NEWSHOLME *et al.*, 2003).

O tecido muscular esquelético é formado por células poliédricas alongadas multinucleadas denominadas de fibras musculares que variam de 10 a 100 μm de diâmetro nos humanos. Uma única fibra muscular é originada da fusão de vários mioblastos e, por esse motivo possui muitos núcleos, os quais ficam dispostos na periferia da fibra muscular, próximos à membrana plasmática (sarcolema) (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004; GREFTE *et al.*, 2007).

Cada fibra muscular é envolta por uma fina camada de tecido conjuntivo, a qual delimita o sarcolema e é denominada de endomísio. Feixes de fibras musculares são delimitados por outra camada de tecido conjuntivo denominada de perimísio e o músculo inteiro é envolto por uma camada mais externa e mais firme de tecido conjuntivo denominada de epimísio. Essas camadas de tecido conjuntivo se interconectam, permitindo a união das fibras musculares e conseqüentemente a transmissão homogênea da força de contração gerada por cada fibra muscular ao longo do músculo. Além disso, essas camadas de tecido conjuntivo também exercem as funções de transmitir a força de contração do músculo a outras estruturas como tendões, ligamentos e ossos e servir de trajeto para os vasos sanguíneos e

terminações nervosas que nutrem e inervam, respectivamente, cada fibra muscular (KEYNES e AIDLEY, 2001; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004).

Cada fibra muscular possui várias estruturas longitudinais cilíndricas finas (de 1 a 2 μm de diâmetro) designadas de miofibrilas. Tais estruturas possuem estriações transversais, devido à presença de faixas claras e escuras alternadas vistas em microscópio óptico (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004). As faixas claras correspondem à banda I (isotrópica) e as faixas escuras à banda A (anisotrópica). No centro de cada banda I existe uma linha transversal escura que corresponde ao disco Z. A região entre duas linhas Z sucessivas (contendo portanto, duas semi bandas I e uma banda A central) é denominada de sarcômero, a unidade contrátil muscular (TAJSHARGHI, 2008). Os sarcômeros estão dispostos em série ao longo de cada miofibrila e são compostos por quatro proteínas principais diretamente envolvidas no processo contrátil: actina, miosina, troponina e tropomiosina (CLARK *et al.*, 2002).

Para que o músculo esquelético contraia, o sarcolema das fibras musculares se despolariza como uma consequência da ativação do neurônio motor. Isto resulta na liberação de cálcio do retículo sarcoplasmático para o meio intracelular. O cálcio se associa à troponina que muda a configuração espacial das três subunidades desta proteína e empurra a molécula de tropomiosina mais para dentro do sulco da hélice da actina. Em consequência, ficam expostos os locais de ligação dos componentes globulares da actina e esta fica livre para interagir com a cabeça das moléculas de miosina, e subseqüentemente, ocorre a contração das fibras musculares (WILMORE e COSTILL, 2001; JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004).

Uma característica importante do tecido muscular esquelético é a sua habilidade de adaptar-se em resposta a várias demandas ambientais e fisiológicas (sobrecarga mecânica, desuso, alterações hormonais, injúria, envelhecimento, estimulação elétrica) através de mudanças no tamanho de suas fibras musculares e na composição dos tipos de fibras musculares (PETTE e STARON, 2000; MATSAKAS e PATEL, 2009a; MATSAKAS e PATEL, 2009b).

A aquisição, manutenção e perda de massa muscular esquelética são basicamente o resultado de um balanço dinâmico entre dois processos regulatórios, a síntese e

degradação protéica (NADER, 2005). Frente a um estímulo hipertrófico, como a sobrecarga mecânica, ablação de músculos sinergistas e estimulação hormonal, a fibra muscular responde através do aumento da síntese de proteínas miofibrilares, resultando no aumento da área de secção transversal da fibra muscular e conseqüentemente no aumento de força muscular. Por outro lado, diante de estímulos atróficos, como desuso, desnervação, sepse e câncer, ocorre a ativação de enzimas proteolíticas, levando ao aumento da degradação de proteínas musculares e à diminuição da área de secção transversal da fibra muscular e conseqüente redução da força muscular (CLEMENT *et al.*, 1984; ALFORD *et al.*, 1987; FERRANDO *et al.*, 1995; GOLDSPINK *et al.*, 2002).

A composição dos tipos de fibra muscular pode ser modificada por diversos estímulos tais como, exercício físico, desuso, alterações hormonais e estimulação elétrica. As fibras musculares do tipo I são de contração lenta, com metabolismo predominantemente oxidativo e resistentes à fadiga, enquanto que as fibras do tipo IIB são de contração rápida, metabolismo predominantemente glicolítico e pouco resistentes à fadiga. As fibras do tipo IIA possuem características intermediárias entre as das fibras do tipo I e IIB. A proporção dos tipos de fibras musculares varia em cada músculo do indivíduo, o que está diretamente associado com o tipo de atividade contrátil que o músculo exerce. A conversão dos tipos de fibra muscular ocorre de forma gradual e depende do tipo e da intensidade do estímulo. Portanto a conversão de fibras musculares do tipo IIB em direção às do tipo I, ocorre na seguinte seqüência: IIB⇒IIA⇒I e vice-versa (PETTE e STARON, 2001; HUARD *et al.*, 2002; CHARGE e RUDNICKI, 2004; JARVINEN *et al.*, 2005; GREFTE *et al.*, 2007; SPANGENBURG *et al.*, 2008).

Células mononucleadas e indiferenciadas são encontradas no músculo esquelético adulto, as células satélites. Estas células se localizam entre o sarcolema e a lâmina basal da fibra muscular, sob um estado mitoticamente quiescente. Entretanto, quando o músculo esquelético sofre um estímulo lesivo, as células satélites são ativadas. Após este evento, elas proliferam, se diferenciam e se fundem umas às outras para formar uma nova fibra muscular ou associam-se a fibras musculares parcialmente lesadas,

contribuindo para a regeneração do tecido muscular esquelético lesado (HAWKE e GARRY, 2001b; WOZNIAK *et al.*, 2005).

As alterações estruturais durante o processo regenerativo do músculo esquelético são bem conhecidas, no entanto os mecanismos intracelulares envolvidos neste processo ainda não foram totalmente explorados. A seguir, apresentamos os principais aspectos morfológicos e moleculares envolvidos na regeneração muscular esquelética.

1.1 Principais características da regeneração muscular esquelética

A resposta regenerativa do músculo esquelética é estereotipada independente do estímulo lesivo, seja ele de natureza química, térmica ou mecânica e é caracterizada basicamente por 2 fases: a degenerativa (necrose) e a reconstitutiva (TIDBALL, 1995). Dentre os modelos de lesão muscular mais estudados estão o trauma direto, a atividade física intensa, queimaduras, congelamentos, exposição à agentes tóxicos, em que podemos destacar a utilização de toxinas de serpentes tais como a crotoxina, a cardiotoxina, a miotoxina I e II de *Bothrops asper* entre outras. A utilização dessas toxinas, em particular, representa um bom modelo de injúria, visto que elas induzem uma lesão muscular homogênea (CARLSON e FAULKNER, 1983; GARRETT, 1996; HUARD *et al.*, 2002; GUTIERREZ e OWNBY, 2003; HARRIS *et al.*, 2003; JARVINEN *et al.*, 2005).

Quando o músculo sofre uma injúria, o processo de degeneração é caracterizado por uma ruptura do sarcolema da fibra muscular resultando em um aumento da permeabilidade celular (HAMER *et al.*, 2002). Alguns trabalhos sugerem que a mudança na permeabilidade do sarcolema, leva ao aumento do influxo de cálcio para o meio intracelular e acarreta na ativação de proteases dependentes de cálcio, o que conseqüentemente induz o processo de proteólise cálcio-dependente (ARMSTRONG, 1990; BELCASTRO *et al.*, 1998; ALDERTON e STEINHARDT, 2000). Isto resulta em necrose e degeneração das fibras musculares que foram danificadas (HURME *et al.*,

1991). Ao mesmo tempo, existem proteínas, dentre as quais podemos destacar as proteínas de choque térmico (HSPs), que possuem função de chaperonas e que atuam como citoprotetoras na tentativa de poupar as proteínas musculares da degradação. Diante de um estímulo lesivo, as HSPs são sintetizadas pelo tecido muscular, e conseqüentemente se ligam às proteínas musculares desnaturadas na tentativa de restaurar sua estrutura terciária e atividade enzimática (GETHING, 1996; MCARDLE *et al.*, 2002).

No local da lesão, vasos sanguíneos são também lesados, permitindo a invasão de células inflamatórias. Fatores são liberados pelo tecido muscular lesado e ocorre a atração e ativação de células inflamatórias, que secretam fatores quimiotáticos para atrair mais células inflamatórias. Neutrófilos são as primeiras células inflamatórias a chegar ao local da lesão e, em seguida, os macrófagos chegam para fagocitar os restos celulares (CHARGE e RUDNICKI, 2004).

Muitos fatores são secretados pelas células inflamatórias (neutrófilos e macrófagos) e pelo próprio músculo lesado durante a regeneração muscular, e estes fatores participam principalmente da ativação das células satélites. Alguns exemplos são os membros de famílias como a do fator de crescimento de fibroblasto (FGF), do fator de crescimento e transformação (TGF) e interleucina-6 (IL-6). Outro fator conhecido como *insulin-like growth factor 1* (IGF-1) ou *mechano growth factor* (MGF, isoforma muscular do IGF-I), reduz a resposta inflamatória crônica e facilita a regeneração e reparação do músculo esquelético (HAWKE e GARRY, 2001a).

O aumento da expressão de IGF-1 ocorre durante os processos de regeneração e hipertrofia da fibra muscular e, além disso, foi descrito que IGF-1 também é capaz de induzir o aumento dos níveis de expressão dos fatores regulatórios miogênicos (MRFs; miogenina, MyoD, Myf-5 e MRF-4) e a expressão gênica de proteínas contráteis (COLEMAN *et al.*, 1995; SINGH *et al.*, 1999; MUSARO *et al.*, 2001). O aumento dos níveis de IGF-1 promove a ativação da via de sinalização do *mammalian target of rapamycin complex 1* (mTORC1), uma importante via indutora de hipertrofia muscular esquelética, por estar envolvida com o processo de adição de massa muscular através do controle da síntese protéica (BODINE *et al.*, 2001a).

