UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE EDUCAÇÃO FÍSICA E ESPORTE

Adaptação mitocondrial induzida pelo exercício físico aeróbio: desvendando
novos mecanismos moleculares

Paulo Roberto Jannig

São Paulo
2017

PAULO ROBERTO JANNIG

Adaptação mitocondrial induzida pelo exercício físico aeróbio: desvendando
novos mecanismos moleculares

Tese apresentada à Escola de Educação Física e
Esporte da Universidade de São Paulo, como
requisito parcial para a obtenção do título de
Doutor em Ciências

Área de concentração:
Biodinâmica do Movimento Humano

Orientador:
Profa. Dra. Patricia Chakur Brum
Coorientador:
Prof. Dr. Jorge Lira Ruas

São Paulo

2017

*Aos meus pais Tarciso e Ana, por me ensinarem que com
dedicação e ética podemos fazer coisas incríveis*

AGRADECIMENTOS

À professora Patricia Brum, por ser um exemplo de professora-pesquisadora-orientadora-mentora-mãe-pessoa. Nunca esquecerei que já na nossa primeira conversa, durante o CELAFISCS de 2008, pude perceber o seu comprometimento em dar oportunidade para todos. Cheguei para trabalhar com você já graduado, mas sem saber direito o que era uma proteína. Sem medir esforços, você me ensinou e proporcionou toda a oportunidade possível para meu desenvolvimento. Tenho ainda um longo caminho, mas já aprendi com você qual tipo de professor eu quero ser. Agradeço imensamente a confiança depositada.

Ao professor Jorge Ruas, com quem tive a sorte de trabalhar durante o doutorado e que me proporcionou enorme amadurecimento científico e profissional. Obrigado pelos conselhos e por me motivar a continuar trabalhando com todo o rigor possível.

À minha amada noiva Ivy, por todo amor, companheirismo, apoio e compreensão durante todo o desenvolvimento dessa tese. Obrigado percorrer esse caminho sempre ao meu lado, me lembrando de todas as conquistas, do meu potencial, e de que juntos podemos realizar todos nossos sonhos.

Aos meus pais Tarciso e Ana, por serem a base da minha vida e por nunca terem medido esforços para que eu pudesse realizar todos os meus sonhos. À minha irmã Juliana, cunhado David e sobrinho Otávio, por representarem sempre um porto seguro. Amo vocês!

Aos amigos e colegas com quem convivi no Laboratório de Fisiologia Celular e Molecular do Exercício da EEFE-USP. Como costumo brincar, o lab é um ambiente onde aprendemos por osmose, e com cada um de vocês aprendi muito e sou muito grato por isso. A molaridade de pessoas competentes e interessantes no nosso laboratório é, e sempre, foi muito alta. Da mesma maneira, agradeço todos os alunos da Professora Edilamar e Professor Paulo Ramires.

Aos técnicos Ney, Marcele, Glória, Luciano, Sarah e Úrsula, por darem todo o suporte ao laboratório. Também ao técnico e amigo Alex, com quem muito aprendi durante o mestrado.

To all friends from Ruas' Lab: Leo, Duarte, Shamim, Vicente, Paula, Jorge Correia, Igor, Amanda, Manizheh, Miguel and Margareta. Thanks to you, I had a life-changing experience in Stockholm. I'm also thankful to all other friends and colleagues from KI.

Aos amigos de República, Bechara, Van, Bozi, Ju, Ancely e, claro, aos sempre presentes Gabriel e Ney, pelo suporte de todos os dias. Conviver com vocês me fez crescer em todos os

sentidos, seja pelas longas conversas sobre a vida, o universo e tudo mais, ou pela barriga proporcionada pelos inúmeros fardinhos e pizzas compartilhadas.

Aos amigos-irmãos de Joinville por estarem sempre por “perto” dando suporte e mostrando que a localização geográfica pouco importa quando queremos bem de alguém.

Ao professor Eriberto Fleischmann, por ter proporcionado minha primeira oportunidade de trabalhar com pesquisa ainda na época de graduação. Com você que fiz minha primeira visita à EEFE, e desde então eu soube onde queria chegar.

À Carla Werlang Coelho, professora, orientadora, colaboradora e hoje amiga, por ter acompanhado toda minha trajetória desde a graduação, sempre torcendo e dando suporte para meu sucesso. Estendo também meu agradecimento ao Luiz Coelho, por todas as conversas e conselhos.

À Aline Bacurau, primeira pessoa a me acolher no laboratório, que com toda paciência me ensinou os primeiros experimentos e me ajudou a entrar nesse mundo de biomol que hoje sou apaixonado. Obrigado por ter acreditado em mim desde minha chegada à São Paulo.

Aos professores Raphael Ritti-Dias e Andreia Queiroz, os quais não poderia deixar de lembrar. Vocês foram os primeiros de SP a reconhecer meu trabalho, lá nos CELAFISCS que participei durante a graduação. As palavras e conselhos de vocês ajudaram a encontrar meu caminho para USP, que à época, parecia inalcançável.

Ao professor Carlos Ugrinowitsch, por todas as conversas e reflexões proporcionadas, as quais me ajudaram a ter certeza do caminho que quero trilhar.

Aos colaboradores Davi Fonseca e Animesh Sharma, do *Proteomics and Metabolomics Core Facility (PROMEC)*, da *Norwegian University of Science and Technology* (NTNU, Noruega).

Ao Centro de Facilidades de Apoio à Pesquisa da Universidade de São Paulo (CEFAP-USP), em nome dos técnicos Jô, Mário e Fernando.

Aos secretários da CPG-EEFE, Márcio e Cláudia por estarem sempre disponíveis para sanar qualquer dúvida e auxiliar na resolução de problemas. Se temos um programa de excelência, devemos em grande parte ao trabalho de vocês.

Aos funcionários da EEFE-USP com quem convivi quase que diariamente nos últimos anos e que tanto trabalham para tornar a Escola um ambiente próspero e amigável.

À FAPESP pelo apoio financeiro (Processos 2013/21065-3 e 2014/26797-5).

“The reasonable man adapts himself to the world; the unreasonable one persists in trying to adapt the world to himself. Therefore all progress depends on the unreasonable man”

George Bernard Shaw

RESUMO

JANNIG, P. R. **Adaptação mitocondrial induzida pelo exercício físico aeróbio: desvendando novos mecanismos moleculares**. 2017. 127 f. Tese (Doutorado em Ciências) – Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo. 2017.

O aumento da capacidade oxidativa é considerado o fator central dos seus benefícios à saúde induzidos pelo exercício físico aeróbio (EFA). A musculatura esquelética é um dos tecidos mais envolvidos na realização de exercícios físicos, com capacidade notável de adaptação metabólica e estrutural frente ao estímulo mecânico. Os músculos esqueléticos são ricos em mitocôndrias e altamente dependentes da fosforilação oxidativa para a produção energia. Assim, o aumento da capacidade aeróbia induzido pelo EFA ocorre grande parte em função de adaptações mitocondriais. Inúmeros estudos demonstram a capacidade do EFA em induzir biogênese mitocondrial, onde o coativador de transcrição PGC-1 α 1 atua coordenando a expressão de genes nucleares e mitocondriais no contexto do EFA. No entanto, animais com deleção de PGC-1 α 1 no músculo esquelético ainda apresentam remodelamento mitocondrial importante após período de treinamento físico aeróbio, evidenciando a existência de mecanismos ainda desconhecidos. Embora a formação de novas mitocôndrias seja fundamental, a manutenção de mitocôndrias saudáveis por meio de mecanismos de controle de qualidade parece ser de igual ou maior importância para uma adaptação mitocondrial adequada. Um desses mecanismos de controle de qualidade mitocondrial envolve a remoção de mitocôndrias danificadas/envelhecidas via autofagia mitocondrial (mitofagia). Contudo, os mecanismos envolvidos na mitofagia induzida pelo EFA são pouco conhecidos. Considerando o papel da adaptação mitocondrial sobre os efeitos benéficos do EFA, realizamos um estudo exploratório para buscar novos mecanismos envolvidos neste processo. Para isso, utilizamos uma abordagem proteômica direcionada à fração mitocondrial muscular de camundongos submetidos a uma única sessão de EFA. Num primeiro estudo, utilizamos os resultados de proteômica para procurar por proteínas envolvidas na ativação da mitofagia durante o EFA. A partir desse estudo, verificamos que uma sessão de EFA de fato induz sinais de mitofagia na musculatura esquelética. Além disso, propomos que as proteínas Phb2 e Mief2 podem acumular em mitocôndrias danificadas durante o EFA e colaborar para o recrutamento da maquinaria autofágica para a organela, auxiliando no controle de qualidade e adaptação mitocondrial induzidos pelo EFA. Em segundo estudo, tivemos como objetivo identificar nos resultados de proteômica possíveis reguladores de transcrição gênica envolvidos na adaptação mitocondrial induzida pelo EFA. Dessa maneira, identificamos que a proteína mitocondrial Spryd4, cuja função não havia sido estudada até então, parece aumentar na fração mitocondrial muscular durante o EFA. Observamos ainda que a expressão gênica muscular de Spryd4 diminui em camundongos idosos ou com distrofia muscular, aumenta em animais saudáveis após treinamento físico aeróbio e também parece aumentar em humanos treinados. *In vitro*, observamos que a atenuação da expressão de Spryd4 em miotubos primários promove disfunção mitocondrial, associada à diminuição da expressão de genes de complexos mitocondriais e envolvidos no transporte e metabolismo de lipídeos, além de promover atrofia de miotubos. Num contexto geral, a análise do proteoma mitocondrial muscular após uma sessão de EFA nos permitiu identificar proteínas que parecem estar envolvidas em adaptações mitocondriais, em especial, em mecanismos de mitofagia e controle do fluxo de substratos energéticos.

Palavras-chave: Músculo esquelético, mitofagia, autofagia, mitocôndria, metabolismo oxidativo.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Exercício físico e doenças

A relação entre inatividade física e o desenvolvimento de doenças é conhecida desde a antiguidade. Na Grécia antiga, Hipócrates já proferia que se houvesse qualquer deficiência na alimentação ou na atividade física o corpo adoeceria. Por pelo menos 95% de sua história, a espécie humana viveu em pequenos grupos nômades de caçadores-coletores com dietas e gasto energético diário muito diversos dos atuais. De fato, mais de dois terços do consumo energético diário na sociedade moderna são provenientes de alimentos que, nas dietas pré-agrícolas, contribuíam pouco ou nada ao total de energia consumida (CORDAIN et al., 2000). Em perspectiva evolutiva, mudanças recentes em características nutricionais como carga glicêmica, composição de ácidos graxos, composição macro e micronutrientes, balanço ácido-base, razão sódio-potássio, e conteúdo de fibras desafiam o funcionamento adequado do genoma humano (CORDAIN et al., 2005). Somadas à diminuição considerável dos níveis de atividade física após a primeira revolução industrial, essas mudanças trouxeram aumento na incidência de doenças cardiovasculares e metabólicas sem precedentes (CORDAIN et al., 1998; HALLAL et al., 2012).

