

# Musculatura dupla: II - Deteminação genética

C. Salviano Teixeira<sup>1</sup>, D.A. Andrade de Oliveira, C.R. Quirino<sup>2</sup>

Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais. Av. Antonio Carlos, 6627 Belo Horizonte-MG 30161-970 Brasil

---

## Double muscling II. - Genetic determination

**ABSTRACT.** Mutations in the myostatin gene that increase muscle mass, characterize double muscling or muscular hypertrophy phenotype in some cattle breeds. Despite a caveat relative to calving ease, carcass of these animals are considered superior, resulting in higher meat yield, higher proportion of expensive meat cuts and lean and tender meat, and are being used in production systems worldwide. The ability to identify carriers of the mutation has been decisive in selecting animals for meat production systems. The mutation was identified in other species of economic interest, such as sheep, making possible new approaches to research and strategies to improve production systems.

Key words: Beef cattle, double-muscling, genetic markers, myostatin

---

© 2006 ALPA. Todos los derechos reservados

Arch. Latinoam. Prod. Anim. 2006. Vol. 14 (1): 17-23

**RESUMO.** Em algumas raças bovinas têm sido observadas mutações no gene da miostatina que afetam a massa muscular, determinando o fenótipo musculatura dupla ou hipertrofia muscular. Apesar de certas limitações relacionadas à dificuldade de parto, as carcaças destes animais são consideradas superiores, resultando em maior produção de carne, maior proporção de cortes nobres e carne mais macia e magra, e vêm sendo empregadas em sistemas de produção de carne em todo o mundo. A possibilidade de identificar genótipos de animais portadores das mutações tem contribuído de forma decisiva em programas de seleção. Mutações foram identificadas também em outras espécies de interesse econômico, como ovinos, possibilitando o desenvolvimento de novas pesquisas e estratégias para melhorar a produção.

Palavras-chave: Bovinos, miostatina, marcadores genéticos, musculatura dupla

## Introdução

Desde a descoberta de nucleotídeos repetitivos nas espécies eucarióticas, o estudo e construção dos mapas genéticos têm revolucionado a ciência. Os microssatélites têm sido usados como marcadores, visto que estão bem distribuídos no genoma, mostrando ser ferramenta apropriada para detectar ligações entre marcadores e genes controlando a produção, doenças ou características importantes ou indesejáveis. Os marcadores podem ser utilizados como ferramenta auxiliar na seleção de animais superiores, em testes para identificação, paternidade ou caracterização de recursos genéticos.

A musculatura dupla ou hipertrofia muscular é condição hereditária em algumas raças bovinas. Animais que exibem musculatura dupla em grau extremo, apresentam todos os músculos do corpo aumentados. A carcaça tem quantidade reduzida de gordura, tanto subcutânea como intermuscular. Muitos consideram que estes animais possuem carcaças ideais, uma vez que a forma do corpo corresponde à conformação que caracteriza o tipo "corte". A expressão do fenótipo desta condição é va-

riada e deve estar ligada ao tipo de herança. Algumas características passam despercebidas pelos proprietários, que, geralmente, reconhecem somente os casos mais pronunciados de hipertrofia muscular.

Em outras espécies, tais como camundongos, ovinos, suínos e aves, também se observam o aumento na massa muscular, atribuídos à mutação no gene da miostatina. Análises moleculares têm mostrado que o fenótipo musculatura dupla é causado por mutações nesse gene que levam a alterações na sua função de regulação da miogênese.

As raças mais estudadas e que apresentam o fenótipo da musculatura dupla são: Belgian Blue e Piemontesa, além de outras como a Asturiana de los Valles, Maine Anjou, Charolesa, Limousin, Parthenaise e Rubea Gallega. O tipo de mutação varia entre as raças. Recentemente, foi descrita, na Itália, a mutação que determina a musculatura dupla em animais da raça Marchigiana.

O objetivo deste trabalho é descrever a caracterização molecular da musculatura dupla em bovinos, como age a miostatina nesta espécie e em outras de interesse econômico e quais os avanços na identificação molecular desta condição em outras raças e espécies.

---

Recibido: 07-06-05 Aceptado: 22-11-05

<sup>1</sup>E-mail: clasalt@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Estadual Norte Fluminense, Rio de Janeiro, Brasil

