



# EFEITO DA NATAÇÃO NA EXPRESSÃO DE FATORES REGULATÓRIOS MIOGÊNICOS DURANTE O REPARO DO MUSCULOESQUELÉTICO DE RATO

SWIMMING INFLUENCE ON THE EXPRESSION OF MYOGENIC REGULATORY FACTORS DURING SKELETAL MUSCLE REPAIR OF RATS

Paulo Roberto Dantas Pestana<sup>1</sup>  
Agnelo Neves Alves<sup>1</sup>  
Kristianne Porta Santos Fernandes<sup>1</sup>  
José Antonio da Silva Junior<sup>1</sup>  
Cristiane Miranda França<sup>1</sup>  
Manoela Domingues Martins<sup>2</sup>  
Sandra Kalil Bussadori<sup>1</sup>  
Raquel Agnelli Mesquita-Ferrari<sup>1</sup>

1. Universidade Nove de Julho (Uninove) – São Paulo, SP, Brasil.  
2. Departamento de Odontologia Conservadora, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) – Rio Grande do Sul, RS, Brasil.

## Correspondência:

Raquel Agnelli Mesquita Ferrari  
Universidade Nove de Julho  
Av. Francisco Matarazzo, 612, Água Branca, CEP 05001-100  
São Paulo – SP, Brasil  
E-mail: raquelmescquita@uninove.br

## RESUMO

**Contextualização:** O músculo esquelético tem a capacidade de adaptação frente a estímulos variados, tais como atividade contrátil, danos diretos e indiretos. Uma das modalidades terapêuticas utilizadas na reabilitação de disfunções musculoesqueléticas que vem demonstrando resultados positivos no tratamento e na prevenção de várias patologias é a terapia aquática. **Objetivo:** Analisar o efeito da natação na expressão dos fatores regulatórios miogênicos MyoD e miogenina durante o reparo do músculo esquelético de rato após criolesão. **Métodos:** Foram utilizados 40 ratos Wistar, divididos em 04 grupos: (1) Controle; (2) "Sham" (sem lesão, submetido a exposição do músculo tibial anterior (TA)); (3) Criolesionado e (4) Criolesionado e submetido à natação, analisados em 7, 14 e 21 dias. A criolesão foi realizada por meio de duas aplicações, utilizando um bastão metálico de extremidade plana, resfriado em nitrogênio líquido diretamente no ventre muscular. O protocolo consistiu de sessões de natação com duração de 90 minutos, realizadas 6 vezes por semana. Ao término do protocolo os animais foram eutanasiados, os músculos TA foram removidos e o RNA total foi extraído. Em seguida, foi obtido o cDNA para a realização do PCR em tempo real utilizando primers específicos para MyoD e miogenina. **Resultados:** Os resultados evidenciaram uma redução na expressão de miogenina após 7 dias nos grupos criolesionado com ( $p \leq 0.01$ ) e sem ( $p \leq 0.01$ ) natação e após 14 no grupo criolesionado com natação ( $p \leq 0.05$ ) com relação aos grupos controle e "sham", respectivamente. Não encontramos diferenças entre os grupos criolesionados com ( $p > 0.05$ ) e sem natação ( $p > 0.05$ ). Com relação à expressão de MyoD não houve diferença entre os grupos avaliados. **Conclusão:** A natação não influenciou a expressão dos fatores regulatórios miogênicos durante o processo de reparo de músculo esquelético de rato após criolesão.

