

LA MIOSTATINA Y EL CRECIMIENTO MUSCULAR

MYOSTATIN AND MUSCLE GROWTH

INTRODUCCIÓN

Los organismos superiores están formados por diversos tipos de células, cuyo crecimiento, desarrollo y función debe ser coordinado para asegurar el funcionamiento correcto del tejido concreto o del organismo completo. Esto puede llevarse a cabo gracias a la existencia de unas señales intercelulares específicas, que controlan el crecimiento, el desarrollo y la función de cada uno de los tejidos. Estas señales desencadenan en las células “diana” una cascada de acontecimientos referidos a la señalización celular, que conducen a una respuesta de la célula.

Las hormonas clásicas son moléculas de señalización de alto alcance llamadas endocrinas. Estas sustancias son producidas y secretadas por células o tejidos y puestas en circulación por la sangre y otros líquidos corporales para influenciar a otras células o tejidos en cualquier parte del cuerpo. Sin embargo, los factores de crecimiento son sintetizados por la célula y afectan a la función celular de la misma célula (función autocrina) o a otra célula cercana (función paracrina). Estas moléculas determinan la diferenciación celular, el crecimiento, la motilidad, la expresión de un gen, etc.

Los factores de crecimiento (GF) son efectivos, normalmente, en bajas concentraciones y tienen una alta afinidad con sus correspondientes receptores de las células “diana”. Para cada tipo de factor de crecimiento hay un receptor específico en la membrana celular o en el núcleo.

Un factor de crecimiento puede tener diversos efectos biológicos dependiendo del tipo de célula con la que esté interactuando. Algunos factores de crecimiento, como por ejemplo la insulina, afectan a muchas clases de células, otros actúan en un tipo de células y provocan respuestas específicas.

Se pueden requerir dos o más sustancias para inducir una respuesta celular específica. La proliferación, desarrollo y crecimiento de la mayoría de las células requiere una combinación concreta de factores de crecimiento.

Algunos factores de crecimiento estimulan la proliferación de células y otros la inhiben, mientras que otros pueden estimular a una concentración e inhibir a otra. Los factores de crecimiento constituyen un gran sistema de proteínas. Un grupo importante de factores de crecimiento es el que integra la denominada superfamilia de los factores transformadores del crecimiento b (TGFB), del cual hay varios subtipos, con múltiples efectos sobre la función de la célula.

LA MIOSTATINA Y EL MÚSCULO ESQUELÉTICO

En función de su estructura pueden distinguirse varios subtipos de TGFB, como por ejemplo el “factor de diferenciación y crecimiento” que regula específicamente el crecimiento y la diferenciación (GDF). La miostatina es también conocida como factor de crecimiento y diferencia-

C. Ferragut Fiol

JAL. Calbet

Laboratorio de Rendimiento Humano.
Departamento de Educación Física.
Universidad de Las Palmas de Gran Canaria

CORRESPONDENCIA:

José A López Calbet. Dpto. Educación Física. Universidad de Las Palmas de Gran Canaria. Campus de Tafira Baja. 35017 Gran Canaria. Fax: 928-458867/60. E-mail: lopezcalbet@terra.es

Aceptado: 13.02.2003

ción 8 (GDF 8), y es la proteína asociada con el fenómeno de la “doble musculatura” en ratones y ganado.

Mc Pherron *et al*¹, detectaron la expresión de la proteína en estadios tardíos del desarrollo de embriones de ratón y en algunos músculos esqueléticos desarrollados. Para determinar el papel biológico de la miostatina en el músculo esquelético anularon el gen que codifica la proteína de la miostatina en ratones, conduciendo a una pérdida en su función. Los animales transgénicos que resultaban tenían un gen no funcional para producir miostatina. La cría de estos ratones dio lugar a varios tipos de ratones: unos eran homocigóticos para ambos genes mutantes (es decir, llevaban ambos genes transformados), otros eran homocigóticos para el gen del tipo “normal” (es decir, ambos alelos con función normal) y otros ratones eran heterocigóticos, es decir tenían un gen normal y otro transformado. La principal diferencia de los fenotipos resultantes se manifestó en la masa muscular. Aparentemente, todos los ratones eran sanos, llegaron a la edad adulta y fueron fértiles.