Vários fatores de transcrição estão envolvidos no processo de regeneração muscular (MEGENEY *et al.*, 1996; SEALE e RUDNICKI, 2000; CARSON *et al.*, 2002; ISHIDO *et al.*, 2004). Nas células satélites quiescentes, a expressão de MRFs é muito baixa ou quase indetectável, mas uma vez que as células satélites são ativadas (entram no ciclo celular) devido a uma lesão muscular esquelética, a expressão de MRFs aumenta (FISHER *et al.*, 1990; GROUNDS *et al.*, 1992; CORNELISON e WOLD, 1997). A ativação das células satélites é controlada principalmente pelos fatores de transcrição Pax3, Pax7 e Myf5 (RELAIX *et al.*, 2006). Primeiro, as células satélites ativadas aumentam a expressão de MyoD e de Myf5. Durante este estágio, as células satélites se proliferam e também são denominadas de mioblastos. A diminuição da expressão de Pax3 (RELAIX *et al.*, 2006) e Pax7 (OLGUIN e OLWIN, 2004; ZAMMIT *et al.*, 2004), e o aumento da expressão dos fatores de transcrição miogenina e MRF-4 levam a uma diferenciação terminal destes mioblastos. Pax3 e Pax7 ativam a miogenina através do aumento da expressão de MyoD, e Myf5 é capaz de ativar a miogenina diretamente. Finalmente, estes mioblastos diferenciados se fundem uns aos outros, criando novas fibras musculares ou, se fundem às fibras musculares previamente lesadas levando à reparação muscular (CHEN e GOLDHAMER, 2003; CHARGE e RUDNICKI, 2004; BUCKINGHAM, 2006; SHI e GARRY, 2006).

As características clássicas de uma fibra muscular em franca regeneração são a presença de núcleos centralizados e fibras fragmentadas. A maturação desta fibra muscular em regeneração é observada através de um aumento no seu tamanho e pelo movimento do núcleo para a periferia da fibra muscular (HAWKE e GARRY, 2001a).

Além das células satélites, outros tipos celulares parecem estar envolvidos na regeneração muscular. Alguns estudos sugerem que as células-tronco não musculares oriundas do endotélio vascular, da medula óssea, do tecido adiposo e de outras regiões também participam da regeneração muscular em menor escala (CHARGE e RUDNICKI, 2004; COLLINS, 2006).

Apesar dos mecanismos intracelulares durante o processo regenerativo muscular terem sido explorados durante anos, muitos detalhes desse processo permanecem desconhecidos. Considerando que as HSPs são citoprotetoras (GETHING, 1996) e que o mTORC1 está envolvido no controle do ganho de massa muscular (BODINE *et al.*,

2001a; HORNBERGER *et al.*, 2004a; GLASS, 2005; NADER *et al.*, 2005; NOBUKUNI *et al.*, 2005) é possível formular a hipótese de que as HSPs e o mTORC1 devem ser importantes para o processo regenerativo muscular. Nesse sentido nós decidimos investigar a influência das HSPs e do mTORC1 na regeneração muscular esquelética.

2.1 HSPs no músculo esquelético

Em 1962, Ritossa iniciou os estudos com as proteínas do choque térmico (HSPs) ao observar que elas eram sintetizadas quando células eram aquecidas a 5°C acima da sua temperatura normal (RITOSSA, 1962). As HSPs agem como chaperonas moleculares, facilitando a segregação, o transporte e a maturação conformacional de proteínas. Além disso, as HSPs são rapidamente sintetizadas após uma variedade de estresse, incluindo hipertermia, isquemia e estresse oxidativo, situações em que elas são necessárias para proteger as proteínas contra a desnaturação (GETHING, 1996).

Mais recentemente, o papel das HSPs tem sido expandido e inclui o controle da sinalização celular (CALDERWOOD *et al.*, 2007; CSERMELY *et al.*, 2007), modulação da resposta imune (JOHNSON e FLESHNER, 2006; CHEN *et al.*, 2007) e suas alterações podem acarretar doenças crônicas como osteoartrite, catarata e miopatia relacionada à desmina (SMITH *et al.*, 2000; CORNELUSSEN *et al.*, 2003; WANG *et al.*, 2003; SUN e MACRAE, 2005; KAMPINGA *et al.*, 2007; LAMBRECHT *et al.*, 2009).

As HSPs são identificadas pela massa molecular e geralmente são agrupadas em famílias: as pequenas HSPs (como HSP10, α B-cristalina e HSP25); HSP60 mitocondrial; a família da HSP70; e as grandes HSPs (como a HSP90 e HSP100) (NOBLE *et al.*, 2008). Entre as 10 pequenas HSPs que estão presentes nos mamíferos, a α B-cristalina e a HSP25 são as mais bem caracterizadas. A diminuição da expressão de α B-cristalina está associada com a formação de catarata e lesões oculares (SUN e MACRAE, 2005), além disso, a α B-cristalina também é responsável por estabilizar a estrutura muscular através da sua interação com os filamentos intermediários de desmina (VICART *et al.*, 1998; MORRISON *et al.*, 2004). Além de seu papel citoprotetor, a HSP25/27 participa da estabilização de microfilamentos (PAULSEN *et*

al., 2007), da prevenção contra a desnaturação e apoptose (EHRNSPERGER *et al.*, 1997; ARYA *et al.*, 2007).

Apesar da HSP60 ser uma chaperona mitocondrial (BUKAU e HORWICH, 1998; HOOD, 2001) ela também está presente no citoplasma (25 à 30%) e alguns trabalhos mostram que ela está envolvida na proteção contra apoptose (SHAN *et al.*, 2003; GUPTA e KNOWLTON, 2005; ARYA *et al.*, 2007; LAI *et al.*, 2007; LIN *et al.*, 2007).

A HSP90 é uma das proteínas mais abundantes nas células de mamíferos (JAKOB, 1996), é encontrada tanto no citoplasma (HAVERINEN *et al.*, 2001) quanto no núcleo (PICARD, 2006), e é um componente chave na regulação da função do receptor de esteróide (PRATT, 1998) e na repressão da resposta a elevadas temperaturas (ZOU *et al.*, 1998).

A família da HSP70 inclui um número de proteínas com pouca diferença em suas massas moleculares (DAUGAARD *et al.*, 2007). Esta família da HSP70 é altamente conservada em todos os organismos (HUNT e MORIMOTO, 1985). Dois membros desta família, a HSP78 [*Glucose regulated protein (Grp)78* ou *immunoglobulin-binding protein (Bip)*] e a HSP75 [*mitochondrial (MT)HSP70*], possuem funções de chaperonas no retículo endoplasmático e mitocôndria, respectivamente (MUNRO e PELHAM, 1986; HOOD, 2001).

Os membros restantes da família de HSP70 são geralmente distribuídos no citoplasma e núcleo e exibem características bioquímicas similares. Apesar da proteína de choque térmico constitutiva, HSC70 (algumas vezes chamada de sp73) e de sua isoforma induzível HSP70 (freqüentemente citada como HSP72 ou HSP70i) estarem presentes nos tecidos de mamíferos em vários graus, a HSP70 é espontaneamente induzida pelo estresse, enquanto que HSC70 é induzida pelo estresse em menor intensidade (TANGUAY *et al.*, 1993).

A HSP70i é a isoforma que tem sido mais investigada. Quando o músculo esquelético é submetido a exercícios físicos, esta isoforma passa a ser mais expressa (PUNTSCHART *et al.*, 1996; FEBBRAIO e KOUKOULAS, 2000; WALSH *et al.*, 2001; MORTON *et al.*, 2006). Alguns trabalhos mostraram que uma pré-indução da expressão de HSP70i cardíaca foi capaz de proteger o miocárdio contra lesões associadas à isquemia, endotoxemia e hemorragia (KARMAZYN *et al.*, 1990; MENG *et*

al., 1996; MIZUSHIMA *et al.*, 2000). Foi também demonstrado que o músculo esquelético de camundongos transgênicos que hiperexpressavam HSP70i possuía um número reduzido de fibras musculares lesadas e um menor déficit de geração de força após contrações severas induzidas por estimulação elétrica (MCARDLE *et al.*, 2004).

A HSP70i faz parte do sistema ubiquitina/proteasoma, exerce função de chaperona em vias de degradação protéica, faz ligação de novas cadeias de aminoácidos nos ribossomos e mantém a translocação e a conformação correta de proteínas precursoras do retículo endoplasmático e da mitocôndria no citosol (PILON e SCHEKMAN, 1999).

Em eucariotos, a expressão de HSPs após o estresse é regulada pelos fatores de choque térmico (HSFs) (Fig. 1). As isoformas HSF1 e HSF2 foram identificados em todos os vertebrados, o HSF3 foi identificado somente em espécies de aves e o HSF4 foi identificado em mamíferos e em aves (COTTO e MORIMOTO, 1999; FUJIMOTO *et al.*, 2004). Os HSF 1 e 3 são ativadores transcricionais responsivos ao estresse que são necessários para a indução da resposta ao choque térmico. O HSF2 é ativado durante o desenvolvimento embrionário, mas não após o estresse em indivíduos adultos. O HSF4 parece demonstrar uma expressão tecido-específica e é preferencialmente expresso no músculo esquelético, coração, cérebro e pâncreas de mamíferos (SANTORO, 2000).

O HSF1 é constitutivamente expresso em células maduras. Em situações não estressantes, HSF1 está presente como um monômero inativo ligado a HSP90, o qual está associado a HSP70, HSP40, HSC70 e outras chaperonas, formando o complexo de chaperonas (Fig. 1). Acredita-se que estes complexos de chaperonas reprimem a ativação de HSF1 sob condições não estressantes (SHI *et al.*, 1998; ZOU *et al.*, 1998) (Fig. 1). Em resposta ao estresse, o HSF1 se dissocia do complexo de chaperonas, sofre trimerização e em seguida se transloca para o núcleo, onde se liga ao elemento responsivo ao choque térmico (“*heat shock element*”; HSE) presente na região promotora dos genes de HSPs (Fig. 1) (SANTORO, 2000).

À medida que a síntese de HSPs se torna contínua, a HSP70, a HSP90 e outras chaperonas se translocam para o núcleo e se ligam a domínios de ativação transcricional de HSF1, impedindo a ativação contínua da transcrição dos genes de

HSPs. Este *feedback* negativo depende dos efeitos na proteína acoplada ao fator de choque térmico (HSBP1), que se liga ao trímico do HSF1, o dissocia e o rearranja em um monômero inativo (LOCKE e TANGUAY, 1996; SANTORO, 2000).

Atualmente, o uso de drogas indutoras da síntese de HSPs, tais como a geldanamicina e a herbimicina A e, mais recentemente o radicicol, têm sido ferramentas eficientes para o estudo dos efeitos biológicos dessas proteínas (MORRIS *et al.*, 1996; CONDE *et al.*, 1997; GRIFFIN *et al.*, 2004a). O radicicol é um antibiótico macro-cíclico antifúngico que estimula a expressão de HSPs através da sua ligação à HSP90 (com afinidade 50 vezes maior do que a geldanamicina e a herbimicina A) (ROE *et al.*, 1999), a qual regula o fator de transcrição HSF1 (GRIFFIN *et al.*, 2004b). Tal ação do radicicol tem sido comprovada e foi capaz de promover proteção contra lesão em cardiomiócitos (GRIFFIN *et al.*, 2004b). Entretanto no músculo esquelético, tal droga ainda foi pouco estudada.

