

La miostatina: un regulador autocrino/paracrino del desarrollo muscular

V.M. ARCE, I. CARNEIRO, S. FERNÁNDEZ-NOCELO Y J. DEVESA

Fisiología Facultad de Medicina. Facultad de Medicina y Odontología. Santiago de Compostela. A Coruña. España.

MYOSTATIN: AN AUTOCRINE/PARACRINE REGULATOR OF MUSCULAR DEVELOPMENT

Myostatin is a protein belonging to the transforming growth factor (TGF)- β family, which plays a major role in controlling muscular development. As occurs with other members of the TGF- β family, myostatin is synthesised as an inactive precursor that needs to undergo proteolytic processing to give rise to the mature peptide. Myostatin is almost exclusively expressed in skeletal muscle, where it acts in an autocrine/paracrine fashion to inhibit muscle growth. In mice, myostatin blockade results in a dramatic increase in muscle mass and decreased adiposity. The effect on adipose tissue is so marked that myostatin blockade is even capable of reverting obesity in several strains of obese mice. Because of these actions, the use of myostatin-blocking agents has been proposed as a new strategy in the prevention or treatment of obesity and type 2 diabetes, as well as in diseases in which muscular anabolism needs to be stimulated (such as some muscular dystrophies and wasting conditions).

Key words: Obesity. Myostatin. Muscular development.

La miostatina es una proteína perteneciente a la familia del factor de crecimiento de transformación (TGF)- β , que desempeña un papel fundamental en el control del desarrollo muscular. Como ocurre con el resto de miembros de la familia del TGF- β , la miostatina se sintetiza en forma de un precursor inactivo que ha de tener un procesamiento proteolítico para dar lugar a la forma madura. La miostatina se expresa de forma casi exclusiva en el músculo esquelético donde actúa de forma autocrina/paracrina al inhibir el desarrollo muscular. En ratones, el bloqueo de la miostatina produce un marcado aumento de la masa muscular y una disminución de la adiposidad. Este efecto sobre el tejido adiposo es tan marcado que el bloqueo de la miostatina es incluso capaz de revertir la obesidad en diversas cepas de ratones. Debido a estas acciones, se está comenzando a estudiar el uso de fármacos capaces de bloquear la miostatina para la prevención y el tratamiento de la obesidad, la diabetes tipo 2, y en enfermedades en las que es necesario favorecer el anabolismo muscular (como ocurre en algunas distrofias musculares o en los cuadros de caquexia).

Palabras clave: Obesidad. Miostatina. Desarrollo muscular.

LA MIOSTATINA, UN NUEVO MIEMBRO DE LA FAMILIA DEL TGF- β

La miostatina (inicialmente denominada GDF-8, *growth/differentiation factor-8*) es una proteína que pertenece a la familia del factor de crecimiento de transformación beta (*transforming growth factor beta* [TGF- β]) que desempeña un papel fundamental en el control de la proliferación, diferenciación y supervivencia de las células musculares esqueléticas. El gen que codifica la miostatina (*mst*) se identificó en el año 1997 por McPherron et al, a partir de una muestra de ADNc de músculo pectoral de ratón, amplificada con oligonucleótidos degenerados dirigidos frente a regiones conservadas entre los miembros conocidos de la familia¹. En el ratón, el gen *mst* codifica una proteína de 376 aminoácidos que presenta todas las características básicas de la familia del TGF- β entre las que se incluyen:

- Un péptido señal N-terminal.
- Una secuencia conservada (RSRR) necesaria para el procesa-

Correspondencia: Dr. V.M. Arce.
 Departamento de Fisiología. Facultad de Medicina.
 Universidade de Santiago de Compostela.
 San Francisco, s/n. 15782 Santiago de Compostela. A Coruña. España.
 Correo electrónico: fsvarce@usc.es

Manuscrito recibido el 4-11-2004; aceptado para su publicación el 17-1-2005.

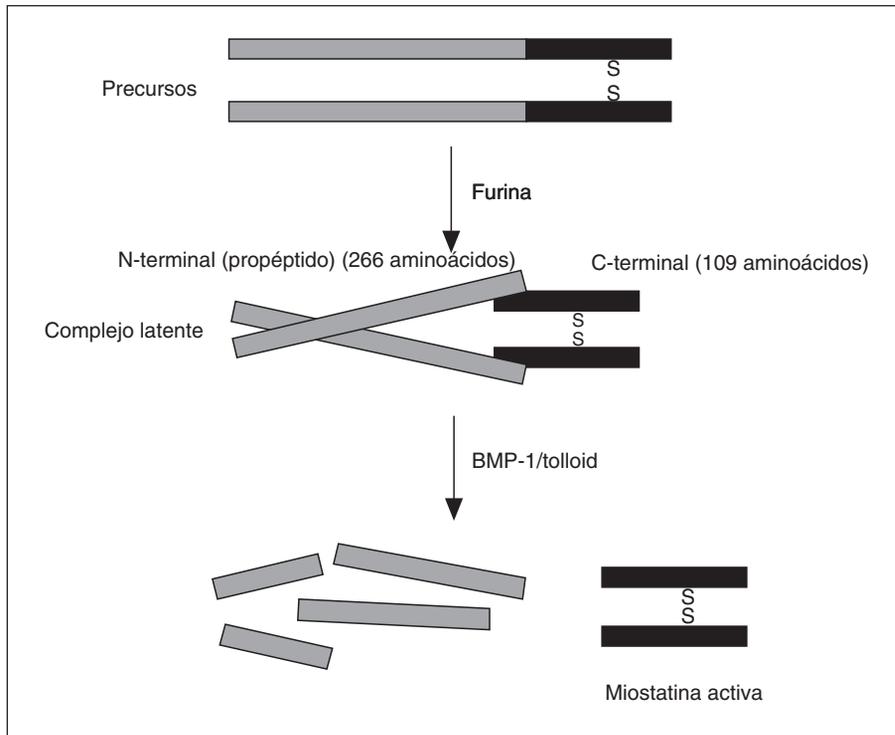


Fig.1. Mecanismo de activación de la miostatina. El precursor de miostatina se procesa proteolíticamente por acción de la furina, y da lugar a un péptido C-terminal de 109 aminoácidos (que recibe el nombre de propéptido) y un péptido N-terminal de 236 aminoácidos. Ambos fragmentos permanecen inicialmente unidos entre sí formando un complejo latente que es inactivo. Para que la miostatina pueda activarse ha de separarse del propéptido, para lo que este último ha de sufrir un procesamiento proteolítico por parte de proteasas de la familia BMP1/TLD.