### Herança genética

Diferentes evidências têm permitido concluir que a musculatura supra é controlada por um gene, que causa efeitos fisiológicos semelhantes em todas as raças que expressam a condição (Arthur, 1995). Anteriormente, havia muita controvérsia no que se refere à determinação genética e o modo de herança desta característica. Nos anos 20, Wriedt (1929), propôs que a determinação genética da hipertrofia muscular era monogênica. Kronacher (1934) contestou esta hipótese, e sugeriu um modelo poligênico, com envolvimento de três genes, nos quais dois genes controlavam a expressão da característica e variabilidade e outro a expressão ou super-expressão da característica. Um modelo com dois genes, com nove possibilidades de genótipos expressados em quatro fenótipos, foi proposto por Sopena Quesada e Blanco Cachafeiro (1971). Com o aumento das pesquisas, hoje muitos pesquisadores concordam que um único gene autossômico está envolvido na herança da musculatura dupla (Oliver e Cartwright, 1968; Logeay e Vissac, 1970; Rollins *et al.*, 1972; Hanset e Michaux, 1985, 1985b). Quanto ao modo de ação gênica, também não havia concordância. Alguns pesquisadores (Wriedt, 1929; Raimondi, 1965; Logeay e Vissac, 1970) acreditam que o gene para musculatura dupla age como dominante outros (Kieffer *et al.*, 1972; Rollins *et al.*, 1972; Hanset e Michaux, 1985a, 1985b) acreditam que o gene é recessivo. Outras possibilidades de atuação gênica referem-se à dominância parcial, recessividade incompleta, penetrância incompleta e gene modificador de algum tipo (Arthur, 1995). Variabilidade na expressão da hipertrofia muscular tem sido descrita por muitos pesquisadores. Hanset e Michaux (1985b), descreveram que, de acasalamentos recíprocos animais com musculatura dupla (DM) e normais (N), a porcentagem da progênie exibindo o caráter DM era de 86% para acasalamentos DM x DM, 42% para DM x N, 49% para N x DM e 24% para N x N. Porcentagens correspondentes foram descritas por Arthur *et al.* (1989) sendo de 77%, 45%, 47% e 4%, respectivamente. Portanto, algumas progênies de acasalamentos DM x DM, não exibem características da síndrome, enquanto as características das progênies dos acasalamentos de DM x N e N x DM, apresentam variação de musculatura, de normal à extremamente pesada. Existe, também, variabilidade na expressão do caráter DM durante o tempo de vida de alguns animais (Oliver e Cartwright, 1968). Alguns pesquisadores afirmam que a musculatura dupla pode ser observada no feto e ao nascimento (Ashmore *et al.*, 1974; Swatland e Kieffer, 1974; Ansay, 1976), enquanto outros afirmam que isso ocorre várias semanas após o nascimento (Lavin Arenas, 1964; Rollins *et al.*, 1972). A expressividade da musculatura dupla também é influenciada pela raça, nutrição e sexo (Méniessier, 1982).

Como citado anteriormente, a identificação de animais com DM era baseada em avaliação subjetiva da musculatura (grau de hipertrofia), presença de ranhuras intermusculares e outras características externas associadas à síndrome, tais como inclinação pélvica e maior ponto de ligação da cauda. *Pedigrees* podem ser usados na

avaliação. Sistemas de contagem/escore semi-objetivos têm sido desenvolvidos, tais como o uso de perfis padronizados (Rollins, 1967; Goyache *et al.*, 1996), calculando índices (Rollins *et al.*, 1972), escores cumulativos, baseados na expressão de certas características (Vissac *et al.*, 1973) ou combinação de algumas características de carcaça com medidas bioquímicas (Hanset & Michaux, 1985 a, b). Os métodos de identificação disponíveis até recentemente, eram acurados somente na classificação de animais extremos (normal e musculatura dupla).

Mais recentemente, com o avanço dos projetos de mapeamento genômico, foi possível identificar um gene candidato para hipertrofia muscular em bovinos, que foi mapeado no cromossomo 2 (BTA2) e chamado de locus *mh* (Charlier *et al.*, 1995; Dunner *et al.*, 1997; Casas *et al.*, 1998). Em 1997, McPherron & Lee, determinaram a causa da anomalia que os criadores já vinham observando desde o início do século XVIII. Os autores identificaram um fator de crescimento da família TGF- $\beta$  (*Transcription Growing Factor-beta* - fatores de crescimento beta), que chamaram de miostatina ou GDF-8 (*Growth Differentiation Factor 8*). Desde então, vêm sendo identificados marcadores que permitem a detecção dos indivíduos portadores, normais e afetados, facilitando a tarefa, tanto da introdução controlada do gene, como da eliminação de populações com o gene ou manutenção de outras completamente livres deste gene (Goyache *et al.*, 1996; Karim, *et al.*, 2000).

### Fatores de Crescimento

Os organismos superiores são formados por muitos tipos de células, cujo crescimento, desenvolvimento e função são delineados conforme o papel que irão desempenhar nos tecidos ou órgãos e no organismo como um todo. As células são reguladas por sinais intercelulares específicos, controlando o crescimento e desenvolvimento, que são iniciados por uma cascata de eventos ocasionando uma resposta nas células (Lee e McPherron, 1999; Kocamis e Killefer, 2002).

Fatores ou hormônios de crescimento são tipicamente sintetizados por células, que afetam a função de outras células e delas próprias. Os fatores de crescimento são efetivos em pequenas concentrações e têm alta afinidade por seus receptores nas células-alvo. Para cada tipo de fator de crescimento existe um receptor correspondente na membrana ou núcleo celular. Esses hormônios têm diferentes funções biológicas, dependendo do tipo de célula. Alguns podem ter uma ampla especificidade e afetar várias classes de células, outros atuam em um único tipo de célula para iniciar uma resposta. Muitos fatores de crescimento promovem ou inibem a função celular e, algumas vezes, são multifatoriais, ou seja, são necessários dois ou mais para induzir uma resposta específica. A proliferação, o crescimento e o desenvolvimento celular requerem uma combinação específica de fatores de crescimento. As substâncias promotoras de crescimento, geralmente são contrabalanceadas por substâncias inibidoras de crescimento. O ponto onde muitas dessas substâncias coincidem para produzir uma resposta específica depende de outros fatores reguladores, inclusive o meio ambiente (Coulon e Raff, 1999; Kocamis *et al.*, 2001).