É fato que o avanço das ciências médicas auxiliou no considerável aumento da expectativa de vida global. Contudo, dados de 2010 demonstram que a expectativa de vida corrigida pela incapacidade, ou expectativa de vida saudável, apresentou leve queda quando comparados com dados de 1990 (MURRAY et al., 2012). Ainda mais alarmante é notar que as importantes reduções na incidência de doenças infecciosas e na mortalidade infantil foram compensadas pelo notável aumento de doenças não-comunicáveis, com destaque para doença arterial coronariana, acidente vascular encefálico e depressão (MURRAY et al., 2012). Assim, existe uma tendência global das pessoas conviverem um maior percentual de suas vidas com doenças crônicas, e, por conseguinte, com menor qualidade de vida.

A obesidade afeta diretamente a qualidade de vida e é um dos principais fatores de risco para doenças não-comunicáveis (GBD OBESITY et al., 2017). Sua prevalência dobrou em mais de 70 países desde a década de 80, e contabilizou ≈ 4 milhões de mortes no ano de 2015, sendo que 70% destas foram por doenças cardiovasculares (GBD OBESITY et al., 2017). Por outro lado, mesmo na presença de sobrepeso e obesidade, um pequeno aumento no nível de atividade física já exerce efeito positivo na redução do risco de mortalidade por todas as causas (EKELUND et al., 2015). Hoje considerada uma pandemia global, a inatividade física é o

quarto fator de risco mais prevalente, tendo sido responsável por mais de 5,3 milhões de mortes em 2008 (LEE et al., 2012). Considerado o quarto fator de risco mais prevalente para mortalidade no mundo, estima-se que a inatividade física promova aumento de 6% na incidência de doença arterial coronariana, 7% de diabetes tipo 2 e 10% de câncer de mama ou cólon (WHO, 2009; LEE et al., 2012). Em contrapartida, se a inatividade física não existisse, a expectativa de vida da população mundial poderia aumentar em 0,7 anos (LEE et al., 2012). De fato, as evidências científicas são suficientes para colocar a inatividade física como um problema de saúde pública prioritário que requer o desenvolvimento e a implantação de intervenções multidisciplinares e multisetoriais (REIS et al., 2016).

Entre os diversos benefícios da atividade física, o aumento da capacidade cardiorrespiratória é o fator determinante para a redução no risco de mortalidade, independente de idade, gênero e doenças e fatores de risco associados (MYERS et al., 2002; RUIZ et al., 2008; KODAMA et al., 2009). Associando essas observações clínicas com a base teórica da evolução dos organismos aeróbios, Koch e Britton (2001) propuseram a “hipótese aeróbia”, sugerindo que a variação na capacidade de metabolizar oxigênio é o mecanismo central de divisão entre a saúde e o desenvolvimento de doenças complexas. Para testar tal hipótese, estes cientistas realizaram uma seleção artificial de ratos, segregando-os pela capacidade aeróbia herdada. Dessa maneira, geraram duas linhagens de animais distintas, uma com alta capacidade intrínseca de corrida (*High Capacity Runners*, HCR) e outra com baixa capacidade intrínseca de corrida (*Low Capacity Runners*, LCR). De fato, após algumas gerações de seleção artificial foi observado 30% de aumento no consumo máximo de oxigênio ($VO_{2\text{máx}}$) dos animais HCR em relação aos animais LCR, que por sua vez passaram a apresentar diversos fatores de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares, como disfunção endotelial, disfunção cardíaca, pressão arterial elevada, dislipidemia, obesidade e resistência à insulina (WISLOFF et al., 2005). Além disso, os animais HCR se demonstraram mais resistentes aos efeitos do envelhecimento, apresentando maior longevidade quando comparados aos animais LCR (KOCH et al., 2011). Considerando esses achados, torna-se evidente que a aptidão aeróbia apresenta grande relação com o estado geral de saúde, desenvolvimento de doenças e envelhecimento.

Os efeitos benéficos da prática regular do exercício físico (treinamento físico) frente à prevenção e ao tratamento de doenças, e também ao aumento da performance atlética, acontecem em razão das adaptações agudas e crônicas que coordenam o funcionamento integrado de diversos sistemas orgânicos (FIUZA-LUCES et al., 2013; HAWLEY et al., 2014). Essas adaptações de ocorrem em múltiplos órgãos e sistemas, com destaque para o

remodelamento cardíaco fisiológico, aumento da função endotelial, aumento do número dos alvéolos e melhor troca de gases nos pulmões, melhora da função hepática, diminuição de marcadores de neurotoxicidade, entre muitos outros (HEINONEN et al., 2014; CERVENKA et al., 2017). De fato, o exercício físico é considerado uma espécie de polipílula com efeitos tão diversos sobre a saúde que dificilmente poderá ser mimetizado por um único fármaco (FIUZALUCES et al., 2013). Todas respostas agudas e adaptações induzidas pelo exercício físico, quando vistas por uma perspectiva “músculo-cêntrica”, ocorrem em curto prazo para suprir a demanda energética aumentada pela contração muscular, e em longo prazo para reduzir o distúrbio homeostático causado pelo exercício físico. Como consequência, o organismo desenvolve resistência à quebra da homeostasia por perturbações metabólicas, reduzindo a fadiga precoce e a instalação de quadros patológicos (EGAN; ZIERATH, 2013; HAWLEY et al., 2014).

1.2 Adaptações musculares induzidas pelo exercício físico aeróbio

A musculatura esquelética é um dos tecidos mais envolvidos na realização de exercícios físicos, com capacidade notável de adaptação metabólica e estrutural frente ao estímulo mecânico, ou ausência dele (EGAN; ZIERATH, 2013; GOODPASTER; SPARKS, 2017). Enquanto as consequências fisiológicas dessas adaptações já são bem conhecidas, apenas recentemente pesquisadores começaram a desvendar o conjunto de moléculas regulatórias e vias de sinalização celular que as coordenam. Agudamente, a contração muscular promove alterações (reciclagem de adenosina trifosfato [ATP], fluxo de cálcio, balanço redox, produção de espécies reativas de oxigênio [ERO], estresse mecânico e pressão intracelular de oxigênio) que ativam ou inativam determinadas vias de sinalização celular, que por sua vez causam mudanças na atividade e localização subcelular de enzimas (BOSTROM et al., 1974; GREEN et al., 1992; LAWLER et al., 1993), na tradução de RNA mensageiro (mRNA) (SAKO et al., 2016), na síntese, degradação e secreção de proteínas (DOHM et al., 1987; STEENBERG et al., 2002; WILKINSON et al., 2008; BOSTROM et al., 2012), e também na atividade de fatores, coativadores e repressores de transcrição gênica (BAAR et al., 2002; YU et al., 2003; WRIGHT et al., 2007; MCGEE et al., 2009). As alterações nessas vias são transientes e podem atingir picos entre 3 e 12 horas após a realização do exercício físico, e geralmente retornam aos níveis basais dentro de ~24 horas (PILEGAARD et al., 2000; BICKEL et al., 2005; YANG et al., 2005; PERRY et al., 2010). Nesse sentido, adaptações de longo prazo induzidas pelo treinamento físico provavelmente decorrem do acúmulo de efeitos subagudos de cada sessão

de exercício físico. A intensidade, duração e frequência do exercício físico são fatores determinantes para essas respostas moleculares e suas consequências funcionais. Além disso, muitas das adaptações induzidas pelo exercício físico dependem da modalidade praticada, onde exercícios físicos aeróbios (EFA) e de força representam extremos opostos de um contínuo de adaptação (EGAN; ZIERATH, 2013).

As vias de sinalização intracelular moduladas EFA induzem adaptações na estrutura e função da célula muscular, como na atividade e concentração de enzimas metabólicas, no conteúdo lipídico e de glicogênio, na composição de proteínas sarcoméricas, e no remodelamento mitocondrial, seja por biogênese, fissão, fusão ou mitofagia. Além disso, essas vias de sinalização podem promover alterações no microambiente muscular pela secreção de fatores que auxiliam no relaxamento endotelial e vasodilação, na formação de novos capilares (angiogênese), na comunicação com células residentes ou ainda com ação autócrina/parácrina (EGAN; ZIERATH, 2013; FIUZA-LUCES et al., 2013; HAWLEY et al., 2014).

O exercício físico impõe uma alta demanda energética não apenas pela necessidade de ATP para manutenção dos ciclos de ponte-cruzada entre actina e miosina (miosina ATPase), mas também para manter a excitabilidade do sarcolema (Na^+/K^+ ATPase) e recaptar Ca^{2+} para o retículo sarcoplasmático (Ca^{2+} ATPase). Dessa maneira, o *turnover* muscular de ATP durante o EFA pode aumentar em até 100x em relação ao repouso (GAITANOS et al., 1993). A concentração intramuscular de ATP em repouso é extremamente baixa, o que requer a rápida ativação de vias metabólicas para ressintetizar o ATP e manter o funcionamento da fibra muscular em exercício.

A intensidade e duração do exercício determinam a via metabólica preponderante para a ressíntese de ATP, entre elas o sistema creatina-fosfato, a glicólise (anaeróbia ou aeróbia), o ciclo do ácido cítrico (TCA, ou ciclo de Krebs) e a fosforilação oxidativa (OxPhos) pela cadeia de transporte de elétrons (ETC). O funcionamento dessas vias depende da mobilização de carboidratos e lipídeos, utilizados como substrato para gerar intermediários como Acetil-CoA, alimentando o TCA, e das coenzimas nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) e flavina adenina dinucleotídeo (FAD), as quais atuam como carreadoras de elétrons para geração de energia pela OxPhos. Na glicólise, a ressíntese de ATP ocorre por uma série de reações enzimáticas envolvendo a conversão de glicose-6-fosfato, proveniente da quebra de glicogênio intramuscular (catalisada pela enzima glicogênio fosforilase) e da fosforilação de glicose (catalisada pela enzima hexoquinase), em piruvato. Este último é convertido em Acetil-CoA e transportado para a mitocôndria pelo complexo enzimático piruvato desidrogenase (PDH). Na ausência de oxigênio molecular, ocorre aumento da atividade da enzima lactato desidrogenase

(LDH) e a consequente a redução de piruvato a lactato (glicólise anaeróbia). Quando o acúmulo de prótons (H^+) provenientes da hidrólise de ATP supera a capacidade da LDH em reduzir piruvato em lactato, ocorre acidose e fadiga muscular (ROBERGS et al., 2004). No metabolismo de lipídeos, ácidos graxos são captados da circulação pelo receptor CD36 e ativados no citosol formando Acil-CoA, que em seguida é transportado para as mitocôndrias pela ação da carnitina-acil transferase (Cpt1b) e conjugação com carnitina. No interior das mitocôndrias, por fim, ocorre a β -oxidação de Acil-CoA, produzindo os intermediários Acetil-CoA, NADH e $FADH_2$, os quais serão utilizados pelo TCA e pela ETC, respectivamente, para ressíntese de ATP.