miento proteolítico que dará lugar a la formación de un péptido C-terminal de 109 aminoácidos, que es la forma activa de la molécula.

– Un patrón conservado de 9 residuos de cisteína en la región carboxiterminal, necesario para la conformación tridimensional y dimerización de la molécula madura. Sin embargo, la secuencia de la región C-terminal de la miostatina difiere notablemente de la del resto de miembros de la familia del TGF- β conocidos (con excepción del GDF-11), por lo que la miostatina no puede incluirse dentro de ninguna de las subfamilias existentes¹.

Al igual que ocurre con la mayoría de los miembros de la familia del TGF- β , la miostatina presenta un elevado grado de conservación, con una homología de más del 96% en la secuencia de aminoácidos de la región C-terminal en todas las especies de aves y mamíferos estudiadas. El gen *mst* en humanos se identificó en el año 1998 por González-Cadavid et al². En nuestra especie, el gen *mst* se localiza en el brazo largo del cromosoma 2, y se organiza en 3 exones, separados por 2 intrones de 1,8 y 3,4 kb. La miostatina humana tiene 375 aminoácidos, de los cuales 125 están codificados por el exón 1, 124 por el 2 y 126 por el 3.

Como sucede con otros miembros de la familia, la miostatina se sintetiza en forma de un precursor inactivo que ha de ser procesado proteolíticamente para dar lugar a la forma biológicamente activa³⁻⁷. Todo parece indicar que la enzima responsable de este procesamiento es la furina, una endoproteasa intracelular implicada en el procesamiento de diversas proteínas,

entre las que se incluyen varios miembros de la familia del TGF- β ⁸. La furina reconocería la secuencia RSRR de la molécula del precursor de miostatina, y formaría un fragmento N-terminal de 266 aminoácidos (que recibe el nombre de propéptido) y un fragmento C-terminal de 109 aminoácidos que formará el dímero de miostatina madura¹. Inicialmente, tanto las moléculas de miostatina madura como las del propéptido permanecen unidas entre sí, formando un complejo latente similar al que se ha descrito para otros miembros de la familia del TGF- β (fig. 1). En estas condiciones la miostatina presenta una afinidad muy baja por su receptor y, por tanto, carece de actividad biológica^{5-7,9,10}. Para que se produzca la activación de la miostatina, el propéptido ha de separarse del dímero C-terminal que, una vez liberado, podrá unirse al receptor. Los datos existentes en la actualidad sugieren que la separación del propéptido se produce como consecuencia de su rotura por acción de metaloproteasas pertenecientes a la familia BMP-1/TLD (*bone morphogenetic protein-1/tolloid*)¹¹.

EL GEN *MST* SE EXPRESA PRINCIPALMENTE EN EL MÚSCULO ESQUELÉTICO

El gen *mst* se expresa de forma preferente en el tejido muscular esquelético en todas las especies investigadas, tanto durante el desarrollo embrionario como después del nacimiento^{1,2,12-14}. En el ratón, la presencia

TABLA 1. Contribución relativa de hipertrofia e hiperplasia al aumento de la masa muscular observado en los distintos tipos de ratones modificados genéticamente que se han generado para estudiar las acciones de la miostatina

Tipo de modificación genética	Mecanismo responsable del aumento de la masa muscular	Referencia
<i>Knockout</i> del gen <i>mst</i>	Fundamentalmente hiperplasia	1
Sobreexpresión del propéptido	Fundamentalmente hiperplasia	5
Sobreexpresión del propéptido	Fundamentalmente hiperplasia	20
Sobreexpresión de un dominante negativo de miostatina	Hipertrofia sin hiperplasia	19
Sobreexpresión de un dominante negativo de miostatina	Hiperplasia sin hipertrofia	21
Sobreexpresión de un dominante negativo del receptor de miostatina	Fundamentalmente hiperplasia	5
<i>Knockout</i> condicional del gen <i>mst</i> (inactivación en la etapa posnatal)	Fundamentalmente hipertrofia	28

de ARNm de miostatina puede detectarse ya en embriones de 9,5 días, aunque restringida a los somitas más desarrollados. Un día más tarde, el ARNm de miostatina ya puede detectarse en prácticamente todos los somitas localizado específicamente en el miotomo¹. La expresión del gen *mst* en el músculo esquelético continúa en el animal adulto, aunque los valores de expresión son muy variables entre los diferentes músculos^{1,2}. En ratas, la expresión del gen *mst* es mayor en los músculos con predominio de fibras lentas¹⁵, mientras que en humanos es similar en todos los tipos de fibras².

Aunque sus valores son mucho menores, se ha detectado también la presencia de ARNm de miostatina en el corazón¹⁶, el tejido adiposo¹, la glándula mamaria¹³ y las células hematopoyéticas¹⁷. También se ha descrito en hueso, aunque de forma transitoria, tras producirse una fractura¹⁸. El papel fisiológico que desempeña la miostatina en estas localizaciones no se conoce.

