

## MIĘŚNIOWE KOMÓRKI PROGENITOROWE – CHARAKTERYSTYKA I FUNKCJA

### MUSCLE PROGENITOR CELLS – CHARACTERISTIC AND FUNCTION

Magdalena KOZAKOWSKA<sup>1</sup>, Józef DULAK<sup>1,2</sup>, Alicja JÓZKOWICZ<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Zakład Biotechnologii Medycznej, Wydział Biochemii, Biofizyki  
i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

<sup>2</sup>Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

*Streszczenie:* Mięśniowe komórki satelitarne (mSC) to heterogenna populacja progenitorowych i macierzystych komórek mięśni szkieletowych, które są odpowiedzialne za regenerację tej tkanki. Obecne są na obrzeżach dojrzałych włókien mięśniowych i pozostają w stanie wyciszonym, ulegając aktywacji po urazie i przekształcając się w aktywnie proliferujące mioblasty. Część z nich w procesie samoodnowy powraca do stanu wyciszenia, odbudowując populację nieaktywnych mSC, a część w procesie różnicowania przekształca się w dojrzałe komórki tkanki mięśniowej. Procesy te są ściśle regulowane przez sekwencyjną ekspresję mięśniowych czynników regulatorowych (MRF), grupę mięśniowo-specyficznych microRNA (tzw. miomirów) oraz przez zewnątrzkomórkowe czynniki wzrostowe. Zaburzenia w funkcjonowaniu mSC występują w schorzeniach degeneracyjnych tkanki mięśniowej (np. dystrofiach mięśniowych) oraz w trudno gojących się ranach (np. w zespole stopy cukrzycowej). Choć udowodniono możliwość wykorzystania transplantowanych mSC do poprawy regeneracji tkanki mięśniowej, to ze względu na niską przeżywalność i różnicowanie komórek po przeszczepie terapie te pozostają w fazie eksperymentalnej. W prezentowanej pracy przedstawiono obecny stan wiedzy dotyczącej regulacji różnicowania mSC oraz mioblastów.

*Słowa kluczowe:* mięśniowe komórki satelitarne, mioblasty, mięśniowe czynniki regulatorowe, miomiry, różnicowanie

*Summary:* Muscle satellite cells (mSC) are heterogenic population of stem and progenitor cells of skeletal muscle, which are responsible for regeneration of this tissue. mSC remain on periphery of muscle fibres in a quiescent state, become activated upon damage and convert to proliferating myoblasts. Some of them self-renew and return to quiescent state whereas the rest of activated population differentiates into mature skeletal muscle cells. Those processes are tightly regulated by a subsequent expression of myogenic regulatory factors (MRFs), by a group of skeletal muscle-specific microRNA (myomirs), as well as by a group of extracellular growth factors. Impairment of mSC function

is related to both degenerative diseases of skeletal muscle (i.e. muscle dystrophies) and in chronic non-healing wounds (i.e. diabetic foot ulcer). Although it was proved, that mSC are able to improve regeneration of muscle tissue, due to low viability and differentiation after transplantation those therapeutic approach remain in experimental phase. In this review current data on differentiation of mSC and myoblasts were discussed.

*Key words:* muscle satellite cells, myoblasts, myogenic regulatory factors, myomirs, differentiation.