Os Fatores Transformadores de Crescimento compreendem um grande número de proteínas reguladoras da proliferação e diferenciação, tendo como função principal a regulação do desenvolvimento embrionário e manutenção dos tecidos em animais adultos. São classificados conforme suas funções biológicas. Um grande grupo de fatores de crescimento foi classificado como superfamília dos fatores de crescimento e transformação beta ou TGF- $\beta$  ("Transforming Growth Factor Beta"), da qual fazem parte vários subtipos. Os membros desta superfamília exercem múltiplos efeitos na função celular e são amplamente expressados. Têm como característica comum serem secretados em sua forma inativa, iniciando sua atividade biológica quando são ativados por meio de enzimas específicas. Entretanto, os mecanismos de ativação ainda não estão completamente esclarecidos. Outra característica comum é a de que a atividade biológica é, geralmente, expressa na presença de outros fatores de crescimento e dependem do estado fisiológico da célula alvo (McPherron *et al.*, 1997; Bass *et al.*, 1999; Thomas *et al.*, 2000; Wehling *et al.*, 2000).

#### *Modo de ação e regulação da miostatina*

A miostatina foi identificada originalmente em mamíferos. É expressa especificamente no músculo esquelético, durante as fases de desenvolvimento e adulto, variando de músculo para músculo. Nos primeiros estágios da embriogênese sua expressão está restrita ao miótomo, e continua a se expressar durante todo desenvolvimento muscular na embriogênese (Bass *et al.*, 1999; Thomas *et al.*, 2000; Kocamis e Killefer, 2002; Rios *et al.*, 2002; Spiller *et al.*, 2002). No animal adulto é expressa em diversos músculos do corpo, mais recentemente foi identificada também no tecido adiposo (Lee, 2004). McPherron e Lee (1997) sugeriram que a função específica da miostatina é a regulação negativa do crescimento muscular esquelético, ou seja, limitar o tamanho do músculo. Para comprovar o papel biológico da miostatina no músculo esquelético, McPherron *et al.* (1997), inativaram o gene que codifica essa proteína em ratos, levando à perda da função do gene. Como resultado, obtiveram animais transgênicos que produziam miostatina não funcional. Os descendentes destes animais eram homozigotos para o gene alterado, homozigotos para o gene normal ou heterozigotos. A principal diferença nos fenótipos destes indivíduos era a massa muscular, sendo aparentemente saudáveis e férteis à idade adulta. O animal mutante homozigoto (ou rato miostatina nulo) é duas a três vezes maior que seus irmãos heterozigotos ou normais, machos e fêmeas são afetados igual e proporcionalmente. Lee (2004) descreve que os animais heterozigotos pesavam 25% a mais que os normais, sugerindo, assim, que o efeito da miostatina seria dose dependente.

A miostatina é sintetizada como uma proteína precursora e posteriormente passa por dois processos proteolíticos (primeira quebra: são removidos 24 aminoácidos, usados como alvo. Segunda quebra: gera fragmentos N-terminal e C-terminal), gerando molécula biologicamente ativa. Uma vez ativado, o dímero C-terminal da miostatina é capaz de se ligar a receptores e ativar o sinal de transdução em

cascata na célula alvo.

Desde a descoberta de McPherron e Lee (1997), outros pesquisadores têm investigado a presença da miostatina e possíveis mutações no gene em diversas espécies animais. Os mesmos autores descreveram a seqüência da miostatina em nove outros vertebrados, além do camundongo, incluindo suínos, aves e humanos. Equipes de pesquisa descobriram, independentemente, duas mutações no gene da miostatina em duas raças de bovinos com o fenótipo musculatura dupla (McPherron e Lee, 1997; McPherron *et al.*, 1997; Grobet *et al.*, 1997). A similaridade dos fenótipos de bovinos com musculatura dupla e outros mamíferos com mutações no gene da miostatina, supõe a mesma função biológica, e é alvo potencial para manipulação genética em outros animais de interesse zootécnico. Pesquisadores vêm desenvolvendo métodos para interferir na expressão e função da miostatina por meio do gene que a codifica. Dessa forma, visam a produção de rebanhos comerciais que apresentem proporcionalmente maior massa muscular. Além disso, inibidores devem ser desenvolvidos visando a manutenção da massa muscular ou promoção do crescimento muscular em casos de degeneração crônica, como sarcopenia, caquexia ou ainda nas disfunções musculares humanas, tal como a distrofia muscular de Duchenne.

#### *Miostatina em bovinos*

A confirmação de que o fenótipo da musculatura dupla em bovinos, era, realmente, causado por mutação no gene da miostatina foi feita simultaneamente por Grobet *et al.* (1997) e McPherron e Lee (1997). Grobet *et al.* (1997), encontraram deleção de 11pb na seqüência que codifica o domínio C-terminal da proteína, inativando a produção de miostatina, e causando a hipertrofia muscular em animais da raça Belgian Blue. Sugeriram, também, que seria interessante determinar se a inativação da miostatina, após o nascimento, poderia levar ao aumento do desenvolvimento muscular. McPherron e Lee (1997) identificaram mutações na seqüência codificadora da miostatina bovina nas raças Belgian Blue e Piemontesa, conhecidas por apresentarem massas musculares aumentadas em comparação ao bovino tradicional. A seqüência da miostatina da raça Belgian Blue apresenta deleção de 11 pb no exon 3, inativando toda a molécula e confirmando os achados de Grobet *et al.* (1997). Mais tarde, a mesma mutação foi descrita, também, nas raças Blond d'Aquitaine, Limousin, Parthenaise, Asturiana de los Valles, Rubea Galega e South Devon (Dunner *et al.*, 1997; Karim *et al.*, 2000). A seqüência da miostatina no rebanho Piemontês contém uma mutação missense no exon 3, resultando na substituição de tirosina por uma cisteína invariante na região principal da proteína (McPherron & Lee, 1997).