LA MIOSTATINA REGULA LA MASA MUSCULAR AL ACTUAR DIRECTAMENTE SOBRE LAS FIBRAS ESQUELÉTICAS

La principal acción de la miostatina es regular negativamente el desarrollo muscular, fundamentalmente durante el período de vida intrauterino. La demostración más clara del importante papel de la miostatina se obtuvo mediante la generación de ratones *knockout* en los que se eliminó completamente la región C-terminal de la molécula¹. Al carecer de una miostatina funcional, estos animales son un 30% más grandes que sus controles, debido a un espectacular incremento de su masa muscular (superior al 200%) que se produce fundamentalmente como consecuencia de un incremento en el número de fibras y, en menor medida, de un aumento del tamaño de éstas¹. Resultados similares se obtuvieron en ratones transgénicos en los que, en lugar de inactivar el gen *mst*, se induce la expresión de formas mutadas de miostatina o de proteínas que neutralizan la miostatina^{5,19-21}. Sin embargo, aunque en todos los casos el resultado es un aumento de la masa muscular, la contribución de hipertrofia e hiperplasia

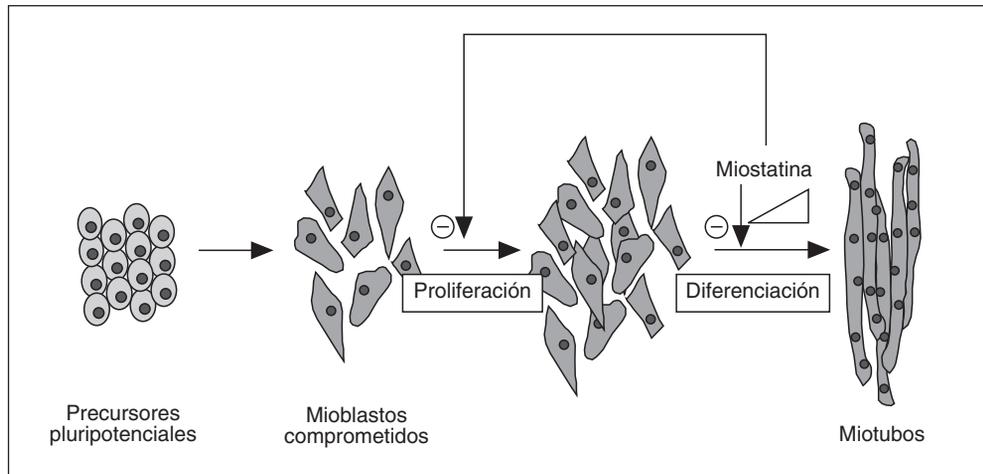
es variable en los diferentes modelos (tabla 1), lo que sugiere que las acciones de la miostatina pueden ser más complejas de lo que hoy en día se cree.

Las mutaciones del gen *mst* son también responsables de los casos de hipertrofia muscular que han aparecido espontáneamente en algunas cepas de ratones²² o en razas de ganado bovino como la Belga azul, la Piamontesa, la Asturiana de los valles o la Rubia gallega^{12,14,23}. Recientemente, se ha descrito una mutación que impide el correcto procesamiento del ARN de miostatina en un niño que presenta un marcado incremento de la masa y la fuerza muscular²⁴, lo que sugiere que la miostatina es también fundamental para la regulación de la masa muscular en nuestra especie.

Aunque la miostatina interviene también en la regulación de la masa muscular después del nacimiento e incluso en el animal adulto, su papel durante estos períodos de la vida está menos claro. Se ha propuesto que la miostatina podría impedir la activación y proliferación de las células satélites musculares y, de esta forma, inhibir la formación de nuevas fibras²⁵. De acuerdo con esto, en roedores, los valores de miostatina están incrementados en determinadas condiciones que llevan asociada una pérdida de masa muscular^{15,26,27}; mientras que tanto la inactivación posnatal del gen *mst* como la administración de anticuerpos anti-miostatina producen un aumento de la masa muscular^{28,29}. En humanos, los datos existentes acerca del papel de la miostatina durante el período de vida posnatal son escasos. Se ha visto que los valores de miostatina están aumentados en individuos que presentan pérdida de masa muscular secundaria a infección por el VIH², y que disminuyen en pacientes con hipopituitarismo tras tratamiento con GH³⁰. Por el contrario, en individuos ancianos los valores de miostatina no están incrementados, ni disminuyen en respuesta al tratamiento anabolizante^{31,32}.

Mediante estudios realizados *in vitro* ha podido demostrarse que los efectos de la miostatina se ejercen directamente sobre el músculo esquelético. Sobre este tejido la miostatina ejerce 3 efectos fundamentales: inhibe la proliferación^{3,4,33,34}, inhibe la diferenciación³⁴ y estimula la supervivencia celular³³. La capacidad de la miostatina de inhibir la proliferación de mioblastos *in vitro* está mediada, al menos en parte, por un aumento

Fig. 2. Papel de la miostatina en la regulación de la proliferación y la diferenciación de mioblastos. A medida que se produce la diferenciación miogénica, el aumento de la síntesis de miostatina establece un circuito autocrino/paracrino de retroalimentación negativa que inhibiría tanto la proliferación de los mioblastos como su diferenciación a miotubos.



de los valores de p21^{3,33} que, a su vez, inhibirían la actividad de los complejos ciclina E-Cdk2. Como consecuencia de la disminución de la actividad de estos complejos, se produciría una inactivación de Rb y parada celular en G1. Sin embargo, la miostatina es también capaz de inhibir la proliferación en células RD (una línea celular derivada de rhabdomiosarcoma) sin que se produzcan cambios en los valores de p21 ni en el estado de fosforilación de Rb³⁵, lo que sugiere que existen otras vías a través de las cuales la miostatina puede inhibir la proliferación celular.