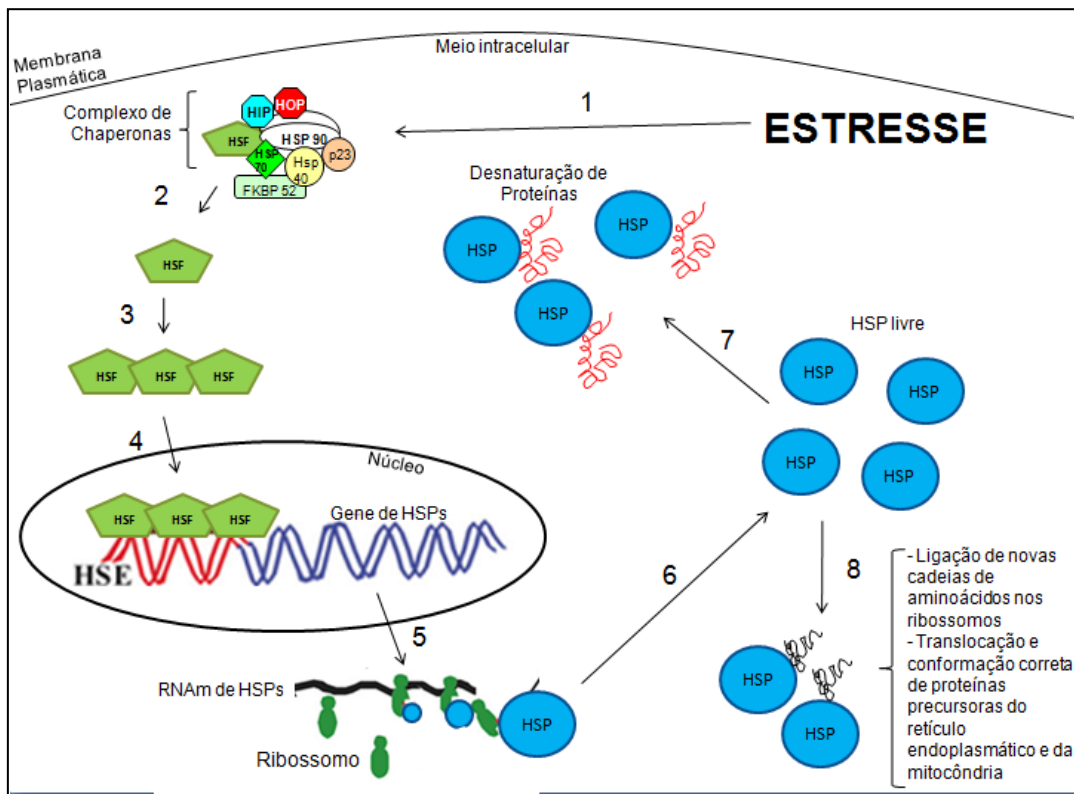


Fig. 1: Via de sinalização das HSPs. Em resposta ao estresse (1), o HSF se dissocia do complexo de chaperonas (2), sofre trimerização (3) e em seguida se transloca para o núcleo, onde se liga ao

HSE presente na região promotora do gene de HSPs (4), proporcionando um aumento da expressão gênica de HSPs (5) e, conseqüentemente, aumentando os níveis de HSPs livres no citoplasma (6). As HSPs exercem função de chaperonas em vias de degradação protéica através da sua ligação a proteínas desnaturadas (7), fazem ligação de novas cadeias de aminoácidos nos ribossomos e mantêm a translocação e a conformação correta de proteínas precursoras do retículo endoplasmático e da mitocôndria no citosol (8). HOP, *heat shock protein-organizing protein*; HIP, *heat shock protein-interacting protein*; FKBP 52, *binding protein*; p23, *protein co-chaperona 23*; HSF, *heat shock factor*.

1.1 Via do mTOR

O *mammalian target of rapamycin* (mTOR) é uma serina/treonina quinase pertencente à família *phosphatidylinositol kinase-related kinase*, sendo altamente conservada desde leveduras até mamíferos (JACINTO e HALL, 2003). A via de sinalização de mTOR está relacionada a uma ampla gama de funções incluindo a regulação da síntese protéica, proliferação e diferenciação celular, sobrevivência, apoptose e autofagia (BODINE *et al.*, 2001a; ROMMEL *et al.*, 2001a; HORNBERGER *et al.*, 2004b; GLASS, 2005; NADER *et al.*, 2005; MAMMUCARI *et al.*, 2008; MIYAZAKI e ESSER, 2008).

Inúmeros estudos têm mostrado que mTORC1 possui um papel crucial na regulação da síntese protéica e, portanto no crescimento/hipertrofia celular do músculo esquelético (BODINE *et al.*, 2001a; HORNBERGER *et al.*, 2004a; GLASS, 2005; NADER *et al.*, 2005; NOBUKUNI *et al.*, 2005). Consistente com o seu papel na regulação da síntese protéica, a ativação de mTORC1 ocorre no músculo esquelético após exercício de alta resistência em que é mantida por muitas horas (18-36 horas) depois de uma única sessão de estimulação elétrica do nervo ciático capaz de induzir a máxima força de contração muscular (BAAR e ESSER, 1999). O mTORC1 também recebe diferentes sinais *upstream* que podem funcionar tanto como ativadores ou como inibidores de sua atividade e muitos desses sinais são conhecidos por estarem ativados no músculo esquelético submetido à sobrecarga mecânica. Por exemplo, os ativadores de mTORC1 incluem fatores de crescimento e aminoácidos, enquanto que fatores que

podem inibir a função de mTORC1 incluem o estresse energético (regulação dependente da via da *AMP-activated protein kinase*, AMPK) e outras moléculas responsivas ao estresse (indução de *regulated in development and DNA damage responses*, REDD1/REDD2) (REILING e SABATINI, 2006; PROUD, 2007a; YANG e GUAN, 2007).

A via de sinalização PI3K/AKT/mTORC1 é inicialmente ativada sob certos estímulos hipertróficos, como exercício físico e nutrição; capazes de induzir o aumento da expressão de IGF-1 (*insulin like growth factor-1*) e dos níveis plasmáticos de insulina, respectivamente, os quais se ligam ao seu receptor de membrana (do tipo tirosina quinase) e este, conseqüentemente, sofre uma autofosforilação e ativa o substrato do receptor de insulina (IRS) (ALESSI e DOWNES, 1998; ROMMEL *et al.*, 2001a) (Fig. 2). O IRS fosforilado se liga ao fosfatidilinositol 3 quinase (PI3K) que por sua vez fosforila o fosfatidilinositol 4,5-bifosfato (PIP2) presente na membrana fosfolipídica, e produz fosfatidilinositol 3,4,5-trifosfato (PIP3), que age como segundo mensageiro para ativar AKT (Fig. 2). A AKT ativada é capaz de fosforilar e, conseqüentemente inibir a glicogênio sintase quinase 3 (GSK-3), levando à sua inibição e ao subsequente aumento na síntese protéica através de um aumento na atividade do fator de iniciação eucariótico 2B (eIF2B) (WELSH *et al.*, 1998) (Fig. 2). Além disso, AKT/PKB é conhecido como um regulador *upstream* da sinalização de mTOR através da regulação negativa do complexo *tuberous sclerosis complex* (TSC) (DAN *et al.*, 2002; INOKI *et al.*, 2002; MANNING *et al.*, 2002; POTTER *et al.*, 2002) (Fig. 2). O TSC é um heterodímero composto por TSC1 e TSC2, e funciona como um regulador negativo da atividade de mTORC1, via inibição da pequena GTPase Rheb (*Ras homolog enriched in brain*, ativador de mTOR) (Fig. 2).

Ao ser ativada, a quinase mTOR se associa a raptor (*regulatory associated protein of mTOR*) e a GβL (*G protein β-subunit-like protein*) formando o complexo mTORC1 (mTOR-raptor-GβL), cujos alvos são 4EBP1 (*eukaryotic initiation factor 4E-binding protein 1*) e S6K (*70 kDa ribosomal protein S6 kinase*) (ROMMEL *et al.*, 2001a; ROMMEL *et al.*, 2001b) (Fig. 2).

Alguns estudos já demonstraram que quando a via do mTORC1 está ativada, mTORC1 fosforila e regula negativamente a ação do fator inibitório da tradução, 4EBP1, levando

a um aumento na síntese protéica (Fig. 2). O 4EBP1 inibe a síntese protéica através de sua associação com o fator de iniciação da tradução eIF4E que é necessário para a formação do complexo eIF4F (complexo do fator de iniciação eucariótico 4F), responsável pela ativação do início da tradução (PROUD, 2007b) (Fig. 2).

Outra forma pela qual o mTORC1 regula a síntese protéica é através da fosforilação/ativação de S6K, que conseqüentemente fosforila a proteína ribossomal S6 (rpS6) que está envolvida no aumento da tradução de RNAs mensageiros (KOZMA *et al.*, 1990; RAUGHT e GINGRAS, 1999; KIMBALL e JEFFERSON, 2004; DELDICQUE *et al.*, 2005) (Fig. 2).

O tratamento *in vivo* e *in vitro* com a droga rapamicina proporciona a inibição de mTORC1 e conseqüentemente a inibição da tradução protéica (ROMMEL *et al.*, 2001a; ROMMEL *et al.*, 2001b); pois uma vez associada ao seu receptor intracelular FKBP12, a rapamicina é capaz de inibir a formação do complexo mTORC1 (HAY e SONENBERG, 2004). Estudos mais recentes demonstraram que o mTOR também se associa a G β L e rictor (rapamycin-insensitive companion of mTOR), formando um complexo denominado mTORC2 insensível à rapamicina e envolvido principalmente na organização do citoesqueleto de actina e no processo de autofagia (JACINTO *et al.*, 2004; SARBASSOV *et al.*, 2004; MAMMUCARI *et al.*, 2008), entretanto a função desse complexo é pouco conhecida.

O possível papel do mTORC1 no processo regenerativo das fibras musculares ainda não é conhecido. Alguns trabalhos demonstraram que o tratamento com rapamicina (inibidor de mTORC1) foi capaz de atenuar a recuperação do diâmetro da fibra muscular após desnervação (PALLAFACCHINA *et al.*, 2002) e de bloquear o efeito anabólico de um agonista β 2 adrenérgico no músculo esquelético de ratos (KLINE *et al.*, 2007). No entanto, nenhum estudo abordou o envolvimento do mTORC1 na recuperação muscular após injúria. Além disso, ainda não está esclarecido se o mTORC1 modula a expressão de proteínas reguladoras do trofismo muscular como aquelas envolvidas na via ubiquitina-proteassoma em diferentes fases da regeneração muscular.