A contribuição de substratos energéticos provenientes do metabolismo de carboidratos e lipídeos depende diretamente da intensidade do exercício físico. Esforços curtos e intensos utilizam predominantemente a oxidação de glicose como fonte energética, ao passo que em exercícios prolongados e de intensidade baixa e moderada aumenta a participação da oxidação de ácidos graxos na produção de energia (EGAN; ZIERATH, 2013; HAWLEY et al., 2014). Após período de treinamento físico, o percentual de ATP proveniente da oxidação de ácidos graxos aumenta para uma mesma intensidade absoluta (TALANIAN et al., 2010), demonstrando a capacidade adaptativa do metabolismo muscular frente à prática regular de EFA.

As células musculares, ou fibras musculares, são divididas em diferentes tipos, os quais divergem principalmente quanto à capacidade oxidativa e/ou glicolítica e velocidade de contração muscular. Fibras musculares do tipo I são caracterizadas pela coloração avermelhada, devido ao elevado conteúdo de mioglobina (BASSEL-DUBY; OLSON, 2006; MURGIA et al., 2017), apresentam capacidade oxidativa aumentada associada a maior conteúdo mitocondrial e resistência à fadiga. Essas fibras apresentam ainda característica de contração muscular lenta, fato devido à maior expressão de Myh7, miosina de cadeia pesada com baixa atividade ATPase (BASSEL-DUBY; OLSON, 2006; MURGIA et al., 2017). Por outro lado, as fibras musculares do tipo II possuem maior capacidade glicolítica e expressão das isoformas de miosina de cadeia pesada com alta atividade ATPase (Myh1 e Myh2), conferindo característica de contração muscular rápida com baixa resistência à fadiga (BASSEL-DUBY; OLSON, 2006; MURGIA et al., 2017). Ainda, as fibras musculares do tipo II apresentam subtipos, os quais apresentam gradativo aumento na capacidade oxidativa no sentido IIB $\rightarrow$ IIX $\rightarrow$ IIA. Reforçando a plasticidade da musculatura esquelética, o EFA é capaz de induzir transição das fibras musculares tipo II para um perfil mais oxidativo, dessa forma, diminuindo a quantidade de fibras IIB e IIX com aumento de fibras IIA (FITZSIMONS et al., 1990; BASSEL-DUBY;

OLSON, 2006). De fato, após período de treinamento físico aeróbio, as fibras do tipo II podem apresentar capacidade oxidativa tão grande quanto fibras do tipo I de indivíduos sedentários (SALTIN et al., 1977). Contudo, a transição entre fibras tipo I e tipo II em seres humanos ainda é controversa (BOOTH et al., 2015).

Para suportar o elevado metabolismo oxidativo, as fibras musculares do tipo I, quando comparadas às fibras do tipo II, apresentam uma extensa rede de capilares sanguíneos, necessários para o transporte de oxigênio e nutrientes. Durante o EFA, ocorre ainda vasodilatação e aumento do fluxo sanguíneo muscular pela produção de óxido nítrico e prostaglandinas (MORTENSEN et al., 2007). Por sua vez, o treinamento físico aeróbio promove a formação de novos capilares no microambiente muscular, processo chamado de angiogênese (PRIOR et al., 2004). Uma combinação entre fatores de crescimento, hipóxia, estresse de cisalhamento e estresse mecânico parece mediar a angiogênese induzida pelo EFA (PRIOR et al., 2004).

1.3 Exercício físico aeróbio e remodelamento mitocondrial

Mitocôndrias são organelas intracelulares compostas por duas membranas lipídicas, uma interna e outra externa, as quais sustentam um gradiente de prótons entre o espaço intermembrana e a matriz mitocondrial, necessário para o funcionamento da ETC e apropriada OxPhos. É na matriz mitocondrial onde ocorre, entre outros processos, o TCA e a β -oxidação, constituindo assim organelas especializadas na produção aeróbia de energia. As mitocôndrias derivam de alfa-proteobactérias incorporadas por células eucarióticas primitivas em uma relação de endossimbiose que deu origem aos primeiros organismos aeróbios complexos (ANDREUX et al., 2013). Devido à sua origem bacteriana, as mitocôndrias possuem seu próprio genoma circular (DNA mitocondrial, mtDNA) e apesar de durante o processo evolutivo muitos dos genes mitocondriais terem sido transferidos para o núcleo (DNA nuclear, nDNA) da célula hospedeira, o mtDNA ainda é responsável pela codificação de 13 importantes proteínas mitocondriais (ANDREUX et al., 2013). Assim, qualquer adaptação mitocondrial requer a expressão de genes localizados no núcleo e nas mitocôndrias, o que torna ainda mais desafiante a compreensão de seus mecanismos.

Uma vez que os músculos esqueléticos são ricos em mitocôndrias e altamente dependentes da OxPhos para a produção energética, não surpreende o fato de que o aumento da capacidade aeróbia induzido pelo EFA ocorra, em grande parte, em função de adaptações mitocondriais (EGAN; ZIERATH, 2013). De fato, o trabalho clássico de John Holloszy (1967)

foi o primeiro a demonstrar que apenas seis semanas de treinamento físico aeróbio era capaz de dobrar o conteúdo mitocondrial muscular e sua capacidade oxidativa em ratos. Apesar desta descoberta ter ocorrido há 50 anos, somente no início da década passada ocorreram avanços significativos no sentido de elucidar os mecanismos moleculares que coordenam essa resposta.

A grande dificuldade até então era compreender como o exercício físico era capaz de orquestrar a transcrição e tradução de genes mitocondriais codificados tanto no genoma mitocondrial como no nuclear, e assim expressar proteínas envolvidas no aumento da densidade, volume e número de mitocôndrias, em um processo chamado de biogênese mitocondrial. Inicialmente, foram identificados fatores de transcrição responsáveis pela expressão de genes nucleares que codificam diversas proteínas da cadeia respiratória mitocondrial, como os fatores respiratórios nuclear 1 e 2 (Nrf1 e Nrf2) (EVANS; SCARPULLA, 1990; VIRBASIS et al., 1993). Em seguida, foi descoberto um cofator de transcrição chamado de *peroxisome proliferator-activated receptor* (PPAR) γ *coactivator-1 α* (PGC-1 α), que se demonstrou um regulador chave da atividade de diversos fatores de transcrição nuclear como Nrf1 e Nrf2, e também do fator de transcrição mitocondrial A (Tfam), responsável pela transcrição e a replicação do mtDNA (PUIGSERVER et al., 1998; SCARPULLA, 2002). Logo após sua descoberta, diversos estudos demonstraram que uma única sessão de exercícios físicos é capaz de aumentar rapidamente a atividade e a expressão de PGC-1 α (BAAR et al., 2002; PILEGAARD et al., 2003). Dessa maneira, se demonstrou que essa molécula possui um papel fundamental na ativação dos genes nucleares e mitocondriais necessários para a biogênese mitocondrial induzida por estímulos fisiológicos, como o EFA (ARANY, 2008). Além de seu papel na biogênese mitocondrial, a coativação mediada por PGC-1 α dos receptores nucleares da família PPAR, receptores relacionados ao estrogênio (ERR) e dos fatores de transcrição da família *myocyte enhancer factor-2* (MEF2) também promove aumento da expressão de genes relacionados ao metabolismo e transporte de ácidos graxos, metabolismo de glicose, reprogramação do tipo de fibras musculares, angiogênese e defesa antioxidante (ARANY, 2008).

Mais recentemente, foi descoberto que o gene da PGC-1 α (*Ppargc1a*) expressa quatro isoformas diferentes desta proteína no músculo esquelético pela ativação de diferentes promotores e por *splicing* alternativo (RUAS et al., 2012). A partir de então a isoforma clássica passou a ser denominada como isoforma 1 (PGC-1 α 1), ao passo que foi demonstrado que a isoforma 4 (PGC-1 α 4) induz um programa transcricional distinto da isoforma clássica e relacionado à hipertrofia muscular (RUAS et al., 2012; MARTINEZ-REDONDO et al., 2015).

No entanto, é interessante destacar que animais com deleção de PGC-1 α no músculo esquelético (MKO-PGC-1 α) ainda apresentam remodelamento mitocondrial importante após período de treinamento físico aeróbio (GENG et al., 2010; ROWE et al., 2012), o que corrobora para existência de outros fatores ainda desconhecidos que possam influenciar na adaptação mitocondrial induzida pelo EFA.

Ainda que a biogênese mitocondrial seja apontada como um evento crítico para a sua adaptação, a função das mitocôndrias também depende do rápido e contínuo remodelamento da rede tubular que estas organelas formam nos músculos (YAN et al., 2012). Realmente, as mitocôndrias são organelas dinâmicas, capazes de se movimentar na célula e de realizar fusão e fissão de acordo com mudanças no contexto celular (YOULE; VAN DER BLIEK, 2012). A fusão mitocondrial é caracterizada pela união das membranas externas e internas de duas ou mais mitocôndrias, enquanto na fissão, uma mitocôndria dá origem a duas novas organelas. Os processos de fusão e fissão permitem a manutenção de uma rede interconectada de mitocôndrias íntegras e funcionais por meio do compartilhamento de proteínas, substratos e mtDNA e da segregação de regiões danificadas e disfuncionais (YOULE; VAN DER BLIEK, 2012).

