Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

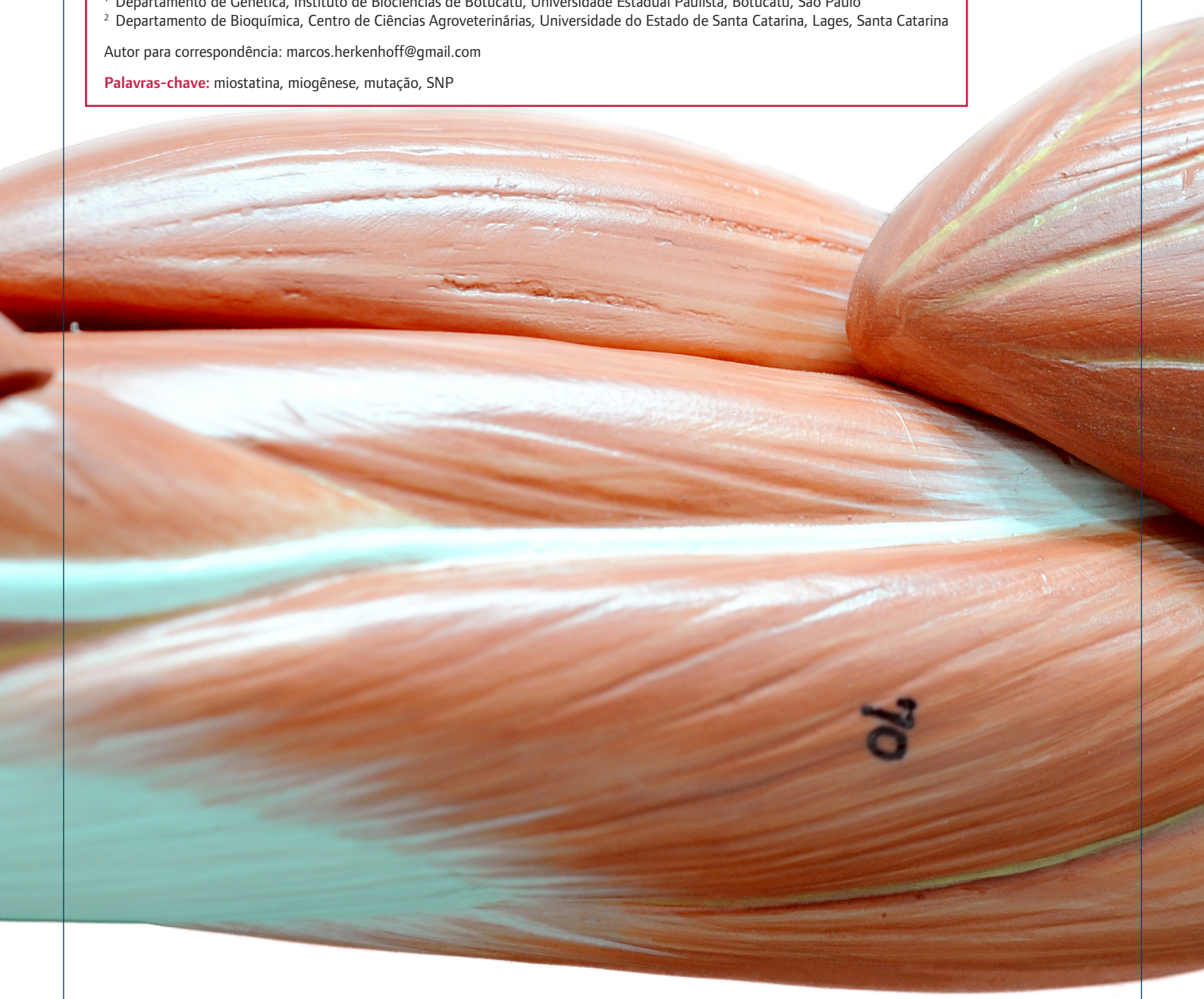
O gene *MSTN* e o desenvolvimento muscular

Marcos Edgar Herkenhoff[1], Renata Palacios[2]

[1] Departamento de Genética, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, São Paulo
[2] Departamento de Bioquímica, Centro de Ciências Agroveterinárias, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, Santa Catarina