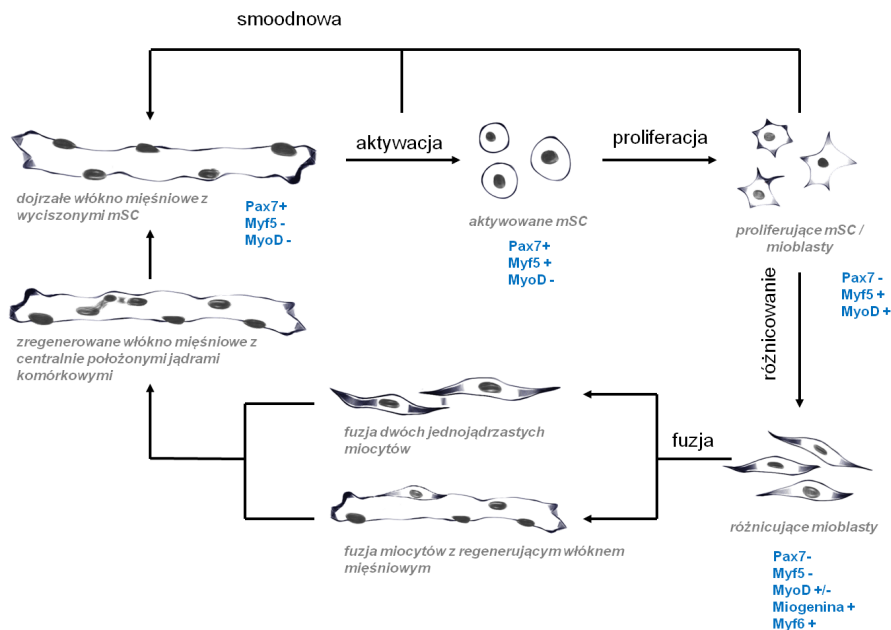
*Wykaz stosowanych skrótów:* **CPK** – (ang. *Creatine Phosphokinase*), kinaza fosfokreatynowa, **DMD** – (ang. *Duchenne Muscle Dystrophy*), mięśniowa dystrofia Duchenne’a, **ECM** – (ang. *Extracellular Matrix*), macierz zewnątrzkomórkowa, **HGF** – (ang. *Hepatocyte Growth Factor*) czynnik wzrostu hepatocytów, **HO-1** – (ang. *Heme Oxygenase-1*), oksygenaza hemowa-1, **IGF** – (ang. *Insulin-Like Growth Factor*), insulinopodobny czynnik wzrostu, **MHC** – (ang. *Myosin Heavy Chain*), łańcuch ciężki miozyny, **MMP** – (ang. *Matrix Metalloproteinases*), metaloproteinazy macierzy zewnątrzkomórkowej, **mSC** – (ang. *muscle Satellite Cells*), mięśniowe komórki satelitarne, **MRF** – (ang. *Myogenic Regulatory Factors*), miogeniczne czynniki regulatorowe, **RMS** – mięsaka prążkowanokomórkowego (ang. *Rhabdomyosarcoma*), mięsак prążkowanokomórkowy, **SRF** – (ang. *Serum Responsive Factor*), czynnik odpowiadający na surowicę

## WPROWADZENIE – ROLA mSC W REGENERACJI MIĘŚNI W DOJRZAŁYM ORGANIZMIE

Mięśnie szkieletowe (łac. *textus muscularis skeleti*), określane również jako poprzecznie prążkowane, to najpowszechniej występująca i najbardziej rozbudowana tkanka w organizmie kręgowców. Zbudowane są z włókien mięśniowych, czyli długich, walcowatych komórek wielojądrzastych, których średnica waha się od 10  $\mu\text{m}$  do 150  $\mu\text{m}$ , a długość od 1 mm do 20 mm. Wyjątkowo długość włókien może dochodzić do kilkudziesięciu centymetrów i np. w mięśniu krawieckim wynosi od 15 cm do 34 cm, przy długości mięśnia około 52 cm [13, 54]. Choć w normalnych warunkach mięśnie szkieletowe są praktycznie nieaktywne mitotycznie, to po urazie lub intensywnym treningu wytrzymałościowym są zdolne do szybkiej i bardzo efektywnej przebudowy poprzez zwiększanie liczby (hiperplazję) lub rozmiaru (hipertrofię) włókien mięśniowych [13, 54].