La camada de ratones homocigóticos con mutación (llamado en la literatura ratones del gen “knockout”) fueron un 30 % más grandes que sus compañeros heterocigóticos y homocigóticos del tipo normal, independientemente del sexo y la edad.

Los ratones mutantes adultos tenían formas anormales del cuerpo con hombros y caderas grandes, mientras que la masa grasa fue similar en los ratones transgénicos y en los ratones homocigóticos de tipo normal. Los músculos individuales de los ratones mutantes pesaron entre dos y tres veces más que sus compañeros de tipo normal. Los análisis histológicos revelaron que el incremento de masa muscular de los ratones fue debido tanto a la hipertrofia (incremento del tamaño de la fibra muscular) como a la hiperplasia (aumento del número de fibras).

Desde este descubrimiento tanto Mc Pherron y col², como otros científicos, investigaron la pre-

sencia de la miostatina y las posibles mutaciones del gen en otras especies animales. Los científicos encontraron la secuencia de la miostatina en otros nueve animales vertebrados, incluyendo cerdos, gallinas y humanos^{2,3}. Equipos de investigación diferentes descubrieron por separado dos mutaciones independientes en dos castas de ganado de “doble musculatura”: El “Belgian Blue” y el “Piedmontese”^{4,2}. Una eliminación en el gen de la miostatina del Belgian Blue elimina la región activa entera de la molécula, lo que la hace no funcional; esta mutación causa hipertrofia e incrementa por tanto la masa muscular. La secuencia de codificación para la miostatina en el “Piedmontese” contiene una mutación por la cual un punto de la secuencia codifica para un aminoácido diferente. Esta mutación lleva a una pérdida completa o casi completa de la función de la miostatina. Además de en estas razas de ganado, este fenómeno ha sido observado en ratones mutantes de miostatina⁵ y en la trucha de arroyo⁶. Lo que sí es de destacar es que una mutación en el gen de la miostatina en las crías de ganado no es tan ventajosa como en ratones. El ganado presenta solamente modestos incrementos de la masa muscular comparados con los ratones mutantes (20-25% en Belgian Blue frente a un 200-300% en ratones sin miostatina).

Mc Pherron *et al*², analizaron el ADN de otros ganados de razas puras (16 castas), normalmente no consideradas “doble musculosas”, y encontraron solamente una mutación similar en el gen de la miostatina². La mutación fue detectada en un alelo de un solo animal que no era “doble musculoso”. Fueron detectadas otras mutaciones pero no afectaban a la función de la proteína.

Aunque sabemos que la falta de la proteína miostatina está asociada con la hipertrofia en los ratones mutantes de Mc Pherron y en el ganado “doble musculoso”, sabemos muy poco sobre la expresión fisiológica de la miostatina en el tejido muscular esquelético normal. Estudios recientes en modelos animales y humanos indican resultados contradictorios sobre el papel de la miostatina en el crecimiento del tejido muscular. Por ejemplo, hay evidencias de que la

miostatina podría ser específica de un tipo de fibras. Lechones enanos, que tenían pesos más bajos al nacer que sus hermanos, tenían menor proporción de fibras tipo I o de contracción lenta en músculos específicos⁷. Se obtuvieron resultados similares en ratones⁸, mientras que el ganado con “doble musculatura” tiene un mayor número de fibras rápidas o glicolíticas. Así pues, la miostatina podría modular la expresión del gen que controla el tipo de fibra muscular.