Autor para correspondência: marcos.herkenhoff@gmail.com

Palavras-chave: miostatina, miogênese, mutação, SNP



Genética na Escola – ISSN: 1980-3540

O músculo, principal tecido responsável pelo movimento, é também a principal parte comestível dos animais. Desta forma, o desenvolvimento da musculatura sempre foi um assunto de interesse para atletas de alto desempenho, pecuaristas, pessoas preocupadas com a sua estética e também profissionais da saúde que buscam tratamento para doenças e lesões neste tecido. Embora o desenvolvimento deste tecido seja complexo e ainda pouco conhecido, uma proteína e o gene que a codifica têm chamado a atenção dos pesquisadores. Esta proteína é a miostatina, pois quando é bloqueada tende a estimular o crescimento muscular. Este artigo tem como objetivo apresentar o gene *MSTN*, seu papel no desenvolvimento muscular e a importância econômica da proteína por ele codificada.

A musculatura estriada esquelética é o tecido mais prevalente no corpo dos vertebrados. Ela é responsável pela locomoção, postura e respiração. O músculo esquelético é composto por miofibras, que são longas, podem ter vários centímetros de comprimento, e com muitos núcleos localizados na periferia. O crescimento do músculo esquelético pode ocorrer de três formas: suas fibras podem aumentar em número, em comprimento ou em circunferência. Em um indivíduo adulto, as fibras do músculo esquelético são incapazes de se dividir, ou seja, não aumentam em número.

O número máximo de células do músculo esquelético é atingido precocemente em um indivíduo, antes que ele atinja a fase adulta. Uma vez formada, a fibra muscular esquelética geralmente sobrevive durante toda a vida do animal.

O crescimento muscular em um indivíduo adulto ocorre principalmente devido ao aumento em volume das células musculares, um fenômeno denominado hipertrofia. Ela é uma resposta decorrente do aumento de tensão no músculo como, por exemplo, o ocasionado por exercícios de musculação.

Já o crescimento em relação ao número de células denomina-se hiperplasia. O termo é utilizado para descrever o crescimento de um órgão devido ao aumento do número de células ou a formação de determinados tumores. Embora ocorra hiperplasia em vários órgãos e tecidos de um indivíduo adulto, a hiperplasia muscular ocorre única e exclusivamente em animais jovens. A miogênese é a via responsável pelo crescimento hiperplásico do tecido muscular, e para que ela ocorra, é necessária a atuação de proteínas que trabalham de forma orquestrada.

MIOGÊNESE

Miogênese é a formação de tecido muscular a partir de células não diferenciadas. O esquema da Figura 1 resume a via de diferenciação dos miotubos ou miofibras da musculatura esquelética, longas e polinucleadas, a partir de células precursoras, pequenas e esféricas. Em cada estágio, proteínas diferentes desempenham papéis importantes relacionados à proliferação e diferenciação celular. A miostatina, proteína codificada pelo gene *MSTN*, desempenha um papel duplo na miogenese: limitar a proliferação e promover a diferenciação.

Para que ocorra a formação dos músculos esqueléticos, é necessária a ativação, proliferação e diferenciação de linhagens de células miogênicas (células que darão origem aos músculos) (Figura 1). Estes três processos dependem da expressão e atividade de vários genes, conhecidos como fatores de regulação miogênica (do inglês, *myogenic regulatory factors* - MRFs) e que são responsáveis por transformar células não musculares em células musculares.

Os MRFs (MyoD, Miogenina, Myf5 e o MRF4) são produzidos por genes reguladores, que funcionam como fatores de transcrição e que inibem ou ativam os demais genes da via de diferenciação.

A miogênese inicia-se com o recrutamento de células do mesoderma por ação do gene Pax3 (Figura 1). A proteína Pax 3, da família Pax (do inglês, *paired-box*), é um fator de transcrição que prepara as células do mesoderma para que sejam transformadas em células musculares, para que dois outros MRFs possam atuar, a MyoD e aMyf5.

Embora ocorra de forma mais intensiva durante o desenvolvimento embrionário, a miogênese, principalmente as etapas de proliferação e diferenciação, ocorre ainda em indivíduos jovens até que atinjam a vida adulta.