Nekroza uszkodzonych komórek mięśniowych z jednej strony prowadzi do pojawienia się w surowicy cytoplazmatycznych białek mięśniowych takich jak kinaza fosfokreatynowa (ang. *Creatine Phosphokinase*, CPK) czy łańcuch ciężki miozyny (ang. *Myosin Heavy Chain*, MHC) [113, 136], a z drugiej – powoduje migrację najpierw neutrofilii, a potem również makrofagów w obręb zniszczonego mięśnia i fagocytozę martwych komórek [122, 13, 136]. Następnym etapem regeneracji tkanki mięśniowej jest związany z intensywną proliferacją komórek i tworzeniem nowych włókien mięśniowych, charakteryzujących się początkowo mniejszym rozmiarem i centralnie położonym jądrem komórkowym oraz występującymi czasami

rozgałęzieniami powstającymi na skutek niecałkowitej fuzji. Równocześnie, zachodzi intensywna przebudowa i synteza składników macierzy zewnątrzkomórkowej (ang. *Extracellular Matrix*, ECM). Po upływie 14 dni i zakończeniu odbudowy nowe włókna mięśniowe są nieodróżnialne od pozostałych [13, 6, 136].



**RYCINA 1.** Regeneracja włókna mięśniowego związana jest z wywołaną uszkodzeniem aktywacją mSC, w trakcie której na drodze asymetrycznego podziału dochodzi również do odbudowy populacji wyciszonych mSC (Pax7+/Myf5-/MyoD-). Aktywowane mSC (Pax7+/Myf5+/MyoD-) proliferując zwiększają ekspresję MyoD, a hamują Pax7 (Pax7-/Myf5+/MyoD+), choć mogą również utrzymać syntezę Pax7 przy jednoczesnym obniżeniu poziomu MyoD, powodując także w ten sposób samoodnowę populacji wyciszonych mSC. Różnicujące mioblasty (Pax7-/Myf5-/Miogenina+/Myf6+/MyoD+) dojrzewając ostatecznie syntetyzują białka charakterystyczne dla mięśni szkieletowych (np. miozyna, m-kadheryna), a obniżają ekspresję MyoD. Ich fuzja ze sobą lub z uszkodzonym włóknem prowadzi do powstania zregenerowanych komórek mięśniowych, charakteryzujących się początkowo centralnie położonym jądrem.

**FIGURE 1.** Regeneration of muscle fibers is related to activation of mSC, that is evoked by an injury. At this stage, during asymmetric division self-renewal of quiescent mSC (Pax7+/Myf5-/MyoD-) can proceed. Accordingly, activated mSC (Pax7+/Myf5+/MyoD-) proliferate, inducing expression of MyoD and inhibiting Pax7 (Pax7-/Myf5+/MyoD+), although they may also maintain synthesis of Pax7 protein, with simultaneous decrease in MyoD expression, renewing also in this manner population of non-activated, quiescent mSC. Myoblasts (Pax7-/Myf5-/Miogenin+/Myf6+/MyoD+) during final differentiation produce protein characteristic for mature skeletal muscles (i.e. myosin, m-cadherin), whereas reduce expression of MyoD. Fusion between myoblasts, or with damaged myofibers leads to regeneration of skeletal muscle fibers, characterised with centrally located nuclei

Zdolność do bardzo efektywnej samoodnowy mięśnie szkieletowe zawdzięczają odkrytym w 1961 roku progenitorowym komórkom tkanki mięśniowej, tzw. komórkom satelitarnym (ang. *muscle Satellite Cells*, mSC), zlokalizowanych na obrzeżach włókien mięśniowych, pod błoną podstawną. Ta populacja niewielkich, prawie pozbawionych cytoplazmy komórek o dużej zawartości heterochromatyny, w normalnych warunkach pozostaje wyciszona i nieaktywna mitotycznie [13, 96, 110, 136]. W odpowiedzi na uraz lub intensywny wysiłek fizyczny komórki ulegają aktywacji, migrują do miejsca zranienia [93, 62] i zaczynają intensywnie proliferować, przekształcając się w mioblasty [13, 117, 96]. Dzięki temu nawet ich niewielka liczba zdolna jest do odbudowy uszkodzonego mięśnia [20] na drodze fuzji między sobą lub z istniejącymi włóknami mięśniowymi (ryc. 1) [13, 54, 136].

