

# EFEITOS DO TRAUMA CONTUSO E DO EXERCÍCIO EXAUSTIVO NO EM MURF1 E MAFBX NO MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATOS

EFFECTS OF CONTUSION AND EXHAUSTIVE EXERCISE ON MURF1 AND MAFBX IN THE SKELETAL MUSCLE OF RATS

EFFECTOS DE LA CONTUSIÓN Y DEL EJERCICIO EXHAUSTIVO SOBRE MURF1 Y MAFBX EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO DE RATAS

Tongbin Pan<sup>1</sup>   
(Profissional de Educação Física)  
Yaru Wang<sup>1</sup>   
(Profissional de Educação Física)  
Leilei Ye<sup>2</sup>   
(Profissional de Educação Física)  
Qiu Xin Wang<sup>1</sup>   
(Profissional de Educação Física)  
Fengyang Yin<sup>1</sup>   
(Profissional de Educação Física)  
Cheng Qin<sup>1</sup>   
(Profissional de Educação Física)

1. Yangzhou University, College of Physical Education, Yangzhou, China.

2. Nanjing Sport Institute, Sports Training and Rehabilitation Laboratory, Nanjing, China.

## Correspondência:

Leilei Ye, Nanjing, China. 210014.  
yelei7565811@163.com

## RESUMO

**Objetivo:** Estudar os efeitos do trauma contuso e do exercício exaustivo na expressão dos fatores relacionados à degradação MuRF1 e MAFbx no músculo esquelético de ratos e descrever o mecanismo de reparo da lesão muscular esquelética. **Métodos:** Quarenta e dois ratos SD machos foram divididos aleatoriamente em 7 grupos. Os ratos de cada grupo foram mortos em diferentes momentos (0h, 24h, 48h) após exercício exaustivo (E0, E24, E48) e trauma contuso (D0, D24, D48), respectivamente, e no estado de repouso no grupo controle (C). Os músculos gastrocnêmios direitos foram ressecados e divididos em duas partes, uma para os mRNAs de MuRF1 e MAFbx por PCR em tempo real e outra para a medição de proteínas a partir do Western blot. **Resultados:** Em comparação com o grupo controle, o mRNA de MuRF1 e a expressão proteica do músculo esquelético no grupo E0 foram acentuadamente aumentados ( $P < 0,05$ ) e seguidos por uma tendência descendente nos grupos E24 e E48. Por outro lado, a expressão do mRNA de MuRF1 do músculo esquelético no grupo D24 foi significativamente regulada para cima ( $P < 0,01$ ), depois diminuiu no grupo D48 ( $P < 0,01$ ). Enquanto isso, em comparação com o grupo C, a expressão gênica do mRNA de MAFbx continuou regulada para cima em D24 e D48 ( $P < 0,05$ ), mas diminuiu em E24 e E48 ( $p < 0,01$ ). Por outro lado, os teores de proteína NF- $\kappa$ B do músculo esquelético nos grupos D0, D24 e D48, bem como no grupo E48, foram marcadamente regulados para baixo ( $P < 0,05$ ), e o do grupo E48 também foi notavelmente regulado para baixo ( $P < 0,05$ ). **Conclusão:** NF- $\kappa$ B pode regular negativamente o processo de degradação da proteína pela via NF- $\kappa$ B / MuRF1. **Nível de evidência III; Estudos terapêuticos que investigam os resultados do tratamento.**

**Descritores:** Exercício; Contusões; Proteínas Proto-Oncogênicas c-cbl.

## ABSTRACT

**Objective:** To study the effects of contusion and exhaustive exercise on the expression of degradation-related factors MuRF1 and MAFbx in the skeletal muscle of rats and describe the repair mechanism of skeletal muscle injury. **Methods:** Forty-two male SD rats were randomly divided into 7 groups. The rats in each group were killed at different time points (0h, 24h, 48h) after exhaustive exercise (E0, E24, E48) and contusion (D0, D24, D48), respectively, and in the resting state in control group (C). The right gastrocnemius muscles were resected and divided into two parts, one for the mRNAs of MuRF1 and MAFbx by real-time PCR, and the other for protein measurement by Western blotting. **Results:** Compared with the control group, the MuRF1 mRNA and protein expression of the skeletal muscle in the E0 group was markedly increased ( $P < 0.05$ ) and followed by a downward trend in E24 the E48 groups. On the other hand, MuRF1 mRNA expression of the skeletal muscle in the D24 group was significantly upregulated ( $P < 0.01$ ), then decreased in the D48 group ( $P < 0.01$ ). Meanwhile, compared with the C group, MAFbx mRNA gene expression continued to be upregulated in D24 and D48 ( $P < 0.05$ ), but decreased in E24 and E48 ( $p < 0.01$ ). On the other hand, the NF- $\kappa$ B protein contents of the skeletal muscle in the D0, D24, and D48 groups, as well as in the E48 group, were markedly downregulated ( $P < 0.05$ ), and the one in E48 was also remarkably downregulated ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** NF- $\kappa$ B may negatively regulate the process of protein degradation by the NF- $\kappa$ B / MuRF1 signal pathway. **Level of evidence III; Therapeutic studies investigating the results of treatment.**