También existen estudios que muestran la falta de efectos metabólicos sobre la expresión de la miostatina en lechones y ratones^{8,7}. Las restricciones en la comida en ambos (lechones y ratones) no afectó a los niveles de ARNm de miostatina en el músculo esquelético, ni la dieta de ácidos grasos poliinsaturados, ni la administración exógena de hormona del crecimiento alteró la expresión de la miostatina⁷. Estos y otros estudios sugieren que el papel fisiológico de la miostatina está mayormente asociado con el crecimiento muscular prenatal, donde los mioblastos están proliferando, diferenciando y fusionando para formar fibras musculares.

LA MIOSTATINA ES UN REGULADOR NEGATIVO DEL CRECIMIENTO MUSCULAR

La miostatina es un regulador negativo del crecimiento muscular, por lo tanto su papel en condiciones de pérdida de masa muscular está siendo investigado en varios laboratorios. Se han encontrado concentraciones altas de miostatina en personas afectadas por el virus VIH que tenían pérdidas de masa corporal, lo que sugiere que el aumento de los niveles de miostatina podría contribuir a la fisiopatología de la degeneración muscular durante la infección por el virus VIH³. También se han observado aumentos pasajeros de los niveles de ARNm de miostatina en las fibras musculares de ratones con atrofia inducida por descarga o falta de uso⁸. En otro estudio de Whelling *et al*⁹, la atrofia de los músculos del muslo inducida por descarga resultó en un aumento de un 110% del

ARNm de miostatina y una disminución de un 16% de la masa plantar. Sin embargo, se ha constatado que este aumento de la miostatina no es suficiente para justificar pérdidas significativas de la masa muscular en otros experimentos en los que los animales fueron sometidos a largos periodos de descarga muscular combinados con periodos intermitentes de carga. En este último caso, los animales no mostraron pérdidas significativas de masa muscular pero sí mayores niveles de miostatina. Una de las posibles explicaciones para los altos niveles de miostatina encontrados en estos animales es que la miostatina podría funcionar como un inhibidor de la proliferación de las células satélite⁸. Esto vendría apoyado por el hecho de que los ratones mutantes de miostatina presentan hipertrofia e hiperplasia, lo cual podría relacionarse con el incremento de la actividad de las células satélite.

También se ha teorizado sobre la influencia de la miostatina en la pérdida muscular causada por el envejecimiento, también conocida como sarcopenia, ya que se cree que el gen de la miostatina en humanos es un supresor del crecimiento muscular en edades avanzadas¹⁰⁻¹³. Yarasheski *et al*¹³, observan mayores niveles de miostatina en suero en hombres y mujeres de mediana edad que en los jóvenes, y que la masa grasa libre y la masa muscular correlacionan inversamente con las concentraciones en suero de la proteína miostatina inmunoreactiva, sugiriendo que la miostatina en suero podría ser un biomarcador de edad asociado a la sarcopenia.

LA MIOSTATINA Y LA REGENERACIÓN MUSCULAR

La miostatina se ha relacionado con el proceso de regeneración muscular. Cuando se produce un daño muscular, se suceden una serie de procesos de tipo inflamatorio a los que sigue una activación de las células satélites, que normalmente son muy poco activas. La activación de las células satélite induce su proliferación y migración hacia el lugar donde se ha producido la lesión muscular. Una vez las células al-

canzan la zona de la lesión se fusionan y maduran para convertirse en fibras musculares. Hasta la fecha los estudios llevados a cabo no muestran una acción directa de la miostatina en la regeneración muscular que se produce tras la lesión, sin embargo existen algunos indicios en dicha dirección. Kirk *et al*¹⁴, obtienen niveles elevados de miostatina en fibras y tejido conectivo dañado. Asimismo, animales con infarto de miocardio inducido desplegaron altos niveles de proteína miostatina incluso 30 días después del infarto en las células inmediatamente próximas a la lesión. Sin embargo, las células no dañadas circundantes al área infartada contenían muy bajos niveles de proteína miostatina similares a las del tejido control¹⁵.

En contraste con los altos niveles de miostatina encontrados en las células dañadas, no se encontró miostatina en los miotubos nuevos y sólo niveles bajos en los miotubos maduros.