Mimo, że mSC do prawidłowego funkcjonowania potrzebują również innych typów komórek [120, 96], a w ostatnich latach pojawiły się informacje o komórkach innego pochodzenia, mogących brać udział w odbudowie tkanki mięśniowej [93, 96], ciągle to właśnie mSC uważane są za główne źródło nowych jąder komórkowych w dojrzałych włóknach mięśniowych [103, 136]. Co ważne, w skład populacji mSC wchodzi nie tylko zdeterminowane (unipotecjalne) progenitorowe komórki mięśniowe, ale również komórki posiadające właściwości charakterystyczne dla komórek macierzystych. Są zdolne do różnicowania w kierunku komórek innych tkanek mezenchymalnych pod wpływem odpowiednich czynników [109, 119, 136]. Zachowują również możliwość odnowienia liczebności swojej populacji, zahamowania podziałów komórkowych i powrotu do stanu wyciszenia [20, 63, 88, 141, 136]. Dzięki temu są w stanie wielokrotnie w ciągu życia organizmu zapewnić regenerację danego mięśnia [20].

## CHARAKTERYSTYKA POPULACJI mSC

W warunkach fizjologicznych mSC lokalizują się w bardzo charakterystycznej dla siebie niszy – między błoną podstawną a włóknem mięśniowym, w niewielkiej odległości od naczyń krwionośnych. Anatomiczne położenie stało się nie tylko źródłem ich nazwy, ale przez długi czas było ich główną cechą definiującą. Na przestrzeni ostatnich 20 lat wykazano jednak, że mSC wykazują ekspresję wielu różnych czynników transkrypcyjnych, receptorów czy białek błonowych, umożliwiając tym samym bardziej wiarygodny sposób ich charakteryzowania (tab. 1). Badania istotnie utrudniał jednak fakt, że mSC to populacja heterogenna składająca się zarówno komórek macierzystych jak i progenitorowych, występujących dodatkowo na różnych etapach rozwoju, wykazujących *in vivo* i *in vitro* różne właściwości, cechujących się różnym poziomem ekspresji charakterystycznych dla siebie białek [4, 12, 63, 136, 2]. Czynnikiem dodatkowo wpływającym na różnorodność mSC jest rodzaj mięśnia z jakiego komórki pochodzą [90, 136].

**TABELA 1.** Białka markerowe, najczęściej używane do charakteryzowania populacji mSC. W: nieaktywne, wyciszone mSC, A: mSC aktywowane lub proliferujące, + potwierdzona ekspresja, – brak ekspresji, +/- niejednoznaczne wyniki, ↓ spadek ekspresji.

**TABLE 1.** Most often used marker proteins for characterisation of mSC. W: quiescent mSC, A: activated or proliferating mSC, + protein expressed, - lack of expression, +/- equivocal data, ↓ inhibition of expression

Nazwa	Funkcja	Typ komórek		Wybrane pozycje literatury
		W	A	
Pax7	Czynnik transkrypcyjny, wpływa na proliferację i różnicowanie mSC poprzez regulację ekspresji miogennych czynników regulatorowych (MRF)	+	↓	[108, 61, 19, 142, 88, 102, 82]
Pax3	Czynnik transkrypcyjny, reguluje miogenezę embrionalną	+/-	+/-	[61, 19, 102]
CD34	Receptor błonowy, marker komórek macierzystych	+	↓	[4, 69]
Myf5	Miogenny czynnik regulatorowy, konieczny do aktywacji i proliferacji	+/-	+	[4, 63, 25]
syndekan-3/4	Proteoglikan błonowy, przekazuje sygnały regulujące proliferację mSC od macierzy zewnątrzkomórkowej	+	↓	[24]
c-Met	Receptor błonowy dla HGF, aktywuje mSC	+	+	[25, 117]
m-kadheryna	Białko błonowe, zakotwicza mSC w macierzy zewnątrzkomórkowej, konieczne do fuzji komórkowej	+	+	[25, 4]
kaweolina-1	Białko błonowe, zatrzymuje cykl komórkowy	+	+	[41]
CXCR4	Receptor błonowy dla SDF-1 $\alpha$ , konieczny do migracji	+	+	[101]
desmina	Białko cytoszkieletu, bierze udział w fuzji komórkowej	-	+	[99]
FoxK1 (MNF)	Czynnik transkrypcyjny, reguluje proliferację mSC	+	↓	[35]
Sox8/15	Czynniki transkrypcyjne, regulują ekspresję miogennych czynników regulatorowych (MRF)	+	↓	[68]
CD56	Białko adhezyjne	-	+	[5, 49]