**Keywords:** Exercise; Contusion; CBL E3 Ubiquitin Protein Ligase.

## RESUMEN

**Objetivo:** Estudiar los efectos de la contusión y del ejercicio exhaustivo sobre la expresión de los factores relacionados con la degradación MuRF1 y MAFbx en el músculo esquelético de ratas y describir el mecanismo de reparación de la lesión muscular esquelética. **Métodos:** Cuarenta y dos ratas macho SD fueron divididas aleatoriamente en 7 grupos. Las ratas de cada grupo fueron sacrificadas en diferentes momentos (0h, 24h, 48h) después del ejercicio exhaustivo (E0, E24, E48) y de la contusión (D0, D24, D48), respectivamente, y en estado de reposo en el grupo de control (C).



Se reseccionaron los músculos gastrocnemios derechos y se dividieron en dos partes, una para los ARNm de MuRF1 y MAFbx mediante PCR en tiempo real y la otra para la medición de proteínas mediante Western blot. Resultados: En comparación con el grupo control, el ARNm de MuRF1 y la expresión proteica del músculo esquelético en el grupo E0 se incrementó notablemente ( $P < 0,05$ ) y fueron seguidos por una tendencia a la baja en los grupos E24 y E48. Por otra parte, la expresión del ARNm de MuRF1 del músculo esquelético en el grupo D24 fue significativamente regulada al alza ( $P < 0,01$ ), y luego disminuyó en el grupo D48 ( $P < 0,01$ ). Mientras tanto, en comparación con el grupo C, la expresión génica del ARNm de MAFbx permaneció regulada al alza en D24 y D48 ( $P < 0,05$ ), pero disminuyó en E24 y E48 ( $p < 0,01$ ). Por otro lado, el contenido de proteína NF- $\kappa$ B del músculo esquelético en los grupos D0, D24 y D48, así como en el grupo E48, se vio notablemente regulado a la baja ( $P < 0,05$ ), y el del grupo E48 también se vio notablemente regulado a la baja ( $P < 0,05$ ). Conclusión: NF- $\kappa$ B puede regular negativamente el proceso de degradación de la proteína a través de la vía NF- $\kappa$ B / MuRF1. **Nivel de evidencia III; Estudios terapéuticos que investigan los resultados del tratamiento.**

**Descriptor:** Ejercicio; Contusiones; Proteínas Proto-Oncogénicas c-cbl.

DOI: [http://dx.doi.org/10.1590/1517-8692202329012021\\_0396](http://dx.doi.org/10.1590/1517-8692202329012021_0396)

Artigo recebido em 08/09/2021 aprovado em 05/04/2022

## INTRODUÇÃO

As enzimas ligadoras de ubiquitina (E3 ligases) MuRF1 (*Muscle Ring Finger-1*) e MAFbx (*Muscle atrophy F-box*) demonstraram estar envolvidas na regulação da atrofia do músculo esquelético sob várias condições fisiológicas e patológicas. MuRF1 é um regulador mestre da massa muscular.<sup>1,2</sup> Os efeitos de vários fatores modificáveis e estilo de vida, como tabagismo, consumo de álcool, exercício e nutrição na regulação de MuRF-1 e MAFbx foram discutidos. Finalmente, foram exploradas estratégias potenciais para inibir os níveis de MuRF-1 e MAFbx para prevenir a atrofia do músculo esquelético. A ativação de NF- $\kappa$ B pode aumentar a expressão de MuRF1 e MAFbx que induzem a proteólise e atrofia muscular.<sup>3,4</sup>

O trauma contuso pode causar um inchaço relativamente óbvio das fibras musculares. O exercício excêntrico exaustivo pode levar a alterações ultraestruturais e microdanos do músculo esquelético, o que foi comprovado por estudos anteriores. Mas as mudanças dinâmicas da degradação proteica do músculo esquelético sob os dois modelos de lesão não são claras. Por meio de comparação síncrona, a diferença dos fatores relacionados à degradação MuRF-1 e MAFbx em diferentes fases durante o período de recuperação em dois modelos será explorada e avaliada neste trabalho. É de grande importância explorar o mecanismo de degradação do músculo esquelético.