Outras mutações foram identificadas em diversas raças bovinas. Vários pesquisadores descrevem outras cinco variações, conforme observado no Quadro 1.

#### *Miostatina e Musculatura Dupla em Outras Espécies Roedores*

Segundo Varga *et al.* (1997), durante pesquisas para aumentar a proteína contida em carcaças, identificou-se

Quadro 1. Descrição das mutações que caracterizam a musculatura dupla em diversas raças de bovinos.

Descrição	Tipo mutação	Raça afetada	Referência
Deleção de 11 pb no exon 3	Stop codon prematuro	Belgian Blue, Piemontesa, entre outras	Grobet <i>et al.</i> , 1997 McPherron e Lee, 1997
Inserção/deleção de 7 pb na posição 419	Stop codon prematuro	Maine Anjou	Karim <i>et al.</i> , 2000
Transição C@T na posição 610	Sem sentido – terminação prematura	Limousin, Charolês	Antonioni e Grosz, 1999
Transversão G@T na posição 676	Sem sentido – Terminação prematura	Maine Anjou, Parthenaise	Karim <i>et al.</i> , 2000
Transição G@A na posição 938	Substituição de cisteína por tirosina	Piemontês, Gasconne	Grobet <i>et al.</i> , 1997 Fahrenkrug <i>et al.</i> , 1999
Transversão G@T na posição 874	Stop codon no domínio C-terminal bioativo	Marchigiana	Cappuccio <i>et al.</i> , 1998; Marchitelli <i>et al.</i> , 2003

outra mutação que resulta na hipertrofia muscular em ratos. O aumento da massa muscular nestes animais foi chamado de 'compact' (cmpt). O mapeamento mostrou que o gene cmpt está localizado muito perto do marcador D1Mit237 (Mouse Genomic Database). Grande parte desta região, corresponde ao segmento 2q32-35 do cromossomo 2 humano, que, por sua vez, mostra homologia com a região centromérica do cromossomo 2 bovino, onde o gene mh da musculatura dupla foi mapeado (Charlier *et al.*, 1995). Assim, a miostatina é forte candidato a responsável pela hipertrofia muscular também em ratos (Varga *et al.*, 1997).

Segundo Szabo *et al.* (1998), a deleção que determina o fenótipo cmpt, está na região que precede o sítio de processamento proteolítico da miostatina no rato. Portanto, a estrutura do domínio do fator de crescimento biologicamente ativo, não é afetada pela mutação. O que leva a crer que a perda aparente da função da miostatina, neste caso, não é devida a danos no domínio do fator de crescimento, como acontece nos bovinos com musculatura dupla. A região onde ocorre a mutação, provavelmente, tem papel na secreção e regulação eficiente da miostatina. Acredita-se, que a região deletada corresponde a uma cadeia conservada de propeptídeos da família TGF- $\beta$ . Como consequência, há distorção da estrutura e interferência na formação dos pró-segmentos da miostatina, que devem interferir com sua função no processo. A região deletada é conservada em todos os vertebrados conhecidos que possuem miostatina, confirmando a importância desta região (McPherron e Lee, 1997; Szabo *et al.*, 1998; Lee e McPherron, 2001). Essa hipótese leva a crer que, em ratos homocigotos cmpt/cmpt, a atividade da miostatina não é totalmente nula (Szabo *et al.*, 1998).

A descoberta da mutação em ratos possibilitou o desenvolvimento de novas áreas de pesquisa e estratégias para regular ou bloquear as atividades da miostatina, e sua valiosa aplicação para promover o crescimento/regeneração muscular em humanos, portadores de distrofia muscular, por exemplo, bem como em animais criados com finalidade de produção de carne. Esses achados têm

criado a possibilidade de que agentes farmacológicos capazes de bloquear a miostatina sejam sintetizados artificialmente (Lee & McPherron, 2001).

#### Ovinos

As primeiras evidências da existência de um gene causando a hipertrofia muscular em ovinos foram descrita no início dos anos 90 (Cockett *et al.*, 1994). Os indivíduos com o fenótipo são extremamente musculosos, similares aos bovinos com musculatura dupla em aparência. O nome callipyge (do grego: *calli* = bonito e *pyge* = nádegas) e o símbolo clpg foram propostos para esse gene nos ovinos (Cockett *et al.*, 1994).