Choć ciągle nie znaleziono zestawu białek, których ekspresja lub brak w sposób jednoznaczny definiuje mSC i mioblasty na różnych etapach rozwoju, to czynnik transkrypcyjny Pax7 (ang. *Paired box transcription factor-7*) wydaje się być najbardziej uznanym markerem tych komórek. Podczas gdy odgrywający istotną rolę w embrionalnym rozwoju tkanki mięśniowej Pax3 ulega ekspresji tylko w mSC pochodzących z niektórych typów mięśni, Pax7 występuje w większości wyciszonych prekursorowych komórek mięśniowych [19, 61, 142]. Jego ekspresja zanika podczas proliferacji i różnicowania mioblastów [45, 89, 88, 142, 141], niemniej jednak wydaje się, że nie jest to konieczne do końcowych etapów dojrzewania komórek mięśniowych [142]. Wręcz przeciwnie – Pax7 definiuje miogeniczny rodowód komórek [108], gdyż aktywuje ekspresję przynajmniej niektórych czynników koniecznych do ich dojrzewania [19, 82, 142]. Natomiast gdy ekspresja Pax7 jest utrzymywana, dochodzi do zahamowania proliferacji, i mSC odbudowują populację nieaktywnych mitotycznie komórek macierzystych [88, 141, 45]. Zachodzące wtedy zahamowanie dojrzewania komórek mięśniowych wywołane przez Pax7 jest możliwe dzięki zmniejszeniu transkrypcyjnej aktywności czynników koniecznych do różnicowania [88, 89]. Dlatego też nadekspresja Pax7 w mysich mioblastach linii C2C12, będącej uznanym modelem w badaniach mięśniowych komórek progenitorowych [13, 95], może promować podziały komórkowe [19, 142]. Co ciekawe, myszy pozbawione Pax7 rozwijają normalne mięśnie, ale są pozbawione całkowicie mSC lub zawierają ich minimalną liczbę, i nie mają możliwości regeneracji tkanki [61, 94, 108]. Działanie Pax7 nie jest kompensowane przez obecność Pax3 ani *in vitro* [102], ani *in vivo* podczas regeneracji mięśni [61].

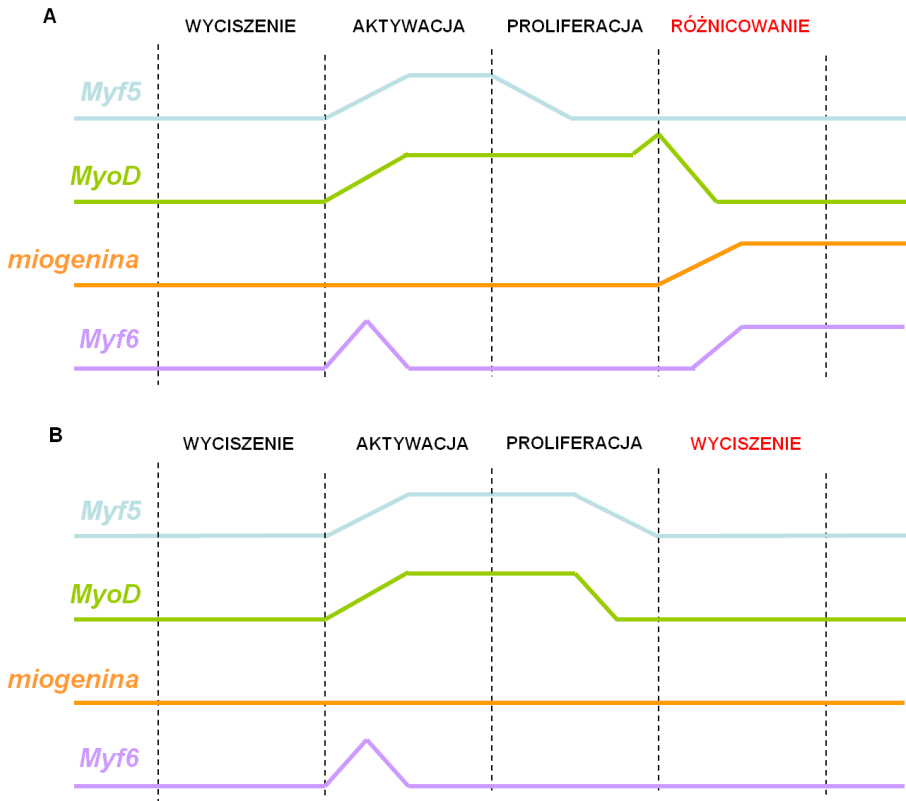
## REGULACJA PROLIFERACJI, RÓŻNICOWANIA I SAMOODNOWY