Após o nascimento do organismo, algumas células permanecem determinadas (no estágio de mioblasto), porém não diferenciadas em tecido muscular. Estas células são as chamadas células-satélite, responsáveis pela regeneração muscular ao longo da vida do indivíduo. As células-satélite passam pela mesma via de diferenciação que ocorre no embrião para restaurar fibras musculares lesionadas. A restauração pode ocorrer por fusão dos locais danificados, causando hipertrofia, ou pela formação de novos miofibras, gerando hiperplasia.

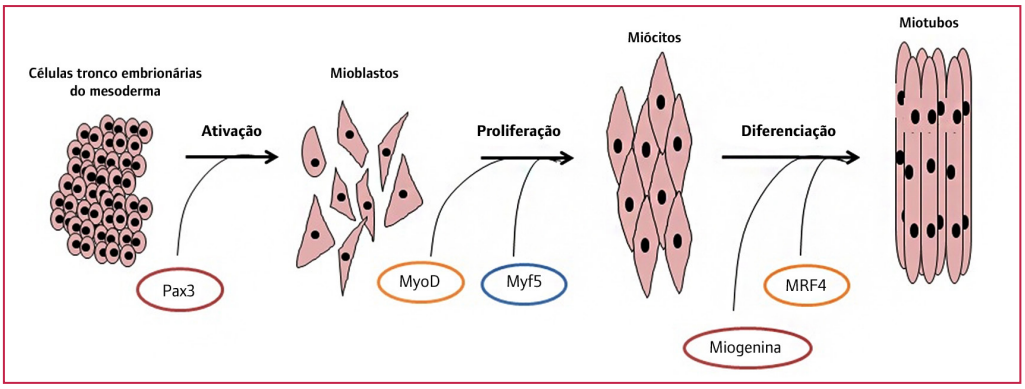


Figura 1.
Na miogenese as células-tronco embrionárias do mesoderma são ativadas e recrutadas pela Pax3, tornando-se os mioblastos. Estes, por sua vez, proliferam e se diferenciam pela ação dos fatores MyoD e Myof5 e se transformam em miócitos. Durante a diferenciação por ação da miogenina e de MRF4, ocorre a organização dos miócitos em miotubos, formando o tecido muscular. Baseada em Rios *et al.*, 2002.

MIOSTATINA E SUA ATUAÇÃO NA MIOGÊNESE

A miostatina é uma proteína codificada pelo gene *MSTN*, produzida nas células do músculo esquelético e a principal responsável pela inibição da hiperplasia muscular nos adultos.

A miostatina atua inibibindo a fase de ativação e, consequentemente, de proliferação e diferenciação dos mioblastos e miócitos, respectivamente (Figura 2). Ela bloqueia a miogênese pela regulação negativa na expressão do fator de transcrição Pax3, e consequente inibição na expressão da MyoD. Ela se liga aos receptores de membrana activina tipo II (Act RII e Act RIIB, e em menor intensidade, com o receptor Act RIIA) e o Alk-3 ou Alk-4 (Figura 3).

Quando a miostatina não é expressa, Pax3 e da MyoD continuam atuando promovendo a miogênese, e o resultado, principalmente em bovinos, é um fenótipo denominado "dupla musculatura", como será descrito mais adiante. A ausência de expressão desta proteína ocorre principalmente quando há uma mutação em seu gene.