En segundo lugar, la miostatina inhibe la diferenciación de mioblastos a miotubos a través de una disminución de los valores de miogenina y myoD, 2 de los principales factores de transcripción miogénicos³⁴. Este doble efecto de la miostatina sobre la proliferación y la diferenciación de mioblastos permite establecer un modelo en el que la miostatina inhibiría la formación de músculo al actuar de 2 formas: inhibe la proliferación de mioblastos e inhibe la transformación en miotubos de los mioblastos existentes (fig. 2).

Por último, aunque inicialmente se asumió que la miostatina estimulaba el catabolismo muscular al inducir apoptosis y pérdida de proteínas, actualmente se sabe que la miostatina actúa, en realidad, como un factor de supervivencia durante el proceso de transformación de mioblastos en miotubos³³. Este proceso requiere la salida irreversible del ciclo celular y la adquisición de un fenotipo resistente a la apoptosis mediado, al menos en parte, por un aumento de la síntesis de p21³³.

¿EXISTE UN RECEPTOR ESPECÍFICO DE MIOSTATINA?

El mecanismo mediante el que la miostatina ejerce sus acciones es similar al del resto de los miembros de la familia del TGF-β, y depende de la formación de complejos tetraméricos formados por 2 receptores tipo

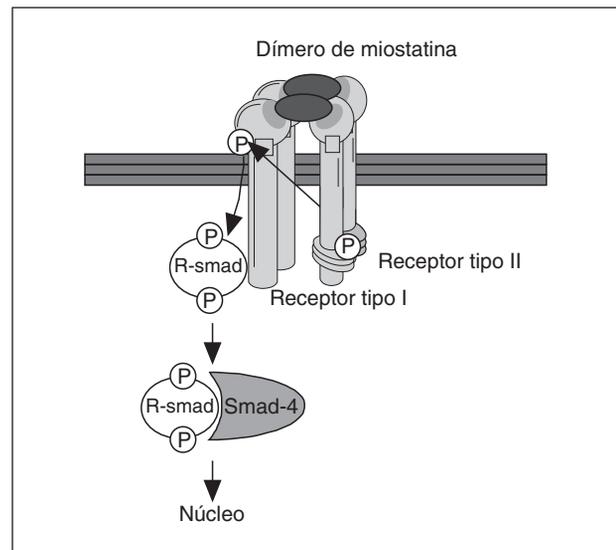


Fig.3. Mecanismo de señalización de la miostatina. El receptor de miostatina está constituido por 2 moléculas de ActRIIB y 2 de ALK4. La unión del dímero de miostatina al receptor determinará la fosforilación del propio receptor y de sus smads asociadas. Una vez fosforiladas, estas R-smads se unirán a smad-4, y formarán un complejo que se traslada al núcleo.

II y 2 tipo I^{36,37}. En la mayor parte de los casos, el ligando se une a los receptores tipo II y posteriormente se reclutan los receptores tipo I. La formación de este complejo permite que el receptor tipo II fosforile al receptor tipo I en una serie de residuos de serina y de treonina. Una vez fosforilado, el receptor tipo I activa su dominio cinasa, lo que le permite fosforilar (también en residuos de serina y treonina) a unas proteínas intracelulares denominadas smads reguladas por receptores (R-smads). Una vez fosforiladas, las R-smads forman un heterodímero con smad-4 (una smad no regulada por receptores) y se trasladan al núcleo, donde regularán la transcripción de genes diana (fig. 3).

Una de las principales características del sistema de señalización de los miembros de la familia del TGF- β es que el número de receptores es mucho menor que el de ligandos. Hasta el momento se han identificado únicamente 7 receptores de tipo I y 5 de tipo II y, lo más probable, es que la lista sea definitiva. Si tenemos en cuenta que las posibles combinaciones entre ellos son limitadas³⁸ y que existen más de 30 ligandos pertenecientes a la familia del TGF- β , resulta evidente que ligandos diferentes han de compartir el mismo par de receptores.

En el caso de la miostatina, sus acciones se ejercen a través de una pareja de receptores formada por ActRIIB (*activin receptor IIB*) y ALK4 (*activin-like kinase 4*) que es la pareja de receptores utilizada también por la activina. Los datos relativos a la participación de ActRIIB son claros y proceden de 3 tipos de evidencias. En primer lugar, los residuos de miostatina implicados en la unión al receptor presentan unos valores con similitud fisicoquímica (estimados en función del valor de las distancias fisicoquímicas de Grantham) similares a los de otros miembros de la familia del TGF- β que se unen a los receptores ActRIIA/ActRIIB³⁹. En segundo lugar, la miostatina es capaz de unirse al receptor ActRIIB *in vitro*, tanto en estudios de radioreceptor ensayo como en estudios de *crosslinking*^{5,40}. Por último, los ratones transgénicos que sobreexpresan una variante mutada de ActRIIB que se comporta como un dominante negativo, presentan un incremento de la masa muscular similar al observado en los ratones *knockout* de miostatina⁵. La miostatina también es capaz de unirse al receptor ActRIIA, pero con menor afinidad, por lo que se considera que este receptor no desempeña un papel importante en su mecanismo de señalización⁵.

En el caso de ALK4, los datos que sugieren su participación se basan, en primer lugar, en que la miostatina ejerce sus acciones induciendo la fosforilación de R-*smad-2* y R-*smad-3*^{7,40}. Al igual que ocurría con la combinación entre receptores tipo I y tipo II, la incorporación de R-*smads* al complejo no es aleatoria, sino que sigue unos patrones definidos, de forma que ALK4 es el único receptor tipo I capaz de asociarse a ActRIIB e inducir la fosforilación de *smad-2/3*³⁹. La participación de ALK4 en la señalización de miostatina también se ha demostrado experimentalmente⁴⁰ al comprobarse que, en presencia de ActRIIB, la miostatina es capaz de unirse a ALK4 *in vitro*. Sorprendentemente, y pese a que no se han descrito hasta el momento complejos de señalización en los que participen ActRIIB y ALK5, la miostatina también es capaz de unirse a este último *in vitro*⁴⁰.

