

# Mecanismos de perda muscular da sarcopenia

Vivian de Oliveira Nunes Teixeira<sup>1</sup>, Lidiane Isabel Filippin<sup>2</sup>, Ricardo Machado Xavier<sup>3</sup>

## RESUMO

Cerca de 66% dos pacientes com artrite reumatoide (AR) apresentam significativa perda de massa celular, denominada caquexia reumatoide, predominantemente de músculo esquelético (sarcopenia reumatoide). A sarcopenia é caracterizada por perda de massa muscular associada a prejuízos de função. Pacientes com AR apresentam uma redução significativa na força muscular, causada pela perda de proteínas musculares, alterando sua funcionalidade. As diversas condições que levam à perda de massa muscular envolvem distintas cascatas de sinalização intracelular, que podem levar: (i) à morte celular programada (apoptose); (ii) ao aumento da degradação proteica, por meio de autofagia, de proteases dependentes de cálcio (calpaínas e caspases) e do sistema proteossomo; e (iii) à diminuição da ativação das células-satélite responsáveis pela regeneração muscular. Este artigo tem como objetivo revisar esses mecanismos gerais de sarcopenia e seu envolvimento na AR. O melhor conhecimento desses mecanismos pode levar ao desenvolvimento de terapias inovadoras para essa debilitante complicação.

**Palavras-chave:** atrofia muscular, inflamação, regeneração, artrite reumatoide.

© 2012 Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

## INTRODUÇÃO

A artrite reumatoide (AR) é uma doença sistêmica inflamatória de etiologia desconhecida, com manifestações autoimunes e caracterizada por sinovite crônica, simétrica e erosiva, preferencialmente de articulações periféricas.<sup>1</sup> A maioria dos pacientes apresenta o autoanticorpo fator reumatoide reagente. A AR tem prevalência de aproximadamente 0,46% na população brasileira<sup>2</sup> e 1% na população mundial,<sup>3</sup> acometendo preferencialmente mulheres na faixa etária entre 30 e 60 anos.

Além das manifestações articulares, a AR apresenta diversas manifestações de cunho sistêmico que impactam significativamente em sua morbimortalidade. A caquexia reumatoide<sup>4</sup> ocorre em aproximadamente 66% dos pacientes com AR, e é caracterizada por perda de massa celular, predominantemente de músculo esquelético (sarcopenia reumatoide), e com manutenção ou leve elevação da massa gorda (total de tecido adiposo), resultando em limitada ou nenhuma perda

de peso (massa total). A etiologia da caquexia reumatoide é multifatorial, incluindo a produção acentuada de citocinas pró-inflamatórias, principalmente TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , alterações hormonais e inatividade física. Não há, até o momento, proposta terapêutica bem padronizada visando especificamente a esse aspecto da AR, e os efeitos dos tratamentos atuais ainda não foram bem estudados.

Este artigo tem como objetivo revisar os mecanismos moleculares envolvidos na sarcopenia, mais especificamente na sarcopenia reumatoide. Para uma revisão dos aspectos clínicos da sarcopenia reumatoide, sugere-se a leitura do artigo de Rocha *et al.*<sup>4</sup>

## SARCOPENIA

Sarcopenia é a perda de massa muscular associada a prejuízos de função. Ela é decorrente de diversos fatores, como distúrbios da inervação, diminuição da atividade física,

Recebido em 17/02/2011. Aprovado, após revisão, em 14/12/2011. Os autores declaram a inexistência de conflito de interesse. Suporte Financeiro: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Edital Universal CNPq/Bolsa CNPq/PDJ – e Fundo de Incentivo à Pesquisa e Eventos (FIPE).

Serviço de Reumatologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

1. Aluna do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS; Licenciada e Bacharel em Ciências Biológicas, UFRGS

2. Doutora em Ciências Médicas, UFRGS; Professora do Centro Universitário Franciscano – UNIFRA

3. Doutor em Imunologia, Shimane Medical University; Professor do Departamento de Medicina Interna, Faculdade de Medicina, UFRGS

Correspondência para: Vivian de Oliveira Nunes Teixeira. Rua Ramiro Barcelos, 2350/645 – Rio Branco. CEP: 90035-903. Porto Alegre, RS, Brasil.

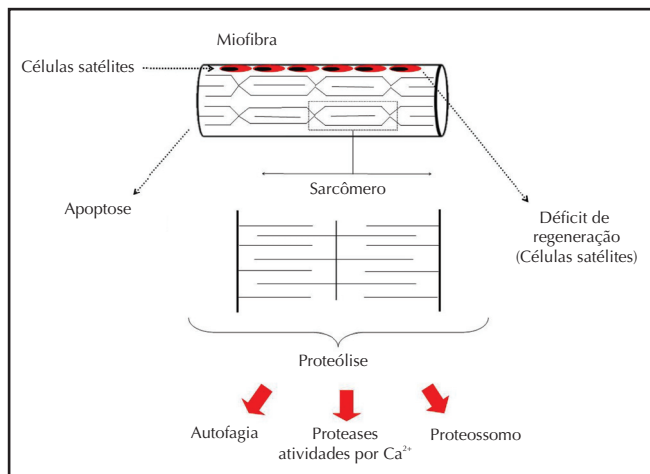
E-mail: viviont@gmail.com

envelhecimento, anormalidades metabólicas (especialmente em proteínas, carboidratos e lipídios), além de alterações na ativação das células-satélite.<sup>4,5</sup> Na AR, acredita-se que ação de citocinas pró-inflamatórias, redução da síntese proteica em miócitos, limitação da atividade física, resistência insulínica e ingestão proteica inadequada também tenham papel em seu desenvolvimento.<sup>6,7</sup>