**Palavras-chave:** natação, reparo, músculo esquelético, MyoD, miogenina.

## ABSTRACT

**Background:** Skeletal muscle has the ability to adapt to several stimuli, such as contractile activity as well as direct and indirect damage. Aquatic therapy has been used in the rehabilitation of musculoskeletal disorders. In addition, it has demonstrated positive results in the therapeutic process and preventing several diseases. **Objective:** The aim of the present study was to analyze the effect of swimming on the expression of the myogenic regulatory factors MyoD and myogenin during the skeletal muscle repair process in rats following cryoinjury. **Methods:** Forty Wistar rats were randomly divided into four groups: 1) Control; 2) Sham – non-muscle damaged, submitted to procedure for exposure of the tibialis anterior (TA) muscle; 3) Cryoinjured; and 4) Cryoinjured and submitted to swimming. Analyses were carried out at 7, 14 and 21 days. Cryoinjury was performed with two applications of the flat end of a metal rod previously cooled in liquid nitrogen directly to the belly of the TA muscle. The protocol consisted of 90-minute swimming sessions six times a week. At the end of the protocol, the animals were euthanized and the TA muscles were removed. Total RNA was extracted using the TRIzol reagent. Next, cDNA was obtained to perform real-time PCR using specific primers for MyoD and myogenin. **Results:** The results showed a reduction in the expression of myogenin in the groups cryoinjury with  $p \leq 0.01$  and without  $p \leq 0.01$  swimming after 7 days, and in group cryoinjury with swimming ( $p \leq 0.05$ ) after 14 days respect to the control groups and "sham", respectively. There were no differences between groups cryoinjury with ( $p > 0.05$ ) and without ( $p > 0.05$ ) swimming. Regarding the expression of MyoD there was no difference between the groups. **Conclusion:** Swimming did not affect the expression of myogenic regulatory factors during the skeletal muscle repair process in rats following cryoinjury.

**Keywords:** swimming, repair, skeletal muscle, MyoD, myogenin.

## INTRODUÇÃO

Os músculos esqueléticos são tecidos dinâmicos que possuem uma extraordinária capacidade de adaptação frente a estímulos variados tais como atividade contrátil, danos diretos (laceração, contusão e estira-

mento) e indiretos (isquemia e disfunção neurológica), para atender de forma mais adequada à demanda funcional<sup>1-4</sup>. A essa capacidade denomina-se plasticidade<sup>5-6</sup>. Em circunstâncias normais, o músculo esquelético adulto de mamíferos é um tecido estável com baixo "turn

over”, ou seja, baixo remodelamento sem alterações drásticas em suas características fenotípicas<sup>6</sup>.

Após uma lesão, o músculo tem a habilidade de iniciar um processo de reparo altamente organizado de forma a prevenir a perda de massa muscular e restaurar suas funções normais. Este processo é semelhante à miogênese, ou seja, formação do tecido muscular, porém, as células que participam inicialmente são as células satélites, ao invés das progenitoras miogênicas<sup>1,2,7,8</sup>. Após a ativação, as células satélites sofrem uma série de etapas que envolvem a proliferação, diferenciação e fusão de mioblastos nas fibras musculares para reparar danos musculares ou constituir uma nova fibra<sup>1,9</sup>. Nas diferentes etapas da miogênese, as células expressam distintos fatores regulatórios miogênicos envolvidos neste processo, tais como MyoD e miogenina. MyoD está diretamente relacionada com a ativação, proliferação e diferenciação das células satélites, enquanto a expressão de miogenina está relacionado com a diferenciação terminal<sup>2,10-14</sup>.

Recentemente alguns estudos têm demonstrado uma relação direta entre a expressão de fatores regulatórios miogênicos e desempenho na realização de exercícios físicos, na presença ou não de lesão muscular<sup>15,16</sup>.

Flynn *et al.*, 2010<sup>15</sup>, demonstraram que camundongos nocaute para o gene de miogenina apresentaram um desempenho significativamente melhor do que os controles quando submetidos a exercícios de alta e de baixa intensidade em esteira, sugerindo que a miogenina desempenha um papel crítico como um regulador de alto nível transcricional para controlar o equilíbrio de energia entre o metabolismo aeróbio e anaeróbio no músculo esquelético adulto. Já Meadows *et al.*, 2011<sup>16</sup> demonstraram que camundongos mdx nocaute para o gene de miogenina apresentaram uma resistência maior ao exercício de exaustão que foi associada com aumento da expressão de óxido nítrico sintase neuronal (nNOS), relacionado a atrofia e fadiga muscular e sugerem que a redução na expressão da miogenina em outras doenças musculares poderia restaurar parcialmente a função muscular.

Atualmente, existe uma crescente preocupação em proporcionar um processo de reparo (regeneração) muscular mais rápido e de melhor qualidade especialmente em condições como reparo após lesões em atletas, transplantes, atrofias por desuso, permanência no espaço entre outras<sup>4</sup>. Vários tipos e modelos de lesão têm sido propostos para examinar os mecanismos de regeneração do músculo esquelético, incluindo danos por contusão, congelamento e uso de substâncias químicas e por veneno<sup>17-20</sup>. O modelo de criolesão tem a capacidade de induzir a lesão e subsequente regeneração em uma área delimitada do ventre muscular, além de ocasionar uma lesão limpa e de fácil reprodutibilidade<sup>21</sup>, o que mimetizaria as lesões musculares comuns na prática desportiva. O exercício aeróbico é muito utilizado na reabilitação de disfunções musculoesqueléticas e neste panorama a natação tem ganhado cada vez mais destaque, porém os dados da literatura com relação a seus efeitos e a protocolos a serem utilizados após os diferentes tipos de lesão ainda não estão bem estabelecidos.