LA MIOSTATINA REGULA LA MASA MUSCULAR AL ACTUAR DE FORMA AUTOCRINA/PARACRINA

Desde el momento de su caracterización, la miostatina se consideró como una chalonga, es decir, una proteí-

na que, tras sintetizarse en el músculo, circularía en sangre y actuaría, de forma dependiente de concentración, como un regulador negativo de la masa muscular^{1,41}. Sin embargo, aunque está claro que la miostatina se produce en el músculo y actúa directamente sobre las células musculares, no existe ningún dato que demuestre que la miostatina es capaz de actuar de forma endocrina. De hecho, la mayoría de los resultados existentes en la actualidad sugieren que la miostatina circulante es inactiva^{7,9,10}, por lo que sus acciones se ejercerían únicamente de forma autocrina/paracrina.

La inactivación de la miostatina circulante se produce por su asociación a una serie de proteínas transportadoras que impiden su unión al receptor^{2,9,10,42}. La principal proteína transportadora de miostatina, desde el punto de vista cuantitativo, es el propéptido N-terminal. Más del 70% de la miostatina circulante está unida a él, y forma un complejo latente que impide la unión al receptor⁹. En menor medida, la miostatina circula unida a otras 2 proteínas: FSRP (*folistatin related protein*) y GASP-1 (*GDF-associated serum protein-1*). La FSRP no es una proteína transportadora específica de miostatina, ya que también es capaz de unirse a otros miembros de la familia del TGF- β como la activina y diversos BMP⁴³. En todos los casos (incluida la miostatina) la unión de la FSRP es prácticamente irreversible e impide la acción del ligando^{9,43,44}. Por el contrario, GASP-1 no tiene afinidad por otros miembros de la familia del TGF- β , pero sí es capaz de unirse al propéptido de miostatina, si bien el significado funcional de esta interacción no se conoce¹⁰.

Un segundo mecanismo que impide que la miostatina actúe de forma sistémica depende de la folistatina (FS) que también es capaz de unirse a la miostatina y dar lugar a la formación de un complejo inactivo^{42,45,46}. La importancia de la FS en la regulación de la actividad de la miostatina es tal que los ratones transgénicos que sobreexpresan FS en el músculo presentan un fenotipo similar (e incluso más acentuado) al de los ratones *knockout* de miostatina⁵. Sin embargo, pese a que la FS circula en plasma, no ha podido detectarse la presencia de miostatina circulante unida a FS⁹, por lo que se cree que la FS podría actuar directamente en el músculo, y regular la accesibilidad de la miostatina a su receptor. De hecho, una de las principales diferencias entre FS y FLRP es que la primera presenta secuencias con afinidad por la heparina que no existen en la segunda y que permiten que la FS producida en el músculo pueda anclarse a los proteoglicanos de la matriz extracelular. De esta forma, al igual que se ha descrito en otros tipos celulares⁴⁷, las moléculas de FS formarían una "barrera" que dificultaría el paso de moléculas de miostatina activa a la circulación.

Dado que la miostatina comparte su pareja de receptores con la activina, estos mecanismos encargados de evitar que actúe de forma sistémica resultan de gran importancia, ya que una miostatina circulante biológicamente activa no actuaría únicamente sobre el músculo, sino sobre todos los tejidos que expresen Ac-

tRIB/ALK4, con lo que perdería su carácter de regulador específico de la masa muscular. Estos sistemas de control son tan eficaces que son incluso capaces de evitar que la miostatina actúe de forma sistémica cuando se sobreexpresa de forma específica en células musculares⁴⁸. Así, los ratones transgénicos en los que el gen *mst* se expresa bajo el control de un promotor específico de músculo esquelético presentan una disminución de la masa muscular, pero no se observan en ellos efectos derivados de la activación ActRIB/ALK4 en otros tejidos. Por el contrario, cuando la miostatina se sobreexpresa de forma ectópica (mediante la implantación de tumores productores de miostatina) se origina un severo cuadro de caquexia⁴², similar al que se observa en ratones tratados con actina⁴⁹ y que, probablemente, es consecuencia de la activación sistémica de ActRIB/ALK4.

OTRAS ACCIONES DE LA MIOSTATINA

Aunque la miostatina se expresa también en el corazón¹⁶, su función en este órgano no se conoce. De hecho, aunque existe expresión del gen *mst* en los cardiomiocitos, ésta es mayor en las fibras de Purkinje sin que se conozca tampoco su significado funcional. Dado que la expresión del gen *mst* en el corazón comienza ya durante el período fetal, se ha propuesto que la miostatina podría participar en el desarrollo cardíaco¹⁶. Sin embargo, no se han descrito alteraciones cardíacas en los ratones *knockout* para el gen *mst*¹. Tampoco parece alterar el desarrollo cardíaco la sobreexpresión del gen *mst* en cardiomiocitos, y únicamente se ha descrito una disminución del tamaño del corazón en los ratones macho, mientras que las hembras transgénicas presentan un corazón de tamaño normal⁴⁸. Tras un infarto de miocardio, la expresión de miostatina aumenta de forma considerable en los cardiomiocitos que rodean el área infartada, por lo que se ha propuesto que la miostatina estaría implicada en el proceso de recuperación postinfarto¹⁶.