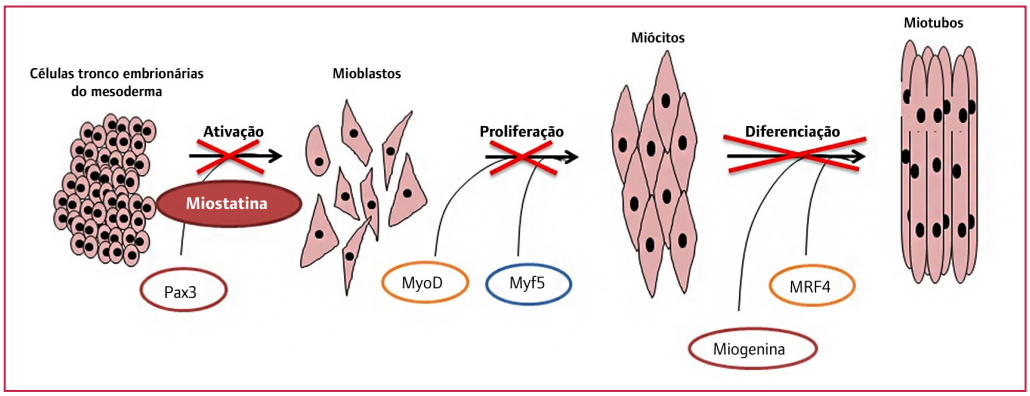


Figura 2.
A miostatina inibe a proliferação de células-tronco embrionárias do mesoderma impedindo a ligação de Pax3, que é a proteína recrutadora das células precursoras.Como consequência, há bloqueio da miogênese. Baseada em Rios *et al.*, 2002.

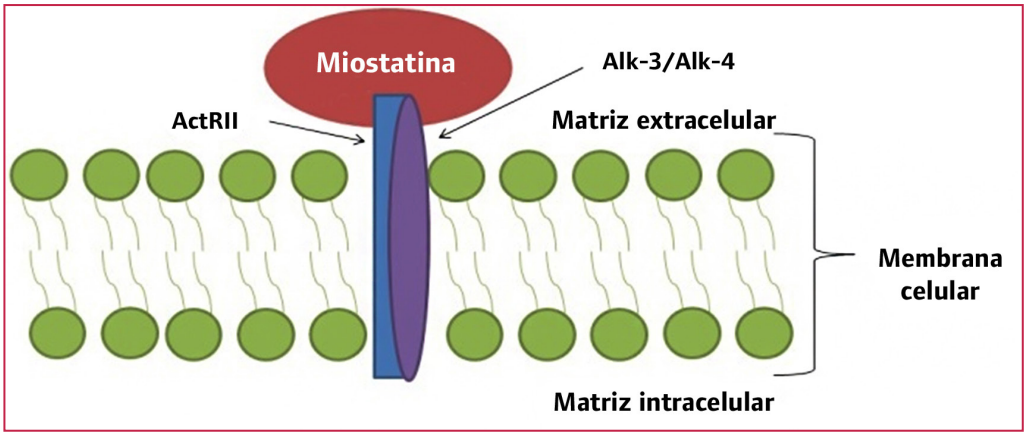


Figura 3.
Ligação da miostatina a receptores celulares. A miostatina se liga aos receptores do tipo ActRII e Alk-3/Alk-4, e essa ligação impede a ligação da Pax3, inibindo a miogênese.

O GENE *MSTN* E A PROTEÍNA MIOSTATINA

A miostatina, também conhecida como fator 8 de crescimento/diferenciação (GDH-8), é uma proteína sintetizada e excretada por células musculares. O gene que codifica a miogenina foi descoberto em 1997 por McPheron e colaboradores na Universidade de John Hopkins nos Estados Unidos (MCPHERON *et al*, 1977).

O gene *MSTN* já foi sequenciado em várias espécies de animais domésticos e selvagens, demonstrando poucas diferenças entre as espécies. No ser humano, ele se localiza no cromossomo 2, contém dois íntrons e três éxons e o RNAm processado possui 1126 pb (Figura 4).

A tradução do RNA mensageiro *MSTN* é uma proteína não ativa, composta por uma sequência sinal, um pro-peptídeo, e uma região madura. Ela circula no sangue na forma latente com um pro-peptídeo, ligado não covalentemente ao seu terminal NH2. Para sua ativação é necessária a clivagem proteolítica do pro-peptídeo, que resulta um terminal COOH, que se associa a outra molécula que também é clivada, formando um dímero funcional.