A via ubiquitina-proteassoma tem sido descrita como importante reguladora do trofismo muscular esquelético via modulação da proteólise (portanto regula negativamente o trofismo muscular) em várias condições metabólicas tais como: sepse, câncer, uremia, envelhecimento e lesão (MITCH e GOLDBERG, 1996; LECKER *et al.*, 1999). Nesta via, as proteínas são ligadas covalentemente à ubiquitina e posteriormente degradadas por um complexo multicatalítico denominado de proteassoma 26S (KISSELEV *et al.*, 1998). Este processo compreende uma cascata de reações enzimáticas em que inicialmente, E1 (enzima ativadora de ubiquitina) ativa a ubiquitina envolvendo a hidrólise de ATP, E2 (enzima conjugadora de ubiquitinas) conjuga as ubiquitinas em um complexo de poliubiquitinas e em seguida, E3 (enzima ubiquitina-ligase) liga esse complexo à proteína-alvo, que é reconhecida e degradada em pequenos peptídeos pelo proteassoma 26S (JENTSCH, 1992; CENTNER *et al.*, 2001). Diferentemente das E1 e E2, existe uma grande variedade de E3, cujas ações são substrato e tecido-específicas (JAGOE e GOLDBERG, 2001). Os genes das ubiquitina-ligases MuRF-1 (*muscle-specific RING finger 1*) e atrogin-1, possuem regiões promotoras controladas positivamente por fatores de transcrição da família FOXO (*Forkhead Box O*), que são fosforilados por AKT (Fig. 2) e, conseqüentemente são impedidos de se translocar para o núcleo (SANDRI *et al.*, 2004; STITT *et al.*, 2004). Portanto, a via de sinalização da AKT também exerce influência sobre o processo de degradação protéica.

A ligação da ubiquitina a uma proteína específica é um processo reversível, em que as enzimas desubiquitinases são capazes de desligar a ubiquitina da proteína, poupando-a, portanto, da degradação (RICHARD *et al.*, 1995). As desubiquitinases estão envolvidas em uma série de processos biológicos tais como o crescimento celular e câncer, diferenciação e desenvolvimento, regulação da transcrição e doenças neurodegenerativas (CHUNG e BAEK, 1999), entretanto seu papel fisiológico é pouco conhecido.

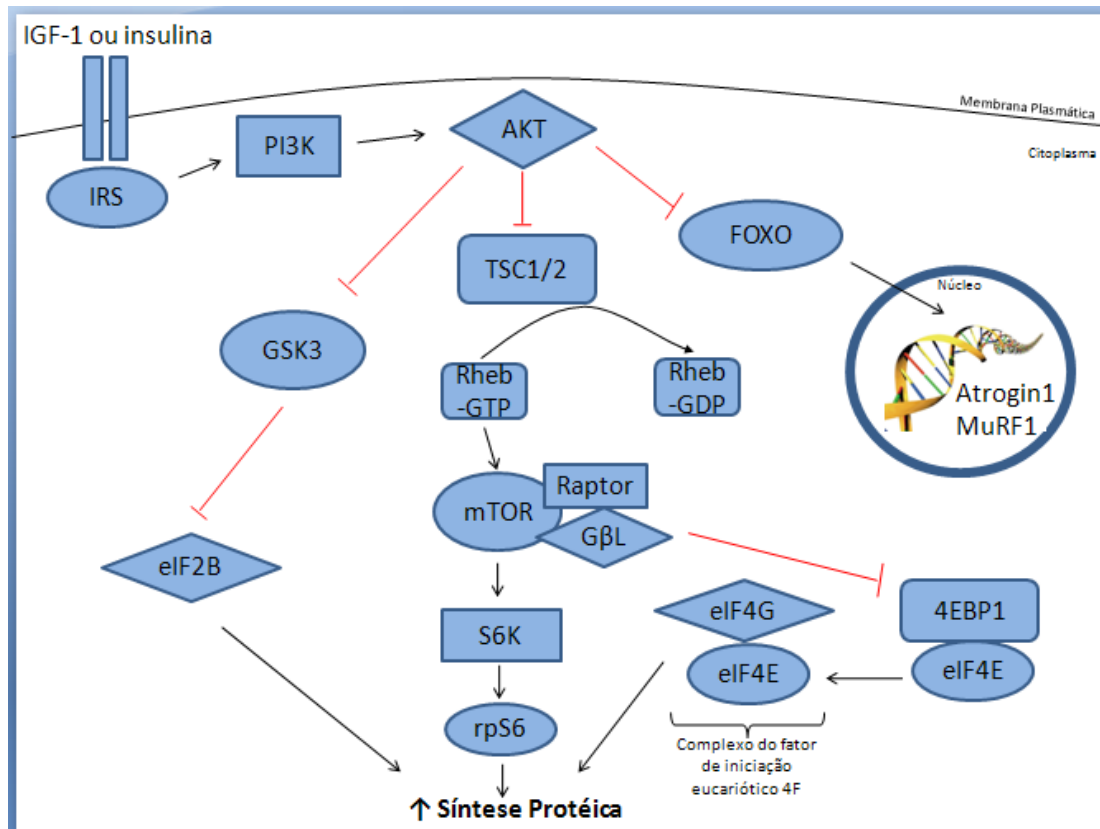


Fig.2: Via da PI3K/AKT/mTORC1. O IGF-1 ou a insulina se liga ao seu receptor de membrana (do tipo tirosina quinase) e este ativa o IRS. O IRS fosforilado se liga a PI3K, que ativa AKT. A AKT ativada é capaz de fosforilar e inibir a GSK-3, levando ao aumento na síntese protéica através de um aumento na atividade do eIF2B. AKT também é responsável por fosforilar FOXO e conseqüentemente impedi-lo de se translocar para o núcleo, prevenindo que os genes de Atrogin-1 e MuRF-1 sejam transcritos. Além disso, AKT é responsável por uma regulação negativa do complexo TSC (TSC1/TSC2) que por sua vez, funciona como um regulador negativo da atividade de mTORC1, via inibição da pequena GTPase Rheb. Ao ser ativada, a mTOR se associa a raptor e GβL formando o complexo mTORC1, cujos alvos são 4EBP1 e S6K. O mTORC1 ativado fosforila e regula negativamente a ação do fator inibitório da tradução 4EBP1 levando a um aumento na síntese protéica. O 4EBP1 inibe a síntese protéica através de sua associação com o eIF4E que é necessário para a formação do complexo do fator de iniciação eucariótico 4F, eIF4F, responsável pela ativação do início da tradução. O mTORC1 também é responsável por ativar S6K, que fosforila a rpS6 que está envolvida no aumento da tradução de RNAs mensageiros.

1.4 Justificativa

O fato das HSPs serem citoprotetoras e do mTORC1 estar envolvido no controle do ganho de massa muscular, levanta a possibilidade de que as HSPs sejam importantes para o processo regenerativo muscular e que mTORC1 participe da regulação da recuperação da massa muscular após injúria. Portanto, o estudo do papel das HSPs e do mTORC1 na regeneração muscular esquelética contribuirá para o melhor entendimento dos mecanismos intracelulares envolvidos nesse processo. Além disso, este estudo servirá de base para a elaboração de futuras estratégias terapêuticas no intuito de prevenir e/ou melhorar a recuperação da musculatura esquelética após lesões ou disfunções.

6 CONCLUSÃO

Nossos resultados mostram que 1) o radicicol melhora a recuperação do tamanho da fibra muscular e a regeneração de músculos esqueléticos após lesão e que 2) a rapamicina atenua a recuperação do tamanho da fibra muscular e a síntese protéica de músculos esqueléticos em regeneração; sugerindo que as HSPs e o mTORC1 são importantes para o processo regenerativo muscular. Futuros estudos deveriam ser realizados no intuito de se investigar o potencial efeito do radicicol como agente terapêutico em músculos esqueléticos e o papel das HSPs e do mTORC1 como possíveis alvos terapêuticos no tratamento de lesões e disfunções musculares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALDERTON, J. M.; STEINHARDT, R. A. Calcium influx through calcium leak channels is responsible for the elevated levels of calcium-dependent proteolysis in dystrophic myotubes. **J. Biol. Chem.**, v. 275, n. 13, p. 9452-9460, Mar. 2000.

ALESSI, D. R.; DOWNES, C. P. The role of PI 3-kinase in insulin action. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1436, n. 1-2, p. 151-164, Dec. 1998.

ALFORD, E. K.; ROY, R. R.; HODGSON, J. A.; EDGERTON, V. R. Electromyography of rat soleus, medial gastrocnemius, and tibialis anterior during hind limb suspension. **Exp. Neurol.**, v. 96, n. 3, p. 635-649, Jun, 1987.

ANANTHAN, J.; GOLDBERG, A. L.; VOELLMY, R. Abnormal proteins serve as eukaryotic stress signals and trigger the activation of heat shock genes. **Science**, v. 232, n. 4749, p. 522-524, Apr. 1986.

ARMSTRONG, R. B. Initial events in exercise-induced muscular injury. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 22, n. 4, p. 429-435, Aug., 1990.

ARYA, R.; MALLIK, M.; LAKHOTIA, S. C. Heat shock genes - integrating cell survival and death. **J. Biosci.**, v. 32, n. 3, p. 595-610, Apr. 2007.

BAAR, K.; ESSER, K. Phosphorylation of p70(S6k) correlates with increased skeletal muscle mass following resistance exercise. **Am. J. Physiol.**, v. 276, n. 1, p. C120-127, Jan. 1999. Pt 1.

BABA, H. A.; SCHMID, K. W.; SCHMID, C.; BLASIUS, S.; HEINECKE, A.; KERBER, S.; SCHELD, H. H.; BOCKER, W.; DENG, M. C. Possible relationship between heat shock protein 70, cardiac hemodynamics, and survival in the early period after heart transplantation. **Transplantation**, v. 65, n. 6, p. 799-804, Mar. 1998.

BELCASTRO, A. N.; SHEWCHUK, L. D.; RAJ, D. A. Exercise-induced muscle injury: a calpain hypothesis. **Mol. Cell Biochem.**, v. 179, n. 1-2, p. 135-145, Feb. 1998.

BODINE, S. C.; STITT, T. N.; GONZALEZ, M.; KLINE, W. O.; STOVER, G. L.; BAUERLEIN, R.; ZLOTCHENKO, E.; SCRIMGEOUR, A.; LAWRENCE, J. C.; GLASS, D. J.; YANCOPOULOS, G. D. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. **Nat. Cell Biol.**, v. 3, n. 11, p. 1014-1019, Nov. 2001a.

BODINE, S. C.; STITT, T. N.; GONZALEZ, M.; KLINE, W. O.; STOVER, G. L.; BAUERLEIN, R.; ZLOTCHENKO, E.; SCRIMGEOUR, A.; LAWRENCE, J. C.; GLASS, D. J.; YANCOPOULOS, G. D. Akt/mTOR pathway is a crucial regulator of skeletal

* De acordo com:

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 6023**: Informação e documentação: referências, elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

muscle hypertrophy and can prevent muscle atrophy in vivo. **Nat. Cell Biol.**, v. 3, n. 11, p. 1014-1019, Nov. 2001b.