Embora incipientes, estudos demonstram que o exercício físico é capaz de regular tanto a fissão como a fusão mitocondrial no músculo esquelético (CARTONI et al., 2005; GARNIER et al., 2005; DING et al., 2010). De fato, Garnier et al. (2005) observaram uma correlação positiva da respiração mitocondrial máxima com os níveis de mRNA de Mitofusina 2 (Mfn2 envolvida na fusão mitocondrial) e Drp1 (envolvida na fissão mitocondrial), e ainda demonstraram que essa resposta é dependente da capacidade física do indivíduo, sugerindo que a dinâmica mitocondrial está associada ao aumento da capacidade oxidativa induzido pelo exercício físico. Ding et al. (2010) submeteram ratos a uma única sessão de EFA e avaliaram parâmetros de fusão, fissão e função mitocondrial na musculatura esquelética durante e após a sessão de exercício físico. Durante a realização do EFA, os pesquisadores observaram redução da expressão proteica de Mfn1 (envolvida na fusão mitocondrial) e aumento de Fis1 (relacionada à fissão mitocondrial), sendo que a magnitude dessa resposta dependeu da duração do EFA. Tais respostas foram acompanhadas de diminuição do controle respiratório e aumento da produção de ERO mitocondrial. É interessante observar que a produção de ERO diminuiu logo após o aumento da expressão proteica de Fis1, o que sugere um papel da fissão mitocondrial no controle da produção de ERO mitocondrial. A expressão proteica de Mfn1 se manteve reduzida, enquanto a de Fis1 aumentada mesmo após 24h de recuperação da sessão de EFA, apesar dos níveis de mRNA de Mfn1 e Mfn2 (também envolvida na fusão mitocondrial) estarem elevados nesse mesmo momento, sugerindo uma resposta compensatória. O aumento

compensatório da expressão gênica de mitofusinas após EFA também foi observado em humanos por Cartoni et al. (2005), que sugeriram um importante papel da fusão mitocondrial na adaptação metabólica ao exercício físico, podendo auxiliar na redução da resistência à insulina. Os mecanismos celulares pelos quais o exercício físico induz alterações na dinâmica mitocondrial ainda não estão esclarecidos.

A proteína AMPK (5' *adenosine monophosphate-activated protein kinase*) é conhecida como sensor energético da célula por ser ativada pelo aumento da razão AMP:ATP em decorrência de redução da ingesta calórica ou aumento do dispêndio energético e apresenta importante atividade reguladora da dinâmica mitocondrial (LONG; ZIERATH, 2006; ROMANELLO et al., 2010). O EFA é reconhecido como um potente indutor de AMPK (MU et al., 2001; EGAN; ZIERATH, 2013), o que pode explicar como o exercício aumenta a dinâmica mitocondrial. Porém, essa relação direta nunca foi demonstrada.

O balanço redox, ou homeostase redox, depende do equilíbrio entre a produção e a remoção de ERO. As mitocôndrias são as maiores fontes de produção de ERO celular, devido ao escape de elétrons em complexos da cadeia respiratória durante o processo de OxPhos (NUNNARI; SUOMALAINEN, 2012). Quando produzidas em excesso, as ERO podem causar danos irreversíveis em diversos componentes celulares, reduzindo sua função, o que pode levar à apoptose celular caso estes componentes não sejam removidos (NUNNARI; SUOMALAINEN, 2012). Inclusive, o excesso intracelular de ERO pode danificar a própria estrutura mitocondrial, causando diminuição do potencial de membrana e acelerando ainda mais a produção de ERO mitocondrial, em um ciclo vicioso relacionado a diversos quadros patológicos (NUNNARI; SUOMALAINEN, 2012; ANDREUX et al., 2013). Num paradoxo, durante o exercício físico a produção mitocondrial de ERO aumenta consideravelmente (POWERS; JACKSON, 2008). Contudo, o exercício físico é capaz de estimular defesas antioxidantes para tamponar esse excesso de ERO (POWERS; JACKSON, 2008). Além disso, as próprias ERO são consideradas hoje importantes sinalizadores celulares, atuando na modificação pós-traducional de proteínas específicas via oxidação, auxiliando assim na ativação de vias moleculares necessárias para a adaptação muscular (POWERS et al., 2010).

Assim, tem sido sugerido que o excesso de ERO produzido pelo exercício físico pode induzir fissão mitocondrial, necessária para segregar regiões danificadas da organela e manter uma população mitocondrial funcional (YOULE; VAN DER BLIEK, 2012). De fato, um estudo interessante em cultura de células (TWIG et al., 2008) observou que, mesmo em condições basais, a fissão mitocondrial dá origem a duas mitocôndrias distintas, uma com potencial de membrana, função respiratória e capacidade de fusão normais, e outra despolarizada,

disfuncional, incompetente para fusão e com uma grande quantidade de proteínas de membrana oxidadas. Os autores demonstraram ainda que esta última é destruída e tem seus componentes reciclados por um processo chamado de autofagia mitocondrial, ou mitofagia.

A macroautofagia, ou simplesmente autofagia, é um processo celular conservado evolutivamente que envolve o transporte de organelas e macromoléculas para degradação nos lisossomos, formando o chamado sistema proteolítico lisossomal-autofágico (CHOI et al., 2013). A autofagia pode ocorrer de duas formas: 1) não-seletiva, como a induzida por privação de nutrientes, degradando diversos componentes celulares para serem utilizados como substratos energéticos; e 2) seletiva, induzida por sinais moleculares específicos, com finalidade de remover proteínas agregadas/mal enoveladas e promover o *turnover* de organelas danificadas e/ou envelhecidas, como mitocôndrias, porções do retículo endoplasmático e complexo de Golgi (CHOI et al., 2013). Para isso, uma dupla membrana lipídica (fagóforo) se alonga e envolve componentes citoplasmáticos formando uma vesícula denominada de autofagossomo, que se funde a um lisossomo e libera seus constituintes para serem degradados pelas hidrolases lisossomais (CHOI et al., 2013). Esse processo requer a ação dos chamados genes relacionados à autofagia (*autophagy-related genes*, Atgs) que codificam proteínas chave para diversas etapas da autofagia, entre elas ULK1/Atg1, Atg5, Beclin1/Atg6, Atg7 e Atg8 (CHOI et al., 2013). A proteína ortóloga de Atg8 em mamíferos, LC3 (e também alguns de seus homólogos), é muito utilizada como marcadora de autofagia, por ser a única proteína conhecida que se mantém ligada ao autofagossomo mesmo após sua completa formação (KLIONSKY et al., 2016). Além disso, diversos estudos demonstram que LC3 interage com outras proteínas envolvidas especificamente na seleção dos alvos a serem englobados pelo autofagossomo (NOVAK et al., 2010; JOHANSEN; LAMARK, 2011).

A remoção seletiva de mitocôndrias via autofagia, a mitofagia, representa um evento crítico na manutenção de uma população mitocondrial funcional (YOULE; NARENDRA, 2011). Além disso, estudos recentes têm apontado uma importante relação entre o processo mitofágico e controle da massa e função muscular (MASIERO et al., 2009; ROMANELLO et al., 2010; LOKIREDDY et al., 2012). Muito do conhecimento existente sobre os mecanismos celulares envolvidos na mitofagia provém do campo da neurociência, o qual relacionou o mau funcionamento desse processo a desordens neurais, como Parkinson e Alzheimer (YOULE; NARENDRA, 2011). Atualmente, se sabe que o processo mitofágico é controlado pela ação de proteínas como Bnip3, Pink1 e Parkin, responsáveis por reconhecer as mitocôndrias danificadas e/ou envelhecidas e gerar sinais para recrutar a maquinaria autofágica necessária para a mitofagia (YOULE; NARENDRA, 2011).

Bnip3 é um membro da família Bcl-2, que migra para a membrana externa de mitocôndrias que estejam produzindo ERO em excesso e rompe o seu potencial de membrana. Essa proteína possui um domínio conservado evolutivamente que é responsável pela interação com LC3, chamado de LIR (Região de interação com LC3) (BIRGISDOTTIR et al., 2013). Portanto, após ligação com a membrana externa mitocondrial, Bnip3 interage com LC3 encaminhando a organela para mitofagia (NOVAK et al., 2010; THOMAS et al., 2011).

Pink1 (*PTEN-induced kinase 1*), é uma proteína quinase que se acumula na membrana externa de mitocôndrias despolarizadas, mas é rapidamente degradada em mitocôndrias saudáveis (NARENDRA et al., 2010). O acúmulo de Pink1 facilita a translocação da ubiquitina-ligase Parkin para a membrana mitocondrial (SHIBA-FUKUSHIMA et al., 2012). Após fosforilação de Parkin por Pink1, a primeira é ativada e catalisa a ubiquitinação de proteínas mitocondriais como Mfn1, Mfn2 e diversas outras ainda desconhecidas (CHEN; DORN, 2013). A ubiquitinação e subsequente degradação de Mfn1 e Mfn2 via proteossoma ou autofagia, atua no sentido de prevenir a fusão desta mitocôndria danificada com outras saudáveis (YOULE; NARENDRA, 2011). Ainda, a ubiquitinação das mitofusinas e de diversas outras proteínas mitocondriais serve de sinal para recrutar proteínas como p62, molécula adaptadora que possui um motivo de associação à ubiquitina e um motivo LIR (JOHANSEN; LAMARK, 2011). Dessa maneira, p62 interage com proteínas mitocondriais marcadas com ubiquitina e com LC3, promovendo a mitofagia (KIRKIN et al., 2009).

A dinâmica mitocondrial exerce influência direta sobre a mitofagia, uma vez que fissão mitocondrial é necessária para isolar regiões danificadas de mitocôndrias, potencializando os sinais para mitofagia presentes na mitocôndria (YOULE; NARENDRA, 2011). De fato, Romanello et al. (2010) demonstraram que a superexpressão de Bnip3 no músculo esquelético é capaz de dissipar o potencial de membrana mitocondrial, aumentar a autofagia e levar à atrofia muscular, e que o concomitante bloqueio da fissão mitocondrial é suficiente para impedir todos esses processos. A atividade da AMPK também está relacionada à indução de autofagia e mitofagia, uma vez que inibe a quinase mTOR (potente inibidor da autofagia), ativa de ULK1 e o fator de transcrição FoxO3a (regula expressão de LC3 e Bnip3) (ROMANELLO et al., 2010; EGAN et al., 2011; SANCHEZ et al., 2012).

Embora a maioria dos estudos em autofagia muscular tenham sido conduzidos em quadros patológicos, como câncer (PENNA et al., 2013), sepse (MOFARRAHI et al., 2012) e insuficiência cardíaca (JANNIG et al., 2014), Grumati et al. (2011) apresentaram indícios de uma ativação muscular transiente dessa via em situações fisiológicas como, por exemplo, após uma única sessão de EFA em camundongos saudáveis. Tal fato foi confirmado por He et al.