A atividade física em ambiente aquático possui diversos efeitos fisiológicos que podem trazer benefícios ao processo de reparo tecidual sendo destacados o aumento da circulação periférica e consequente aumento no suprimento de oxigênio e nutrientes ao músculo ativo, aumento no retorno sanguíneo e linfático, redução de edemas pela ação da pressão hidrostática e redução da sensibilidade dos terminais nervosos que somadas com todas as outras causam um relaxamento muscular<sup>22</sup>.

Desta forma, o objetivo do presente estudo foi analisar o efeito da natação na expressão dos fatores regulatórios miogênicos MyoD e miogenina, durante o reparo do músculo esquelético de rato após criolesão.

## MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia utilizada neste estudo foi elaborada atendendo às resoluções 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNINOVE (número AN 0013/2009).

## Animais

Foram utilizados 40 animais ratos, machos da linhagem Wistar, com idade média de 12 ± 1,2 semanas e pesando entre 200 ± 15g mantidos no biotério da Universidade Nove de Julho (UNINOVE). Os animais foram mantidos em caixas plásticas apropriadas, temperatura ambiente (22°C), umidade relativa (40%), luminosidade controlada com ciclo de 12-h (claro/escuro) e com comida e água *ad libitum*.

Os animais foram divididos aleatoriamente em 04 grupos experimentais: Grupo (1) – Controle (n=5); Grupo (2) – Sham: (Os animais foram apenas submetidos ao procedimento de exposição do músculo tibial anterior (TA)) (n=5); Grupo (3) – Criolesionado, eutanasiados após 7 (n=5), 14 (n=5) e 21 dias (n=5); Grupo (4) – Criolesionado e submetido à natação, eutanasiados após 7 (n=5), 14 (n=5) e 21 dias (n=5).

## Procedimento de criolesão

Os animais foram anestesiados com injeção intraperitoneal de anestésico geral injetável a base de ketamina (Dopalen) e de xilazina (Anasedan). Para aplicação da anestesia foram utilizadas seringas da marca BD 100 Unidades com Agulha BD Ultra-Fine®, modelo insulina com a agulha Ultra-Fine® (regular), comprimento: 12,7 mm, calibre: 0,33 mm e bisel trifacetado. Cada animal foi anestesiado utilizando-se uma mistura de ketamina 10% (0,2 ml/100 gramas do animal) e de xilazina 2% (0,1 ml/100 gramas do animal). O modelo de criolesão que foi utilizado está de acordo com o descrito por Miyabara *et al.*<sup>21</sup>. O músculo TA foi exposto cirurgicamente e a criolesão foi realizada por meio de duas aplicações (duração de 10 segundos cada), utilizando bastão metálico de extremidade plana, previamente resfriado em nitrogênio líquido, diretamente na superfície ventral do músculo. O bastão metálico utilizado no músculo TA foi de 0,4 x 0,4cm e de 0,4 x 1 cm. Após o procedimento foi realizada a sutura das áreas incisadas utilizando-se fio de poliamida (6,0) e os animais foram mantidos em gaiolas com aquecimento para prevenir a hipotermia. Ao término do protocolo de natação, os animais foram eutanasiados com overdose de anestésico e os músculos TA foram removidos.

## Protocolo de Natação

Previamente ao início do protocolo de natação os animais foram adaptados por um período de seis dias, seguindo o protocolo proposto por Takeda *et al.*<sup>23</sup>. No dia seguinte ao término da adaptação foi realizado o procedimento de criolesão e os animais foram mantidos em repouso por 3 dias de forma a permitir a cicatrização da pele e, dessa forma, poder ser iniciado o protocolo de natação sem o risco de infecção ou de complicações como deiscência de cicatriz.