BUCKINGHAM, M. Myogenic progenitor cells and skeletal myogenesis in vertebrates. **Curr. Opin. Genet. Dev.**, v. 16, n. 5, p. 525-532, Oct. 2006.

BUKAU, B.; HORWICH, A. L. The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines. **Cell**, v. 92, n. 3, p. 351-366, Feb. 1998.

CALDERWOOD, S. K.; MAMBULA, S. S.; GRAY, P. J. JR.; THERIAULT, J. R. Extracellular heat shock proteins in cell signaling. **FEBS Lett.**, v. 581, n. 19, p. 3689-3694, July 2007.

CARLSON, B. M.; FAULKNER, J. A. The regeneration of skeletal muscle fibers following injury: a review. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 15, n. 3, p. 187-198, 1983.

CARPENTER, S.; KARPATI, G. **Pathology of Skeletal Muscle**. New York: Churchill Livingstone, 1984.

CARSON, J. A.; NETTLETON, D.; REECY, J. M. Differential gene expression in the rat soleus muscle during early work overload-induced hypertrophy. **Faseb J.**, v. 16, n. 2, p. 207-209, Feb. 2002.

CENTNER, T.; YANO, J.; KIMURA, E.; MCELHINNY, A. S.; PELIN, K.; WITT, C. C.; BANG, M. L.; TROMBITAS, K.; GRANZIER, H.; GREGORIO, C. C.; SORIMACHI, H.; LABEIT, S. Identification of muscle specific ring finger proteins as potential regulators of the titin kinase domain. **J. Mol. Biol.**, v. 306, n. 4, p. 717-726, Mar. 2001.

CHARGE, S. B.; RUDNICKI, M. A. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. **Physiol. Rev.**, v. 84, n. 1, p. 209-238, Jan. 2004.

CHEN, J. C.; GOLDHAMER, D. J. Skeletal muscle stem cells. **Reprod. Biol. Endocrinol.**, v. 1, p. 101, Nov. 2003.

CHEN, Y.; VOEGELI, T. S.; LIU, P. P.; NOBLE, E. G.; CURRIE, R. W. Heat shock paradox and a new role of heat shock proteins and their receptors as anti-inflammation targets. **Inflamm. Allergy Drug Targets**, v. 6, n. 2, p. 91-100, Jun. 2007.

CHUNG, C. H.; BAEK, S. H. Deubiquitinating enzymes: their diversity and emerging roles. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 266, n. 3, p. 633-640, Dec. 1999.

CLARK, K. A.; MCELHINNY, A. S.; BECKERLE, M. C.; GREGORIO, C. C. Striated muscle cytoarchitecture: an intricate web of form and function. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, v. 18, p. 637-706, 2002.

CLEMENT, G.; GURFINKEL, V. S.; LESTIENNE, F.; LIPSHITS, M. I.; POPOV, K. E. Adaptation of postural control to weightlessness. **Exp. Brain Res.**, v. 57, n. 1, p. 61-72, 1984.

COLEMAN, M. E.; DEMAYO, F.; YIN, K. C.; LEE, H. M.; GESKE, R.; MONTGOMERY, C.; SCHWARTZ, R. J. Myogenic vector expression of insulin-like growth factor I stimulates muscle cell differentiation and myofiber hypertrophy in transgenic mice. **J. Biol. Chem.**, v. 270, n. 20, p. 12109-12116, May 1995.

COLLINS, C. A. Satellite cell self-renewal. **Curr. Opin. Pharmacol.**, v. 6, n. 3, p. 301-306, June 2006.

CONDE, A. G.; LAU, S. S.; DILLMANN, W. H.; MESTRIL, R. Induction of heat shock proteins by tyrosine kinase inhibitors in rat cardiomyocytes and myogenic cells confers protection against simulated ischemia. **J. Mol. Cell Cardiol.**, v. 29, n. 7, p. 1927-1938, July 1997.

COOPER, R. N.; TAJBAKSH, S.; MOULY, V.; COSSU, G.; BUCKINGHAM, M.; BUTLER-BROWNE, G. S. In vivo satellite cell activation via Myf5 and MyoD in regenerating mouse skeletal muscle. **J. Cell Sci.**, v. 112, p. 2895-2901, Sep. 1999. Pt 17.

CORNELISON, D. D.; WOLD, B. J. Single-cell analysis of regulatory gene expression in quiescent and activated mouse skeletal muscle satellite cells. **Dev. Biol.**, v. 191, n. 2, p. 270-283, Nov. 1997.

CORNELUSSEN, R. N.; VANAGT, W. Y.; PRINZEN, F. W.; SNOECKX, L. H. Proteins involved in salvage of the myocardium. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v. 543, p. 277-291, 2003.

COTTO, J. J.; MORIMOTO, R. I. Stress-induced activation of the heat-shock response: cell and molecular biology of heat-shock factors. **Biochem. Soc. Symp.**, v. 64, p. 105-118, 1999.

CSERMELY, P.; SOTI, C.; BLATCH, G. L. Chaperones as parts of cellular networks. **Adv. Exp. Med. Biol.**, v. 594, p. 55-63, 2007.

DAN, H. C.; SUN, M.; YANG, L.; FELDMAN, R. I.; SUI, X. M.; OU, C. C.; NELLIST, M.; YEUNG, R. S.; HALLEY, D. J.; NICOSIA, S. V.; PLEDGER, W. J.; CHENG, J. Q. Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway regulates tuberous sclerosis tumor suppressor complex by phosphorylation of tuberin. **J. Biol. Chem.**, v. 277, n. 38, p. 35364-35370, Sep. 2002.

DAUGAARD, M.; ROHDE, M.; JAATTELA, M. The heat shock protein 70 family: Highly homologous proteins with overlapping and distinct functions. **FEBS Lett.**, v. 581, n. 19, p. 3702-3710, July 2007.

DEDKOV, E. I.; BORISOV, A. B.; WERNIG, A.; CARLSON, B. M. Aging of skeletal muscle does not affect the response of satellite cells to denervation. **J. Histochem. Cytochem.**, v. 51, n. 7, p. 853-863, July 2003.

DELDICQUE, L.; THEISEN, D.; FRANCAUX, M. Regulation of mTOR by amino acids and resistance exercise in skeletal muscle. **Eur. J. Appl. Physiol.**, v. 94, n. 1-2, p. 1-10, May 2005.

DUGUEZ, S.; BIHAN, M. C.; GOUTTEFANGEAS, D.; FEASSON, L.; FREYSSENET, D. Myogenic and nonmyogenic cells differentially express proteinases, Hsc/Hsp70, and BAG-1 during skeletal muscle regeneration. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 285, n. 1, p. E206-215, July 2003.

EHRNSPERGER, M.; GRABER, S.; GAESTEL, M.; BUCHNER, J. Binding of non-native protein to Hsp25 during heat shock creates a reservoir of folding intermediates for reactivation. **Embo J.**, v. 16, n. 2, p. 221-229, Jan. 1997.

FEASSON, L.; STOCKHOLM, D.; FREYSSENET, D.; RICHARD, I.; DUGUEZ, S.; BECKMANN, J. S.; DENIS, C. Molecular adaptations of neuromuscular disease-associated proteins in response to eccentric exercise in human skeletal muscle. **J. Physiol.**, v. 543, p. 297-306, Aug. 2002. Pt. 1.

FEBBRAIO, M. A.; KOUKOULAS, I. HSP72 gene expression progressively increases in human skeletal muscle during prolonged, exhaustive exercise. **J. Appl. Physiol.**, v. 89, n. 3, p. 1055-1060, Sep. 2000.

FERRANDO, A. A.; STUART, C. A.; BRUNDER, D. G.; HILLMAN, G. R. Magnetic resonance imaging quantitation of changes in muscle volume during 7 days of strict bed rest. **Aviat. Space Environ. Med.**, v. 66, n. 10, p. 976-981, Oct. 1995.

FISHER, B. D.; BARACOS, V. E.; SHNITKA, T. K.; MENDRYK, S. W.; REID, D. C. Ultrastructural events following acute muscle trauma. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 22, n. 2, p. 185-193, Apr. 1990.

FOURCADE, O.; SIMON, M. F.; VIODE, C.; RUGANI, N.; LEBALLE, F.; RAGAB, A.; FOURNIE, B.; SARDA, L.; CHAP, H. Secretory phospholipase A2 generates the novel lipid mediator lysophosphatidic acid in membrane microvesicles shed from activated cells. **Cell**, v. 80, n. 6, p. 919-927, Mar. 1995.

FUENTES, L.; HERNANDEZ, M.; NIETO, M. L.; SANCHEZ CRESPO, M. Biological effects of group IIA secreted phospholipase A(2). **FEBS Lett.**, v. 531, n. 1, p. 7-11, Oct. 2002.

FUJIMOTO, M.; IZU, H.; SEKI, K.; FUKUDA, K.; NISHIDA, T.; YAMADA, S.; KATO, K.; YONEMURA, S.; INOUE, S.; NAKAI, A. HSF4 is required for normal cell growth and

differentiation during mouse lens development. **Embo J.**, v. 23, n. 21, p. 4297-4306, Oct. 2004.

GARRETT, W. E., JR. Muscle strain injuries. **Am. J. Sports Med.**, v. 24, n. 6, p. S2-8, 1996. Suppl.

GEBAUER, M.; ZEINER, M.; GEHRING, U. Proteins interacting with the molecular chaperone hsp70/hsc70: physical associations and effects on refolding activity. **FEBS Lett.**, v. 417, n. 1, p. 109-113, Nov. 1997.

GETHING, M. J. Molecular chaperones: clasping the prize. **Curr. Biol.**, v. 6, n. 12, p. 1573-1576, Dec. 1996.

GIASSON, E.; MELOCHE, S. Role of p70 S6 protein kinase in angiotensin II-induced protein synthesis in vascular smooth muscle cells. **J. Biol. Chem.**, v. 270, n. 10, p. 5225-5231, Mar. 1995.

GLASS, D. J. Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, v. 37, n. 10, p. 1974-1984, Oct. 2005.

GOLDSPINK, G.; WILLIAMS, P.; SIMPSON, H. Gene expression in response to muscle stretch. **Clin. Orthop. Relat. Res.**, n. 403, p. S146-152, Oct., 2002.

GREFTE, S.; KUIJPERS-JAGTMAN, A. M.; TORENSMA, R.; VON DEN HOFF, J. W. Skeletal muscle development and regeneration. **Stem Cells Dev.**, v. 16, n. 5, p. 857-868, Oct. 2007.

GRIFFIN, T. M.; VALDEZ, T. V.; MESTRIL, R. Radicol activates heat shock protein expression and cardioprotection in neonatal rat cardiomyocytes. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 287, n. 3, p. H1081-1088, Sep. 2004a.

GROUND, M. D.; GARRETT, K. L.; LAI, M. C.; WRIGHT, W. E.; BEILHARZ, M. W. Identification of skeletal muscle precursor cells in vivo by use of MyoD1 and myogenin probes. **Cell Tissue Res.**, v. 267, n. 1, p. 99-104, Jan. 1992.