## MÉTODOS

### Animais

Ratos Sprague Dawley machos (com 8 semanas de idade, peso de  $130 \pm 20$  g,  $n = 6$  por grupo) foram obtidos no Centro de Medicina Comparativa, Jiangsu University (Jiangsu, China). Os ratos foram criados no Laboratório de Ciência do Movimento Humano na Yangzhou University. Todos os experimentos com animais se adequam aos acordos internacionais (Declaração de Helsinque, revisada em 2013, Guia para o Cuidado e Uso de Animais de Laboratório) e aprovados pelo Comitê de Cuidado e Uso de Animais da Yangzhou University para o tratamento de animais (Jiangsu, China).

### Agrupamento e amostragem

Quarenta e dois ratos Sprague Dawley foram divididos aleatoriamente em 7 grupos: (1) grupo de controle sedentário (C,  $n=6$ ), (2) grupo imediatamente após contusão (D0,  $n=6$ ), (3) grupo 24 horas após contusão (D24,  $n=6$ ), (4) grupo 48 horas após contusão (D48,  $n=6$ ), (5) grupo imediatamente após exercício exaustivo (E0,  $n=6$ ), (6) grupo 24 horas após exercício exaustivo (E24,  $n=6$ ), (7) grupo 48 horas após exercício exaustivo (E48,  $n=6$ ). Para a coleta da amostra, todos os ratos foram sacrificados por overdose de pentobarbital de sódio (200 mg/kg, intraperitoneal)

e mortos em diferentes pontos de tempo de acordo com os grupos acima. Os músculos gastrocnêmios direitos dos membros posteriores foram retirados e armazenados a  $-80^{\circ}\text{C}$ , em seguida, seção média da amostra para PCR em tempo real e Western blot.

### Uma única sessão de exercício exaustivo na esteira

O protocolo de exercício exaustivo graduado foi adaptado por uma modificação do método de Lin et al.<sup>5</sup> Foi instalada uma grade de choque elétrico na parte traseira da esteira para estimular o animal a se exercitar. Nos grupos de exercício exaustivo, os ratos foram testados por 15 - 20 minutos para acomodar o exercício na esteira a 15 - 30 metros / minuto por 6 dias. Durante o teste de esforço, foram solicitados a correr em seis pistas inclinadas em esteira ( $-10^{\circ}$ ). A velocidade da esteira foi aumentada gradualmente para 10, 15, 20, 25m/min por 10 min em cada marcha e, em seguida, acelerada para 30m/min até a exaustão dos ratos. O padrão de exaustão é que os ratos não conseguissem mais acompanhar o ritmo da esteira na última velocidade de 30 metros / minuto, e não conseguissem ficar eretos quando colocados em repouso. O tempo médio de exaustão foi de 110 minutos em nosso experimento.

### Lesão por contusão

A lesão por contusão no membro posterior do rato foi produzida usando o modelo de impacto por queda de peso descrito pela primeira vez por Kami et al.<sup>6</sup> e otimizado para o nosso laboratório. Esta lesão por contusão foi moderadamente grave, não resultou em lesão óssea ou afetou a marcha nos animais lesionados. Em suma, a técnica envolve a queda de 200 g de peso do cilindro (o diâmetro da superfície basal é de 1 cm com 1,0J de energia cinética) da altura de 50 cm na superfície medial dos músculos gastrocnêmios direitos de ratos anestesiados com éter etílico.

### Reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa em tempo real

No presente estudo, a expressão do mRNA de MuRF1 e MAFbx foi avaliada pela reação em cadeia da polimerase de transcrição reversa em tempo real (RT-PCR). Usando RNAiso Plus (Takara Bio, Japão), o RNA total foi extraído da seção média dos músculos gastrocnêmios direitos de acordo com as instruções do fabricante. Usando o kit First-Strand cDNA Synthesis, as amostras ( $-10$  ng de RNA) foram submetidas à transcrição reversa de acordo com o protocolo do fabricante [PrimeScript RT Master Mix (Perfect Real Time) for mRNA, Takara Bio, Japão].