O diagnóstico de sarcopenia pode ser realizado por diversos métodos, como ressonância nuclear magnética, tomografia computadorizada, bioimpedância, ultrassonografia, densitometria óssea corporal total e medidas antropométricas. Um método muito utilizado é a densitometria, que permite a avaliação da composição corporal, massa óssea, massa magra e massa adiposa total.<sup>8</sup> As medidas antropométricas propostas por Ashwell também têm sido utilizadas para avaliar a sarcopenia, empregando a relação cintura-quadril.<sup>9</sup>

## MECANISMOS MOLECULARES ENVOLVIDOS NA SARCOPENIA

As diversas condições que levam à perda de massa muscular envolvem distintas cascatas de sinalização intracelular que podem levar à morte celular programada (apoptose), ao aumento da degradação proteica ou ainda à diminuição da ativação das células-satélite responsáveis pela regeneração muscular (Figura 1). A maior parte do conhecimento sobre esses mecanismos é derivada de estudos em modelos experimentais de atrofia, como modelo de denervação, suspensão da pata, desuso, jejum,<sup>10</sup>



**Figura 1**

Mecanismos moleculares envolvidos na sarcopenia. A perda muscular pode ocorrer por distintos mecanismos, como um déficit de regeneração pela inatividade de células-satélite, apoptose e vias de degradação proteica, como por exemplo, proteases ativadas por cálcio, proteossomo e autofagia.

*diabetes mellitus* e câncer,<sup>11</sup> bem como estudos em biópsias de músculo em pacientes voluntários.<sup>12</sup>

A seguir, discutimos esses mecanismos e o conhecimento atual sobre o envolvimento na sarcopenia reumatoide.

## Perda de massa celular

A apoptose é um importante processo que ocorre em organismos multicelulares, tanto durante o desenvolvimento quanto para a manutenção da homeostase do tecido.<sup>13</sup> Entretanto, o papel da apoptose em tecidos pós-mitóticos, como o músculo esquelético, não é bem claro.

Estágios iniciais da apoptose envolvem sinais indutores de morte celular, que causam desequilíbrio na regulação de cálcio livre e alteração na composição de algumas famílias de proteínas.<sup>14</sup> Após esse estágio, receptores de superfície celular ou vias mitocondriais são ativados, desencadeando eventos citoplasmáticos e nucleares que levam à morte celular.<sup>15</sup> As caspases são as principais enzimas envolvidas no início e na execução da apoptose. Elas são responsáveis pela clivagem proteolítica de um amplo espectro de alvos celulares,<sup>16</sup> embora não sejam exclusivamente iniciadoras desse processo.<sup>17</sup>

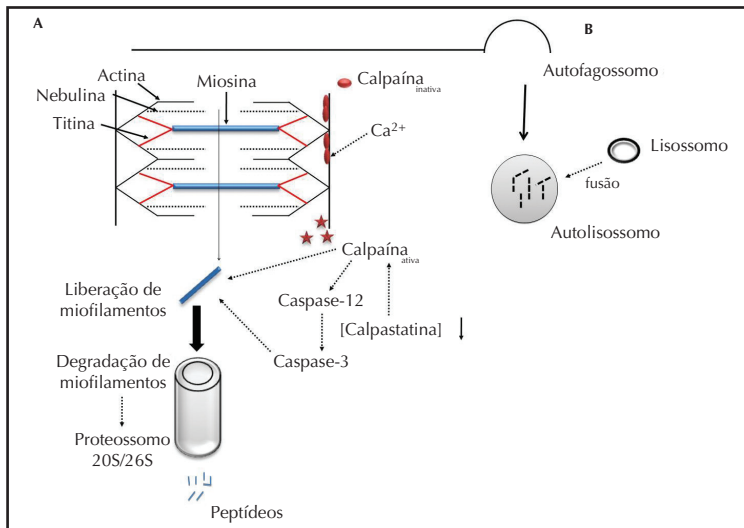
Com relação à potencial participação da apoptose na sarcopenia, observou-se que mesmo em modelo de marcada atrofia, como o modelo de denervação muscular em camundongos, evidências de apoptose significativa só foram observadas após dois meses, indicando um papel limitado desse mecanismo nos estágios iniciais da atrofia.<sup>18</sup>

## Proteólise muscular

A sarcopenia é o resultado do desequilíbrio entre degradação e síntese de proteínas, embora aparentemente a exata contribuição de cada um desses fatores seja variável conforme o modelo estudado.