Os animais foram submetidos ao protocolo de natação em compartimentos de cloreto de polivinila (PVC) 24 cm de diâmetro, com água a 50 cm de profundidade e temperatura média de 33 ± 1 °C. Os animais nadaram por um período de 90min/dia, 6 vezes por semana<sup>23</sup> totalizando 03, 09 ou 15 sessões para os grupos 7, 14 e 21 dias respectivamente uma vez que foi aguardado um período de 3 dias para a cicatrização da pele do animal. Durante todo o protocolo experimental a água foi movimentada e os animais tiveram pesos fixados à cauda (até 20% do peso corporal) para evitar a flutuação e garantir, dessa forma, a realização do treinamento proposto<sup>24</sup>. Ao término do protocolo proposto, os animais foram eutanasiados utilizando overdose de anestésico e os músculos TA foram removidos para a extração de RNA total e análise da expressão gênica por PCR em tempo real.

## Extração do RNA total

Para este procedimento foram utilizadas 80-100mg do músculo TA removido. O tecido foi homogenizado em reagente TRIzol (Invitrogen, Brasil) e o isolamento do RNA total foi obtido seguindo as orientações do fabricante. Para verificação do sucesso do procedimento de extração, as amostras de RNA total foram analisadas através de eletroforese em gel de agarose-formaldeído 1%.

O RNA total foi quantificado por espectrometria em 260nm e todas as amostras foram tratadas com DNase (Invitrogen, Brasil) para evitar contaminação com DNA genômico. Todas as soluções utilizadas para os procedimentos descritos foram preparadas com água livre de RNase tratada com 0,01% de DEPC (Dimetil pirocarbonato) e, além disso, os materiais plásticos e vidraria também receberam tratamento contra RNase.

### Síntese de cDNA e PCR (reação em cadeia da polimerase) quantitativo

Para análise da expressão gênica foi utilizada a síntese de cDNA e o PCR em tempo real. A transcrição reversa (RT) foi realizada em uma reação de 200 µl, na presença de 50 mM Tris-HCl, pH 8,3, 3mM MgCl<sub>2</sub>, 10 ditiotreitil mM, 0,5 mM dNTPs e 50ng de primers aleatórios com 200 unidades de Moloney murino transcriptase reversa do vírus da leucemia (Invitrogen, Brasil). As reações foram mantidas em condições de 20° C por 10 min, 42° C por 45 min e 95° C por 5 minutos. Um microlitro da reação do RT foi utilizada para realização do PCR em tempo real.

A PCR em tempo real foi realizada utilizando o kit SYBRGreen (Applied Biosystems, E.U.A.) em 7000 *Sequence Detection System* (ABI Prism, da Applied Biosystems, Foster City, CA). As condições utilizadas foram 50°C por 2min., 95°C por 10 min., seguido por 40 ciclos a 95°C por 15 segundos e 60°C por 1 min. Os experimentos foram realizados em triplicata para cada ponto de dados. A abundância de MyoD e miogenina RNAm foi quantificada como um valor relativo em comparação com a expressão de gene constitutivo (GAPDH).

Os primers utilizados para a reação de PCR em tempo real foram: GAPDH (GenBank<sup>TM</sup> número de acesso NM 017008) senso 5'- TGCAC-CACCAACTGCTTAGC -3' e anti-senso GCCCCACGGCCATCA -3'; MyoD<sup>25</sup> - senso 5' GGA GAC ATC CTC AAG CGA TGC e anti-senso AGC ACC TGG TAA ATC GGA TTG (produto de amplificação: 80pb); Miogenina<sup>26,27</sup> - senso 5'-ACTACCCACCGTCCATTAC-3' e anti-senso 3'-TCGGGGCACTCACT-GTCTCT-5' (produto de amplificação: 233pb).

Os valores quantitativos para RNAm de MyoD, miogenina e GAPDH foram obtidos a partir do número de ciclos (CT – threshold cycle), em que há aumento do sinal associado a um crescimento exponencial dos produtos de PCR. As curvas de fusão foram geradas no final de cada corrida para garantir a uniformidade do produto. O nível de expressão relativa do gene alvo foi normalizado com base na expressão GAPDH como controle endógeno. ΔCt valores das amostras foram determinados subtraindo o valor médio de Ct MyoD/miogenina RNAm Ct do valor médio da GAPDH de controle interno. Como é raro usar ΔCt como dados relativos devido a esta característica logarítmica, o parâmetro 2<sup>-ΔCt</sup> foi utilizado para expressar os dados de expressão relativa.

### ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados de RNAm MyoD e miogenina foram apresentados como valores de média ± desvio padrão (DP). Comparações entre os grupos foram feitas utilizando a análise one-way de variância (ANOVA). O teste de Tukey foi utilizado para determinar diferenças significativas entre os grupos experimentais. O valor de p ≤ 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. A análise dos dados foi realizada com o auxílio do programa *GraphPad Prism 4,0 software* estatístico (GraphPad Software, San Diego, CA, EUA).

### RESULTADOS

Os resultados evidenciaram que não houve diferença significativa na expressão de RNAm MyoD entre os grupos controle (0.87±0.19; p>0.05) e "sham" (0.59±0.22; p>0.05) (figura 1). Após 7 dias houve um aumento na expressão RNAm MyoD no grupo criolesionado submetido a natação (0.81±0.44; p>0.05) em comparação ao que não recebeu este tratamento (0.49±0.14; p>0.05) porém não significativo. Por fim, não houve diferença significativa entre os grupos criolesionado com

(0.53±0.28; p>0.05) e sem natação (0.39±0.21; p>0.05) avaliados em 14 dias e entre os grupos criolesionado com (0.41±0.11; p>0.05) e sem natação (0.46±0.36; p>0.05) após 21 dias (figura 1).

Com relação à expressão de miogenina foi encontrada uma redução significativa no RNAm deste fator regulatório após 7 dias nos grupos criolesionado com (1.00±0.23; p<0.01) e sem natação (1.02±0.26; p<0.01) e após 14 dias no grupo criolesionado com natação (1.09±0.26; p<0.05) quando comparados aos grupos controle (1.78±0.06) e "sham" (1.77±0.18). Nos grupos criolesionado sem natação (1.32±0.48; p>0.05) após 14 dias e criolesionado com natação (1.62±0.31; p>0.05) e sem natação (1.30±0.10; p>0.05) após 21 dias a expressão de miogenina foi semelhante aos grupos controle e "sham" (figura 2).

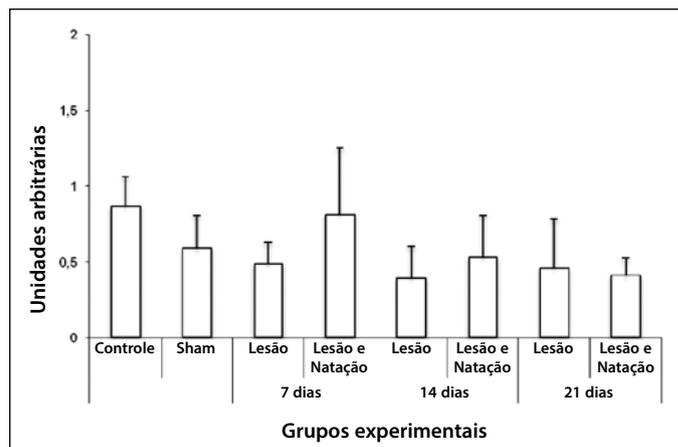


Figura 1. Análise comparativa do RNAm de MyoD nos grupos experimentais avaliados (p ≤ 0,05).

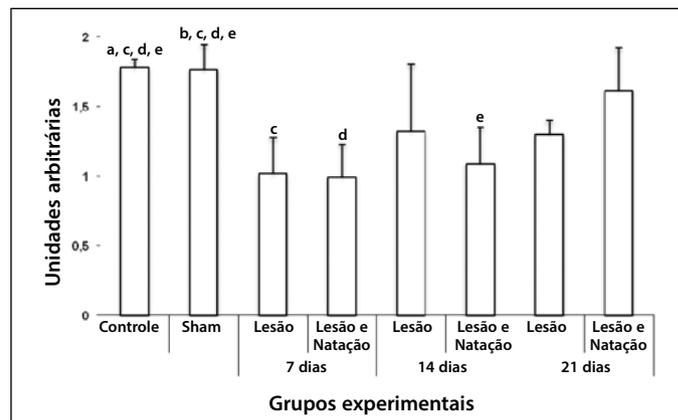


Figura 2. Análise comparativa do RNAm de miogenina nos grupos experimentais avaliados. Letras iguais denotam diferença estatisticamente significativa (p ≤ 0,05).

### DISCUSSÃO

Diferentes modalidades terapêuticas são empregadas para fornecer um processo de reparo muscular de melhor qualidade e menor duração<sup>8,9</sup>. O exercício aeróbico é muito utilizado na reabilitação de disfunções musculoesqueléticas. Neste sentido, analisamos o efeito do exercício aeróbico (natação) sobre a expressão MyoD e miogenina durante o reparo do músculo TA de ratos. Os resultados demonstraram que o protocolo de exercício aeróbico utilizado no presente estudo não foi capaz de alterar a expressão de MyoD e miogenina durante o processo de reparo nos períodos analisados.