Cockett *et al.* (1994) e outro grupo de pesquisadores (Freking *et al.*, 1998; Fahrenkrug *et al.*, 1999), propuseram que hipertrofia muscular seria resultado de uma mutação em um *locus* único, no intervalo 3,9 cM na região sub-centromérica do cromossomo 18 dos ovinos. A mutação encontra-se em uma região de alta homologia entre ratos, bovinos, ovinos e humanos (Freking *et al.*, 2002). O fenótipo *callipyge* é caracterizado por padrão de herança não-mendeliana, referida como sobredominância polar, que parece ser beneficiado por *imprinting* maternal. Ou seja, somente os indivíduos heterocigotos, que tenham herdado o alelo clpg do pai, expressam o fenótipo. Os descendentes que recebem o alelo mutante da mãe serão normais em aparência, independentemente do alelo recebido do pai (Cockett *et al.*, 1996 e 1998; Fahrenkrug *et al.*, 1999; Freking *et al.*, 1999 e 2002). Entender o mecanismo pelo qual a mutação clpg altera esses fenótipos melhoraria o conhecimento básico relacionado a diferentes mecanismos de regulação gênica, bem como dos fatores envolvendo o crescimento muscular, composição da carcaça, forma e qualidade da carne são marcantes na síndrome *callipyge* (Koochmaraie *et al.*, 1995; Freking *et al.*, 1998 e 1999).

Comparados aos cordeiros normais, os indivíduos *callipyge* têm melhor eficiência alimentar e composição da carcaça 30% superior (Jackson & Green, 1993; Jackson, *et al.*, 1993 a e 1993b). Diferentemente dos bovinos DM, os

ovinos não manifestam a condição até as primeiras quatro a seis semanas após o nascimento. Assim, não há casos de distocia, o que traz muitas vantagens à indústria ovina, embora, alguns estudos ressaltem que a condição produz efeitos negativos na maciez da carne (Koomaraie *et al.*, 1995).

Outras questões referentes à produção, tais como a produção de leite e lã, ainda não são bem conhecidas. Entretanto, Jackson *et al.* (1997), analisaram comparativamente indivíduos normais e clpg e puderam confirmar a superioridade dos animais clpg quanto à conversão alimentar. No que se refere à produção de lã, os *callipyge* apresentaram o peso do velo e o comprimento da fibra afetados pelo gene. Esses animais tinham 12,7% menos peso do velo que o de animais normais, e o tamanho da fibra era 8,7% menor. Apesar da produção de lã ter sido afetada negativamente, a quantidade de lã produzida ainda é considerada aceitável pelos padrões industriais. A maior desvantagem do fenótipo *callipyge* está na qualidade da carne, mais dura que a dos indivíduos normais (Koochmaraie *et al.*, 1995; Lorenzen *et al.*, 2000). Koochmaraie *et al.* (1998), propõem que a alta atividade da calpastatina inibe a proteólise, resultando em diminuição da maciez.

#### Aves

A genética tem sido uma poderosa ferramenta para modificar taxas de crescimento e composição corporal em aves, contribuindo de forma notável para a produção de frangos que atendem às necessidades do mercado. Recentemente, a procura pela melhoria da qualidade da carcaça, tem valorizado aves para maior produção de carne de peito, menor porcentagem de gordura abdominal e maior peso corporal. Através da seleção, obteve-se aumento de, em média, 21% de carne de peito, 6% a mais de peso corporal e 33% menos gordura abdominal. Estudando aves selecionadas, verificou-se que havia interferência da miostatina no fenótipo, comprovando que, nestes animais, havia pouca ou nenhuma expressão da proteína miostatina em comparação com a dos indivíduos controle (Guernec *et al.*, 2003).

A expressão da miostatina foi detectada, inicialmente, em embriões em estágio de blastômero, sugerindo que a proteína tem função na embriogênese e desenvolvimento muscular esquelético do embrião (Kocamis *et al.*, 1999). Sazanov *et al.* (1999), mapearam o gene GDF-8 em galinhas, localizado no cromossomo 7 (7p11). Esses pesquisadores determinaram, também, um marcador molecular para identificar o gene e mutações que poderiam causar diferenças na musculatura das aves. Outros estudos vêm sendo desenvolvidos com objetivo de encontrar alterações no gene miostatina, visando o aumento da produção de carne de frango. Mott e Ivarie (2002), seqüenciaram o gene GDF-8 à procura de mutações e encontraram somente mutações silenciosas sem impacto significativo na produção. Assim, acredita-se que muitos estudos ainda sejam necessários, nesta espécie, para que se obtenham resultados mais conclusivos (Mott & Ivarie, 2002; Guernec *et al.*, 2003).

#### Peixes

O gene miostatina tem sido clonado em mais de 20 espécies de vertebrados, incluindo várias espécies de peixes,

entre elas a tilápia, salmão e a truta, que têm grande importância comercial (Rogers e Weber, 2001; Rogers *et al.*, 2001; Roberts e Goetz, 2001; Ostbye *et al.*, 2001; Rescan *et al.*, 2001; Kocabas *et al.*, 2002; Maccatrozzo *et al.*, 2001 e 2002).

Em algumas espécies de peixes, dois tipos distintos de genes miostatina foram encontrados (Roberts e Goetz, 2001; Ostbye *et al.*, 2001; Rescan *et al.*, 2001). A comparação das seqüências de DNA do gene da miostatina revelou que esta proteína é extremamente bem conservada em todos os vertebrados (Xu, *et al.*, 2003).