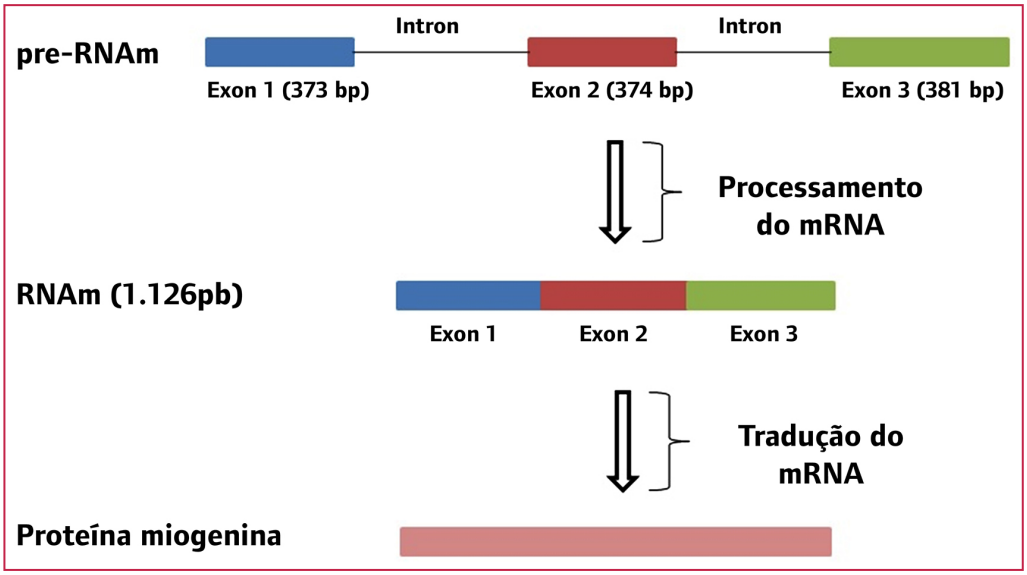


Figura 4.
Esquema da estrutura do gene da MSTN, o RNA por ele transcrito, seu processamento, e a proteína miogenina, por ele codificada.

Quando na forma ativa, a miogenina liga-se ao receptor de activina tipo IIB e ALK 4/5, que são proteínas trans membrana. Após fosforilação do heterodímero são iniciadas várias cascatas de sinalização que resultam na ativação de alguns genes e na repressão de outros (regulação negativa), todos eles envolvidos na miogênese. As referidas vias de sinalização são complexas e não completamente conhecidas.

Durante a embriogênese, a miostatina é expressa exclusivamente nos músculos esqueléticos atuando na diferenciação e controlando a proliferação de mioblastos. No adulto, ela não é restrita à musculatura esquelética e pode ser detectada em outros tecidos como coração, tecido adiposo e glândulas mamárias.

FUNÇÃO DO GENE

O papel do gene *MSTN* na musculatura foi descoberto pela análise de camundongos com este gene nocauteado. O fenótipo associado a mutações no *MSTN* é bem marcante, caracterizado pelo aumento significativo da massa muscular, duas vezes maior do que o tamanho normal, como resultado de uma combinação de hiperplasia e hipertrofia. Por outro lado, organismos nos quais o gene *MSTN* é superexpresso apresentam redução da massa muscular, sugerindo que a miostatina é um regulador negativo do crescimento da musculatura esquelética.

Mutações com ocorrência natural foram identificadas em nas raças bovinas de dupla musculatura, em cães, peixes e até mesmo em seres humanos. A combinação de dois alelos com mutação confere ao indivíduo adulto o fenótipo característico de dupla musculatura nas raças bovinas (Figura 5). Embora cresça de forma natural, a impressão é de os animais com tal fenótipo foram tratados com anabolizantes.

Para que o indivíduo apresente o fenótipo de "dupla musculatura", é necessária a presença de dois alelos mutados, no entanto, um aumento discreto na musculatura, se observado minuciosamente, também está presente em indivíduos com apenas uma cópia do alelo mutado. Dessa forma, esse tipo de herança, é caracterizado como dominância incompleta, ou parcialmente recessiva. O fenótipo de "dupla musculatura", ou o genótipo homozigoto, recebeu uma atenção maior por parte de produtores de animais, pelo fato de apresentar maiores vantagens ecônomicas, do que o fenótipo intermediário.