GAPDH foi usado como um padrão interno, para normalizar a quantidade de RNA total presente em cada reação. As condições do ciclo em tempo real foram de  $95^{\circ}\text{C}$  por 30 segundos, seguido por 40 ciclos a  $95^{\circ}\text{C}$  por 5 segundos e a  $60^{\circ}\text{C}$  por 34 segundos para mRNA. Os níveis de

expressão para cada transcrito de mRNA foram determinados normalizando cada grupo ao grupo sedentário pelo método  $2^{-\Delta\Delta CT}$ . Os primers usados para a detecção de cDNA do rato foram os seguintes, projetados por Sangon Biotech (Xangai, China).

MURF1	forward: 5'-CCATCCTGGACGAGAAGAAG-3' reverse: 5'-GCTTGGTCGACTTTTCCAAC-3'
MAFbx	forward: 5'-AGCTTGTGCGATGTTACCCA-3' reverse: 5'-AGCTTGTGCGATGTTACCCA-3'
GAPDH	forward: 5'-TGGGTGTGAACCACGAGAA-3' reverse: 5'-GGCATGGACTGTGGTCATGA-3'

### Análises do Western blot

Uma quantidade adequada de músculos gastrocnêmios direitos foi retirada e triturada. A amostra de sobrenadante foi preparada a 20 ug / tempo, e realizada eletroforese em gel de poliacrilamida SDS (instrumento de eletroforese 325BR051391, BIO-RAD, EUA. Concentração do gel de separação 12%), depois transferida para uma membrana de PVDF por 1 hora e bloqueada com 5% de leite desnatado. O anticorpo primário Anti-MuRF1 (Sangon Biotech Co., China, D261009, 1:500), o anticorpo anti-NF- $\kappa$ B p65 (Abcam, ab19870, 1:500) e a referência interna Anti-GAPDH (Sangon Biotech Co., China, D110016, 1:10000) foram diluídos com 5% de leite desnatado de acordo com as instruções de proporção de anticorpo. Em seguida, a membrana foi embebida e incubada a 4°C em um agitador tridimensional durante a noite. A membrana foi lavada 4 vezes e incubou o anticorpo secundário (Sangon Biotech Co., 1:5000) durante 1 h. Em seguida, a membrana foi desenvolvida por ECL (ECL Plus Ultra Sensitive Kit, Phygene Life Sci Co., China). A proteína alvo e a GAPDH foram avaliadas na mesma membrana. O resultado final foi expresso como a razão OD entre a proteína alvo LC3 e a referência interna GAPDH. O software Image Lab5.1 foi utilizado para análise da escala de cinza.

### Análise estatística

A significância estatística foi avaliada por análise de variância unidirecional (ANOVA) seguida pelo teste post hoc de Tukey para correção de comparações múltiplas (SPSS 21.0, SPSS Inc). Os dados estão expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (SEM).  $P < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

## RESULTADOS

### Expressão do mRNA de MuRF1 após exercício exaustivo e trauma contuso

Os resultados de PCR em tempo real mostraram que, em comparação com o grupo C, o mRNA de MuRF1 do músculo esquelético no grupo E0 foi notavelmente aumentado ( $P < 0,01$ ) e seguido por uma tendência de queda em E24 e E48. Por outro lado, a expressão do mRNA de MuRF1 do músculo esquelético no grupo D24 foi significativamente regulada para cima ( $P < 0,01$ ), depois diminuiu no grupo D48 ( $P < 0,01$ ) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Expressão de genes em diferentes momentos em todos os grupos após trauma contuso (D0, D24, D48) e exercício exaustivo (E0, E24, E48).

Grupo (n=6)	mRNA de MuRF1	mRNA de MAFbx
C	1,000 $\pm$ 1,683	1,000 $\pm$ 0,719
D0	1,534 $\pm$ 1,159	1,777 $\pm$ 1,010
D24	9,331 $\pm$ 0,550**bb	2,027 $\pm$ 0,516*
D48	0,204 $\pm$ 0,019**bb	4,806 $\pm$ 0,649**bb
E0	10,118 $\pm$ 0,747**	1,267 $\pm$ 0,866
E24	1,138 $\pm$ 0,792 <sup>aa</sup>	0,202 $\pm$ 0,395 <sup>***aa</sup>
E48	0,556 $\pm$ 0,392 <sup>***aa</sup>	0,595 $\pm$ 0,499**

[\*]  $P < 0,05$ , [\*\*]  $P < 0,01$ , diferença significativa em comparação com o controle. [aa]  $P < 0,01$ , Significativamente em comparação com E0. [bb]  $P < 0,01$ , Significativamente em comparação com D0. n = 6/grupo.