Em peixes, o RNAm miostatina foi encontrado sendo expressado em músculos, olhos, filamentos branquiais, fígado, ovários, intestinos, cérebro e, em quantidades menores, nos testículos (Rogers *et al.*, 2001; Maccatrozzo *et al.*, 2001). A expressão da miostatina nos músculos esqueléticos parece estar restrita a certos tipos de fibras musculares e pode estar envolvida no diferente crescimento muscular dos peixes (Xu, *et al.*, 2003). Estudos em *Danio rerio*, mostraram que o peixe com miostatina inativada apresenta hipertrofia quando comparado aos indivíduos controle. Os indivíduos com o gene inativo desenvolveram-se normalmente, mas exibiram hiperplasia muscular (número de fibras) no estágio adulto quando comparados aos descendentes normais. Esses resultados foram semelhantes em todas as espécies de peixes estudadas, demonstrando que a inibição da função da miostatina tem efeito positivo na estimulação do crescimento muscular (Rogers e Weber, 2001; Rogers *et al.*, 2001; Roberts e Goetz, 2001; Ostbye *et al.*, 2001; Rescan *et al.*, 2001; Kocabas *et al.*, 2002; Maccatrozzo *et al.*, 2001 e 2002).

## Considerações Finais

Os estudos das alterações genéticas têm avançado à medida que aumenta o conhecimento na área da biologia molecular. Dessa forma, tem sido possível compreender melhor o funcionamento do genoma e determinação genética das características de importância econômica. Este conhecimento poderia ser aplicado a zootecnia permitindo avanços em produtividade ou desenvolvimento de produtos com maior valor agregado. A semelhança fenotípica entre bovinos com musculatura dupla e outras espécies animais supõe a mesma função biológica do gene da miostatina, sendo o mesmo, alvo potencial para manipulação genética em diversos animais de interesse zootécnico.

## Literatura Citada

- Ansary, M. 1976. Development anatomique du muscle de foetus bovin. Ann. Biol. Anim. Bioch. Bioph. 16:655
- Antoniou, E., M. Grosz, 1999. PCR based detection of bovine myostatin Q204X mutation. Anim. Genet. 30:231
- Arthur, P.F. 1995. Double muscling in cattle: a review. Austr. J. Agric. Res. 46:1493
- Arthur, P.F., M. Makarechian, M.A. Price, R.T. Bert. 1989. Heterosis, maternal and direct effects in double-musled and normal cattle: I. Reproduction and growth traits. J. Anim. Sci. 67:902
- Ashmore, C.R., W. Parker, H. Stokes, L. Doerr. 1974. Comparative