Otra evidencia de que la miostatina juega un papel en la regeneración muscular viene del estudio de la expresión de la miostatina en músculos con desórdenes degenerativos, tales como la distrofia muscular¹⁶⁻¹⁸. Zhu *et al*¹⁶, trabajaron con *ratones mdx*, que tienen ausencia de distrofina y son un modelo de la distrofia muscular de Duchenne, obteniendo un aumento significativo de la regeneración muscular. En esta misma línea, Bogdanovich *et al*¹⁹ bloquearon la miostatina endógena en *ratones mdx* durante tres meses, obteniendo un aumento significativo de la masa muscular y de la fuerza absoluta, además de una reducción significativa de la degeneración muscular. Para estos autores, el bloqueo de la miostatina proporciona una nueva vía farmacológica para el tratamiento de enfermedades que cursan con degeneración muscular como la distrofia muscular de Duchenne, salvando las dificultades de la terapia genética en estas enfermedades.

LA MIOSTATINA EN OTROS TEJIDOS

Aunque en un primer momento se pensó que las funciones de la miostatina se encontraban

circunscritas al músculo esquelético, un equipo de investigadores de Nueva Zelanda²⁰ encontraron ARNm de miostatina y proteína miostatina en el músculo cardíaco. Además, Shaoquan *et al*, detectaron ARNm de miostatina en las glándulas mamarias lactantes de los cerdos. Estos autores consideran que podría tener un papel regulador en los cerdos neonatos.

Otro campo de estudio abierto recientemente es el de la relación existente entre el gen de la miostatina y la acumulación de grasa²¹. Mc Pherron *et al*²¹, observaron que los ratones alterados genéticamente para el gen de la miostatina, presentaban una reducción significativa en la acumulación de grasa con el incremento de la edad. Según estos autores, este hallazgo abre la posibilidad farmacológica de bloquear la función de la miostatina no sólo para aumentar el crecimiento muscular, sino para ralentizar o prevenir el desarrollo de la obesidad y la diabetes tipo II²¹.

LA MIOSTATINA Y EL RENDIMIENTO DEPORTIVO

Basándose en la información de que el tamaño muscular es un factor heredable en humanos²², Ferrell *et al*²³, investigaron las variaciones en la secuencia del gen de miostatina en humanos. También examinaron la influencia de las variaciones de miostatina en la respuesta de la masa muscular al entrenamiento de fuerza. Los sujetos del estudio representaban a varios grupos étnicos y fueron clasificados por el grado de incremento de masa muscular que experimentaron después del entrenamiento de fuerza. Se incluyeron en el estudio culturistas (*bodybuilders*) de competición que se encontraban entre los diez mejores del mundo y también de niveles inferiores. También se incluyeron jugadores de fútbol, levantadores de peso y sujetos no entrenados previamente. Se midió el volumen del cuádriceps mediante resonancia magnética antes y después de nueve semanas de entrenamiento de los extensores de la rodilla con cargas elevadas. Los sujetos fueron agrupados según el grado de respuesta al entrenamiento y según la etnia.