MyoD é expressa nas fases iniciais do processo de reparo do músculo e está envolvida na ativação, proliferação e diferenciação das células satélites, enquanto miogenina é expressa tardiamente e está relacionada com a diferenciação terminal dos mioblastos<sup>2,10-14,28</sup>. Alguns estudos têm demonstrado que a expressão destes fatores regulatórios miogênicos (MyoD e miogenina) também contribui para o crescimento hipertrófico

do músculo esquelético<sup>29,30</sup>. A expressão de MyoD é estimulada logo após a lesão muscular induzida por bupivacaína, segundo Marsh *et al*<sup>31</sup> o pico de estimulação desse marcador em músculos de ratos ocorre por volta de 5 a 10 dias sendo que estes autores evidenciaram a regeneração completa após 21 dias. Como a avaliação no presente estudo foi realizada nos períodos de 7, 14 e 21 dias é possível que o pico de expressão deste marcador tenha ocorrido em algum período anterior ou intermediário aos avaliados e não tenha sido detectado, e sim apenas verificado um aumento não significativo na expressão de MyoD após 7 dias de lesão no grupo submetido a natação em comparação ao grupo que não realizou o exercício aeróbico. Embora esses mesmos períodos de avaliação tenham sido usados em outros estudos com a utilização de intervenções diferentes do presente estudo<sup>30,32</sup>.

Nossos resultados também demonstraram uma redução significativa na expressão de miogenina após 7 dias, sendo essa redução equivalente a 44,11% no grupo lesionado submetido a natação e 42,8% no grupo apenas lesionado, e também observamos uma redução de 38,69% no grupo lesionado submetido a natação após 14 dias em comparação ao grupo controle. Atualmente alguns autores têm demonstrado outro papel crítico da miogenina como um regulador de alto nível transcricional para controlar o equilíbrio energético entre o metabolismo aeróbico e anaeróbico no músculo esquelético adulto e a sua supressão aumentaria a resistência no desempenho do exercício físico<sup>15-16</sup>. Desta forma, a redução encontrada na expressão deste fator regulatório miogênico nos grupos submetidos a natação poderia estar relacionada a um aumento nesta capacidade de desempenho.

Vale ressaltar que em estudo anterior realizado pelo nosso grupo de pesquisa foi observado que a natação não alterou os aspectos morfológicos do músculo TA de ratos em processo de reparo após criolesão, sendo estes analisados em 7, 14 e 21 dias<sup>32</sup>.

Já Mesquita *et al*<sup>33</sup> utilizando o treinamento aquático mostraram que este não foi capaz de promover alteração significativa na expres-

são de isoformas de cadeia pesada de miosina. Entretanto, Sugiura *et al*<sup>34</sup> observaram que os animais submetidos ao treinamento aquático após longo período de imobilização apresentaram uma redução de fibras do tipo 2B e um aumento de fibras 2D nos músculos de ratos, evidenciando que a terapia aquática é um estímulo capaz de gerar um remodelamento muscular para melhor adaptação frente às demandas funcionais. Já Volpi *et al*<sup>35</sup> utilizaram o exercício aquático para verificar o efeito deste na remodelação do músculo sóleo de ratos após modelo de atrofia por imobilização e evidenciaram que o exercício aquático não foi capaz de reverter totalmente o processo de atrofia causado pela imobilização. No presente estudo demonstramos que frente a uma condição de reparo muscular a natação não foi capaz de influenciar a expressão MyoD e miogenina nos períodos analisados.

O estudo da expressão de marcadores miogênicos, como o MyoD e miogenina, envolvidos no processo de ativação e diferenciação de células satélites frente a diferentes terapias utilizadas na prática clínica para a reabilitação de pacientes após lesão muscular, poderá permitir o entendimento de como estas ferramentas poderão interferir no processo de regeneração muscular. Desta forma, fica clara a necessidade de estudos posteriores que tragam maiores contribuições neste aspecto, possibilitando o estabelecimento de protocolos mais eficazes a serem adotados na prática clínica.

## CONCLUSÃO

Neste estudo foi constatado que a natação não induziu alterações na expressão de MyoD e miogenina durante o processo de reparo de músculo esquelético de rato após criolesão, embora tenha sido observada uma redução significativa na expressão de miogenina nos grupos submetidos a natação após 7 e 14 dias em relação ao controle.