- aspects of muscle fiber types in fetuses of the normal and double muscled cattle. *Growth*, 38:501
- Bass, J., M. Oldham, R. Sharma, R. Kambadur. 1999. Growth factors controlling muscle development. *Domestic Anim. Development*. 17:191
- Cappuccio, I., C. Marchitelli, A. Serracchioli, A. Nardone, F. Filippine, P. Ajmone-Marson, A. Valentini. 1998. A G-T transversion introduces a stop codon at the mh locus in hypertrophy Marchigiana beef subjects. *Anim. Genet.* 29:51
- Casas, E., J.M. Keele, S.D. Shackelford, M. Koohmaraie, T.S. Sonstgard, T.P. Smith, S.M. Kappes, R.T. Stone. 1998. Association of the muscle hypertrophy locus with carcass traits in beef cattle. *J. Anim. Sci.* 76:468
- Charlier, C.W., F. Coppertiers, L. Farnir, L. Grobet, P.L. Leroy, C. Michaux, M. Mni, A. Schwens, P. Vanmanshoven, R. Hanset. 1995. The mh gene causing double-muscling in cattle maps to bovine chromosome 2. *Mamm. Genome*. 6:788
- Cockett, N.E., S.P. Jackson, T.L. Shay, D. Nielsen, S.S. Moore, M.R. Steele, W. Barendse, R.D. Green, M. George. 1994. Chromosomal localization of the callipyge gene in sheep (*Ovis aries*) using bovine DNA markers. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 91:3019
- Cockett, N.E., S.P. Jackson, T.L. Shay, F. Fanir, S. Berghmans, D.M. Nielsen, M. George. 1996. Polar overdominance at the ovine callipyge locus. *Science* 273:236
- Cockett, N.E., T.L. Shay, S. Berghmans. 1998. The callipyge phenomenon: evidence for unusual genetic inheritance. *J. Anim. Sci.* 76:363
- Coulon, F., M. Raff, 1999. Size control in animal development. *Cell* 96:235
- Dunnet, S., C. Charlier, F. Fanir, B. Brouwers, J. Canon, M. George. 1997. Towards interbreed IBD fine mapping of the mh locus: double-muscling in the Asturiana de los Valles breed involves the same locus as in the Belgian Blue cattle breed. *Mamm. Genome* 8:430
- Fahrenkrug, S.C., E. Casas, J.M. Keele, T.P. Smith. 1999. Technical note: Direct genotyping of the double-muscling locus (mh) in Piedmontese and Belgian Blue cattle by fluorescent PCR. *J. Anim. Sci.* 77:2028
- Freking, B.A., J.W. Keele, M.K. Nielsen, K.A. Leymaster. 1998. Evaluation of the ovine callipyge locus: II - Genotypic effects on growth, slaughter and carcass traits. *J. Anim. Sci.* 76:2549
- Freking, B.A., J.W. Keele, S.D. Shackelford, T.L. Wheeler, M. Koohmaraie, M.K. Nielsen, K.A. Leymaster. 1999. Evaluation of the ovine callipyge locus: III - Genotypic effects on meat quality. *J. Anim. Sci.* 77:2336
- Freking, B.A., S.K. Murphy, A.A. Wylie, S.J. Rhodes, J.W. Keele, K.A. Leymaster, R.L. Jirtle, T.P. Smith. 2002. Identification of the single base change causing the callipyge muscle hypertrophy phenotype, the only known example of polar overdominance in mammals. *Genome Res.* 12:1496
- Goyache, F., A. Villa, S. Dunnet, *et al.* 1996. Importancia de la hipertrofia muscular hereditaria en la raza Asturiana de los Valles. p. 45-61.
- Grobet, L., L.J.R. Martin, D. Poncet, D. Pirottin, B. Brouwers, J. Riquet, A. Schoeberlein, S. Dunnet, F. Menissier, J. Massabanda, R. Fries, R. Hanset, M. George. 1997. A deletion in bovine myostatin gene causes the double muscled phenotype in cattle. *Nat. Genet.* 17:71
- Guernec, A., C. Berri, B. Chevalier, N. Wacrenier-Cere, E. LeBihan-Duval, M.J. Duclos. 2003. Muscle development, insulin-like growth factor-I and myostatin mRNA levels in chickens selected for increased breast muscle yield. *Growth Hormone & IGF Res.* 13:8
- Hanset, R., C. Michaux 1985a. On the genetic determinism of muscular hypertrophy in the Belgian White and Blue cattle breed. I. Experimental data. *Genet. Sel. Evol.* 17:359
- Hanset, R., C. Michaux 1985b. On the genetic determinism of muscular hypertrophy in the Belgian White and Blue cattle breed. II. Population data. *Genet. Sel. Evol.* 17:369
- Jackson, S.P., M.F. Miller, R.D. Green 1993a. Carcass characteristics of Rambouillet ram lambs with genetic muscle hypertrophy. *J. Anim. Sci.* 71:147
- Jackson, S.P., M.F. Miller, R.D. Green 1993b. The effects of a muscle hypertrophy gene on muscle weights of ram lambs. *J. Anim. Sci.* 71:146
- Jackson, S.P., R.D. Green, 1993. Muscle trait inheritance, growth performance and the feed efficiency on sheep exhibiting a muscle hypertrophy phenotype. *J. Anim. Sci.* 71:241
- Jackson, S.P., R.D. Green, M.F. Miller 1997. Phenotypic characterization of Rambouillet sheep expressing the callipyge gene: I - Inheritance of the condition and production characteristics. *J. Anim. Sci.* 75:14
- Karim, L., W. Coppieters, L. Grobet, A. Valentini, M. Georges 2000. Convenient genotyping of six myostatin mutations causing double-muscling in cattle using multiplex oligonucleotide ligation assay. *Anim. Gen.* 31:396
- Kieffer, N.M., T.C. Cartwright, J.E. Sheek 1972. Genetics of the double muscled syndrome in cattle. *J. Anim. Sci.* 35:177
- Kocabas, A.M., H. Kucuktas, R.A. Dunham, Z. Liu. 2002. Molecular characterization and differential expression of the myostatin gene in channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Biochim. Biophys. Acta* 1575:99
- Kocamis, H. e J. Killefer 2002. Myostatin expression and possible function in animal muscle growth. *Dom. Anim. Endoc.* 23:447
- Kocamis, H., D.C. Farland, J. Killefer, 2001. Temporal expression of growth factor genes during myogenesis of satellite cells derived from the biceps femoris and pectoralis major muscles of the chicken. *J. Cell Physiol.* 186:146
- Kocamis, H., D.C.K. Keller, J. Richter, J. Killefer. 1999. The ontogeny of myostatin, follistatin and activin-b mRNA expression during chicken embryonic development. *Growth, Development & Aging* 63:4
- Koohmaraie, M., S.D. Shackelford, T.L. Wheeler 1998. Muscle growth, carcass composition and meat tenderness of callipyge lamb: a review. *J. Anim. Sci.* 76:363
- Koohmaraie, M., S.D. Shackelford, T.L. Wheeler, S.M. Lonergan, M.E. Doumit. 1995. A muscle hypertrophy condition in lamb (callipyge): Characterization of effects on muscle growth and meat quality traits. *J. Anim. Sci.* 73:3596
- Kronacher, C. 1934. *Genetik und Tierzuchtung. Handbuch der Vererbungslehre*. 3:319.
- Lavin Arenas, S. 1964. La raza Asturiana de los Valles como productora de carne. *Not. Neosan* 122:61
- Lee, S. 2004. Regulation of muscle mass by myostatin. *Annu. Rev. Cel. Dev. Biol.* 20:61
- Lee, S., A.C. McPherron 1999. Myostatin and the control of skeletal muscle mass. *Curr. Opin. Gen. Dev.* 9:604
- Lee, S.J., A.C. McPherron 2001. Regulation of myostatin activity and muscle growth. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 98:9306
- Logeay, B., B. Vissac 1970. Etude du caractere culard V. *Ann. Genet. Sel. Anim.* 2:5
- Lorenzen, C. L., M. Koohmaraie, S.D. Shackelford *et al.* 2000. Protein kinetics in callipyge lambs. *J. Anim. Sci.* 78:78
- Maccatrozzo, L., L. Bargelloni, G. Rodaelli, F. Mascarello, T. Patarnello. 2001. Characterization of the myostatin gene in the gilthead seabream (*Sparus aurata*): sequence, genomic structure and expression pattern. *Marine Biotech.* 3:224
- Maccatrozzo, L., L. Bargelloni, P. Patarnello, F. Mascarello. 2002. Characterization of the myostatin gene and a linked microsatellite marker in *Shidrum*. *Aquaculture* 205:49
- Marchitelli, C., M.C. Savarese, A. Crisà, A. Nardone, P.A. Marson, A. Valentini. 2003. Double muscling in Marchigiana beef breed is caused by a stop codon in the third exon of myostatin gene. *Mamm. Gen.* 14:392
- McPherron, A. C., A.M. Lawler, S. Lee 1997. Regulation of skeletal muscle mass in mice by a new TGF-beta superfamily member. *Nature* 387:83
- McPherron, A. C., S. Lee 1997. Double muscling in cattle due to mutation in the myostatin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 94:12457
- Ménissier, F. 1982. General survey of the effect of double muscling on cattle performance. *Curr. Top. In Vet. Med. And anim. Sci.* 16:23
- Mott, I., R. Ivaraie 2002. Expression of myostatin is not altered in lines of poultry exhibiting myofiber hiper and hypoplasia. *Poultry Sci.* 81:799
- Oliver, W.M., T.C. Cartwright 1968. Double Muscling in cattle. A review of expression, genetics and economic implication. *Agricultural Experiment Station Technical report, Texas A&M University* n.12, 58p.
- Ostbye, T.K., T.F. Galloway, C. Nielsen, I. Gabestad, T. Bardal, O. Andersen. 2001. The two myostatin genes of Atlantic salmon (*Salmo solar*) are expressed in a variety of tissue. *Eur. J. Biochem.* 268:5249
- Raimondi, R. 1965. Present day situation of the Piemont breed of cattle. *Riv. Zootec.* 38:563
- Rescan, P.Y., I. Jutel, C. Ralliere 2001. Two myostatin genes are differentially expressed in myotomal muscles of the trout (*Oncorhynchus mykiss*). *J. Exp. Biol.* 204:3523
- Rios, R., I. Carneiro, V.M. Arce, J. Devesa. 2002. Myostatin is an