GUPTA, S.; KNOWLTON, A. A. HSP60, Bax, apoptosis and the heart. **J. Cell Mol. Med.**, v. 9, n. 1, p. 51-58, Jan.-Mar. 2005.

GUTIERREZ, J. M.; OWNBY, C. L. Skeletal muscle degeneration induced by venom phospholipases A2: insights into the mechanisms of local and systemic myotoxicity. **Toxicon**, v. 42, n. 8, p. 915-931, Dec. 2003.

HAMER, P. W.; MCGEACHIE, J. M.; DAVIES, M. J.; GROUND, M. D. Evans Blue Dye as an in vivo marker of myofibre damage: optimising parameters for detecting initial myofibre membrane permeability. **J. Anat.**, v. 200, n. 1, p. 69-79, Jan. 2002.

HARRIS, J. B.; VATER, R.; WILSON, M.; CULLEN, M. J. Muscle fibre breakdown in venom-induced muscle degeneration. **J. Anat.**, v. 202, n. 4, p. 363-372, Apr. 2003.

HAVERINEN, M.; PASSINEN, S.; SYVALA, H.; PASANEN, S.; MANNINEN, T.; TUOHIMAA, P.; YLIKOMI, T. Heat shock protein 90 and the nuclear transport of progesterone receptor. **Cell Stress Chaperones**, v. 6, n. 3, p. 256-262, July 2001.

HAWKE, T. J.; GARRY, D. J. Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. **J. Appl. Physiol.**, v. 91, n. 2, p. 534-551, Aug. 2001a.

HAY, N.; SONENBERG, N. Upstream and downstream of mTOR. **Genes Dev.**, v. 18, n. 16, p. 1926-1945, Aug. 2004.

HOOD, D. A. Invited Review: contractile activity-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. **J. Appl. Physiol.**, v. 90, n. 3, p. 1137-1157, Mar. 2001.

HORNBERGER, T. A.; STUPPARD, R.; CONLEY, K. E.; FEDELE, M. J.; FIOROTTO, M. L.; CHIN, E. R.; ESSER, K. A. Mechanical stimuli regulate rapamycin-sensitive signalling by a phosphoinositide 3-kinase-, protein kinase B- and growth factor-independent mechanism. **Biochem. J.**, v. 380, p. 795-804, June 2004b. Pt. 3.

HUARD, J.; LI, Y.; FU, F. H. Muscle injuries and repair: current trends in research. **J. Bone Joint Surg. Am.**, v. 84-A, n. 5, p. 822-832, May 2002.

HUNT, C.; MORIMOTO, R. I. Conserved features of eukaryotic hsp70 genes revealed by comparison with the nucleotide sequence of human hsp70. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 82, n. 19, p. 6455-6459, Oct. 1985.

HURME, T.; KALIMO, H.; LEHTO, M.; JARVINEN, M. Healing of skeletal muscle injury: an ultrastructural and immunohistochemical study. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 23, n. 7, p. 801-810, July 1991.

INOKI, K.; LI, Y.; ZHU, T.; WU, J.; GUAN, K. L. TSC2 is phosphorylated and inhibited by Akt and suppresses mTOR signalling. **Nat. Cell. Biol.**, v. 4, n. 9, p. 648-657, Sep. 2002.

IRINTCHEV, A.; ZWEYER, M.; COOPER, R. N.; BUTLER-BROWNE, G. S.; WERNIG, A. Contractile properties, structure and fiber phenotype of intact and regenerating slow-twitch muscles of mice treated with cyclosporin A. **Cell Tissue Res.**, v. 308, n. 1, p. 143-156, Apr. 2002.

ISHIDO, M.; KAMI, K.; MASUHARA, M. Localization of MyoD, myogenin and cell cycle regulatory factors in hypertrophying rat skeletal muscles. **Acta Physiol. Scand.**, v. 180, n. 3, p. 281-289, Mar. 2004.

JACINTO, E.; HALL, M. N. Tor signalling in bugs, brain and brawn. **Nat. Rev. Mol. Cell Biol.**, v. 4, n. 2, p. 117-126, Feb. 2003.

JACINTO, E.; LOEWITH, R.; SCHMIDT, A.; LIN, S.; RUEGG, M. A.; HALL, A.; HALL, M. N. Mammalian TOR complex 2 controls the actin cytoskeleton and is rapamycin insensitive. **Nat. Cell Biol.**, v. 6, n. 11, p. 1122-1128, Nov. 2004.

JAGOE, R. T.; GOLDBERG, A. L. What do we really know about the ubiquitin-proteasome pathway in muscle atrophy? **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, v. 4, n. 3, p. 183-190, May 2001.

JAKOB, U. HSP90--news from the front. **Front. Biosci.**, v. 1, p. d309-317, Oct. 1996.

JARVINEN, T. A.; JARVINEN, T. L.; KAARIAINEN, M.; KALIMO, H.; JARVINEN, M. Muscle injuries: biology and treatment. **Am. J. Sports Med.**, v. 33, n. 5, p. 745-764, May 2005.

JENTSCH, S. The ubiquitin-conjugation system. **Annu. Rev. Genet.**, v. 26, p. 179-207, 1992.

JOHNSON, J. D.; FLESHNER, M. Releasing signals, secretory pathways, and immune function of endogenous extracellular heat shock protein 72. **J. Leukoc. Biol.**, v. 79, n. 3, p. 425-434, Mar. 2006.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004

KAMPINGA, H. H.; HENNING, R. H.; VAN GELDER, I. C.; BRUNDEL, B. J. Beat shock proteins and atrial fibrillation. **Cell Stress Chaperones**, v. 12, n. 2, p. 97-100, Summer, 2007.

KARMAZYN, M.; MAILER, K.; CURRIE, R. W. Acquisition and Decay of heat-shock-enhanced postischemic ventricular recovery. **Am. J. Physiol.**, v. 259, n. 2, p. H424-431, Aug. 1990. Pt. 2.

KARPATI, G.; CARPENTER, S.; PRESCOTT, S. Small-caliber skeletal muscle fibers do not suffer necrosis in mdx mouse dystrophy. **Muscle Nerve**, v. 11, n. 8, p. 795-803, Aug. 1988.

KEYNES, R. D.; AIDLEY, D. J. **Nerve and Muscle**. New York: Cambridge University Press, 2001. 179 p.

KIMBALL, S. R.; JEFFERSON, L. S. Molecular mechanisms through which amino acids mediate signaling through the mammalian target of rapamycin. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, v. 7, n. 1, p. 39-44, Jan. 2004.

KISSELEV, A. F.; AKOPIAN, T. N.; GOLDBERG, A. L. Range of sizes of peptide products generated during degradation of different proteins by archaeal proteasomes. **J. Biol. Chem.**, v. 273, n. 4, p. 1982-1989, Jan. 1998.

KLINE, W. O.; PANARO, F. J.; YANG, H.; BODINE, S. C. Rapamycin inhibits the growth and muscle-sparing effects of clenbuterol. **J. Appl. Physiol.**, v. 102, n. 2, p. 740-747, Feb. 2007.

KOJIMA, A.; GOTO, K.; MORIOKA, S.; NAITO, T.; AKEMA, T.; FUJIYA, H.; SUGIURA, T.; OHIRA, Y.; BEPPU, M.; AOKI, H.; YOSHIOKA, T. Heat stress facilitates the regeneration of injured skeletal muscle in rats. **J. Orthop. Sci.**, v. 12, n. 1, p. 74-82, Jan. 2007.

KOZMA, S. C.; FERRARI, S.; BASSAND, P.; SIEGMANN, M.; TOTTY, N.; THOMAS, G. Cloning of the mitogen-activated S6 kinase from rat liver reveals an enzyme of the second messenger subfamily. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 87, n. 19, p. 7365-7369, Oct. 1990.

KUDO, I.; MURAKAMI, M.; HARA, S.; INOUE, K. Mammalian non-pancreatic phospholipases A2. **Biochim. Biophys. Acta**, v. 1170, n. 3, p. 217-231, Nov. 1993.

LAI, H. C.; LIU, T. J.; TING, C. T.; YANG, J. Y.; HUANG, L.; WALLACE, D.; KAISER, P.; WANG, P. H. Regulation of IGF-I receptor signaling in diabetic cardiac muscle: dysregulation of cytosolic and mitochondria HSP60. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 292, n. 1, p. E292-297, Jan. 2007.

LAMBRECHT, S.; VERBRUGGEN, G.; ELEWAUT, D.; DEFORCE, D. Differential expression of alphaB-crystallin and evidence of its role as a mediator of matrix gene expression in osteoarthritis. **Arthritis Rheum**, v. 60, n. 1, p. 179-188, Jan. 2009.

LANDUCCI, E. C.; CONDINO-NETO, A.; PEREZ, A. C.; HYSLOP, S.; CORRADO, A. P.; NOVELLO, J. C.; MARANGONI, S.; OLIVEIRA, B.; ANTUNES, E.; DE NUCCI, G. Crotoxin induces aggregation of human washed platelets. **Toxicon**, v. 32, n. 2, p. 217-226, Feb. 1994.

LECKER, S. H.; SOLOMON, V.; MITCH, W. E.; GOLDBERG, A. L. Muscle protein breakdown and the critical role of the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. **J. Nutr.**, v. 129, n. 1, p. 227S-237S, Jan. 1999. Suppl.

LEPPA, S.; PIRKKALA, L.; CHOW, S. C.; ERIKSSON, J. E.; SISTONEN, L. Thioredoxin is transcriptionally induced upon activation of heat shock factor 2. **J. Biol. Chem.**, v. 272, n. 48, p. 30400-30404, Nov. 1997.

LIEBER, R. L. **Skeletal muscle structures and function.** Baltimore: Williams & Wilkins, 1992.

LIN, L.; KIM, S. C.; WANG, Y.; GUPTA, S.; DAVIS, B.; SIMON, S. I.; TORRE-AMIONE, G.; KNOWLTON, A. A. HSP60 in heart failure: abnormal distribution and role in cardiac myocyte apoptosis. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 293, n. 4, p. H2238-2247, Oct. 2007.

LOCKE, M. Heat shock protein accumulation and heat shock transcription factor activation in rat skeletal muscle during compensatory hypertrophy. **Acta Physiol.**, v. 192, n. 3, p. 403-411, Mar. 2008.

LOCKE, M.; TANGUAY, R. M. Increased HSF activation in muscles with a high constitutive Hsp70 expression. **Cell Stress Chaperones**, v. 1, n. 3, p. 189-196, Sep. 1996.

MAMMUCARI, C.; SCHIAFFINO, S.; SANDRI, M. Downstream of Akt: FoxO3 and mTOR in the regulation of autophagy in skeletal muscle. **Autophagy**, v. 4, n. 4, p. 524-526, May 2008.