Prawidłowe działanie mSC konieczne jest podczas całego życia organizmu, umożliwiając nie tylko wzrost i regenerację mięśnia, ale również pozwalając na utrzymanie odpowiedniej liczebności ich własnej populacji. Jest to możliwe dzięki istnieniu kilku bardzo precyzyjnych mechanizmów kontrolujących równowagę między wyciszeniem i samoodnową, a proliferacją i różnicowaniem mSC.

## MIOGENICZNE CZYNNIKI REGULATOROWE (MRF)

Dobrze udokumentowanym, głównym regulatorem fizjologii mSC jest rodzina czynników transkrypcyjnych posiadających domenę wiązania DNA helisa-pętla-helisa określanych jako miogeniczne czynniki regulatorowe (ang. *Myogenic*

*Regulatory Factors*, MRF). Ich ekspresja nie zachodzi w nieaktywnych mitotycznie mSC, ale pojawia się w uporządkowany i skoordynowany sposób podczas miogenezy w aktywowanych mSC, proliferujących mioblastach oraz dojrzałych komórkach mięśniowych (ryc. 2) [93, 64].



**RYCINA 2.** Fluktuacja poziomu MRF podczas aktywacji, proliferacji zakończonych terminalnym różnicowaniem (A) lub powrotem do stanu wyciszenia (B). Myf5 i MyoD, a w niektórych przypadkach również Myf6, pojawiają się na wczesnych etapach aktywacji i konieczne są do tego aby proliferacja zaszła. Czynniki MyoD odpowiedzialny jest za zatrzymanie cyklu komórkowego i ostateczne różnicowanie, podczas którego nasila on produkcję miogeniny i Myf6, a jego ekspresja stopniowo obniża się. Natomiast związane z utrzymującym się wysokim poziomem Myf5 obniżenie poziomu MyoD bez indukcji pozostałych MRF prowadzi do przejścia mSC w stan wyciszenia

**FIGURE 2.** Fluctuation of MRF levels during activation, proliferation and terminal differentiation (A) or self-renewal (B). Myf5 and MyoD, and in some cases also Myf6, are elevated at early stages of activation, and are necessary for proliferation to occur. MyoD induces cell-cycle arrest and final differentiation, during which myogenin and Myf6 increase, whereas MyoD decrease. When Myf5 remains at high level, MyoD expression is downregulated without induction of Myf6 and myogenin production, leading to development of quiescent mSC



Pierwszymi czynnikami, których poziom wzrasta już na wczesnych etapach aktywacji i proliferacji są miogeniczny czynnik-5 (ang. *Myogenic factor-5*, Myf5) i miogeniczny czynnik determinujący (ang. *Myogenic Determination factor*, MyoD) [22, 25, 112, 134, 123]. Ich ekspresja jest konieczna do aktywacji mSC [22, 63], gdyż komórki w których poziom Myf5 i MyoD obniża się bez jednoczesnej indukcji innych MRF, zatrzymują cykl komórkowy powracając do stanu nieaktywnych mitotycznie mSC [137]. Pozbawienie myszy obu tych czynników uniemożliwia rozwój prawidłowej tkanki mięśniowej oraz mSC, natomiast myszy pozbawione albo Myf5 albo MyoD wykształcają normalne mięśnie szkieletowe [105].