Todos os autores declaram não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

## REFERÊNCIAS

- Grounds MD, White JD, Rosenthal N, Bogoyevitch MA. The role of stem cells in skeletal and cardiac muscle repair. *J Histochem Cytochem* 2002; 50: 589-610.
- Shi X, Garry DJ. Muscle stem cells in development, regeneration, and disease. *Genes Dev* 2006; 20: 1692-708.
- D'antona G, Lanfranconi F, Pellegrino A, Brocca L, Adami R, Rossi R, et al. Skeletal muscle hypertrophy and structure and function of skeletal muscle fibers in male body builders. *J Physiol* 2006; 570: 611-27.
- Dogra C, Hall SL, Wedhas N, Linkhart TA, Kumar A. Fibroblast growth factor inducible-14 (Fn14) is required for the expression of myogenic regulatory factors and differentiation of myoblasts into myotubes: Evidence for TWEAK-independent functions of Fn14 during myogenesis. *J Biol Chem* 2007; 282: 15000-10.
- Jansen KM, Pavlath GK. Mannose receptor regulates myoblast motility and muscle growth. *J Cell Biol* 2006; 174: 403-13.
- Piovesan RF, Martins MD, Fernandes KPS, Bussadori SK, Selistre-de-Araújo HS, Mesquita-Ferrari RA. Uma revisão sobre a plasticidade do músculo esquelético: expressão de isoformas de cadeia pesada de miosina e correlação funcional. *Fisioter Mov* 2009; 22: 211-20.
- Huard J, Li Y, Fu FH. Muscle injuries and repair: current trends in research. *J Bone Joint Surg Am* 2002; 84: 822-32.
- Dominov JA, Dunn JJ, Miller JB. Bcl-2 Expression Identifies an Early Stage of Myogenesis and Promotes Clonal Expansion of Muscle Cells. *J Cell Biol* 1998; 142: 537-44.
- Cabane C, Englaro W, Yeow K, Ragno M, Dérjard B. Regulation of C2C12 myogenic terminal differentiation by MKK3/p38alpha pathway. *Am J Physiol Cell Physiol* 2003; 284: 658-66.
- Tannu NS, Rao VK, Chaudhary RM, Giorgianni F, Saeed AE, Gao Y, et al. Comparative Proteomes of the Proliferating C2C12 Myoblasts and Fully Differentiated Myotubes Reveal the Complexity of the Skeletal Muscle Differentiation Program. *Mol Cell Proteomics* 2004; 3: 1065-82.
- Chargé SB, Rudnicki MA. Cellular and molecular regeneration of muscle regeneration. *Physiol Rev* 2004; 84: 209-38.
- McClung JM, Mehl KA, Thompson RW, Lowe LL, Carson JA. Nandrolone decanoate modulates cell cycle regulation in functionally overloaded rat soleus muscle. *Am J Physiol* 2005; 288: 1543 - 52.
- Zammit PS, Golding JP, Nagata Y, Hudson V, Partridge TA, Beauchamp JR. Muscle satellite cells adopt divergent fates: a mechanism for self-renewal?. *J Cell Biol* 2004; 166: 347 - 357.
- Zammit PS. All muscle satellite cells are equal, but are some more equal than others?. *J Cell Sci* 2008; 121:2975 - 82.
- Flynn JM, Meadows E, Fiorotto M, Klein WH. Myogenin Regulates Exercise Capacity and Skeletal Muscle Metabolism in the Adult Mouse. *PLoS ONE* 2010; 5(10):13535.
- Meadows E, Flynn JM, Klein WH. Myogenin regulate exercise capacity but is dispensable for skeletal muscle regeneration in adult mdx mice. *PLoS One* 2011; 6(1):e16184.
- Kjaer M. Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. *Physiol Rev* 2004; 84: 649-98.
- D'Albis A, Coureau R, Janmot C, Roulet A, Mira JC. Regeneration after cardiotoxin injury of innervated and denervated slow and fast muscles of mammals. Myosin isoform analysis. *Eur J Biochem* 1988; 174: 103-10.
- Garry DJ, Yang Q, Bassel-Duby R, Williams RS. Persistent expression of MNF identifies myogenic stem cells in postnatal muscles. *Dev Biol* 1997; 188: 280-94.