MANNING, B. D.; TEE, A. R.; LOGSDON, M. N.; BLENIS, J.; CANTLEY, L. C. Identification of the tuberous sclerosis complex-2 tumor suppressor gene product tuberin as a target of the phosphoinositide 3-kinase/akt pathway. **Mol. Cell**, v. 10, n. 1, p. 151-162, July 2002.

MATSAKAS, A.; PATEL, K. Intracellular signalling pathways regulating the adaptation of skeletal muscle to exercise and nutritional changes. **Histol. Histopathol.**, v. 24, n. 2, p. 209-222, Feb. 2009a.

MATSAKAS, A.; PATEL, K. Skeletal muscle fibre plasticity in response to selected environmental and physiological stimuli. **Histol. Histopathol.**, v. 24, n. 5, p. 611-629, May, 2009b.

MCARDLE, A.; DILLMANN, W. H.; MESTRIL, R.; FAULKNER, J. A.; JACKSON, M. J. Overexpression of HSP70 in mouse skeletal muscle protects against muscle damage and age-related muscle dysfunction. **Faseb J.**, v. 18, n. 2, p. 355-357, Feb. 2004.

MCARDLE, A.; VASILAKI, A.; JACKSON, M. Exercise and skeletal muscle ageing: cellular and molecular mechanisms. **Ageing Res. Rev.**, v. 1, n. 1, p. 79-93, Feb. 2002.

MEGENEY, L. A.; KABLAR, B.; GARRETT, K.; ANDERSON, J. E.; RUDNICKI, M. A. MyoD is required for myogenic stem cell function in adult skeletal muscle. **Genes Dev.**, v. 10, n. 10, p. 1173-1183, May 1996.

MENG, X.; BROWN, J. M.; AO, L.; BANERJEE, A.; HARKEN, A. H. Norepinephrine induces cardiac heat shock protein 70 and delayed cardioprotection in the rat through alpha 1 adrenoceptors. **Cardiovasc. Res.**, v. 32, n. 2, p. 374-383, Aug. 1996.

MITCH, W. E.; GOLDBERG, A. L. Mechanisms of muscle wasting. The role of the ubiquitin-proteasome pathway. **N. Engl. J. Med.**, v. 335, n. 25, p. 1897-1905, Dec. 1996.

MIWA, M.; KOZAWA, O. O.; TOKUDA, H.; UEMATSU, T. Involvement of arachidonic acid in chemical stress-induced interleukin-6 synthesis in osteoblast-like cells: comparison with heat shock protein 27 induction. **Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids**, v. 62, n. 3, p. 189-193, Mar. 2000.

MIYABARA, E. H.; AOKI, M. S.; SOARES, A. G.; MORISCOT, A. S. Expression of tropism-related genes in regenerating skeletal muscle of rats treated with cyclosporin-A. **Cell Tissue Res.**, v. 319, n. 3, p. 479-489, Mar. 2005.

MIYABARA, E. H.; MARTIN, J. L.; GRIFFIN, T. M.; MORISCOT, A. S.; MESTRIL, R. Overexpression of inducible 70-kDa heat shock protein in mouse attenuates skeletal muscle damage induced by cryolesioning. **Am. J. Physiol. Cell. Physiol.**, v. 290, n. 4, p. C1128-1138, Apr. 2006.

MIYABARA, E. H.; TOSTES, R. C.; SELISTRE-DE-ARAUJO, H. S.; AOKI, M. S.; MORISCOT, A. S. Role of nitric oxide in myotoxic activity induced by crotoxin in vivo. **Toxicon**, v. 43, n. 4, p. 425-432, Mar. 2004a.

MIYABARA, E. H.; TOSTES, R. C.; SELISTRE DE ARAUJO, H. S.; AOKI, M. S.; SALVINI, T. F.; MORISCOT, A. S. Cyclosporin A attenuates skeletal muscle damage induced by crotoxin in rats. **Toxicon**, v. 43, n. 1, p. 35-42, Jan. 2004b.

MIYAZAKI, M.; ESSER, K. A. Cellular mechanisms regulating protein synthesis and skeletal muscle hypertrophy in animals. **J. Appl. Physiol.**, Nov. 2008.

MIZUSHIMA, Y.; WANG, P.; JARRAR, D.; CIOFFI, W. G.; BLAND, K. I.; CHAUDRY, I. H. Preinduction of heat shock proteins protects cardiac and hepatic functions following trauma and hemorrhage. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 278, n. 2, p. R352-359, Feb. 2000.

MORRIS, S. D.; CUMMING, D. V.; LATCHMAN, D. S.; YELLON, D. M. Specific induction of the 70-kD heat stress proteins by the tyrosine kinase inhibitor herbimycin-A protects rat neonatal cardiomyocytes. A new pharmacological route to stress protein expression? **J. Clin. Invest.**, v. 97, n. 3, p. 706-712, Feb. 1996.

MORRISON, L. E.; WHITTAKER, R. J.; KLEPPER, R. E.; WAWROUSEK, E. F.; GLEMBOTSKI, C. C. Roles for alphaB-crystallin and HSPB2 in protecting the myocardium from ischemia-reperfusion-induced damage in a KO mouse model. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 286, n. 3, p. H847-855, Mar. 2004.

MORTON, J. P.; MACLAREN, D. P.; CABLE, N. T.; BONGERS, T.; GRIFFITHS, R. D.; CAMPBELL, I. T.; EVANS, L.; KAYANI, A.; MCARDLE, A.; DRUST, B. Time course and

differential responses of the major heat shock protein families in human skeletal muscle following acute nondamaging treadmill exercise. **J. Appl. Physiol.**, v. 101, n. 1, p. 176-182, June 2006.

MOSELEY, P. L. Heat shock proteins and the inflammatory response. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 856, p. 206-213, Sep. 1998.

MUNRO, S.; PELHAM, H. R. An Hsp70-like protein in the ER: identity with the 78 kd glucose-regulated protein and immunoglobulin heavy chain binding protein. **Cell**, v. 46, n. 2, p. 291-300, June 1986.

MUSARO, A.; MCCULLAGH, K.; PAUL, A.; HOUGHTON, L.; DOBROWOLNY, G.; MOLINARO, M.; BARTON, E. R.; SWEENEY, H. L.; ROSENTHAL, N. Localized Igf-1 transgene expression sustains hypertrophy and regeneration in senescent skeletal muscle. **Nat. Genet.**, v. 27, n. 2, p. 195-200, Feb. 2001.

NADER, G. A. Molecular determinants of skeletal muscle mass: getting the "AKT" together. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, v. 37, n. 10, p. 1985-1996, Oct. 2005.

NADER, G. A.; MCLOUGHLIN, T. J.; ESSER, K. A. mTOR function in skeletal muscle hypertrophy: increased ribosomal RNA via cell cycle regulators. **Am. J. Physiol. Cell Physiol.**, v. 289, n. 6, p. C1457-1465, Dec. 2005.

NEWSHOLME, P.; COSTA ROSA, L. F.; NEWSHOLME, E. A.; CURI, R. The importance of fuel metabolism to macrophage function. **Cell Biochem. Funct.**, v. 14, n. 1, p. 1-10, Mar. 1996.

NEWSHOLME, P.; LIMA, M. M.; PROCOPIO, J.; PITHON-CURI, T. C.; DOI, S. Q.; BAZOTTE, R. B.; CURI, R. Glutamine and glutamate as vital metabolites. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 36, n. 2, p. 153-163, Feb. 2003.

NOBLE, E. G.; MILNE, K. J.; MELLING, C. W. Heat shock proteins and exercise: a primer. **Appl. Physiol. Nutr. Metab.**, v. 33, n. 5, p. 1050-1065, Oct. 2008.

NOBUKUNI, T.; JOAQUIN, M.; ROCCIO, M.; DANN, S. G.; KIM, S. Y.; GULATI, P.; BYFIELD, M. P.; BACKER, J. M.; NATT, F.; BOS, J. L.; ZWARTKRUIS, F. J.; THOMAS, G. Amino acids mediate mTOR/raptor signaling through activation of class 3 phosphatidylinositol 3OH-kinase. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 102, n. 40, p. 14238-14243, Oct. 2005.

OLGUIN, H. C.; OLWIN, B. B. Pax-7 up-regulation inhibits myogenesis and cell cycle progression in satellite cells: a potential mechanism for self-renewal. **Dev. Biol.**, v. 275, n. 2, p. 375-388, Nov. 2004.

PALLAFACCHINA, G.; CALABRIA, E.; SERRANO, A. L.; KALHOVDE, J. M.; SCHIAFFINO, S. A protein kinase B-dependent and rapamycin-sensitive pathway

controls skeletal muscle growth but not fiber type specification. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.**, v. 99, n. 14, p. 9213-9218, July 2002.

PAULSEN, G.; VISSING, K.; KALHOVDE, J. M.; UGELSTAD, I.; BAYER, M. L.; KADI, F.; SCHJERLING, P.; HALLEN, J.; RAASTAD, T. Maximal eccentric exercise induces a rapid accumulation of small heat shock proteins on myofibrils and a delayed HSP70 response in humans. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 293, n. 2, p. R844-853, Aug. 2007.

PETTE, D.; STARON, R. S. Myosin isoforms, muscle fiber types, and transitions. **Microsc. Res. Tech.**, v. 50, n. 6, p. 500-509, Sep. 2000.

PETTE, D.; STARON, R. S. Transitions of muscle fiber phenotypic profiles. **Histochem. Cell Biol.**, v. 115, n. 5, p. 359-372, May 2001.

PICARD, D. Chaperoning steroid hormone action. **Trends Endocrinol. Metab.**, v. 17, n. 6, p. 229-235, Aug. 2006.

PILON, M.; SCHEKMAN, R. Protein translocation: how Hsp70 pulls it off. **Cell**, v. 97, n. 6, p. 679-682, June 1999.

PIRKKALA, L.; NYKANEN, P.; SISTONEN, L. Roles of the heat shock transcription factors in regulation of the heat shock response and beyond. **Faseb J.**, v. 15, n. 7, p. 1118-1131, May 2001.

POTTER, C. J.; PEDRAZA, L. G.; XU, T. Akt regulates growth by directly phosphorylating Tsc2. **Nat. Cell Biol.**, v. 4, n. 9, p. 658-665, Sep. 2002.

PRATT, W. B. The hsp90-based chaperone system: involvement in signal transduction from a variety of hormone and growth factor receptors. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 217, n. 4, p. 420-434, Apr. 1998.

PROUD, C. G. Amino acids and mTOR signalling in anabolic function. **Biochem. Soc. Trans.**, v. 35, n. Pt 5, p. 1187-1190, Nov. 2007a.

PROUD, C. G. Signalling to translation: how signal transduction pathways control the protein synthetic machinery. **Biochem. J.**, v. 403, n. 2, p. 217-234, Apr. 2007b.

PUNTSCHART, A.; VOGT, M.; WIDMER, H. R.; HOPPELER, H.; BILLETER, R. Hsp70 expression in human skeletal muscle after exercise. **Acta Physiol. Scand.**, v. 157, n. 4, p. 411-417, Aug. 1996.