Współdziałanie obu tych czynników jest konieczne, aby po wywołanym mechanicznie uszkodzeniu mięśnia mogła zajść jego prawidłowa regeneracja [84, 134]. U myszy *MyoD*<sup>-/-</sup> wykazano zwiększoną ekspresję Myf5, ale nie jest ona w stanie w pełni kompensować braku MyoD oraz związanego z tym upośledzenia regeneracji mięśni [84] i różnicowania mSC [134, 106, 23]. Z kolei delecja Myf5 zaburza raczej proliferację mSC, a nie wpływa na ich wyjściową liczebność [36], choć jak wykazano w komórkach C2C12, w trakcie proliferacji następuje obniżenie poziomu Myf5 poprzez degradację jego ufosforylowanej formy [73].

Wydaje się, że Myf5 definiuje także miogeniczny rodowód mSC, jako że przy jego braku częściej obserwuje się *in vivo* różnicowanie tych komórek w kierunku adipocytów i fibroblastów [36]. Potwierdzają to doświadczenia pokazujące, iż Pax7 reguluje bezpośrednio ekspresję Myf5 [82] i to właśnie komórki Pax7<sup>+</sup>Myf5<sup>+</sup> straciwszy kontakt z błoną podstawną zwiększają ekspresję MyoD [63] i preferencyjnie różnicują w kierunku mioblastów [63]. Z drugiej strony można sądzić, że Myf5 promuje zahamowanie cyklu komórkowego, prowadzące do odbudowy populacji nieaktywnych mSC, gdyż jego wysoki poziom powstrzymuje ekspresję MyoD i dalsze etapy różnicowania [134]. Przy czym do uzyskania całkowitego stanu wyciszenia, kiedy komórki nie są aktywne mitotycznie ale też nie wchodzą na drogę różnicowania, konieczne jest obniżenie zarówno MyoD jak i Myf5 [137]. Co prawda wykazano, że promotor genu *myf5* jest aktywny w świeżo wyizolowanych, nieaktywnych mSC [4], ale nie udało się w nich potwierdzić obecności białka [25, 134]. Postuluje się przy tym, że to właśnie mSC Pax7<sup>+</sup>Myf5<sup>-</sup> są populacją prawdziwych komórek macierzystych [4, 63, 136]. Na drodze asymetrycznego podziału powstają z nich bowiem zarówno komórki Pax7<sup>+</sup>Myf5<sup>+</sup> efektywnie różnicujące w kierunku dojrzałych komórek mięśniowych, jak i mSC Pax7<sup>+</sup>Myf5<sup>-</sup> odtwarzające populację nieaktywnych mitotycznie mSC, ulegające dalszym podziałom dopiero przy kolejnym uszkodzeniu [4, 63, 136].

W przeciwieństwie do Myf5, MyoD pojawia się we wszystkich proliferujących mioblastach [22, 134, 84], zanim obniżą one poziom Pax7 i przejdą końcowy etap dojrzwania komórek mięśniowych – tworzenia wielojądrzastych miotub na drodze fuzji [141, 88, 89, 142, 45]. MyoD akumulując się w początkowych etapach różnicowania [112, 123] inicjuje ekspresję pozostałych MRF [22, 25]. Dlatego



uważa się, że odpowiada za przejście od stanu proliferacji do różnicowania [134]. Potwierdzają to obserwacje, że mSC wyizolowane z myszy pozbawionych MyoD zachowują ekspresję Pax7 oraz Myf5 i proliferują w warunkach, które normalnie inicjują różnicowanie [84, 106, 134], nie indukując w ogóle lub indukując ze znacznym opóźnieniem ekspresję dalszych MRF oraz białek charakterystycznych dla dojrzałych komórek mięśniowych – desminy czy MHC [23, 106, 134, 3]. Podobnie, spadek ekspresji MyoD w komórkach C2C12 wywołany przez zwiększoną ekspresję oksygenazy hemowej-1 (ang. *Heme Oxygenase-1*, HO-1), hamuje ich różnicowanie zarówno *in vitro* jak i *in vivo*, po domięśniowym podaniu zmodyfikowanych komórek [60].