Alguns sistemas proteolíticos têm sido descritos como participantes na degradação muscular. Entre eles, podem ser citados o processo de autofagia, as proteases ativadas por cálcio, como a calpaína e as caspases, e o sistema ubiquitina-proteossomo (Figura 1).<sup>19,20</sup>

Em modelos experimentais *in vivo* e em humanos não existe consenso sobre a importância relativa das diferentes vias de degradação proteica. Purintrapiban *et al.*<sup>20</sup> estudaram o papel desses diferentes mecanismos de proteólise em cultura de células musculares. A inibição dos sistemas enzimáticos calpaína, proteossomo e lisossomo ocasionou 20%, 62% e 40% de redução na degradação de proteínas totais, respectivamente. Entretanto, parece claro que há significativa variação na participação de cada uma dessas vias, dependendo da situação clínica envolvida (p. ex., denervação, imobilização, caquexia da malignidade, inflamação crônica).<sup>19-21</sup>

**Figura 2**

Vias de proteólise muscular. Em “A”, ativação de proteases ativadas por cálcio. As calpaínas clivam as proteínas que ancoram o complexo actina-miosina liberando essas proteínas para serem degradadas por outro sistema de proteólise celular (proteossomo). Em “B” é demonstrado o sistema da autofagia, em que os constituintes citoplasmáticos são isolados e degradados no autolisossomo.

## Autofagia

A autofagia é um mecanismo ancestral de sobrevivência celular que permite que as células se autoconsumam em períodos de extrema privação nutricional.<sup>22</sup> Esse processo ocorre com o consumo de componentes citoplasmáticos, como o citosol e as organelas celulares, e é lisossomo-dependente. Durante a autofagia, vesículas de membrana dupla (os autofagossomos) formam-se em torno de grande parte do citoplasma ou de organelas inteiras, sequestrando os substratos proteicos no sistema vacuolar. Depois ocorre a fusão do autofagossomo com o lisossomo, formando o autolisossomo, e logo depois a hidrólise dos substratos pelas hidrolases lisossomais<sup>23</sup> (Figura 2). As hidrolases estão fisicamente isoladas dos constituintes citoplasmáticos pela membrana lisossomal, e por isso apresentam maior capacidade de degradar os componentes citoplasmáticos em comparação aos componentes miofibrilares.<sup>24</sup>

Evidências de estudos *in vitro*<sup>25</sup> e *in vivo*<sup>26</sup> demonstram a presença de autofagossomos em fibras musculares de cultura de miotubos e em camundongos. Um estudo *in vitro* em cultura de miócitos com restrição de aminoácidos demonstrou que a aceleração do catabolismo proteico deve-se principalmente à indução de autofagia.<sup>25</sup> Mizushima *et al.*,<sup>26</sup> em estudo *in vivo*, demonstraram por observação de superexpressão de LC3 (*microtubule-associated protein 1 light chain 3*) a ativação do sistema de autofagia no músculo esquelético de camundongos expostos ao jejum. A LC3 é essencial para manter a integridade da membrana e o crescimento celular, e está superexpressa, junto a outros genes envolvidos na autofagia e na perda muscular, em diferentes modelos de atrofia,<sup>27,28</sup> além de ser indicadora de atividade autofágica.<sup>29</sup>

Apesar dos distintos mecanismos de sarcopenia, as vias que ativam os sistemas de autofagia e de ubiquitina-proteossomo

são comuns. Ambas envolvem o fator de transcrição FOXO3 (*forkhead box O3*) e o fator de transcrição nuclear kappa-B (NF-κB). A FOXO3 é translocada para o núcleo na ausência de estímulos de síntese proteica,<sup>30</sup> enquanto o NF-κB é translocado quando há inflamação.<sup>31</sup> A FOXO3 foi identificada como fator crítico para o controle da autofagia muscular,<sup>32</sup> e vários genes de autofagia estão sob a regulação desse fator de transcrição.<sup>30</sup>

## Proteases ativadas por cálcio: calpaína e caspases

O sistema calpaína constitui uma via de degradação de proteínas de células eucarióticas composta de duas enzimas (calpaínas) e da calpastatina. Essas proteases são cisteíno-proteases não lisossomais dependentes de cálcio livre citoplasmático,<sup>33</sup> e possuem um inibidor endógeno, a calpastatina, que regula sua atividade<sup>21</sup> (Figura 2).

As calpaínas não são capazes de degradar proteínas em aminoácidos ou pequenos peptídeos e não catalizam a degradação do complexo de proteínas sarcoplasmáticas. Apesar de não degradarem diretamente as proteínas contráteis do músculo, as calpaínas clivam as proteínas que ancoram o complexo actina-miosina, liberando os componentes proteicos do sarcômero para serem degradados por outro sistema de proteólise celular.<sup>20,34</sup> Dentre os substratos da calpaína, podemos citar a titina, a nebulina, a desmina e a filamina – proteínas que ancoram o sarcômero<sup>33,35</sup> –, além da troponina e da tropomiosina,<sup>33,36</sup> o que propiciaria a liberação do complexo actina-miosina.

A ativação do sistema calpaína já foi demonstrada em diversas situações de atrofia muscular, tais como no músculo durante períodos prolongados de inatividade,<sup>33</sup> envelhecimento,

distrofias e outras patologias que acompanham a perda de massa muscular.<sup>24</sup>

Caspases são cisteíno-proteases citoplasmáticas não dependentes de cálcio capazes de clivar outras proteínas depois de um resíduo de ácido aspartático – uma especificidade incomum entre proteases.<sup>24</sup>

A caspase-3 parece ser capaz de degradar o complexo actina-miosina. Du *et al.*<sup>37</sup> demonstraram que a caspase-3 purificada e ativada consegue clivar a actina, desfazendo o complexo actina-miosina do músculo e liberando essas proteínas para serem degradadas por outros complexos proteolíticos<sup>16</sup> (Figura 2). Apesar de ativadas na perda muscular, o real papel desempenhado pelas caspases ainda é controverso.