(2012), que demonstraram um significativo aumento da autofagia durante o exercício físico, tanto no músculo esquelético como cardíaco. Esses autores desenvolveram um modelo animal (BCL2-AAA) que mantém a atividade autofágica basal, porém é incapaz de aumentá-la frente a estímulos como jejum ou exercício físico. Assim, descobriram que quando exercitados, esses animais apresentam menor captação de glicose pelos músculos, ativação reduzida de AMPK e menor capacidade de corrida. Ainda, após tratarem esses animais com dieta hiperlipídica e os submeterem a oito semanas de treinamento físico aeróbio, não puderam observar a clássica redução da resistência à insulina proporcionada pelo EFA. De fato, Lira et al. (2013) demonstraram que a autofagia é necessária para as adaptações musculares e mitocondriais induzidas pelo treinamento físico aeróbio. Por fim, LoVerso et al. (LOVERSO et al., 2014) demonstraram que a autofagia é um processo crítico para a manutenção da função mitocondrial durante o EFA. Apesar dos indícios de que mecanismos reconhecidamente envolvidos na mitofagia (i.e., p62, Bnip3 e Parkin) estejam alterados durante o EFA, provavelmente ainda existem novas vias moleculares a serem descobertas.

Visto a importância da manutenção/melhora da capacidade oxidativa para o tratamento/prevenção de doenças crônicas, propusemos um estudo exploratório para buscar por novos mecanismos relacionados à adaptação mitocondrial induzida pelo EFA.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Explorar novos mecanismos envolvidos na adaptação mitocondrial induzida pelo exercício físico aeróbio (EFA).

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o proteoma mitocondrial na musculatura esquelética de camundongos submetidos a uma sessão de EFA;
- Identificar novos alvos potencialmente envolvidos na mitofagia induzida pelo EFA na musculatura esquelética;
- Investigar reguladores de transcrição gênica potencialmente envolvidos na adaptação mitocondrial induzida pelo EFA na musculatura esquelética.

Figura 1 – Esquema ilustrativo dos objetivos da tese.

4 CONCLUSÃO

Até onde temos conhecimento, esse foi o primeiro estudo a realizar análise proteômica da fração mitocondrial muscular após uma sessão de EFA. Demonstramos que essa abordagem exploratória é uma interessante estratégia para a descoberta de novos alvos envolvidos na modulação aguda e/ou crônica da função mitocondrial, auxiliando assim na caracterização dos mecanismos moleculares envolvidos nos benefícios à saúde induzidos pelo EFA.

Num primeiro estudo, utilizamos os resultados de proteômica para procurar por proteínas envolvidas na ativação da mitofagia durante o EFA. A partir desse estudo, propomos que as proteínas Phb2 e Mief2 podem acumular em mitocôndrias danificadas durante o EFA e colaborar para o recrutamento de LC3 e da maquinaria autofágica para a organela, auxiliando no controle de qualidade e adaptação mitocondrial induzidos pelo EFA.

Em segundo estudo, tivemos como objetivo identificar nos resultados de proteômica, possíveis reguladores de transcrição gênica envolvidos na adaptação mitocondrial induzida pelo EFA. Dessa maneira, identificamos que a proteína Spryd4, cuja função não havia sido estudada até então, parece aumentar na fração mitocondrial muscular durante o EFA, onde pode exercer importante papel na função mitocondrial e no metabolismo de substratos energéticos.

Assim, concluímos que os alvos aqui identificados podem dar início a novas linhas de pesquisa que irão auxiliar na compreensão de novos mecanismos relacionados ao aumento da capacidade oxidativa induzida pelo EFA. Isso ampliará o conhecimento das bases celulares e moleculares da fisiologia do exercício, dando suporte científico para a recomendação da prática regular de exercício físicos para a saúde. Por além disso, novos mecanismos, quando desvendados, podem auxiliar no desenvolvimento de intervenções farmacológicas, com o intuito de mimetizar e/ou maximizar alguns dos efeitos benéficos do EFA, principalmente em doenças crônicas degenerativas onde a prática de EFA é proscrita ou ainda não pode ser recomendada.

REFERÊNCIAS

- AKIEL, M. et al. Emerging role of insulin-like growth factor-binding protein 7 in hepatocellular carcinoma. **J Hepatocell Carcinoma**, v. 1, p. 9-19, 2014.
- ANDREUX, P. A.; HOUTKOOPER, R. H.; AUWERX, J. Pharmacological approaches to restore mitochondrial function. **Nat Rev Drug Discov**, v. 12, n. 6, p. 465-83, 2013.
- ANDREUX, P. A. et al. Systems genetics of metabolism: the use of the BXD murine reference panel for multiscalar integration of traits. **Cell**, v. 150, n. 6, p. 1287-99, 2012.
- ARANY, Z. PGC-1 coactivators and skeletal muscle adaptations in health and disease. **Curr Opin Genet Dev**, v. 18, n. 5, p. 426-34, 2008.
- BAAR, K. et al. Adaptations of skeletal muscle to exercise: rapid increase in the transcriptional coactivator PGC-1. **FASEB J**, v. 16, n. 14, p. 1879-86, 2002.
- BASSEL-DUBY, R.; OLSON, E. N. Signaling pathways in skeletal muscle remodeling. **Annu Rev Biochem**, v. 75, p. 19-37, 2006.
- BECHET, D. et al. Lysosomal proteolysis in skeletal muscle. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 37, n. 10, p. 2098-114, 2005.
- BHUJABAL, Z. et al. FKBP8 recruits LC3A to mediate Parkin-independent mitophagy. **EMBO Rep**, v. 18, n. 6, p. 947-961, 2017.
- BI, P. et al. Control of muscle formation by the fusogenic micropeptide myomixer. **Science**, v. 356, n. 6335, p. 323-327, 2017.
- BICKEL, C. S. et al. Time course of molecular responses of human skeletal muscle to acute bouts of resistance exercise. **J Appl Physiol (1985)**, v. 98, n. 2, p. 482-8, 2005.
- BIRGISDOTTIR, A. B.; LAMARK, T.; JOHANSEN, T. The LIR motif - crucial for selective autophagy. **J Cell Sci**, v. 126, n. Pt 15, p. 3237-47, 2013.
- BOOTH, F. W. et al. Endurance Exercise and the Regulation of Skeletal Muscle Metabolism. **Prog Mol Biol Transl Sci**, v. 135, p. 129-51, 2015.
- BORISOV, A. B. et al. Essential role of obscurin in cardiac myofibrillogenesis and hypertrophic response: evidence from small interfering RNA-mediated gene silencing. **Histochem Cell Biol**, v. 125, n. 3, p. 227-38, 2006.
- BOSTROM, P. et al. A PGC1-alpha-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. **Nature**, v. 481, n. 7382, p. 463-8, 2012.
- BOSTROM, S. et al. Activities of rat muscle enzymes after acute exercise. **Acta Physiol Scand**, v. 90, n. 3, p. 544-54, 1974.

BRAUN, T.; ARNOLD, H. H. Inactivation of Myf-6 and Myf-5 genes in mice leads to alterations in skeletal muscle development. **EMBO J**, v. 14, n. 6, p. 1176-86, 1995.

CALVO, S. E.; CLAUSER, K. R.; MOOTHA, V. K. MitoCarta2.0: an updated inventory of mammalian mitochondrial proteins. **Nucleic Acids Res**, v. 44, n. D1, p. D1251-7, 2016.

CANNON, B.; NEDERGAARD, J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. **Physiol Rev**, v. 84, n. 1, p. 277-359, 2004.

CARTONI, R. et al. Mitofusins 1/2 and ERRalpha expression are increased in human skeletal muscle after physical exercise. **J Physiol**, v. 567, n. Pt 1, p. 349-58, 2005.

CATOIRE, M. et al. Identification of human exercise-induced myokines using secretome analysis. **Physiol Genomics**, v. 46, n. 7, p. 256-67, 2014.

CERVENKA, I.; AGUDELO, L. Z.; RUAS, J. L. Kynurenines: Tryptophan's metabolites in exercise, inflammation, and mental health. **Science**, v. 357, n. 6349, 2017.

CHEN, Y.; DORN, G. W., 2ND. PINK1-phosphorylated mitofusin 2 is a Parkin receptor for culling damaged mitochondria. **Science**, v. 340, n. 6131, p. 471-5, 2013.

CHENG, D. et al. Expression, purification, and characterization of human and rat acetyl coenzyme A carboxylase (ACC) isozymes. **Protein Expr Purif**, v. 51, n. 1, p. 11-21, 2007.

CHIN, E. R. et al. A calcineurin-dependent transcriptional pathway controls skeletal muscle fiber type. **Genes Dev**, v. 12, n. 16, p. 2499-509, 1998.

CHOI, A. M.; RYTER, S. W.; LEVINE, B. Autophagy in human health and disease. **N Engl J Med**, v. 368, n. 7, p. 651-62, 2013.

COATES, P. J. et al. The prohibitin family of mitochondrial proteins regulate replicative lifespan. **Curr Biol**, v. 7, n. 8, p. 607-10, 1997.

CORDAIN, L. et al. Origins and evolution of the Western diet: health implications for the 21st century. **Am J Clin Nutr**, v. 81, n. 2, p. 341-54, 2005.

CORDAIN, L. et al. Physical activity, energy expenditure and fitness: an evolutionary perspective. **Int J Sports Med**, v. 19, n. 5, p. 328-35, 1998.

CORDAIN, L. et al. Plant-animal subsistence ratios and macronutrient energy estimations in worldwide hunter-gatherer diets. **Am J Clin Nutr**, v. 71, n. 3, p. 682-92, 2000.

COX, J. et al. Accurate proteome-wide label-free quantification by delayed normalization and maximal peptide ratio extraction, termed MaxLFQ. **Mol Cell Proteomics**, v. 13, n. 9, p. 2513-26, 2014.

COX, J.; MANN, M. MaxQuant enables high peptide identification rates, individualized p.p.b.-range mass accuracies and proteome-wide protein quantification. **Nat Biotechnol**, v. 26, n. 12, p. 1367-72, 2008.

D'CRUZ, A. A. et al. Structure and function of the SPRY/B30.2 domain proteins involved in innate immunity. **Protein Sci**, v. 22, n. 1, p. 1-10, 2013.

DEVEAUD, C. et al. Regional differences in oxidative capacity of rat white adipose tissue are linked to the mitochondrial content of mature adipocytes. **Mol Cell Biochem**, v. 267, n. 1-2, p. 157-66, 2004.

DIMAURO, I. et al. A simple protocol for the subcellular fractionation of skeletal muscle cells and tissue. **BMC Res Notes**, v. 5, p. 513, 2012.

DING, H. et al. Response of mitochondrial fusion and fission protein gene expression to exercise in rat skeletal muscle. **Biochim Biophys Acta**, v. 1800, n. 3, p. 250-6, 2010.

DOHM, G. L.; TAPSCOTT, E. B.; KASPEREK, G. J. Protein degradation during endurance exercise and recovery. **Med Sci Sports Exerc**, v. 19, n. 5 Suppl, p. S166-71, 1987.

DOSZTANYI, Z.; MESZAROS, B.; SIMON, I. ANCHOR: web server for predicting protein binding regions in disordered proteins. **Bioinformatics**, v. 25, n. 20, p. 2745-6, 2009.