### Expressão do mRNA de MAFbx após exercício exaustivo e trauma contuso

Os resultados de PCR em tempo real mostraram que, em comparação com o grupo C, a expressão do mRNA de MAFbx nos grupos D24 e D48 foi notavelmente regulada para cima ( $P < 0,05$ ), mas não houve alteração notável no D0. Por outro lado, a expressão do mRNA de MAFbx no E24 e E48 foi notavelmente regulada para baixo ( $P < 0,01$ ), mas não houve alteração notável no E0 (Tabela 1).

### Expressão da proteína MuRF1 após exercício exaustivo e trauma contuso

Os resultados do Western blot mostraram que, em comparação com o grupo C, a expressão da proteína MuRF1 no músculo esquelético dos grupos D24 e D48 foi notavelmente reduzida ( $P < 0,01$ ), mas não houve diferença notável no grupo D0. Por outro lado, a proteína MuRF1 no grupo E0 aumentou significativamente ( $P < 0,01$ ), mas a proteína MuRF1 no grupo E24 foi notavelmente regulada para baixo ( $P < 0,01$ ), e não houve diferença notável no grupo E48 (Figura 1).

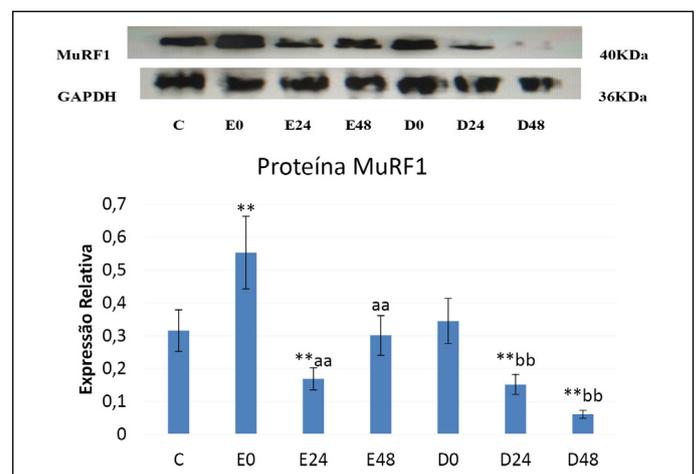
### Expressão da proteína NF- $\kappa$ B após exercício exaustivo e trauma contuso

Os resultados mostraram que, em comparação com o grupo C, os teores de proteína NF- $\kappa$ B do músculo esquelético nos grupos D0, D24 e D48 foram notavelmente regulados para baixo ( $P < 0,05$ ), e o do E48 também foi notavelmente regulado para baixo ( $P < 0,05$ ), mas não houve diferença notável nos grupos E0 e E24 ( $P > 0,05$ ) (Figura 2).

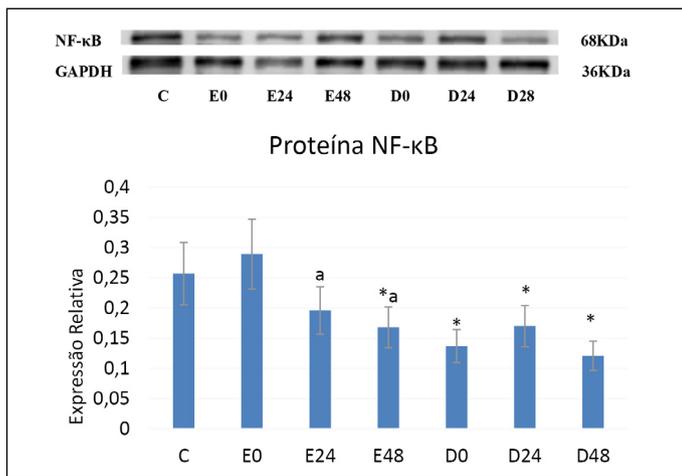
## DISCUSSÃO

O trauma contuso pode causar um inchaço relativamente óbvio das fibras musculares. O exercício excêntrico exaustivo pode levar a alterações ultraestruturais e microdanos do músculo esquelético, o que foi comprovado por estudos anteriores. Também houve relatos de alterações ultraestruturais nos trabalhos anteriores do nosso laboratório. Mas as mudanças dinâmicas da degradação proteica do músculo esquelético sob os dois modelos de lesão não eram claras, o que motivou nosso estudo. Por meio de comparação síncrona, será explorada e avaliada a diferença dos fatores relacionados à degradação MuRF1 e MAFbx em dois modelos.