- Cornelison DDW, Wilcox-Adelman SA, Goetinck PF, Rauvala H, Rapraeger AC, Olwin BB. Essential and separable roles for Syndecan-3 and Syndecan-4 in skeletal muscle development and regeneration. *Genes Dev* 2004; 18: 2231-6.
- Miyabara EH, Tostes RP, Selistre-de-Araújo HS, Aoki MS, Salvini TF, Moriscot AS. Cyclosporin A attenuates skeletal muscle damage induced by crotoxin in rats. *Toxicol* 2004; 43: 35-42.
- Medeiros A, Oliveira EM, Gianolla R, Negrão DE, Brum PC. Swimming training increases cardiac vagal activity and induces cardiac hypertrophy in rats. *Braz J Med Bio Res* 2004; 37(12): 1909-17.
- Takeda N, Ohkubo T, Nakamura I, Suzuki H, Nagano M. Mechanical catecholamine responsiveness and myosin isoenzyme pattern of pressure-overloaded rat ventricular myocardium. *Basic Res Cardiol* 1987; 82: 370-4.
- Verzola RMM, Mesquita RA, Peviani S, Ramos OHP, Moriscot AS, Perez SEA, et al. Early remodeling of rat cardiac muscle induced by swimming training. *Braz J Med Biol Res* 2006; 39: 621-7.
- Durigan JL, Peviani SM, Russo TL, Delfino GB, Ribeiro JU, Cominetti MR, et al. Effects of alternagin-C from *Bothrops alternatus* on gene expression and activity of metalloproteinases in regenerating skeletal muscle. *Toxicol* 2008; 52: 687-94.
- Haddad F, Roy RR, Zhong H, Edgerton VR, Baldwin KM. Atrophy responses to muscle inactivity. II. Molecular markers of protein deficits. *J Appl Physiol* 2003; 95: 791-802.
- Caozzo VJ, Wu YZ, Baker MJ, Crumley R. Effects of Denervation on Cell Cycle Control in Laryngeal Muscle. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2004; 130:1056-68.
- Lindström M, Pedrosa-Domellöf F, Thornell LE. Satellite cell heterogeneity with respect to expression of MyoD, myogenin, Dlk1 and c-Met in human skeletal muscle: application to a cohort of power lifters and sedentary men. *Histochem Cell Biol* 2010; 134: 371 - 85.
- Almeida FL, Pessotti NS, Pinhal D, Padovani CR, Leitão NJ, Carvalho RF, Martins C, Portella MC, Dal Pai-Silva M. Quantitative expression of myogenic regulatory factors MyoD and myogenin in pacu (*Piaractus mesopotamicus*) skeletal muscle during growth. *Micron* 2010; 41: 997 - 1004.
- Piovesan RF, Fernandes KP, Alves AN, Teixeira VP, Silva Junior JA, Martins MD, Bussadori SK, Albertini R, Mesquita-Ferrari RA. Effect of Nandrolone Decanoate on Skeletal Muscle Repair. *Int J Sports Med* 2012; 12: 1-7.
- Marsh DJ, Carson JA, Lynn NS, Booth WF. Activation of the skeletal  $\alpha$ -actin promoter during muscle regeneration. *J Muscle Res Cell Motil* 1998; 19: 897-907.
- Pestana PRD, Fernandes KPS, Vallio CS, Rocha DAM, Martins MD, Bussadori SK, Mesquita-Ferrari RM. Natação e aspectos morfológicos do músculo esquelético em processo de reparo após criolesão. *Fisioter Pesqui* 2011; 18(3): 264-9.
- Mesquita RA, Micocci KC, Perez SEA, Salvini TF, Selistre-de-Araújo HS. Remodelamento muscular induzido por treinamento: Expressão de miosina em músculo esquelético de rato -Uma análise qualitativa. *Rev Bras Fisioter* 2004; 8: 117-22.
- Sugiura T, Morioto A, Sakata Y, Watanabe T and Murakami N. Myosin Heavy Chain Isoform Changes in Rat Diaphragm are Induced by Endurance Training. *Jpn J Physiol* 1990; 40: 759-63.
- Volt FS, Casaroli LM, Pudeli C, Menon T, Ciena AP, Alves EPB, et al. Efeitos da Remobilização em Duas Semanas com Natação Sobre o Músculo Sóleo de Ratos Submetidos à Imobilização. *Rev Bras Med Esporte* 2008; 14: 168-70.