Se detectaron algunas variaciones en los códigos de secuencia del ADN en las muestras de los sujetos. Se constataron dos cambios en un sujeto y otros dos se observaron en dos individuos. Eran heterocigóticos, es decir tenían un alelo con mutación mientras que el otro era normal. Las otras variaciones estuvieron presentes en la población general de sujetos y se denominaron comunes. Una de las variaciones fue común en el grupo de caucásicos y afro-americanos. Sin embargo, el alelo menos frecuente tuvo una elevada incidencia en el grupo de afro-americanos. Este estudio no demostró ninguna relación significativa entre genotipo (tipo de gen de miostatina) y la respuesta al entrenamiento, ni tampoco ninguna diferencia significativa entre afro-americanos que respondieran al entrenamiento y los que no, como tampoco entre caucásicos que respondieron al entrenamiento y los que no lo hicieron. En esta misma línea Seibert *et al*¹¹ tomaron medidas de fuerza en cadera y rodilla del lado dominante a 286 mujeres de entre 70 y 79 años caucásicas, afro-americanas, asiáticas e hispanas. Los datos que obtuvieron sugieren una asociación entre la presencia de un alelo determinado (R153) con menores niveles de fuerza en mujeres mayores, pero debido al escaso número de participantes en el estudio, estos datos sólo son orientativos. En el caso de Ivey *et al*²⁴, el genotipo de la miostatina no explicó la respuesta hipertrófica al entrenamiento de fuerza cuando se tomaban a los 32 participantes en el estudio todos juntos. Sin embargo, cuando se analizaban sólo a las mujeres que tenían el alelo menos común, se observaba un 68% de incremento en la respuesta en el volumen muscular al entrenamiento de fuerza, indicando un papel de este genotipo en las mujeres. En cualquier caso, serán necesarias más investigaciones para determinar si la miostatina tiene un papel activo

en el crecimiento muscular después del nacimiento y en los tejidos adultos. También es necesario clarificar el papel de la miostatina en la atrofia muscular y en la regeneración tras la lesión. En esta línea Lee y Mc Pherron²⁵ sugieren que los antagonistas de la miostatina tales como el propéptido, la folistatina u otras moléculas podrían ser agentes útiles para aumentar el crecimiento muscular para futuras aplicaciones terapéuticas y veterinarias.

RESUMEN

La miostatina es una proteína que pertenece a la superfamilia de los factores transformadores de crecimiento b (TGFb) y se expresa fundamentalmente en el músculo esquelético, cuya función parece ser una regulación negativa del crecimiento muscular determinando en algunos animales lo que se ha convenido en denominar el fenotipo “doble musculoso”.

Se ha descubierto que la supresión de este gen provoca, en algunas circunstancias, aumento de la masa muscular, no sólo por hipertrofia del músculo sino también por hiperplasia, por ello se han abierto varios campos de estudio para determinar su influencia en algunas enfermedades que cursan con emaciación y en la sarcopenia. Además, estudios experimentales indican que el bloqueo de esta proteína podría facilitar la regeneración muscular en diversas enfermedades, incluida la distrofia muscular. En el ámbito de la medicina del deporte la regulación del gen de la miostatina podría ser de interés como diana terapéutica y puede constituir una nueva forma de dopaje en el futuro.

Palabras clave: Miostatina. Dopaje genético. Hipertrofia muscular.