IMPORTÂNCIA ECONÔMICA DA MIOSTATINA

As vantagens econômicas da "dupla musculatura", para o setor pecuário, restringem-se apenas aos animais que são utilizados na produção de carne, pois esta característica promove melhor conversão alimentar (transformação do alimento ingerido pelo animal em musculatura ou carne).

Além disto, o rendimento de cortes nobres, como picanha e filé mignon, e menor proporção de ossos e gordura e, consequentemente, produzindo também uma carne mais magra e mais saudável, também é observada em animais com este fenótipo. As raças de bovinos que apresentam maior frequência deste fenótipo são de origem europeia, como a *Belgian Blue* (principal raça) (Figura 5).

BELGIAN BLUE

A raça *Belgian blue*, ou Belga azul, é a raça que deu fama aos pesquisadores da área de produção animal devido à mutação no gene da miostatina. A origem desta raça remonta ao século XIX, quando touros da raça *Shorthorn*, oriundos do Reino Unido, foram enviados para a Bélgica com a finalidade de melhorar a estrutura muscular do gado nativo. Entre 1920 e 1960, o animal resultante do cruzamento entre elas cumpria as exigências tanto de leite quanto de carne. A partir do momento em que a exigência por carne aumentou, animais mais musculosos foram selecionados para procriar. Após sucessivos cruzamentos, resultaram animais com musculatura exagerada, sendo que muitos touros chegaram a pesar mais de uma tonelada. Somente após a descoberta da miostatina, é que se soube qual a proteína envolvida na formação deste fenótipo.