EGAN, B.; ZIERATH, J. R. Exercise metabolism and the molecular regulation of skeletal muscle adaptation. **Cell Metab**, v. 17, n. 2, p. 162-84, 2013.

EGAN, D. F. et al. Phosphorylation of ULK1 (hATG1) by AMP-activated protein kinase connects energy sensing to mitophagy. **Science**, v. 331, n. 6016, p. 456-61, 2011.

EKELUND, U. et al. Physical activity and all-cause mortality across levels of overall and abdominal adiposity in European men and women: the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Study (EPIC). **Am J Clin Nutr**, v. 101, n. 3, p. 613-21, 2015.

ENGELI, S. et al. Natriuretic peptides enhance the oxidative capacity of human skeletal muscle. **J Clin Invest**, v. 122, n. 12, p. 4675-9, 2012.

EVANS, M. J.; SCARPULLA, R. C. NRF-1: a trans-activator of nuclear-encoded respiratory genes in animal cells. **Genes Dev**, v. 4, n. 6, p. 1023-34, 1990.

FENG, Y.; YAO, Z.; KLIONSKY, D. J. How to control self-digestion: transcriptional, post-transcriptional, and post-translational regulation of autophagy. **Trends Cell Biol**, v. 25, n. 6, p. 354-63, 2015.

FERREIRA, J. C. et al. Maximal lactate steady state in running mice: effect of exercise training. **Clin Exp Pharmacol Physiol**, v. 34, n. 8, p. 760-5, 2007.

FITZSIMONS, D. P. et al. Effects of endurance exercise on isomyosin patterns in fast- and slow-twitch skeletal muscles. **J Appl Physiol (1985)**, v. 68, n. 5, p. 1950-5, 1990.

FIUZA-LUCES, C. et al. Exercise is the real polypill. **Physiology (Bethesda)**, v. 28, n. 5, p. 330-58, 2013.

FRITZEN, A. M. et al. Regulation of autophagy in human skeletal muscle: effects of exercise, exercise training and insulin stimulation. **J Physiol**, v. 594, n. 3, p. 745-61, 2016.

- GAITANOS, G. C. et al. Human muscle metabolism during intermittent maximal exercise. **J Appl Physiol (1985)**, v. 75, n. 2, p. 712-9, 1993.
- GARNIER, A. et al. Coordinated changes in mitochondrial function and biogenesis in healthy and diseased human skeletal muscle. **FASEB J**, v. 19, n. 1, p. 43-52, 2005.
- GBD OBESITY et al. Health Effects of Overweight and Obesity in 195 Countries over 25 Years. **N Engl J Med**, v. 377, n. 1, p. 13-27, 2017.
- GENG, T. et al. PGC-1alpha plays a functional role in exercise-induced mitochondrial biogenesis and angiogenesis but not fiber-type transformation in mouse skeletal muscle. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 298, n. 3, p. C572-9, 2010.
- GHISLAT, G. et al. Withdrawal of essential amino acids increases autophagy by a pathway involving Ca²⁺/calmodulin-dependent kinase kinase-beta (CaMKK-beta). **J Biol Chem**, v. 287, n. 46, p. 38625-36, 2012.
- GIBERTINI, S. et al. Fibrosis and inflammation are greater in muscles of beta-sarcoglycan-null mouse than mdx mouse. **Cell Tissue Res**, v. 356, n. 2, p. 427-43, 2014.
- GLASS, D. J. PI3 kinase regulation of skeletal muscle hypertrophy and atrophy. **Curr Top Microbiol Immunol**, v. 346, p. 267-78, 2010.
- GOODMAN, C. A. et al. Smad3 induces atrogen-1, inhibits mTOR and protein synthesis, and promotes muscle atrophy in vivo. **Mol Endocrinol**, v. 27, n. 11, p. 1946-57, 2013.
- GOODPASTER, B. H.; SPARKS, L. M. Metabolic Flexibility in Health and Disease. **Cell Metab**, v. 25, n. 5, p. 1027-1036, 2017.
- GORDON, J. W. et al. Effects of contractile activity on mitochondrial transcription factor A expression in skeletal muscle. **J Appl Physiol (1985)**, v. 90, n. 1, p. 389-96, 2001.
- GREEN, H. J. et al. Metabolic adaptations to training precede changes in muscle mitochondrial capacity. **J Appl Physiol (1985)**, v. 72, n. 2, p. 484-91, 1992.
- GRUMATI, P. et al. Physical exercise stimulates autophagy in normal skeletal muscles but is detrimental for collagen VI-deficient muscles. **Autophagy**, v. 7, n. 12, p. 1415-23, 2011.
- GUPTA, R. K. et al. Transcriptional control of preadipocyte determination by Zfp423. **Nature**, v. 464, n. 7288, p. 619-23, 2010.
- HALLAL, P. C. et al. Global physical activity levels: surveillance progress, pitfalls, and prospects. **Lancet**, v. 380, n. 9838, p. 247-57, 2012.
- HALLING, J. F. et al. PGC-1alpha promotes exercise-induced autophagy in mouse skeletal muscle. **Physiol Rep**, v. 4, n. 3, 2016.
- HAWLEY, J. A. et al. Integrative biology of exercise. **Cell**, v. 159, n. 4, p. 738-49, 2014.

HE, C. et al. Exercise-induced BCL2-regulated autophagy is required for muscle glucose homeostasis. **Nature**, v. 481, n. 7382, p. 511-5, 2012.

HEINONEN, I. et al. Organ-specific physiological responses to acute physical exercise and long-term training in humans. **Physiology (Bethesda)**, v. 29, n. 6, p. 421-36, 2014.

HOLLOSZY, J. O. Biochemical adaptations in muscle. Effects of exercise on mitochondrial oxygen uptake and respiratory enzyme activity in skeletal muscle. **J Biol Chem**, v. 242, n. 9, p. 2278-82, 1967.

HOOD, D. A. Invited Review: contractile activity-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. **J Appl Physiol (1985)**, v. 90, n. 3, p. 1137-57, 2001.

HOOD, D. A. et al. Unravelling the mechanisms regulating muscle mitochondrial biogenesis. **Biochem J**, v. 473, n. 15, p. 2295-314, 2016.

HUANG DA, W.; SHERMAN, B. T.; LEMPICKI, R. A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources. **Nat Protoc**, v. 4, n. 1, p. 44-57, 2009.

HUFFMAN, K. M. et al. Metabolite signatures of exercise training in human skeletal muscle relate to mitochondrial remodelling and cardiometabolic fitness. **Diabetologia**, v. 57, n. 11, p. 2282-95, 2014.

JAHREISS, L.; MENZIES, F. M.; RUBINSZTEIN, D. C. The itinerary of autophagosomes: from peripheral formation to kiss-and-run fusion with lysosomes. **Traffic**, v. 9, n. 4, p. 574-87, 2008.

JAMART, C. et al. Autophagy-related and autophagy-regulatory genes are induced in human muscle after ultraendurance exercise. **Eur J Appl Physiol**, v. 112, n. 8, p. 3173-7, 2012a.

JAMART, C. et al. Modulation of autophagy and ubiquitin-proteasome pathways during ultra-endurance running. **J Appl Physiol (1985)**, v. 112, n. 9, p. 1529-37, 2012b.

JAMART, C. et al. Higher activation of autophagy in skeletal muscle of mice during endurance exercise in the fasted state. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 305, n. 8, p. E964-74, 2013.

JANNIG, P. R. et al. Autophagy signaling in skeletal muscle of infarcted rats. **PLoS One**, v. 9, n. 1, p. e85820, 2014.

JOHANSEN, T.; LAMARK, T. Selective autophagy mediated by autophagic adapter proteins. **Autophagy**, v. 7, n. 3, p. 279-96, 2011.

JU, J. S. et al. Autophagy plays a role in skeletal muscle mitochondrial biogenesis in an endurance exercise-trained condition. **J Physiol Sci**, v. 66, n. 5, p. 417-30, 2016.

KALVARI, I. et al. iLIR: A web resource for prediction of Atg8-family interacting proteins. **Autophagy**, v. 10, n. 5, p. 913-25, 2014.

- KIM, Y. A.; KIM, Y. S.; SONG, W. Autophagic response to a single bout of moderate exercise in murine skeletal muscle. **J Physiol Biochem**, v. 68, n. 2, p. 229-35, 2012.
- KIRKIN, V. et al. A role for ubiquitin in selective autophagy. **Mol Cell**, v. 34, n. 3, p. 259-69, 2009.
- KLIONSKY, D. J. et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). **Autophagy**, v. 12, n. 1, p. 1-222, 2016.
- KOCH, L. G.; BRITTON, S. L. Artificial selection for intrinsic aerobic endurance running capacity in rats. **Physiol Genomics**, v. 5, n. 1, p. 45-52, 2001.
- KOCH, L. G. et al. Intrinsic aerobic capacity sets a divide for aging and longevity. **Circ Res**, v. 109, n. 10, p. 1162-72, 2011.
- KODAMA, S. et al. Cardiorespiratory fitness as a quantitative predictor of all-cause mortality and cardiovascular events in healthy men and women: a meta-analysis. **JAMA**, v. 301, n. 19, p. 2024-35, 2009.
- KUZNETSOV, A. V. et al. Impaired mitochondrial oxidative phosphorylation in skeletal muscle of the dystrophin-deficient mdx mouse. **Mol Cell Biochem**, v. 183, n. 1-2, p. 87-96, 1998.
- LAMB, G. D.; CELLINI, M. A.; STEPHENSON, D. G. Different Ca²⁺ releasing action of caffeine and depolarisation in skeletal muscle fibres of the rat. **J Physiol**, v. 531, n. Pt 3, p. 715-28, 2001.
- LAMMERS, G. et al. Expression of genes involved in fatty acid transport and insulin signaling is altered by physical inactivity and exercise training in human skeletal muscle. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 303, n. 10, p. E1245-51, 2012.
- LANZA, I. R. et al. Endurance exercise as a countermeasure for aging. **Diabetes**, v. 57, n. 11, p. 2933-42, 2008.
- LAWLER, J. M. et al. Acute exercise and skeletal muscle antioxidant and metabolic enzymes: effects of fiber type and age. **Am J Physiol**, v. 265, n. 6 Pt 2, p. R1344-50, 1993.
- LAZAROU, M. et al. The ubiquitin kinase PINK1 recruits autophagy receptors to induce mitophagy. **Nature**, v. 524, n. 7565, p. 309-314, 2015.
- LEARY, S. C. et al. Interactions between bioenergetics and mitochondrial biogenesis. **Biochim Biophys Acta**, v. 1365, n. 3, p. 522-30, 1998.
- LEE, I. M. et al. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. **Lancet**, v. 380, n. 9838, p. 219-29, 2012.
- LEE, J. E. et al. Multiple dynamin family members collaborate to drive mitochondrial division. **Nature**, v. 540, n. 7631, p. 139-143, 2016.