A ativação da via de sinalização NF- $\kappa$ B pode ativar o sistema lisossomal autofágico (ALS) e o sistema ubiquitina proteassoma (UPS), levando à degradação de proteínas e atrofia muscular.<sup>7,8</sup> No entanto, há poucos



**Figura 1.** A expressão proteica de MuRF1 foi medida por Western Blot em diferentes pontos de tempo em todos os grupos após trauma contuso (D0, D24, D48) e exercício exaustivo (E0, E24, E48). Os dados são média  $\pm$  erro padrão da média (SEM), n = 6/grupo, [\*\*]  $P < 0,01$ , diferença significativa em comparação com o controle. [aa]  $P < 0,01$ , Significativamente em comparação com E0. [bb]  $P < 0,01$ , Significativamente em comparação com D0.



**Figura 2.** A expressão proteica de NF-κB foi medida por Western Blot em diferentes pontos de tempo em todos os grupos após trauma contuso (D0, D24, D48) e exercício exaustivo (E0, E24, E48). Os dados são média ± erro padrão da média (SEM), n = 6/ grupo, [\*] P < 0,05, diferença significativa em comparação com o controle. [a] P < 0,05, Significativamente em comparação com E0.

relatos sobre as alterações de MuRF-1 e MAFbx durante a lesão muscular. O objetivo deste estudo é explorar as alterações de MuRF1, MAFbx e NF-κB no músculo esquelético em diferentes fases após exercício exaustivo e trauma contuso, e mecanismos relacionados de degradação muscular.

### Efeitos de trauma contuso e do exercício exaustivo em MuRF1 e MAFbx

Como foi o efeito do exercício em MuRF1 e MAFbx no músculo esquelético, Kim et al.<sup>9</sup> estudaram e descobriram que o tratamento combinado do exercício de baixa intensidade e ácido úrsólico (AU) melhorou doenças relacionadas à atrofia muscular e regulou notavelmente a expressão de genes relacionados à atrofia atrogina-1 e MuRF1 para baixo. Outra pesquisa<sup>10,11</sup> observou o efeito de um único exercício aeróbico no *turnover* de proteínas do músculo esquelético em camundongos. Como resultado, as proteínas relacionadas à quebra, como o marcador fagocítico LC3, foram imediatamente reguladas para cima após o exercício, mas não aumentaram no período de recuperação. Enquanto isso, o nível de MuRF1 foi regulado para cima no gastrocnêmio com um aumento da poliubiquitinação durante a recuperação.

A expressão gênica de MuRF1 e MAFbx pode causar atrofia muscular e a inativação de qualquer um desses genes pode aliviar a atrofia muscular. Lecker et al.<sup>12</sup> descobriram que, sob o estado em que o catabolismo era maior que o anabolismo, as proteínas musculares foram significativamente reduzidas e a expressão de MuRF1 no músculo esquelético aumentou acentuadamente em 8-20 vezes. O relatório mostrou que a degradação de proteínas do músculo esquelético e a expressão de MuRF1 em ratos aumentaram significativamente após um treinamento de alta intensidade.<sup>13</sup> No entanto, outros estudos indicaram que o treinamento de resistência a longo prazo pode reduzir a ocorrência de atrofia do músculo esquelético, inibir a ativação de NF-κB e reduzir a expressão de MAFbx e MuRF1.<sup>8</sup> Estudos anteriores também descobriram que o exercício intermitente de 4 semanas pode melhorar significativamente a massa muscular esquelética, a proteína esquelética, aumentar a área de seção transversal celular, reduzir a expressão de MuRF1, MAFbx e melhorar a função do músculo esquelético em ratos com infarto do miocárdio.<sup>14</sup> Labeit et al.<sup>15</sup> relataram que pequenas moléculas direcionadas a MuRF1 podem ser úteis na atenuação das condições de perda de força muscular esquelética e na regulação do metabolismo da glicose no DMT2.

Os resultados de nosso estudo mostraram que a expressão do gene MuRF1 no músculo esquelético foi significativamente regulada para cima imediatamente após o exercício exaustivo e 24 horas após o trauma contuso.

MuRF1 está intimamente relacionado com a degradação da proteína, sugerindo que a degradação da proteína muscular pode ser aumentada em diferentes fases, e em seguida, ser gradualmente regulada para baixo. Por outro lado, o mRNA de MAFbx aumentou por 24 horas e 48 horas após o trauma contuso. Esse fator também é um indicador sensível de degradação proteica, sugerindo que o trauma contuso foi mais grave do que o exercício exaustivo e causou degradação mais duradoura da proteína do músculo esquelético.