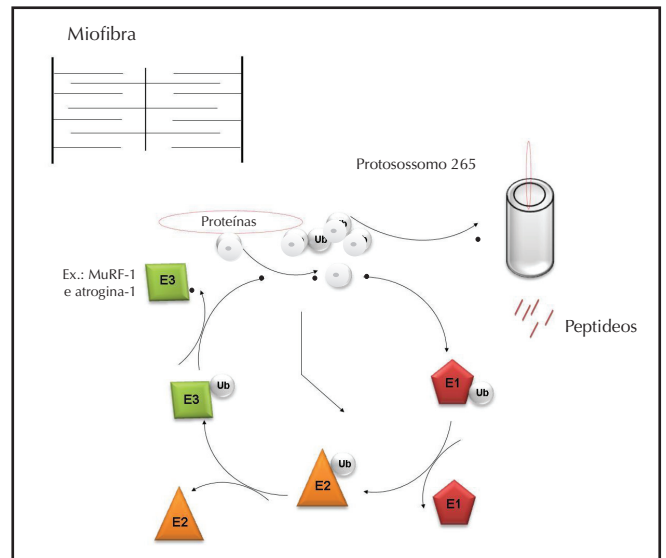
### Proteossomo

Outro sistema proteolítico relacionado com sarcopenia e atualmente considerado um dos mais importantes é o sistema ubiquitina-proteossomo. Esse sistema altamente conservado é a principal maquinaria de degradação proteica não lisossomal em células eucarióticas<sup>38</sup> (Figura 2).

O sistema ubiquitina-proteossomo é responsável por processar e degradar proteínas celulares essenciais para a regulação de desenvolvimento, diferenciação, proliferação, apoptose, transdução de sinal, respostas imune e inflamatória, entre outros, governando, assim, processos celulares básicos.<sup>39,40</sup>

Proteínas celulares destinadas à degradação pelo proteossomo devem estar devidamente marcadas com uma ligação covalente de múltiplos monômeros de ubiquitina, peptídeos compostos de 76 aminoácidos. A ubiquitina pode ser conjugada a substratos proteicos específicos, processo que requer três componentes enzimáticos (Figura 3): E1, uma enzima ativadora de ubiquitina; E2, uma enzima conjugadora de ubiquitina; e E3, uma enzima ligante de ubiquitina. Inicialmente, a E1 é ativada e, em uma reação dependente de energia, transfere, através da E2, a ubiquitina para a E3, que catalisa a ligação da ubiquitina à proteína, marcando-a para ser degradada.<sup>41</sup> Esse processo de degradação de proteínas poliubiquitinadas ocorre no proteossomo (20S ou 26S), que é um complexo composto de uma ou três grandes enzimas com a função de degradar proteínas desnecessárias ou danificadas da célula.<sup>19</sup>

As enzimas do tipo E3 conferem especificidade à proteína-alvo para degradação. Centenas de diferentes E3 já foram identificadas, e parece que cada uma modula a ubiquitinação de um grupo de substratos proteicos.<sup>41</sup> No músculo esquelético foram identificadas duas E3 específicas que estão relacionadas ao processo de atrofia: a atrogina-1 (*Muscle Atrophy F-box*) ou



**Figura 3**

Sistema proteossomo de degradação muscular. O sistema ubiquitina-proteossomo é um complexo multiproteico citoplasmático que degrada proteínas marcadas por ubiquitina. Essa degradação requer a participação de três proteínas distintas (E1, E2 e E3). As proteínas E3 conferem especificidade às proteínas que serão degradadas. Na atrofia muscular foram descritas algumas enzimas E3, como a MuRF-1 e a atrogina-1.

MAF-bx, e a MuRF-1 (*Muscle Ring Finger-1*).<sup>42</sup> Foi descrita uma terceira ubiquitina ligase E3, a NEDD-4, que parece facilitar a atrofia muscular em modelos de denervação e de suspensão da pata traseira.<sup>43</sup>

A MuRF-1 é uma enzima ubiquitina ligase E3 reconhecida como marcador do processo de atrofia muscular em diversos modelos experimentais.<sup>44</sup> Essa proteína tem a capacidade de se ligar à titina da linha M,<sup>45</sup> a terceira em abundância dentre as proteínas musculares (10%).<sup>46</sup>

Alguns estudos descreveram o aumento da expressão de subunidades do proteossomo e de enzimas ubiquitinantes durante a atrofia muscular,<sup>47</sup> bem como o aumento da expressão de E3 ligases em modelos de denervação, imobilização, restrição alimentar, *diabetes mellitus* e uremia.<sup>44</sup> Esses estudos sugerem que a perda muscular está relacionada com a atividade das E3 ligases MuRF-1 e atrogina-1.<sup>44</sup> Em modelos murinos, a inibição do proteossomo pode reduzir a degradação proteica durante a atrofia,<sup>48</sup> indicando um importante papel da via ubiquitina-proteossomo na sarcopenia – mas não é possível extrapolar esses resultados para humanos.<sup>49</sup> Inibidores biológicos e sintéticos do proteossomo podem inibir o ciclo celular e induzir apoptose preferencialmente em células neoplásicas.<sup>50</sup>

O papel dessa via na perda muscular de humanos foi revisado por Murton *et al.*,<sup>12</sup> sugerindo que a ativação das ubiquitinas-ligases MAF-bx/atrogina-1 e MuRF-1 ocorre principalmente durante processos inflamatórios.