RAUGHT, B.; GINGRAS, A. C. eIF4E activity is regulated at multiple levels. **Int. J. Biochem. Cell Biol.**, v. 31, n. 1, p. 43-57, Jan. 1999.

REILING, J. H.; SABATINI, D. M. Stress and mTOR signaling. **Oncogene**, v. 25, n. 48, p. 6373-6383, Oct. 2006.

RELAIX, F.; MONTARRAS, D.; ZAFFRAN, S.; GAYRAUD-MOREL, B.; ROCAN COURT, D.; TAJBAKSH, S.; MANSOURI, A.; CUMANO, A.; BUCKINGHAM, M. Pax3 and Pax7 have distinct and overlapping functions in adult muscle progenitor cells. **J. Cell Biol.**, v. 172, n. 1, p. 91-102, Jan. 2006.

RICHARD, I.; BROUX, O.; ALLAMAND, V.; FOUGEROUSSE, F.; CHIANNILKULCHAI, N.; BOURG, N.; BRENGUIER, L.; DEVAUD, C.; PASTURAUD, P.; ROUDAUT, C.; ET AL. Mutations in the proteolytic enzyme calpain 3 cause limb-girdle muscular dystrophy type 2A. **Cell**, v. 81, n. 1, p. 27-40, Apr. 1995.

RITOSSA, F. A new puffing pattern induced by temperature shock and DNP in *Drosophila*. **Experientia**, v. 18, p. 571-573, 1962.

ROE, S. M.; PRODRYMOU, C.; O'BRIEN, R.; LADBURY, J. E.; PIPER, P. W.; PEARL, L. H. Structural basis for inhibition of the Hsp90 molecular chaperone by the antitumor antibiotics radicicol and geldanamycin. **J. Med. Chem.**, v. 42, n. 2, p. 260-266, Jan. 1999.

ROMMEL, C.; BODINE, S. C.; CLARKE, B. A.; ROSSMAN, R.; NUNEZ, L.; STITT, T. N.; YANCOPOULOS, G. D.; GLASS, D. J. Mediation of IGF-1-induced skeletal myotube hypertrophy by PI(3)K/Akt/mTOR and PI(3)K/Akt/GSK3 pathways. **Nat. Cell Biol.**, v. 3, n. 11, p. 1009-1013, Nov. 2001a.

SALVINI, T. F.; MORINI, C. C.; SELISTRE DE ARAUJO, H. S.; OWNBY, C. L. Long-term regeneration of fast and slow murine skeletal muscles after induced injury by ACL myotoxin isolated from *Agkistrodon contortrix laticinctus* (broad-banded copperhead) venom. **Anat. Rec.**, v. 254, n. 4, p. 521-533, Apr. 1999a.

SANDRI, M.; SANDRI, C.; GILBERT, A.; SKURK, C.; CALABRIA, E.; PICARD, A.; WALSH, K.; SCHIAFFINO, S.; LECKER, S. H.; GOLDBERG, A. L. Foxo transcription factors induce the atrophy-related ubiquitin ligase atrogin-1 and cause skeletal muscle atrophy. **Cell**, v. 117, n. 3, p. 399-412, Apr. 2004.

SANTORO, M. G. Heat shock factors and the control of the stress response. **Biochem. Pharmacol.**, v. 59, n. 1, p. 55-63, Jan 1, 2000.

SARBASSOV, D. D.; ALI, S. M.; KIM, D. H.; GUERTIN, D. A.; LATEK, R. R.; ERDJUMENT-BROMAGE, H.; TEMPST, P.; SABATINI, D. M. Rictor, a novel binding partner of mTOR, defines a rapamycin-insensitive and raptor-independent pathway that regulates the cytoskeleton. **Curr. Biol.**, v. 14, n. 14, p. 1296-1302, July 2004.

SCHAGGER, H.; AQUILA, H.; VON JAGOW, G. Coomassie blue-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for direct visualization of polypeptides during electrophoresis. **Anal. Biochem.**, v. 173, n. 1, p. 201-205, Aug. 1988.

SEALE, P.; RUDNICKI, M. A. A new look at the origin, function, and "stem-cell" status of muscle satellite cells. **Dev. Biol.**, v. 218, n. 2, p. 115-124, Feb. 2000.

SHAN, Y. X.; YANG, T. L.; MESTRIL, R.; WANG, P. H. Hsp10 and Hsp60 suppress ubiquitination of insulin-like growth factor-1 receptor and augment insulin-like growth factor-1 receptor signaling in cardiac muscle: implications on decreased myocardial protection in diabetic cardiomyopathy. **J. Biol. Chem.**, v. 278, n. 46, p. 45492-45498, Nov. 2003.

SHI, X.; GARRY, D. J. Muscle stem cells in development, regeneration, and disease. **Genes Dev.**, v. 20, n. 13, p. 1692-1708, July 2006.

SHI, Y.; MOSSER, D. D.; MORIMOTO, R. I. Molecular chaperones as HSF1-specific transcriptional repressors. **Genes Dev.**, v. 12, n. 5, p. 654-666, Mar. 1998.

SINGH, M. A.; DING, W.; MANFREDI, T. J.; SOLARES, G. S.; O'NEILL, E. F.; CLEMENTS, K. M.; RYAN, N. D.; KEHAYIAS, J. J.; FIELDING, R. A.; EVANS, W. J. Insulin-like growth factor I in skeletal muscle after weight-lifting exercise in frail elders. **Am. J. Physiol.**, v. 277, n. 1, p. E135-143, July 1999. Pt 1.

SMITH, L. L.; ANWAR, A.; FRAGEN, M.; RANANTO, C.; JOHNSON, R.; HOLBERT, D. Cytokines and cell adhesion molecules associated with high-intensity eccentric exercise. **Eur. J. Appl. Physiol.**, v. 82, n. 1-2, p. 61-67, May 2000.

SPANGENBURG, E. E.; LE ROITH, D.; WARD, C. W.; BODINE, S. C. A functional insulin-like growth factor receptor is not necessary for load-induced skeletal muscle hypertrophy. **J. Physiol.**, v. 586, n. 1, p. 283-291, Jan. 2008.

STITT, T. N.; DRUJAN, D.; CLARKE, B. A.; PANARO, F.; TIMOFEYVA, Y.; KLINE, W. O.; GONZALEZ, M.; YANCOPOULOS, G. D.; GLASS, D. J. The IGF-1/PI3K/Akt pathway prevents expression of muscle atrophy-induced ubiquitin ligases by inhibiting FOXO transcription factors. **Mol. Cell.**, v. 14, n. 3, p. 395-403, May 2004.

STUPKA, N.; TARNOPOLSKY, M. A.; YARDLEY, N. J.; PHILLIPS, S. M. Cellular adaptation to repeated eccentric exercise-induced muscle damage. **J. Appl. Physiol.**, v. 91, n. 4, p. 1669-1678, Oct. 2001.

SUN, Y.; MACRAE, T. H. The small heat shock proteins and their role in human disease. **FEBS J.**, v. 272, n. 11, p. 2613-2627, June 2005.

SZALAY, K.; RAZGA, Z.; DUDA, E. TNF inhibits myogenesis and downregulates the expression of myogenic regulatory factors myoD and myogenin. **Eur. J. Cell Biol.**, v. 74, n. 4, p. 391-398, Dec. 1997.

TAJSHARGHI, H. Thick and thin filament gene mutations in striated muscle diseases. **Int. J. Mol. Sci.**, v. 9, n. 7, p. 1259-1275, June 2008.

TANGUAY, R. M.; WU, Y.; KHANDJIAN, E. W. Tissue-specific expression of heat shock proteins of the mouse in the absence of stress. **Dev. Genet.**, v. 14, n. 2, p. 112-118, 1993.

TIDBALL, J. G. Inflammatory cell response to acute muscle injury. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 27, n. 7, p. 1022-1032, July 1995.

VADAS, P.; BROWNING, J.; EDELSON, J.; PRUZANSKI, W. Extracellular phospholipase A2 expression and inflammation: the relationship with associated disease states. **J. Lipid Mediat.**, v. 8, n. 1, p. 1-30, Aug. 1993.

VICART, P.; CARON, A.; GUICHENEY, P.; LI, Z.; PREVOST, M. C.; FAURE, A.; CHATEAU, D.; CHAPON, F.; TOME, F.; DUPRET, J. M.; PAULIN, D.; FARDEAU, M. A missense mutation in the alphaB-crystallin chaperone gene causes a desmin-related myopathy. **Nat. Genet.**, v. 20, n. 1, p. 92-95, Sep. 1998.

WALSH, R. C.; KOUKOULAS, I.; GARNHAM, A.; MOSELEY, P. L.; HARGREAVES, M.; FEBBRAIO, M. A. Exercise increases serum Hsp72 in humans. **Cell Stress Chaperones**, v. 6, n. 4, p. 386-393, Oct., 2001.

WANG, X.; KLEVITSKY, R.; HUANG, W.; GLASFORD, J.; LI, F.; ROBBINS, J. AlphaB-crystallin modulates protein aggregation of abnormal desmin. **Circ. Res.**, v. 93, n. 10, p. 998-1005, Nov. 2003.

WELSH, G. I.; MILLER, C. M.; LOUGHLIN, A. J.; PRICE, N. T.; PROUD, C. G. Regulation of eukaryotic initiation factor eIF2B: glycogen synthase kinase-3 phosphorylates a conserved serine which undergoes dephosphorylation in response to insulin. **FEBS Lett.**, v. 421, n. 2, p. 125-130, Jan. 1998.

WILMORE, J. H.; COSTILL, D. L. **Fisiologia do exercício e do esporte**. São Paulo: Manole, 2001.

WOZNIAK, A. C.; KONG, J.; BOCK, E.; PILIPOWICZ, O.; ANDERSON, J. E. Signaling satellite-cell activation in skeletal muscle: markers, models, stretch, and potential alternate pathways. **Muscle Nerve**, v. 31, n. 3, p. 283-300, Mar. 2005.

WU, C. Heat shock transcription factors: structure and regulation. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.**, v. 11, p. 441-469, 1995.

YANG, Q.; GUAN, K. L. Expanding mTOR signaling. **Cell Res.**, v. 17, n. 8, p. 666-681, Aug. 2007.

ZAMMIT, P. S.; GOLDING, J. P.; NAGATA, Y.; HUDON, V.; PARTRIDGE, T. A.; BEAUCHAMP, J. R. Muscle satellite cells adopt divergent fates: a mechanism for self-renewal? **J. Cell Biol.**, v. 166, n. 3, p. 347-357, Aug. 2004.

ZOU, J.; GUO, Y.; GUETTOUCHE, T.; SMITH, D. F.; VOELLMY, R. Repression of heat shock transcription factor HSF1 activation by HSP90 (HSP90 complex) that forms a stress-sensitive complex with HSF1. **Cell**, v. 94, n. 4, p. 471-480, Aug. 1998.