### Via NF-κB / MuRF1 e mecanismos de atrofia muscular

NF-κB é uma das moléculas mais críticas que medeiam a atrofia muscular. Existe em eucariotas e é uma família de proteínas que consiste em subunidades peptídicas complexas. O nocaute do gene NF-κB pode efetivamente retardar a atrofia do músculo esquelético causada pela frenagem, doenças crônicas, etc.<sup>7,16,17</sup> Estudos descobriram que a ativação de NF-κB pode aumentar a expressão de MuRF1 em células musculares sob condições como frenagem, lesão nervosa e insuficiência cardíaca, mas a inibição da atividade de NF-κB pode diminuir a expressão de proteossoma. A expressão de MuRF1 foi reduzida em camundongos deficientes em NF-κB, e a perda muscular também foi significativamente reduzida, sugerindo que NF-κB é uma etapa necessária para ativar a expressão de MuRF1. MuRF1 pode ter como alvo a degradação de várias proteínas miofibrilares, e UBE2L3 exibiu uma alta afinidade para MuRF1.<sup>18,19</sup> O exercício intermitente pode reduzir a expressão MuRF1 inibindo NF-κB para melhorar a degradação de proteína do músculo esquelético. Da mesma forma, o treinamento de resistência também pode inibir a ativação de NF-κB, reduzindo assim a expressão de MAFbx e MuRF1 e reduzindo a ocorrência da atrofia do músculo esquelético.<sup>8</sup> No entanto, o modelo de exercício exaustivo e o trauma contuso utilizados neste estudo diferiu dos relatos acima, e os resultados em diferentes fases também foram inconsistentes. A expressão da proteína NF-κB nos grupos do trauma contuso continuou a diminuir, mostrando uma tendência de regulação negativa, o que pode desempenhar um papel na mitigação da degradação da proteína. O mecanismo de regulação dinâmica do sinal NF-κB / MuRF1 requer um estudo mais aprofundado.

Em relação a como melhorar a quebra de proteínas musculares ou atrofia muscular, Maarman et al.<sup>20</sup> descreveram efeitos da terapia com melatonina para o exercício extenuante e o trauma contuso, envolvendo os mecanismos regulados de citocinas, Akt, NFκB, MURF-1 e MAF (BX). Sakai et al.<sup>21</sup> observaram que o exercício na esteira pode melhorar o prognóstico e, pelo menos parcialmente, aliviar a atrofia muscular induzida pela cisplatina. Além disso, Baumert et al.<sup>22</sup> relataram que o polimorfismo gênico de TRIM63 (MuRF-1) está relacionado a biomarcadores de lesão muscular induzida por exercício.

### CONCLUSÕES

A expressão do gene MuRF1 no músculo esquelético foi regulada para cima imediatamente após exercício exaustivo, mas 24 horas após o trauma contuso, o que pode desencadear o mecanismo de degradação da proteína em diferentes fases. Por outro lado, a expressão do gene do mRNA de MAFbx aumentou após 24 horas e 48 horas do trauma contuso, o que pode indicar que o trauma contuso é mais grave do que o exercício exaustivo e faz com que o processo de degradação da proteína do músculo esquelético seja mais prolongado. No entanto, o conteúdo da proteína NF-κB no grupo do trauma contuso continuou a diminuir em comparação com o grupo de controle, o que pode regular negativamente esse processo de degradação, e seu mecanismo de regulação de sinal NF-κB / MuRF1 requer mais estudos.