A atrofia muscular que ocorre pela superexpressão do sistema ubiquitina-proteossomo parece envolver vias distintas. Estudos têm demonstrado essa sinalização via NF- $\kappa$ B, que induz a expressão de genes relacionados com o processo de sarcopenia, tais como MuRF-1 e MAF-bx, além de citocinas pró-inflamatórias. A ativação do NF- $\kappa$ B está envolvida na atrofia muscular causada pelo desuso e por caquexia, embora os mecanismos não estejam completamente esclarecidos.<sup>51</sup> Existem evidências do envolvimento do estresse oxidativo nessa ativação.<sup>52</sup> Além da via do NF- $\kappa$ B, o aumento da expressão de MuRF-1 e MAF-bx<sup>31</sup> também pode ocorrer via FOXO<sup>30</sup> e miogenina.<sup>53</sup>

### Células-satélite

Além da degradação proteica, déficits no processo de regeneração muscular também podem estar envolvidos na sarcopenia (Figura 1).

Células-satélite (CS) são precursores miogênicos quiescentes encontrados no músculo adulto entre a lâmina basal e o sarcolema, e apresentam algumas propriedades de células-tronco.<sup>54</sup> As CS podem ser ativadas em resposta a estímulos de crescimento, remodelamento ou lesão muscular.<sup>55,56</sup> Na ativação, elas entram no ciclo celular, dividem-se, diferenciam-se em mioblastos e fundem-se para formar miotubos, que então se desenvolvem em uma nova fibra ou se fundem com fibras musculares já existentes para reparar miofibras danificadas e/ou para aumentar a hipertrofia das fibras musculares.<sup>57</sup>

Quando ativadas, as CS podem ser identificadas pela expressão de marcadores, tais como MyoD e miogenina, que são indicadores de proliferação e de diferenciação de CS, respectivamente.<sup>58</sup>

Alguns estudos demonstraram que a cocultura de precursores musculares com macrófagos aumenta a proliferação e a diferenciação de mioblastos, sugerindo o envolvimento de mediadores inflamatórios na ativação de CS.<sup>59</sup> Entre os mediadores inflamatórios, o TNF- $\alpha$  está aumentado no tecido muscular pós-lesão, mas também parece estar envolvido na regeneração muscular.<sup>60,61</sup>

Nosso grupo, estudando processos inflamatórios agudos em modelo experimental de contusão muscular, demonstrou o importante envolvimento da produção local de óxido nítrico na proliferação e na diferenciação das CS.<sup>56,62</sup>

Entretanto, pouco se conhece da via pela qual a sarcopenia é ativada e qual é o estímulo inicial que desencadeia a ativação

das CS na vigência de processo inflamatório crônico. Existe uma aparente contradição entre o aumento de ativação dessas células regenerativas e o resultado final, que é atrofia muscular. Há necessidade de mais estudos para esclarecer se essa ativação de CS, que ocorre provavelmente como uma tentativa de regenerar o músculo atrofado, é insuficiente para compensar a perda proteica ou se o processo de miogênese não se completa devido, por exemplo, à apoptose.

### SARCOPENIA NA ARTRITE REUMATOIDE

Apesar do progresso no conhecimento dos mecanismos moleculares que levam à atrofia muscular em diversas situações, a sarcopenia reumatoide ainda é muito pouco estudada. Funcionalmente, os pacientes com AR apresentam redução significativa na força muscular, mas a velocidade e as propriedades contráteis musculares mantêm-se inalteradas.<sup>6</sup> Esses dados demonstram que o impacto da doença ocorre por meio de perda proteica, afetando principalmente sarcômeros em paralelo e preservando o número de sarcômeros em série.

Existe uma escassez de informação das vias de perda muscular na AR, especialmente pelo mecanismo de apoptose. Até o momento, não há estudos de indivíduos com AR ou de modelos animais com artrite crônica demonstrando o real papel da apoptose na perda muscular. Em estudos em nosso laboratório, não observamos corpos apoptóticos ou marcação com caspase-3 em músculo gastrocnêmio de camundongos com artrite induzida por colágeno (CIA) (dados não publicados), sugerindo que esse mecanismo não tenha um papel marcante na sarcopenia reumatoide.

Da mesma forma, não existem estudos em modelos experimentais ou em pacientes com AR avaliando a participação de mecanismos de autofagia, ativação de calpaínas e caspases.

Quanto à via do proteossomo, o aumento das enzimas ligantes de ubiquitina E3 associadas à proteólise muscular já foi identificado no músculo esquelético de modelos murinos de artrite,<sup>63,64</sup> mas os outros componentes da via ubiquitina-proteossomo ainda não foram estudados, como a ubiquitina e subunidades proteossomais, bem como em que estágio da doença ocorre o desenvolvimento da atrofia. Pela via ubiquitina-proteossomo, observou-se o aumento da expressão de MuRF-1 e de MAF-bx<sup>31</sup> pela NF- $\kappa$ B, FOXO<sup>30</sup> e miogenina,<sup>53</sup> dados não confirmados em músculo de humanos com artrite. Dessa forma, embora seja a via proteolítica mais estudada em geral, sua importância ainda não foi confirmada em pacientes com artropatia crônica.