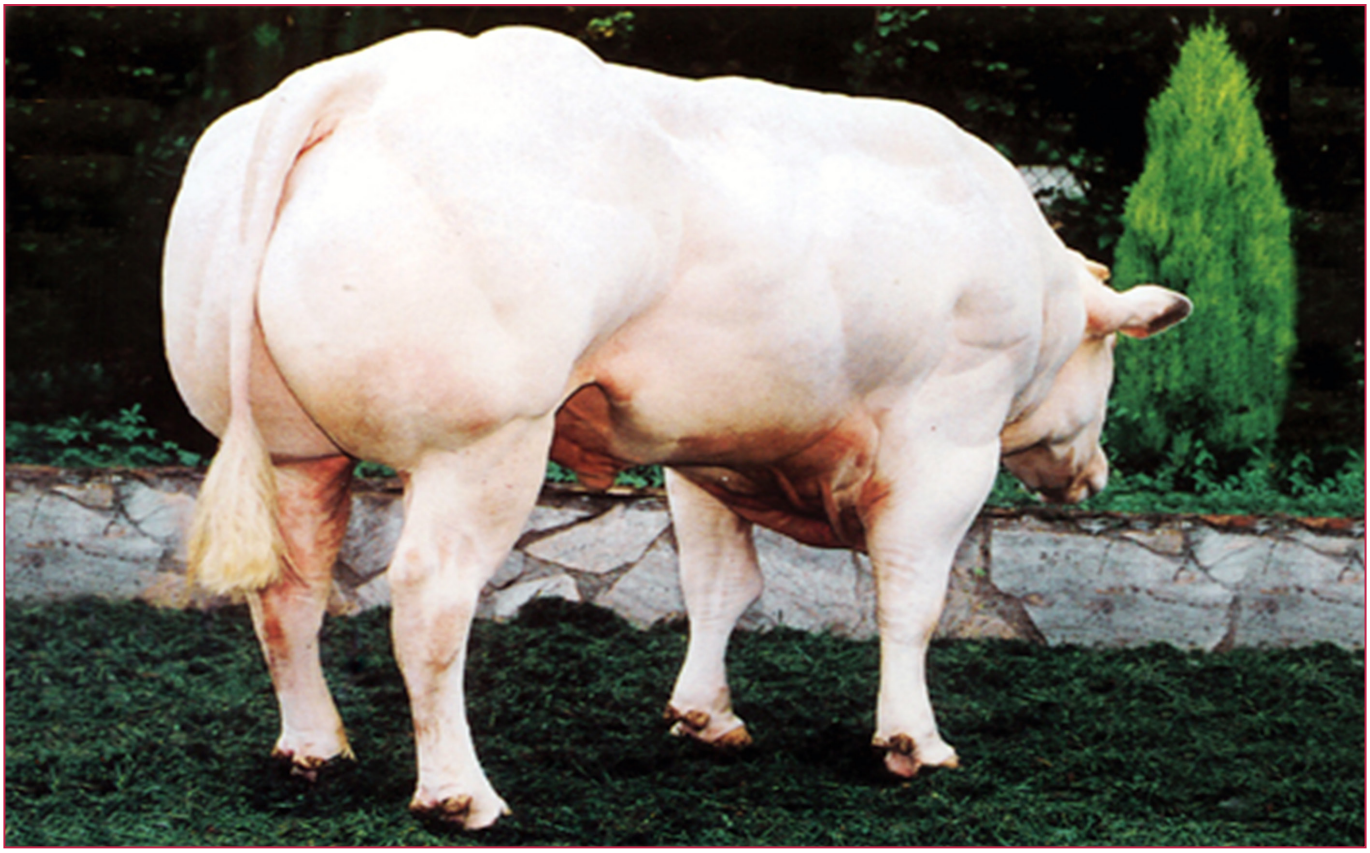


Figura 5.
Esse animal é um exemplar da raça Belgian blue homozigoto para a mutação no gene MSTN, apresentando por esta razão o fenótipo "dupla musculatura". (Figura reproduzida com permissão da Araucária Genética Bovina, proprietária do animal).

A partir da descoberta do gene, os efeitos da miostatina sobre a composição corporal e suas bases moleculares foram elucidados utilizando camundongos transgênicos. Essa abordagem permitiu que a miostatina pudesse ser também utilizada na área de ciências médicas.

A MIOSTATINA EM HUMANOS

O efeito inibidor da miostatina na hiperplasia no crescimento muscular despertou o interesse por parte de atletas, principalmente fisiculturistas e pesquisadores na área de ciências médicas. Vários estudos foram realizados buscando mutações que pudessem favorecer a formação do genótipo de dupla musculatura. Essas mutações não foram encontradas somente em animais de produção, mas também em cães de raça, ratos de laboratório e humanos.

Reduzir ou eliminar a expressão da miostatina é, assim, vista como uma possível futura candidata para aumentar o crescimento muscular e maximizar o desempenho atlético em seres humanos.

Existem estudos que buscam o bloqueio desta proteína para tratamento de distrofias musculares, pois atualmente a maioria das abordagens que visam repor a distrofina, proteína defeituosa ou ausente nos indivíduos distróficos, têm se mostrado pouco eficientes. Por causa da sua ação, estudos com modelos animais buscam o bloqueio da ação da miostatina para auxiliar no tratamento de distrofias.

O aumento da miostatina circulante em camundongos mostrou severa perda de massa muscular e tecido adiposo, fato semelhante ao que ocorre nas síndromes de caquexia humana (caracterizada por perda de peso, atrofia muscular, fadiga, fraqueza e perda de apetite associada a doenças graves como AIDS e câncer). Ao contrário, camundongos com deleção do gene da miostatina mostraram um ganho de massa muscular significativo. Atualmente os esforços para reverter o quadro de caquexia são demorados e pouco

efetivos, não trazendo, portanto, resultados satisfatórios ao paciente. Um alvo mais eficiente para o tratamento da caquexia parece ser a miogenina e seu receptor do tipo II. O bloqueio deste receptor leva a um aumento significativo da massa muscular.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo e Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPEPS) pelo apoio financeiro. À Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC), à Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" (UNESP) e à *Technische Hochschule Wildau* (THW) na Alemanha, pelo apoio financeiro e fornecimento do material didático para as pesquisas. À empresa Araucária Genética Bovina por ceder a foto de um dos seus touros para a utilização no presente artigo.

REFERÊNCIAS

MCPHERRON, A. C.; LAWLER, A. M.; LEE, S. J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta super family member. *Nature*, v. 387, n. 6628, p. 83-90, 1997.

RIOS, R.; CARNEIRO, I.; ARCE, V. M.; DEVESA, J. Myostatin is an inhibitor of myogenic differentiation. *Am J Physiol Cell Physiol*. V. 282, p. 993-999, 2002.