- LEE, S. J.; MCPHERRON, A. C. Regulation of myostatin activity and muscle growth. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 98, n. 16, p. 9306-11, 2001.
- LENHARE, L. et al. Physical exercise increases Sestrin 2 protein levels and induces autophagy in the skeletal muscle of old mice. **Exp Gerontol**, v. 97, p. 17-21, 2017.
- LIESA, M.; SHIRIHAI, O. S. Mitochondrial dynamics in the regulation of nutrient utilization and energy expenditure. **Cell Metab**, v. 17, n. 4, p. 491-506, 2013.
- LINDHOLM, M. E. et al. An integrative analysis reveals coordinated reprogramming of the epigenome and the transcriptome in human skeletal muscle after training. **Epigenetics**, v. 9, n. 12, p. 1557-69, 2014.
- LINDSKOG, C. et al. The human cardiac and skeletal muscle proteomes defined by transcriptomics and antibody-based profiling. **BMC Genomics**, v. 16, p. 475, 2015.
- LIRA, V. A. et al. Autophagy is required for exercise training-induced skeletal muscle adaptation and improvement of physical performance. **FASEB J**, 2013.
- LIU, T. et al. The mitochondrial elongation factors MIEF1 and MIEF2 exert partially distinct functions in mitochondrial dynamics. **Exp Cell Res**, v. 319, n. 18, p. 2893-904, 2013.
- LIU, X. et al. AMPK binds to Sestrins and mediates the effect of exercise to increase insulin-sensitivity through autophagy. **Metabolism**, v. 64, n. 6, p. 658-65, 2015.
- LOKIREDDY, S. et al. The ubiquitin ligase Mul1 induces mitophagy in skeletal muscle in response to muscle-wasting stimuli. **Cell Metab**, v. 16, n. 5, p. 613-24, 2012.
- LONG, Y. C.; ZIERATH, J. R. AMP-activated protein kinase signaling in metabolic regulation. **J Clin Invest**, v. 116, n. 7, p. 1776-83, 2006.
- LOVERSO, F. et al. Autophagy is not required to sustain exercise and PRKAA1/AMPK activity but is important to prevent mitochondrial damage during physical activity. **Autophagy**, v. 10, n. 11, 2014.
- MAO, K. et al. The scaffold protein Atg11 recruits fission machinery to drive selective mitochondria degradation by autophagy. **Dev Cell**, v. 26, n. 1, p. 9-18, 2013.
- MARTINEZ-REDONDO, V.; PETTERSSON, A. T.; RUAS, J. L. The hitchhiker's guide to PGC-1alpha isoform structure and biological functions. **Diabetologia**, v. 58, n. 9, p. 1969-77, 2015.
- MASIERO, E. et al. Autophagy is required to maintain muscle mass. **Cell Metab**, v. 10, n. 6, p. 507-15, 2009.
- MCGEE, S. L. et al. Exercise-induced histone modifications in human skeletal muscle. **J Physiol**, v. 587, n. Pt 24, p. 5951-8, 2009.
- MCPHERRON, A. C.; LAWLER, A. M.; LEE, S. J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. **Nature**, v. 387, n. 6628, p. 83-90, 1997.

MEGENEY, L. A. et al. bFGF and LIF signaling activates STAT3 in proliferating myoblasts. **Dev Genet**, v. 19, n. 2, p. 139-45, 1996.

MERKWIRTH, C. et al. Prohibitins control cell proliferation and apoptosis by regulating OPA1-dependent cristae morphogenesis in mitochondria. **Genes Dev**, v. 22, n. 4, p. 476-88, 2008.

MILLAY, D. P. et al. Myomaker is a membrane activator of myoblast fusion and muscle formation. **Nature**, v. 499, n. 7458, p. 301-5, 2013.

MIZUSHIMA, N.; YOSHIMORI, T.; LEVINE, B. Methods in mammalian autophagy research. **Cell**, v. 140, n. 3, p. 313-26, 2010.

MOFARRAHI, M. et al. Autophagy and skeletal muscles in sepsis. **Plos One**, v. 7, n. 10, p. e47265, 2012.

MORTENSEN, S. P. et al. Inhibition of nitric oxide and prostaglandins, but not endothelial-derived hyperpolarizing factors, reduces blood flow and aerobic energy turnover in the exercising human leg. **J Physiol**, v. 581, n. Pt 2, p. 853-61, 2007.

MU, J. et al. A role for AMP-activated protein kinase in contraction- and hypoxia-regulated glucose transport in skeletal muscle. **Mol Cell**, v. 7, n. 5, p. 1085-94, 2001.

MURAKAWA, T. et al. Bcl-2-like protein 13 is a mammalian Atg32 homologue that mediates mitophagy and mitochondrial fragmentation. **Nat Commun**, v. 6, p. 7527, 2015.

MURGIA, M. et al. Single Muscle Fiber Proteomics Reveals Fiber-Type-Specific Features of Human Muscle Aging. **Cell Rep**, v. 19, n. 11, p. 2396-2409, 2017.

MURRAY, C. J. et al. Disability-adjusted life years (DALYs) for 291 diseases and injuries in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. **Lancet**, v. 380, n. 9859, p. 2197-223, 2012.

MYERS, J. et al. Exercise capacity and mortality among men referred for exercise testing. **N Engl J Med**, v. 346, n. 11, p. 793-801, 2002.

N'DIAYE, E. N. et al. PLIC proteins or ubiquilins regulate autophagy-dependent cell survival during nutrient starvation. **EMBO Rep**, v. 10, n. 2, p. 173-9, 2009.

NARENDRA, D. P. et al. PINK1 is selectively stabilized on impaired mitochondria to activate Parkin. **PLoS Biol**, v. 8, n. 1, p. e1000298, 2010.

NIJTMANS, L. G. et al. Prohibitins act as a membrane-bound chaperone for the stabilization of mitochondrial proteins. **EMBO J**, v. 19, n. 11, p. 2444-51, 2000.

NOVAK, I. et al. Nix is a selective autophagy receptor for mitochondrial clearance. **EMBO Rep**, v. 11, n. 1, p. 45-51, 2010.

NUNNARI, J.; SUOMALAINEN, A. Mitochondria: in sickness and in health. **Cell**, v. 148, n. 6, p. 1145-59, 2012.

OJUKA, E. O.; GOYARAM, V.; SMITH, J. A. The role of CaMKII in regulating GLUT4 expression in skeletal muscle. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 303, n. 3, p. E322-31, 2012.

OTERA, H. et al. Mff is an essential factor for mitochondrial recruitment of Drp1 during mitochondrial fission in mammalian cells. **J Cell Biol**, v. 191, n. 6, p. 1141-58, 2010.

OWUSU-ANSAH, E.; SONG, W.; PERRIMON, N. Muscle mitohormesis promotes longevity via systemic repression of insulin signaling. **Cell**, v. 155, n. 3, p. 699-712, 2013.

PAGANO, A. F. et al. Autophagy and protein turnover signaling in slow-twitch muscle during exercise. **Med Sci Sports Exerc**, v. 46, n. 7, p. 1314-25, 2014.

PALMER, C. S. et al. Adaptor proteins MiD49 and MiD51 can act independently of Mff and Fis1 in Drp1 recruitment and are specific for mitochondrial fission. **J Biol Chem**, v. 288, n. 38, p. 27584-93, 2013.

PALMER, C. S. et al. MiD49 and MiD51, new components of the mitochondrial fission machinery. **EMBO Rep**, v. 12, n. 6, p. 565-73, 2011.

PAMPLIEGA, O. et al. Functional interaction between autophagy and ciliogenesis. **Nature**, v. 502, n. 7470, p. 194-200, 2013.

PANKIV, S. et al. p62/SQSTM1 binds directly to Atg8/LC3 to facilitate degradation of ubiquitinated protein aggregates by autophagy. **J Biol Chem**, v. 282, n. 33, p. 24131-45, 2007.

PARK, S. H. et al. Phosphorylation-activity relationships of AMPK and acetyl-CoA carboxylase in muscle. **J Appl Physiol (1985)**, v. 92, n. 6, p. 2475-82, 2002.

PARONE, P. A. et al. Preventing mitochondrial fission impairs mitochondrial function and leads to loss of mitochondrial DNA. **PLoS One**, v. 3, n. 9, p. e3257, 2008.

PENNA, F. et al. Autophagic degradation contributes to muscle wasting in cancer cachexia. **Am J Pathol**, v. 182, n. 4, p. 1367-78, 2013.

PERRY, C. G. et al. Repeated transient mRNA bursts precede increases in transcriptional and mitochondrial proteins during training in human skeletal muscle. **J Physiol**, v. 588, n. Pt 23, p. 4795-810, 2010.

PILEGAARD, H. et al. Transcriptional regulation of gene expression in human skeletal muscle during recovery from exercise. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 279, n. 4, p. E806-14, 2000.

PILEGAARD, H.; SALTIN, B.; NEUFER, P. D. Exercise induces transient transcriptional activation of the PGC-1 α gene in human skeletal muscle. **J Physiol**, v. 546, n. Pt 3, p. 851-8, 2003.