Finalmente, Castillero *et al.*<sup>64</sup> demonstraram que na atrofia do músculo gastrocnêmio em modelo de artrite induzida por

adjuvante de Freund (CFA) havia ativação e proliferação de CS por seus marcadores miogenina e MyoD. Esses achados necessitam de confirmação em outros modelos experimentais, bem como em estudos com pacientes.

## CONCLUSÃO

Discutimos como diversas vias intracelulares estão envolvidas, de maneira inter-relacionada, com o processo de perda de massa muscular. Essas vias, divididas em mecanismos de apoptose celular, proteólise das miofibrilas e alteração na regeneração da célula por meio das CS, vêm sendo ativamente estudadas em diversas condições clínicas e experimentais. Observa-se que esses mecanismos não estão presentes de maneira uniforme nessas condições, havendo variação significativa na importância relativa de cada uma, conforme a situação clínica. Portanto, é provável que os melhores manejos preventivo e terapêutico também não sejam os mesmos para todas as situações de atrofia muscular.

Apesar da significativa perda de massa muscular que ocorre na maioria dos pacientes com AR, com um profundo impacto socioeconômico e funcional nessa população, não há, até o momento, proposta terapêutica padronizada para essa complicação. Há poucos estudos avaliando o impacto das terapias atuais na perda de massa muscular.<sup>4</sup> Da mesma forma, conforme discutimos anteriormente, praticamente não existem estudos sobre a participação das diversas cascatas que levam à atrofia e à regeneração muscular em modelos experimentais ou em pacientes com artropatias crônicas. Mais estudos nessa área serão de grande relevância, pois maior compreensão dos mecanismos de modulação entre catabolismo e anabolismo muscular deverá resultar em desenvolvimento de estratégias terapêuticas inovadoras mais eficazes e melhor qualidade de vida a esses pacientes.

## REFERENCES

### REFERÊNCIAS

- Kinne RW, Brauer R, Stuhlmuller B, Palombo-Kinne E, Burmester GR. Macrophages in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res* 2000; 2(3):189–202.
- Senna ER, De Barros AL, Silva EO, Costa IF, Pereira LV, Ciconelli RM *et al.* Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the COPCORD approach. *J Rheumatol* 2004; 31(3):594–7.
- Lee DM, Weinblatt ME. Rheumatoid arthritis. *Lancet* 2001; 358(9285):903–11.
- Rocha OMD, Batista AdAP, Maestá N, Burini RC, Laurindo IMM. Sarcopenia da caquexia reumatoide: conceituação, mecanismos, consequências clínicas e tratamentos possíveis. *Rev Bras Reumatol* 2009; 49(3):288–301.
- Doherty TJ. Invited review: Aging and sarcopenia. *J Appl Physiol* 2003; 95(4):1717–27.
- Matschke V, Murphy P, Lemmey AB, Maddison P, Thom JM. Skeletal Muscle Properties in Rheumatoid Arthritis Patients. *Medicine & Science in Sports & Exercise* 2010; 42(12):2149–55.
- Rall LC, Roubenoff R. Rheumatoid cachexia: metabolic abnormalities, mechanisms and interventions. *Rheumatology* 2004; 43(10):1219–23.
- Silva TAA, Frisoli Junior A, Pinheiro MM, Szejnfeld VL. Sarcopenia associada ao envelhecimento: aspectos etiológicos e opções terapêuticas. *Rev Bras Reumatol [Review]* 2006; 46(6):391–7.
- Ashwell M, Chinn S, Stalley S, Garrow JS. Female fat distribution – A simple classification based on 2 circumference measurements. *International Journal of Obesity* 1982; 6(2):143–52.
- Calura E, Cagnin S, Raffaello A, Laveder P, Lanfranchi G, Romualdi C. Meta-analysis of expression signatures of muscle atrophy: gene interaction networks in early and late stages. *BMC Genomics* 2008;9.
- DeBoer MD. Animal models of anorexia and cachexia. *Expert Opinion on Drug Discovery [Review]* 2009; 4(11):1145–55.
- Murton AJ, Constantin D, Greenhaff PL. The involvement of the ubiquitin proteasome system in human skeletal muscle remodelling and atrophy. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease* 2008; 1782(12):730–43.
- Dupont-Versteegden EE. Apoptosis in skeletal muscle and its relevance to atrophy. *World Journal of Gastroenterology* 2006; 12(46):7463–6.
- Primeau AJ, Adhietty PJ, Hood DA. Apoptosis in heart and skeletal muscle. *Canadian Journal of Applied Physiology-Revue Canadienne De Physiologie Appliquee* 2002; 27(4):349–95.
- Cande C, Vahsen N, Garrido C, Kroemer G. Apoptosis-inducing factor (AIF): caspase-independent after all. *Cell Death and Differentiation* 2004; 11(6):591–5.
- Earnshaw WC, Martins LM, Kaufmann SH. Mammalian caspases: Structure, activation, substrates, and functions during apoptosis. *Annual Review of Biochemistry* 1999; 68:383–424.
- Garrido C, Kroemer G. Lifes smile, deaths grin: vital functions of apoptosis-executing proteins. *Current Opinion in Cell Biology*. 2004; 16(6):639-46.
- Bruusgaard JC, Gundersen K. In vivo time-lapse microscopy reveals no loss of murine myonuclei during weeks of muscle atrophy. *Journal of Clinical Investigation* 2008; 118(4):1450–7.
- Hasselgren PO, Wray C, Mammen J. Molecular regulation of muscle cachexia: It may be more than the proteasome. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2002; 290(1):1–10.
- Purintrapiban J, Wang MC, Forsberg NE. Degradation of sarcomeric and cytoskeletal proteins in cultured skeletal muscle cells. *Comparative Biochemistry and Physiology B-Biochemistry & Molecular Biology* 2003; 136(3):393–401.
- Powers SK, Kavazis AN, DeRuisseau KC. Mechanisms of disuse muscle atrophy: role of oxidative stress. *American Journal of Physiology-Regulatory Integrative and Comparative Physiology* 2005; 288(2):R337–R44.
- Lum JJ, DeBerardinis RJ, Thompson CB. Autophagy in metazoans: Cell survival in the land of plenty. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2005; 6(6):439–48.
- Bechet D, Tassa A, Taillandier D, Cornbaret L, Attaix D. Lysosomal proteolysis in skeletal muscle. *International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2005; 37(10):2098–114.