Aunque el tejido adiposo es, después del muscular, el principal lugar de síntesis de miostatina, las acciones de la miostatina producida en los adipocitos parecen ser de escasa importancia. *In vitro*, la miostatina inhibe la diferenciación de los preadipocitos, lo que indica que ejerce un efecto inhibitorio sobre la adipogénesis^{40,50}. Sin embargo, este efecto no se manifiesta *in vivo*, debido a la mayor importancia de las acciones de la miostatina sobre el tejido muscular. Así, la inactivación *in vivo* del gen *mst* se acompaña de una disminución de la adipogénesis^{1,51}, ya que el gran aumento del anabolismo muscular determina un incremento del consumo energético que impide la acumulación de grasa⁵¹. Este efecto es tan marcado que la ausencia de miostatina es incluso capaz de disminuir la obesidad en ratones *A^y* (*agouti lethal yellow*) y *Lep^{ob/ob}*⁵¹. De forma similar, en ratones transgénicos para el gen *mst*, el exceso de miostatina produce una disminución del

anabolismo muscular y, secundariamente, un aumento de la adiposidad⁴⁸.

Por último, el papel de la miostatina en la glándula mamaria, células hematopoyéticas y tejido óseo no se ha analizado en profundidad. En el primer caso, se ha propuesto que podría regular el desarrollo glandular y/o la lactogénesis¹³; mientras que en el caso de las células hematopoyéticas, la miostatina podría estar implicada en la regulación de procesos de diferenciación o supervivencia celular¹⁷. En el caso del tejido óseo, aunque se ha visto que la inactivación del gen *mst* produce un incremento de la masa ósea en ratones^{52,53} lo más probable es que se trate de un efecto indirecto, consecuencia del aumento de la masa muscular¹⁸.

APLICACIONES CLÍNICAS DE LA MIOSTATINA

La utilidad clínica de la miostatina está claramente limitada por el hecho de que su principal acción es reducir la masa muscular (o impedir su desarrollo). Se ha propuesto que la miostatina podría utilizarse en el tratamiento de sarcomas ya que, como ya mencionamos anteriormente, la miostatina es capaz de inhibir el crecimiento de células de rhabdomyosarcoma (RD) *in vitro*³⁵. Sin embargo, las concentraciones necesarias para conseguir este efecto son muy elevadas lo que limitaría su utilidad *in vivo*. Además, las células RD expresan miostatina pese a lo cual son capaces de proliferar, lo que no encaja con la visión de la miostatina como un inhibidor del crecimiento tumoral.

Lo que sí puede ser de utilidad en la clínica es bloquear los efectos de la miostatina en las situaciones en las que es necesario potenciar el anabolismo muscular, como ocurre en determinadas distrofias musculares, en la caquexia que acompaña los estadios finales de procesos del cáncer o el sida o, incluso, durante el envejecimiento⁴¹. Aunque estas posibles aplicaciones no se han ensayado todavía en humanos, los resultados obtenidos en ratones demuestran que la inactivación de la miostatina durante el período posnatal produce un marcado aumento de la masa muscular^{28,29}. Este efecto se manifiesta incluso en ratones *mdx*, un modelo de distrofia muscular de Duchenne en los que, como consecuencia de una mutación en el gen que codifica la distrofina, se produce una degeneración de las fibras musculares esqueléticas que son reemplazadas por tejido conectivo. En estos animales el bloqueo de la miostatina es capaz de incrementar la masa muscular y reducir los signos de degeneración y las alteraciones patológicas características de la distrofia, lo que abre nuevas esperanzas para el tratamiento de esta enfermedad en humanos⁵⁴⁻⁵⁶.

En segundo lugar, el bloqueo de la miostatina puede ser útil para la prevención y el tratamiento de la obesidad y de la diabetes mellitus tipo 2⁴¹. Como ya comentamos anteriormente, el aumento del anabolismo

muscular secundario al bloqueo de la miostatina produce una marcada disminución de la adiposidad que es, incluso, capaz de disminuir la obesidad en ratones *A^y* y *Lep^{ob/ob}*⁵¹. Aunque este tipo de tratamiento todavía no se ha experimentado en humanos, la alta incidencia de estas patologías en nuestro medio hace que ésta sea una de las líneas de investigación que está suscitando un mayor interés en la actualidad.

Por último, y más allá del ámbito estrictamente médico, el bloqueo de las acciones de la miostatina está comenzando a utilizarse para aumentar la masa muscular en algunos deportistas, e incluso es posible encontrar en Internet decenas de compañías que ofrecen productos “antimiostatina”. Sin embargo, la eficacia de los productos ofrecidos es muy dudosa, por lo que no cabe esperar ninguna consecuencia de su utilización.

De hecho, el principal problema que existe en la actualidad es que todavía no disponemos de un sistema que permita bloquear de forma segura y eficaz las acciones de la miostatina en humanos. Una de las opciones, utilizada con éxito en ratones, es la administración sistémica de anticuerpos antimiostatina^{29,55}. Sin embargo, esta opción no parece recomendable en humanos, por los problemas a medio y largo plazo que podría ocasionar. Una segunda posibilidad sería la utilización de inhibidores de metaloproteasas con el fin de impedir el procesamiento (y, por tanto, la activación) de la miostatina¹¹. Algunos de estos inhibidores ya se han empleado en estudios *in vitro*, en los que se ha demostrado su capacidad de inhibir la activación de la miostatina y de estimular la proliferación de mioblastos⁵⁶. Sin embargo, al igual que ocurría con los anticuerpos, su efectos secundarios limitarían su utilización *in vivo*.

Por último, es posible bloquear las acciones de la miostatina mediante la administración del propéptido. *A priori* ésta sería la estrategia más adecuada al tratarse de un tratamiento específico y (en teoría) con menos efectos secundarios. En ratones transgénicos la sobreexpresión del propéptido bloquea de forma eficaz las acciones de la miostatina, y da lugar a un marcado aumento de la masa muscular y una disminución de la adiposidad⁵. Por el momento, no existe ningún estudio clínico sobre el efecto de la administración del propéptido en humanos.