B I B L I O G R A F I A

1. **Mcpheeron AC, Lawler AM, Lee SJ.** Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature* 1997;387:83-90.
2. **Mcpheeron AC, Lee SJ.** Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:12457-61.
3. **Gonzalez-Cadauid NE, Taylor WE, Yarasheski K, Sinha-hikim I, Ma K, Ezzat S, et al.** Organization of the human myostatin gene and expression in healthy men and HIV-infected men with muscle wasting. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:14938-43.
4. **Grobet L, Martin LJ, Poncelet D, Pirottin D, Brouwers B, Riquet J, et al.** A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscling phenotype in cattle. *Nat Genet* 1997;17:71-4.
5. **Kambadur R, Sharma M, Smith TP, Bass JJ.** Mutations in myostatin (GDF8) in double-muscling Belgian Blue and Piedmontese cattle. *Genome Res* 1997;7:910-6.
6. **Roberts SB, Goetz FW.** Differential skeletal muscle expression of myostatin across teleost species, and the isolation of multiple myostatin isoforms. *FEBS Lett* 2001;491:212-6.
7. **Shaoquan J, Iosinski R, Cornelius S.** Myostatin expression in porcine tissues: tissue specificity and developmental and postnatal regulation. *Am J Physiol* 1998;277:601
8. **Carlson CJ, Booth FW, Gordon SE.** Skeletal muscle myostatin mRNA expression is fiber-type specific and increases during hindlimb unloading. *Am J Physiol* 1999;277:R601-6.
9. **Wehling M, Cai B, Tidball JG.** Modulation of myostatin expression during modified muscle use. *Faseb J* 2000;14:103-10.
10. **Schulte JN, Yarasheski KE.** Effects of resistance training on the rate of muscle protein synthesis in frail elderly people. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2001;11 Suppl:S111-8.
11. **Seibert M, Xue Q, Fried L, Walston J.** Polymorphic variation in the human myostatin (GDF8) gene and association with strength measures in women's Health and Aging Study cohort. *J Am Geriatr Soc* 2001; 49:1093-6
12. **Seibert MJ, Xue QL, Fried LP, Walston JD.** Polymorphic variation in the human myostatin (GDF-8) gene and association with strength measures in the Women's Health and Aging Study II cohort. *J Am Geriatr Soc* 2001;49:1093-6.
13. **Yarasheski KE, Bhasin S, Sinha-hikim I, Pak-Loduca J, Gonzalez-Cadauid NE.** Serum myostatin-immunoreactive protein is increased in 60-92 year old women and men with muscle wasting. *J Nutr Health Aging* 2002;6:343-8
14. **Kirk S, Oldham J, Kambadur R, Sharma M, Dobbie P, Bass J.** Myostatin regulation during skeletal muscle regeneration. *J Cell Physiol* 2000;184:356-63.
15. **Sharma HS, Wunsch M, Brand T, Verdouw PD, Schaper W.** Molecular biology of the coronary vascular and myocardial responses to ischemia. *J Cardiovasc Pharmacol* 1992;20:S23-31.
16. **Zhu X, Hadhazy M, Wehling M, Tidball JG, McNally EM.** Dominant negative myostatin produces hypertrophy without hyperplasia in muscle. *FEBS Lett* 2000;474:71-5.
17. **Wagner KR, Mcpheeron AC, Winik N, Lee SJ.** Loss of myostatin attenuates severity of muscular dystrophy in mdx mice. *Ann Neurol* 2002;52:832-6.
18. **Tseng BS, Zhao P, Pattison JS, Gordon SE, Granchelli JA, Madsen RW, Folk LC, Hoffman EP, Booth FW.** Regenerated mdx mouse skeletal muscle shows differential mRNA expression. *J Appl Physiol* 2002;93:537-45.
19. **Bogdanovich S, Krag TO, Barton ER, Morris LD, Whittemore LA, Ahima RS, Khurana TS.** Functional improvement of dystrophic muscle by myostatin blockade. *Nature* 2002;420:418-21.
20. **Sharma M, Kambadur R, Matthews KG, Somers WG, Devlin GP, Conaglen JV, Fowke PJ, Bass JJ.** Myostatin, a transforming growth factor-beta superfamily member, is expressed in heart muscle and is upregulated in cardiomyocytes after infarct. *J Cell Physiol* 1999;180:1-9.
21. **Mcpheeron AC, Lee SJ.** Suppression of body fat accumulation in myostatin-deficient mice. *J Clin Invest* 2002;109:595-601.
22. **Loos R, Thomis M, Maes HH, Beunen G, Claessens AL, Derom C, et al.** Gender-specific regional changes in genetic structure of muscularity in early adolescence. *J Appl Physiol* 1997;82:1802-10.
23. **Ferrell RE, Conte V, Lawrence EC, Roth SM, Hagberg JM, Hurley BF.** Frequent sequence variation in the human myostatin (GDF8) gene as a marker for analysis of muscle-related phenotypes. *Genomics* 1999;62:203-7.
24. **Ivey FM, Roth SM, Ferrell RE, Tracy BL, Lemmer JT, Hurlbut DE, et al.** Effects of age, gender, and myostatin genotype on the hypertrophic response to heavy resistance strength training. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2000; 55:M641-8.
25. **Lee SJ, Mcpheeron AC.** Regulation of myostatin activity and muscle growth. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:9306-11.