24. Goll DE, Netti G, Mares SW, Thompson VF. Myofibrillar protein turnover: The proteasome and the calpains. *J Anim Sci* 2008; 86(14 suppl):E19–35.
25. Mordier S, Deval C, Bechet D, Tassa A, Ferrara M. Leucine limitation induces autophagy and activation of lysosome-dependent proteolysis in C2C12 myotubes through a mammalian target of rapamycin-independent signaling pathway. *Journal of Biological Chemistry* 2000; 275(38):29900–6.
26. Mizushima N, Yamamoto A, Matsui M, Yoshimori T, Ohsumi Y. In vivo analysis of autophagy in response to nutrient starvation using transgenic mice expressing a fluorescent autophagosome marker. *Molecular Biology of the Cell* 2004; 15(3):1101–11.
27. Lecker SH, Jagoe RT, Gilbert A, Gomes M, Baracos V, Bailey J *et al.* Multiple types of skeletal muscle atrophy involve a common program of changes in gene expression. *Faseb Journal* 2004; 18(1):39–51.
28. Satchek JM, Hyatt JPK, Raffaello A, Jagoe RT, Roy RR, Edgerton VR *et al.* Rapid disuse and denervation atrophy involve transcriptional changes similar to those of muscle wasting during systemic diseases. *Faseb Journal* 2007; 21(1):140–55.
29. Nakatogawa H, Suzuki K, Kamada Y, Ohsumi Y. Dynamics and diversity in autophagy mechanisms: lessons from yeast. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*. 2009; 10(7):458–67.
30. Mammucari C, Milan G, Romanello V, Masiero E, Rudolf R, Del Piccolo P *et al.* FOXO3 controls autophagy in skeletal muscle in vivo. *Cell Metabolism* 2007; 6(6):458–71.
31. Li H, Malhotra S, Kumar A. Nuclear factor-kappa B signaling in skeletal muscle atrophy. *Journal of Molecular Medicine-Jmm* 2008; 86(10):1113–26.
32. Wohlgemuth SE, Seo AY, Marzetti E, Lees HA, Leeuwenburgh C. Skeletal muscle autophagy and apoptosis during aging: Effects of calorie restriction and life-long exercise. *Experimental Gerontology* 2010; 45(2):138–48.
33. Goll DE, Thompson VF, Li HQ, Wei W, Cong JY. The calpain system. *Physiological Reviews* 2003; 83(3):731–801.
34. Koh TJ, Tidball JG. Nitric oxide inhibits calpain-mediated proteolysis of talin in skeletal muscle cells. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 2000; 279(3):C806–C12.
35. Goll DE, Dayton WR, Singh I, Robson RM. Studies of the alpha-actinin actin interaction in the Z-disk by using calpain. *Journal of Biological Chemistry* 1991; 266(13):8501–10.
36. Goll DE, Thompson VF, Taylor RG, Zaleska T. Is calpain activity regulated by membranes and autolysis or by calcium and calpastatin. *Bioessays* 1992; 14(8):549–56.
37. Du J, Wang XN, Miereles C, Bailey JL, Debigare R, Zheng B *et al.* Activation of caspase-3 is an initial step triggering accelerated muscle proteolysis in catabolic conditions. *Journal of Clinical Investigation* 2004; 113(1):115–23.
38. Naujokat C, Fuchs D, Berges C. Adaptive modification and flexibility of the proteasome system in response to proteasome inhibition. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Cell Research* 2007; 1773:1389–97.
39. Naujokat C, Hoffmann S. Role and function of the 26S proteasome in proliferation and apoptosis. *Laboratory Investigation* 2002; 82(8):965–80.
40. Wolf DH, Hilt W. The proteasome: a proteolytic nanomachine of cell regulation and waste disposal. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Cell Research* 2004; 1695(1–3):19–31.
41. Li YP, Chen YL, Li AS, Reid MB. Hydrogen peroxide stimulates ubiquitin-conjugating activity and expression of genes for specific E2 and E3 proteins in skeletal muscle myotubes. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 2003; 285(4):C806–C12.
42. Hasselgren PO, Wray C, Mammen J. Molecular regulation of muscle cachexia: it may be more than the proteasome. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 290(1):1–10.
43. Koncarevic A, Jackman RW, Kandarian SC. The ubiquitin-protein ligase Nedd4 targets Notch1 in skeletal muscle and distinguishes the subset of atrophies caused by reduced muscle tension. *Faseb Journal* 2007; 21(2):427–37.
44. Bodine SC, Latres E, Baumhueter S, Lai VK, Nunez L, Clarke BA *et al.* Identification of ubiquitin ligases required for skeletal muscle atrophy. *Science* 2001; 294(5547):1704–8.
45. Centner T, Yano J, Kimura E, McElhinny AS, Pelin K, Witt CC *et al.* Identification of muscle specific ring finger proteins as potential regulators of the titin kinase domain. *J Mol Biol* 2001; 306(4):717–26.
46. Wang K, McClure J, Tu A. Titin: major myofibrillar components of striated muscle. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1979; 76(8):3698–702.
47. Lecker SH, Solomon V, Mitch WE, Goldberg AL. Muscle protein breakdown and the critical role of the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *Journal of Nutrition* 1999; 129(1):227S–37S.
48. Tawa NE Jr, Odessey R, Goldberg AL. Inhibitors of the proteasome reduce the accelerated proteolysis in atrophying rat skeletal muscles. *J Clin Invest* 1997; 100(1):197–203.
49. Rennie MJ, Selby A, Atherton P, Smith K, Kumar V, Glover EL *et al.* Facts, noise and wishful thinking: muscle protein turnover in aging and human disuse atrophy. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports* 2010; 20(1):5–9.
50. Rajkumar SV, Richardson PG, Hideshima T, Anderson KC. Proteasome inhibition as a novel therapeutic target in human cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2005; 23(3):630–9.
51. Jackman RW, Kandarian SC. The molecular basis of skeletal muscle atrophy. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 2004; 287(4):C834–C43.
52. Filippin LI, Vencelino R, Marroni NP, Xavier RM. Influência de processos redox na resposta inflamatória da artrite reumatoide. *Rev Bras Reumatol* 2008; 48(1):17–24.
53. Moresi V, Williams AH, Meadows E, Flynn JM, Potthoff MJ, McAnally J *et al.* Myogenin and Class II HDACs Control Neurogenic Muscle Atrophy by Inducing E3 Ubiquitin Ligases. *Cell* 2010; 143(1):35–45.
54. Cassano M, Quattrocchi M, Crippa S, Perini I, Ronzoni F, Sampaolesi M. Cellular mechanisms and local progenitor activation to regulate skeletal muscle mass. *Journal of Muscle Research and Cell Motility* 2009; 30(7–8):243–53.
55. Morgan JE, Partridge TA. Muscle satellite cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2003; 35(8):1151–6.
56. Filippin LI, Cuevas MJ, Lima E, Marroni NP, Gonzalez-Gallego J, Xavier RM. Nitric oxide regulates the repair of injured skeletal muscle. *Nitric Oxide* 2011; 24(1):43–9.
57. Yamada M, Sankoda Y, Tatsumi R, Mizunoya W, Ikeuchi Y, Sunagawa K *et al.* Matrix metalloproteinase-2 mediates stretch-induced activation of skeletal muscle satellite cells in a nitric oxide-dependent manner. *Int J Biochem Cell Biol* 2008; 40(10):2183–91.