BIBLIOGRAFÍA

1. McPherron AC, Lawler AM, Lee S-J. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF- β superfamily member. *Nature*. 1997;387:83-90.
2. González-Cadaviz NF, 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.

3. Thomas M, Langley B, Berry C, Sharma M, Kirk S, Bass J, et al. Myostatin, a negative regulator of muscle growth, functions by inhibiting myoblast proliferation. *J Biol Chem*. 2000;275:40235-43.
4. Taylor WE, Bhasin S, Artaza J, Byhower F, Azam M, Willard DH, et al. Myostatin inhibits cell proliferation and protein synthesis in C2C12 muscle cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001;280:E221-8.
5. Lee S-J, McPherron AC. Regulation of myostatin activity and muscle growth. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98:9306-11.
6. Thies RS, Chen T, Davies MV, Tomkinson KN, Pearson AA, Shakey QA, et al. GDF-8 propeptide binds to GDF-8 and antagonizes biological activity by inhibiting GDF-8 binding. *Growth Factors*. 2001;18:251-9.
7. Ríos R, Fernández-Nocelo S, Carneiro I, Arce VM, Devesa J. Differential response to exogenous and endogenous myostatin in myoblasts suggests that myostatin acts as an autocrine factor in vivo. *Endocrinology*. 2004;145:2795-803.
8. Thomas G. Furin at the cutting edge: from protein traffic to embryogenesis and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002;3:753-66.
9. Hill JJ, Davies MV, Pearson AA, Wang JH, Hewick RM, Wolfman NM, et al. The myostatin propeptide and the follistatin-related gene are inhibitory binding proteins of myostatin in normal serum. *J Biol Chem*. 2002;277:40735-41.
10. Hill JJ, Quiu Y, Hewick RN, Wolfman NM. Regulation of myostatin in vivo by GASP-1: a novel protein with protease inhibitor and follistatin domains. *Mol Endocrinol*. 2003;17:1144-54.
11. Wolfman NM, McPherron AC, Pappano WN, Davies MV, Song K, Tomkinson KN, et al. Activation of latent myostatin by the BMP-1/tolloid family of metalloproteases. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100:15842-6.
12. Grobet L, Royo-Martin LJ, Poncelet D, Pirottin D, Brouwers B, Riquet J. A deletion in the myostatin gene causes double-muscling in cattle. *Nat Genet*. 1997;17:71-4.
13. Shaoquan JI, Losinski RL, Cornelius SG, Frank GR, Willis GM, Gerrard DE, et al. Myostatin expression in porcine tissues: tissue specificity and development and postnatal regulation. *Am J Physiol*. 1998;275:R1265-73.
14. Kocamis H, Killefer J. Myostatin expression and possible functions in animal muscle growth. *Domestic Animal Endocrinology*. 2002;23:447-54.
15. Sakuma K, Watanabe K, Sano M, Uramoto I, Totsuka T. Differential adaptation of GDF8/miostatin, FGF6 and leukaemia inhibitory factor in overloaded, regenerating and denervated rat muscles. *Biochem Biophys Acta*. 2000;1497:77-88.
16. Sharma M, Kambadur R, Matthews KG, Somers WG, Devlin GP, Conaglen JV, et al. Myostatin, a transforming growth factor- β superfamily member, is expressed in heart muscle and is upregulated in cardiomyocytes after infarct. *J Cell Physiol*. 1999;180:1-9.
17. Fernández S, Ríos R, Arce V, Díaz JA, Alonso N, Pérez M, et al. Myostatin (GDF-8) is expressed in human myeloid leukemia cells. En: *Proceedings from the 7th Annual Meeting of the European Haematological Association*. Bologna: Moduzzi Editore; 2002. p. 323-6.
18. Cho T, Gerstenfeld LC, Einhorn TA. Differential expression of members of the transforming growth factor β superfamily during murine fracture healing. *J Bone Miner Res*. 2002;17:513-20.
19. 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.
20. Yang J, Ratovitski T, Brady JP, Solomon MB, Wells KD, Wall RJ. Expression of myostatin pro domain results in muscular transgenic mice. *Mol Reprod Dev*. 2001;60:351-61.
21. Nishi M, Yasue A, Nishimatu S, Nohno T, Yamaoka T, Itakura M, et al. A missense mutant myostatin causes hyperplasia without hypertrophy in the mouse muscle. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;293:247-51.