- PIRINEN, E. et al. Pharmacological Inhibition of poly(ADP-ribose) polymerases improves fitness and mitochondrial function in skeletal muscle. **Cell Metab**, v. 19, n. 6, p. 1034-41, 2014.
- POWERS, S. K. et al. Reactive oxygen species are signalling molecules for skeletal muscle adaptation. **Exp Physiol**, v. 95, n. 1, p. 1-9, 2010.
- POWERS, S. K.; JACKSON, M. J. Exercise-induced oxidative stress: cellular mechanisms and impact on muscle force production. **Physiol Rev**, v. 88, n. 4, p. 1243-76, 2008.
- PRIOR, B. M.; YANG, H. T.; TERJUNG, R. L. What makes vessels grow with exercise training? **J Appl Physiol (1985)**, v. 97, n. 3, p. 1119-28, 2004.
- PUIGSERVER, P. et al. A cold-inducible coactivator of nuclear receptors linked to adaptive thermogenesis. **Cell**, v. 92, n. 6, p. 829-39, 1998.
- QUIRÓS, P. M.; MOTTIS, A.; AUWERX, J. Mitonuclear communication in homeostasis and stress. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 17, n. 4, p. 213-26, 2016.
- REIS, R. S. et al. Scaling up physical activity interventions worldwide: stepping up to larger and smarter approaches to get people moving. **Lancet**, v. 388, n. 10051, p. 1337-48, 2016.
- REMELS, A. H. et al. Regulation of mitochondrial biogenesis during myogenesis. **Mol Cell Endocrinol**, v. 315, n. 1-2, p. 113-20, 2010.
- ROBERGS, R. A.; GHIASVAND, F.; PARKER, D. Biochemistry of exercise-induced metabolic acidosis. **Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol**, v. 287, n. 3, p. R502-16, 2004.
- ROMANELLO, V. et al. Mitochondrial fission and remodelling contributes to muscle atrophy. **EMBO J**, v. 29, n. 10, p. 1774-85, 2010.
- ROMANELLO, V.; SANDRI, M. Mitochondrial Quality Control and Muscle Mass Maintenance. **Front Physiol**, v. 6, p. 422, 2015.
- ROSE, A. J.; KIENS, B.; RICHTER, E. A. Ca²⁺-calmodulin-dependent protein kinase expression and signalling in skeletal muscle during exercise. **J Physiol**, v. 574, n. Pt 3, p. 889-903, 2006.
- ROWE, G. C. et al. PGC-1alpha is dispensable for exercise-induced mitochondrial biogenesis in skeletal muscle. **PLoS One**, v. 7, n. 7, p. e41817, 2012.
- RUAS, J. L. et al. A PGC-1alpha isoform induced by resistance training regulates skeletal muscle hypertrophy. **Cell**, v. 151, n. 6, p. 1319-31, 2012.
- RUIZ, J. R. et al. Association between muscular strength and mortality in men: prospective cohort study. **BMJ**, v. 337, p. a439, 2008.

SAFDAR, A. et al. Exercise increases mitochondrial PGC-1alpha content and promotes nuclear-mitochondrial cross-talk to coordinate mitochondrial biogenesis. **J Biol Chem**, v. 286, n. 12, p. 10605-17, 2011.

SAKO, H.; YADA, K.; SUZUKI, K. Genome-Wide Analysis of Acute Endurance Exercise-Induced Translational Regulation in Mouse Skeletal Muscle. **PLoS One**, v. 11, n. 2, p. e0148311, 2016.

SALEEM, A.; CARTER, H. N.; HOOD, D. A. p53 is necessary for the adaptive changes in cellular milieu subsequent to an acute bout of endurance exercise. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 306, n. 3, p. C241-9, 2014.

SALTIN, B. et al. Fiber types and metabolic potentials of skeletal muscles in sedentary man and endurance runners. **Ann N Y Acad Sci**, v. 301, p. 3-29, 1977.

SANCHEZ, A. M. et al. AMPK promotes skeletal muscle autophagy through activation of forkhead FoxO3a and interaction with Ulk1. **J Cell Biochem**, v. 113, n. 2, p. 695-710, 2012.

SARTORI, R. et al. Smad2 and 3 transcription factors control muscle mass in adulthood. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 296, n. 6, p. C1248-57, 2009.

SCARPULLA, R. C. Transcriptional activators and coactivators in the nuclear control of mitochondrial function in mammalian cells. **Gene**, v. 286, n. 1, p. 81-9, 2002.

SCHWALM, C.; DELDICQUE, L.; FRANCAUX, M. Lack of Activation of Mitophagy during Endurance Exercise in Human. **Med Sci Sports Exerc**, v. 49, n. 8, p. 1552-1561, 2017.

SCHWALM, C. et al. Activation of autophagy in human skeletal muscle is dependent on exercise intensity and AMPK activation. **FASEB J**, v. 29, n. 8, p. 3515-26, 2015.

SHRIDHAR, S. et al. Ubiquitination and selective autophagy. **Cell Death Differ**, v. 20, n. 1, p. 21-30, 2013.

SHEN, Q. et al. Mutations in Fis1 disrupt orderly disposal of defective mitochondria. **Mol Biol Cell**, v. 25, n. 1, p. 145-59, 2014.

SHIBA-FUKUSHIMA, K. et al. PINK1-mediated phosphorylation of the Parkin ubiquitin-like domain primes mitochondrial translocation of Parkin and regulates mitophagy. **Sci Rep**, v. 2, p. 1002, 2012.

SMILES, W. J. et al. Acute low-intensity cycling with blood-flow restriction has no effect on metabolic signaling in human skeletal muscle compared to traditional exercise. **Eur J Appl Physiol**, v. 117, n. 2, p. 345-358, 2017.

STEENSBURG, A. et al. IL-6 and TNF-alpha expression in, and release from, contracting human skeletal muscle. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 283, n. 6, p. E1272-8, 2002.

STERKY, F. H. et al. Impaired mitochondrial transport and Parkin-independent degeneration of respiratory chain-deficient dopamine neurons in vivo. **Proc Natl Acad Sci U S A**, v. 108, n. 31, p. 12937-42, 2011.

TALANIAN, J. L. et al. Exercise training increases sarcolemmal and mitochondrial fatty acid transport proteins in human skeletal muscle. **Am J Physiol Endocrinol Metab**, v. 299, n. 2, p. E180-8, 2010.

TAYLOR, C. T. Mitochondria and cellular oxygen sensing in the HIF pathway. **Biochem J**, v. 409, n. 1, p. 19-26, 2008.

THEISS, A. L.; SITARAMAN, S. V. The role and therapeutic potential of prohibitin in disease. **Biochim Biophys Acta**, v. 1813, n. 6, p. 1137-43, 2011.

THOMAS, R. L.; KUBLI, D. A.; GUSTAFSSON, A. B. Bnip3-mediated defects in oxidative phosphorylation promote mitophagy. **Autophagy**, v. 7, n. 7, p. 775-7, 2011.

TRENDELENBURG, A. U. et al. Myostatin reduces Akt/TORC1/p70S6K signaling, inhibiting myoblast differentiation and myotube size. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 296, n. 6, p. C1258-70, 2009.

TWIG, G. et al. Fission and selective fusion govern mitochondrial segregation and elimination by autophagy. **EMBO J**, v. 27, n. 2, p. 433-46, 2008.

TWIG, G.; SHIRIHAI, O. S. The interplay between mitochondrial dynamics and mitophagy. **Antioxid Redox Signal**, v. 14, n. 10, p. 1939-51, 2011.

VAINSHTEIN, A. et al. Role of PGC-1 α during acute exercise-induced autophagy and mitophagy in skeletal muscle. **Am J Physiol Cell Physiol**, v. 308, n. 9, p. C710-9, 2015.

VIRBASIUS, J. V.; VIRBASIUS, C. A.; SCARPULLA, R. C. Identity of GABP with NRF-2, a multisubunit activator of cytochrome oxidase expression, reveals a cellular role for an ETS domain activator of viral promoters. **Genes Dev**, v. 7, n. 3, p. 380-92, 1993.

VIZCAINO, J. A. et al. 2016 update of the PRIDE database and its related tools. **Nucleic Acids Res**, v. 44, n. D1, p. D447-56, 2016.

VOLTARELLI, V. A. **Contribuição dos receptores β 2-adrenérgicos na função e dinâmica mitocondriais da musculatura esquelética em resposta ao exercício físico aeróbico**. 2016. 139 (Doutorado). Escola de Educação Física e Esporte, Universidade de São Paulo, São Paulo.

WEI, Y. et al. Prohibitin 2 Is an Inner Mitochondrial Membrane Mitophagy Receptor. **Cell**, v. 168, n. 1-2, p. 224-238 e10, 2017.

WHO. **Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks**. Geneva: World Health Organization, 2009.

WILD, P.; MCEWAN, D. G.; DIKIC, I. The LC3 interactome at a glance. **J Cell Sci**, v. 127, n. Pt 1, p. 3-9, 2014.

- WILKINSON, S. B. et al. Differential effects of resistance and endurance exercise in the fed state on signalling molecule phosphorylation and protein synthesis in human muscle. **J Physiol**, v. 586, n. 15, p. 3701-17, 2008.
- WISLOFF, U. et al. Cardiovascular risk factors emerge after artificial selection for low aerobic capacity. **Science**, v. 307, n. 5708, p. 418-20, 2005.
- WRIGHT, D. C. et al. Exercise-induced mitochondrial biogenesis begins before the increase in muscle PGC-1alpha expression. **J Biol Chem**, v. 282, n. 1, p. 194-9, 2007.
- YAMANO, K. et al. Mitochondrial Rab GAPs govern autophagosome biogenesis during mitophagy. **Elife**, v. 3, p. e01612, 2014.
- YAMASHITA, S. I. et al. Mitochondrial division occurs concurrently with autophagosome formation but independently of Drp1 during mitophagy. **J Cell Biol**, v. 215, n. 5, p. 649-665, 2016.
- YAN, Z.; LIRA, V. A.; GREENE, N. P. Exercise training-induced regulation of mitochondrial quality. **Exerc Sport Sci Rev**, v. 40, n. 3, p. 159-64, 2012.
- YANG, C. et al. Mitochondrial dysfunction in insulin resistance: differential contributions of chronic insulin and saturated fatty acid exposure in muscle cells. **Biosci Rep**, v. 32, n. 5, p. 465-78, 2012.
- YANG, Y. et al. Time course of myogenic and metabolic gene expression in response to acute exercise in human skeletal muscle. **J Appl Physiol (1985)**, v. 98, n. 5, p. 1745-52, 2005.
- YOULE, R. J.; NARENDRA, D. P. Mechanisms of mitophagy. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 12, n. 1, p. 9-14, 2011.
- YOULE, R. J.; VAN DER BLIEK, A. M. Mitochondrial fission, fusion, and stress. **Science**, v. 337, n. 6098, p. 1062-5, 2012.
- YOUNG, P.; EHLER, E.; GAUTEL, M. Obscurin, a giant sarcomeric Rho guanine nucleotide exchange factor protein involved in sarcomere assembly. **J Cell Biol**, v. 154, n. 1, p. 123-36, 2001.
- YU, M. et al. Metabolic and mitogenic signal transduction in human skeletal muscle after intense cycling exercise. **J Physiol**, v. 546, n. Pt 2, p. 327-35, 2003.
- YU, R. et al. MIEF1/2 function as adaptors to recruit Drp1 to mitochondria and regulate the association of Drp1 with Mff. **Sci Rep**, v. 7, n. 1, p. 880, 2017.
- ZHONG, Z. et al. Cloning and characterization of a novel human SPRYD4 gene encoding a putative SPRY domain-containing protein. **DNA Seq**, v. 19, n. 1, p. 68-72, 2008.
- ZHOU, Q. G. et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D improved the free fatty-acid-induced insulin resistance in cultured C2C12 cells. **Diabetes Metab Res Rev**, v. 24, n. 6, p. 459-64, 2008.