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

## REFERÊNCIAS

1. Akiko O, Hajime K, Qibin J, Akimoto T, Miyamoto T, Sawada Y, et al. New mouse model of skeletal muscle atrophy using spiral wire immobilization. *Muscle Nerve*. 2016;54(4):788-91.
2. Peris-Moreno D, Taillandier D, Polge C. MuRF1/TRIM63, master regulator of muscle mass. *Int J Mol Sci*. 2020;21(18):6663.
3. Edström E, Altun M, Häggglund M, Ulfhake B. Atrogin-1/MAFbx and MuRF1 are downregulated in aging-related loss of skeletal muscle. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2006;61(7):663-74.
4. Rom O, Reznick AZ. The role of E3 ubiquitin-ligases MuRF-1 and MAFbx in loss of skeletal muscle mass. *Free Radic Biol Med*. 2016;98:218-30.
5. Lin WT, Yang SC, Tsai SC, Huang CC, Lee NY. L-Arginine attenuates xanthine oxidase and myeloperoxidase activities in hearts of rats during exhaustive exercise. *Br J Nutr*. 2006;95(1):67-75.
6. Kami K, Masuhara M, Kashiba H, Kawai Y, Noguchi K, Senba E. Changes of vinculin and extracellular matrix components following blunt trauma to rat skeletal muscle. *Med Sci Sports Exerc*. 1993;25(7):832-4.
7. Shimamoto S, Ijiri D, Nakashima K, Kawaguchi M, Ishimaru Y, Furukawa A, et al. Clenbuterol changes phosphorylated FOXO1 localization and decreases protein degradation in the sartorius muscle of neonatal chicks. *Biosci Biotech Biochem*. 2016;80(8):1499-1504.
8. Rodriguez J, Ferna R, Pierre N, Priem F, Francaux M. Endurance training attenuates catabolic signals induced by TNF- $\alpha$  in muscle of mice. *Med Sci Sports Exerc*. 2016;48(2):227-34.
9. Kim JC, Kang YS, Noh EB, Seo BW, Seo DY, Park GD, et al. Concurrent treatment with ursolic acid and low-intensity treadmill exercise improves muscle atrophy and related outcomes in rats. *Korean J Physiol Pharm*. 2018;22(4):427-36.
10. Kim YA, So WY. Effects of a single bout of aerobic exercise on skeletal muscle protein turnover in mice. *JOMH*. 2018, 14(1):6-15.
11. Gholipour M, Seifabadi M, Asad MR. Endurance exercise training under normal diet conditions activates skeletal muscle protein synthesis and inhibits protein degradation signaling except MuRF1. *Sport Sci Health*. 2022.
12. Lecker SH, Goldberg AL, Mitch WE. Protein degradation by the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17(7):1807-19.
13. Ato S, Makanae Y, Kido K, Sase K, Yoshii N, Fujita S. The effect of different acute muscle contraction regimens on the expression of muscle proteolytic signaling proteins and genes. *Physiol Rep*. 2017;5(15):e13364.
14. Adams V, Linke A, Gielen S, Erbs S, Hambrecht R, Schuler G. Modulation of MuRF1 and MAFbx expression in the myocardium by physical exercise training. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2008;15(3):293-9.
15. Labeit S, Hirner S, Bogomolovas J, Cruz A, Myrzbekova M, Moriscot A, et al. Regulation of glucose metabolism by MuRF1 and treatment of myopathy in diabetic mice with small molecules targeting MuRF1. *Int J Mol Sci*. 2021;22(4):2225.
16. Baskin KK, Rodriguez MR, Kansara S, Chen W, Carranza S, Frazier OH, et al. MAFbx/Atrogin-1 is required for atrophic-remodeling of the unloaded heart. *J Mol Cell Cardiol*. 2014;72:168-76.
17. Sugiura K, Hirasaka K, Maeda T, Uchida T, Kishimoto K, Oarada M, et al. MuRF1 deficiency prevents age-related fat weight gain, possibly through accumulation of PDK4 in skeletal muscle mitochondria in older mice. *J Orthop Res*. 2022;40(5):1026-38.
18. Cai D, Frantz JD, Tawa NE, Melendez PA, Oh BC, Lidov HGW, et al. IKKbeta/NF-kappaB activation causes severe muscle wasting in mice. *Cell*. 2004;119(2):285-98.
19. Peris-Moreno D, Malige M, Claustre A, Armani A, Coudy-Gandilhon C, Deval C, et al. UBE2L3, a partner of MuRF1/TRIM63, is involved in the degradation of myofibrillar actin and myosin. *Cells*. 2021;10(8):1974.
20. Maarman GJ, Reiter RJ. Melatonin therapy for blunt trauma and strenuous exercise: A mechanism involving cytokines, NF kappa B, Akt, MAF(BX) and MURF-1. *J Sports Sci*. 2018;36(16):1897-1901.
21. Sakai H, Kimura M, Isa Y, Yabe S, Maruyama A, Tsuruno Y, et al. Effect of acute treadmill exercise on cisplatin-induced muscle atrophy in the mouse. *Pflugers Arch*. 2018;469(11):1495-1505.
22. Baumert P, G-REX Consortium, Lake MJ, Drust B, Stewart CE, Erskine RM. TRIM63 (MuRF-1) gene polymorphism is associated with biomarkers of exercise-induced muscle damage. *Physiol Genomics*. 2018;50(3):142-3.