22. Szabo G, Dallman G, Muller G, Patthy L, Soller M, Varga L. A deletion in the myostatin gene causes the compact (cmpt) hypermuscular mutation in mice. *Mamm Genome*. 1998;9:671-2.
23. Grobet L, Poncelet D, Royo Martin LJ, Brouwers B, Pirottin D, Michaux C, et al. Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double-muscling in cattle. *Mamm Genome*. 1998;9:210-3.
24. Schuelke M, Wagner KR, Stolz LE, Hübner C, Riebel T, Kören W, et al. Myostatin mutation associated with gross muscle hypertrophy in a child. *N Engl J Med*. 2004;350:2682-8.
25. McCroskery S, Thomas M, Maxwell L, Sharma M, Kambadur R. Myostatin negatively regulates satellite cell activation and self-renewal. *J Cell Biol*. 2003;162:1135-47.
26. Kirk S, Oldham J, Kambadur R, Sharma M, Dobbie P, Bass J. Myostatin regulation during skeletal muscle regeneration. *J Cell Physiol*. 2000;184:356-66.
27. Ma K, Mallidis C, Bhasin S, Mahabadi V, Artaza J, González-Cadavid N, et al. Glucocorticoid-induced skeletal muscle atrophy is associated with upregulation of myostatin gene expression. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003;285:E363-71.
28. Grobet L, Pirottin D, Farnir F, Poncelet D, Royo JL, Brouwers B, et al. Modulating skeletal muscle mass by postnatal muscle-specific inactivation of the myostatin gene. *Genesis*. 2003;35:227-38.
29. Whittemore LA, Song K, Li X, Aghajani J, Davies M, Gingenrath S, et al. Inhibition of myostatin in adult mice increases skeletal muscle mass and strength. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003;300:965-71.
30. Liu W, Thomas SG, Asa SL, González-Cadavid N, Bhasin S, Ezzat S. Myostatin is a skeletal muscle target of growth hormone anabolic action. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:5490-6.
31. Marcell TJ, Harman M, Urban RJ, Metz DD, Rodgers BD, Blackman MR. Comparison of GH, IGF-I, and testosterone with mRNA of receptors and myostatin in skeletal muscle in older men. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2001;281:E1159-64.
32. Brill KT, Weltman AL, Gentili A, et al. Single and combined effects of growth hormone and testosterone administration on measures of body composition, physical performance, mood, sexual function, bone turnover, and muscle gene expression in healthy older men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:5649-57.
33. Ríos R, Carneiro I, Arce VM, Devesa J. Myostatin regulates cell survival during C2C12 myogenesis. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;280:561-6.
34. Ríos R, Carneiro I, Arce VM, Devesa J. Myostatin is an inhibitor of myogenic differentiation. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2002;282:C993-9.
35. Langley B, Thomas M, McFarlane C, Gilmour S, Sharma M, Kambadur R. Myostatin inhibits rhabdomyosarcoma cell proliferation through an Rb-independent pathway. *Oncogene*. 2004;23:524-34.
36. Massague J. TGF- β signal transduction. *Annu Rev Biochem*. 1998;67:753-91.
37. Attisano L, Wrana JL. Signal transduction by the TGF- β superfamily. *Science*. 2002;296:1646-7.
38. Ríos R. Regulación de la miogénesis por miostatina [tesis doctoral]. Santiago de Compostela: Servicio de Publicaciones de la Universidad de Santiago de Compostela; 2002.
39. Ríos R, Arce VM, Devesa J. Myostatin and the regulation of skeletal muscle development. *Recent Res Devel Endocrinol*. 2001;2:143-51.
40. Rebbapragada A, Benchabane H, Wrana JL, Celeste AJ, Attisano L. Myostatin signals through a transforming growth factor β -like signaling pathway to block adipogenesis. *Mol Cell Biol*. 2003;23:7230-42.
41. Lee S-J. Regulation of muscle mass by myostatin. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2004;20:61-86.
42. Zimmers TA, Davies MV, Koniaris LG, Haynes P, Esquela AF, Tomkinson KN, et al. Induction of cachexia in mice by systemically administered myostatin. *Science*. 2002;296:1486-8.
43. Tsuchida K, Arai KY, Kuramoto Y, Yamakawa N, Hasegawa Y, Sugino H. Identification and characterization of a novel follistatin-like protein as a binding protein for the TGF- β family. *J Biol Chem*. 2000;275:40788-96.
44. Scheneyer A, Tortoriello DV, Holmes WE, Pan Y, Keutmann HT, Scheneyer AL. Follistatin-related protein (FSRP): a new member of the follistatin gene family. *Mol Cell Endocrinol*. 2001;180:33-8.
45. Shimasaki S, Koga M, Esch F, Cooksey K, Mercado M, Koba A, et al. Primary structure of the human follistatin precursor and its genomic organization. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1988;85:4218-22.
46. Phillips DJ, De Krester DM. Follistatin: a multifunctional regulatory protein. *Front Neuroendocrinol*. 1998;19:287-322.
47. Delbaere A, Sidis Y, Scheneyer AL. Differential response to exogenous and endogenous activin in a human ovarian teratocarcinoma-derived cell line (PA-1): regulation by cell surface follistatin. *Endocrinology*. 1998;140:2463-70.
48. Reisz-Porszasz S, Bhasin S, Artaza JN, Shen R, Sinha-Hikim I, Hogue A, et al. Lower skeletal muscle mass in male transgenic mice with muscle-specific overexpression of myostatin. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2003;285:E876-88.
49. Coerver KA. Activin signaling through activin receptor type II causes the cachexia-like symptoms in inhibin-deficient mice. *Mol Endocrinol*. 1996;10:534-43.
50. Kim HS, Liang L, Dean RG, Hausman DB, Hartzell DL, Baile CA. Inhibition of preadipocyte differentiation by myostatin treatment in 3T3-L1 cultures. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;281:902-6.
51. McPherron AC, Lee SJ. Suppression of body fat accumulation in myostatin-deficient mice. *J Clin Invest*. 2002;109:595-601.
52. Hamrick MW, McPherron AC, Lovejoy CO. Bone mineral content and density in the humerus of adult myostatin-deficient mice. *Calcif Tissue Int*. 2002;71:63-8.
53. Hamrick MW, Pennington C, Byron CD. Bone architecture and disc degeneration in the lumbar spine of mice lacking GDF-8 (myostatin). *J Orthop Res*. 2003;21:1025-32.
54. Wagner KR, McPherron AC, Winik N, Lee S-J. Loss of myostatin attenuates severity of muscular dystrophy in mdx mice. *Ann Neurol*. 2002;52:832-6.
55. Bogdanovich S, Krag TOB, Barton ER, Morris LD, Whittemore LA, Ahima RS, et al. Functional improvement of dystrophic muscle by myostatin blockade. *Nature*. 2002;420:418-21.
56. Bogdanovich S, Perkins KJ, Krag TOB, Khurana TJ. Therapeutics for Duchenne muscular dystrophy: current approaches and future directions. *J Mol Med*. 2004;82:102-15.
57. Huet C, Li Z-F, Liu H-Z, Black RA, Galliano M-F, Engvall E. Skeletal muscle hypertrophy induced by inhibitors of metalloproteases; myostatin as a potential mediator. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2001;281:C1624-34.