58. Berkes CA, Tapscott SJ. MyoD and the transcriptional control of myogenesis. *Seminars in Cell & Developmental Biology* 2005; 16(4-5):585-95.
59. Massimino ML, Rapizzi E, Cantini M, DallaLibera L, Mazzoleni F, Arslan P *et al.* ED2+ macrophages increase selectively myoblast proliferation in muscle cultures. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1997; 235(3):754-9.
60. Chen SE, Jin BW, Li YP. TNF-alpha regulates myogenesis and muscle regeneration by activating p38 MAPK. *American Journal of Physiology-Cell Physiology* 2007; 292(5):C1660-C71.
61. Warren GL, Hulderman T, Jensen N, McKinstry M, Mishra M, Luster MI *et al.* Physiological role of tumor necrosis factor alpha in traumatic muscle injury. *Faseb Journal* 2002; 16(10):1630-+.
62. Filippin LI, Moreira AJ, Marroni NP, Xavier RM. Nitric oxide and repair of skeletal muscle injury. *Nitric Oxide-Biology and Chemistry* 2009; 21(3-4):157-63.
63. Granado M, Martin AI, Priego T, Lopez-Calderon A, Villanua MA. Tumour necrosis factor blockade did not prevent the increase of muscular muscle RING finger-1 and muscle atrophy F-box in arthritic rats. *Journal of Endocrinology* 2006; 191(1):319-26.
64. Castellero E, Martin AI, Lopez-Menduina M, Granado M, Villanua MA, Lopez-Calderon A. IGF-I system, atrogenes and myogenic regulatory factors in arthritis induced muscle wasting. *Molecular and Cellular Endocrinology* 2009; 309(1-2):8-16.