- inhibitor of myogenic differentiation. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 282:993
- Roberts, S.B., F.W. Goetz, 2001. Differential skeletal muscle expression of myostatin across teleost species and the isolation of multiple myostatin isoform. *FEBS* 491:212
- Rodgers, B.D., G.W. Weber, C.V. Sullivan, M.A. Levine. 2001. Isolation and characterization of myostatin complementary deoxyribonucleic acid clones from two commercially important fish: *Oreochromis mossambicus* and *Morone chrysops*. *Endocrinol.* 142:1412
- Rogers, B.D., G.W. Weber 2001. Sequence conservation among fish myostatin orthologues and the characterization of two additional cDNA clones from *Marone soxitis* and *Marone americana*. *Comp. Bioch. Physiol.* 129:597
- Rollins, W.C., M. Tanaka, C.F.G Nott, R.B. Thiessen. 1972. On the mode of inheritance of double muscled conformation in bovines. *Hilgardia* 41:433
- Sazanov, A., D. Ewald, J. Buitkamp, R. Fries. 1999. A molecular marker for the chicken myostatin gene (*gdf-8*) maps to 7p11. *Anim. Gen.* 30:382
- Sopena Quesada, A., M.E. Blanco Cachafeiro 1971. Reproduction de la femelle culard en race Asturienne. *Ann.Genet. Sel. Anim.* 4:132
- Spiller, M. P., R. Kambadur, F. Jeanplong, M. Thomas, J.K. Martyn, J.J. Bass, M. Sharma. 2002. The myostatin gene is a downstream target gene of basic helix-loop-helix transcription factor MyoD. *Molec. and Cel. Biol.* 22:7066
- Swatland, H.J., N.M. Kieffer 1974. Fetal development of the double-muscled condition in cattle. *J. Anim. Sci.* 38:752
- Szabo, G., G. Dallmann, G. Muller, L. Patthy, M. Soller, L. Varga. 1998. A deletion in myostatin gene causes the compact (*cmpt*) hypermuscular mutation in mice. *Mamm. Gen.* 8:671
- Thomas, M., B. Langlely, C. Berry, M. Sharma, S. Kirk, J.J. Bass, R. Kambadur. 2000. Myostatin, a negative regulator of muscle growth, function by inhibiting myoblast proliferation. *J. Biol. Chem.* 275:40235
- Varga, L., G. Szabo, A. Darvasi, G. Muller, M. Sass, M. Soller. 1997. Inheritance and mapping of compact (*cmpt*), a new mutation causing hypermuscularity in mice. *Genetics* 147:755
- Vissac, B., F. Mènissier, B. Perreau 1973. Etude du caractere culard VII. Croissance et musculature des femelles, desequilibre morfologique na velage. *Ann. Gen. Et de Selec. Anim.* 5:23.
- Wehling, M., B. Cai, J.G. Tidball 2000. Modulation of myostatin expression during modified muscle use. *Faseb J.* 14:103
- Wriedt, C. 1929. Die vererbung des doppelender - characters bei rindern. *Z. Indukt.* 51:482
- Xu, C., G. Wu, Y. Zohar, S.J. Du. 2003. Analysis myostatin gene structure, expression and function in zebrafish. *J. of Experim. Biol.* 206:4067