Nadrzędną rolę MyoD w inicjacji dojrzewania komórek mięśniowych potwierdzają doświadczenia pokazujące, że nadekspresja tego czynnika transkrypcyjnego w wielu typach komórek (np. fibroblastach, mięśniach gładkich, chondroblastach, komórkach wątroby czy nabłonka) indukuje charakterystyczne dla tkanki mięśni szkieletowych tworzenie wielojądrzastych komórek oraz ekspresję desminy, MHC czy CPK [129, 140]. Wydaje się, że nieprawidłowa regeneracja mięśni po urazie obserwowana u myszy MyoD<sup>-/-</sup> wynikać może właśnie z zaburzenia równowagi między gwałtownie proliferującymi komórkami gotowymi do wejścia na drogę terminalnego różnicowania, a mSC wstrzymującymi podziały komórkowe i powracającymi do stanu wyciszenia [84, 134, 106], zwiększającymi ekspresję białek charakterystycznych dla komórek na wcześniejszych etapach rozwoju – np. Myf5, antygenu różnicowania komórkowego-34 (ang. *Cluster of Differentiation-34*, CD34), antygen-1 komórek macierzystych (ang. *Stem cell antigen-1*, Sca-1) [3, 106]. W normalnych warunkach bowiem, komórki które tracą ekspresję MyoD, a utrzymują Pax7, zatrzymują podziały komórkowe, ale nie rozpoczynają różnicowania tylko wracają do stanu wyciszenia [45, 88, 137, 141]. Potwierdzają to ostatnie doświadczenia pokazujące, że to właśnie zahamowanie ekspresji MyoD konieczne jest do przekształcenia pierwotnych mSC w indukowane komórki pluripotencjalne (ang. *induced Pluripotent Stem cells*, iPS) [127].

Kluczowa rola MyoD w utrzymaniu równowagi między proliferacją, wyciszeniem, a różnicowaniem mSC wymaga bardzo precyzyjnej kontroli poziomu tego białka. Transkrypcja *myoD* zależy od związania do znajdującej się w promotorze sekwencji SRE (ang. *Serum Responsive Element*) czynnika odpowiadającego na surowicę (ang. *Serum Responsive Factor*, SRF), promującego podziały komórkowe [71, 67], w kompleksie z białkiem wiążącym sekwencję CCAAT $\delta$  (ang. *CCAAT/Enhancer Binding Protein  $\delta$* , c/EBP $\delta$ ) [66]. Wykazano, że obniżona ekspresja i jądrowa translokacja c/EBP $\delta$  odpowiedzialne są np. za wywołane przez zahamowanie ekspresji MyoD i różnicowania mSC [60]. Do sekwencji SRE wiąże się również czynnik nasilający miogenezę-2 (ang. *Myocyte Enhancer Factor-2*, MEF2), nasilający ekspresję MyoD i różnicowanie [67]. W obrębie promotora MyoD znajduje się także sekwencja CCAAT, której aktywacja indukuje ekspresję

MyoD [116]. Wydaje się też, że Pax7 z jednej strony może indukować ekspresję MyoD [142], a z drugiej hamować aktywność transkrypcyjną MyoD podczas samoodnowy, poprzez nasilenie ekspresji inhibitorów różnicowania-1 i -3 (ang. *Inhibitor of differentiation-1, -3, Id2 i Id3*) [89].

Poziom MyoD zależy w dużym stopniu od czynników zewnętrznych – jest niski w środowisku bogatym w mitogeny sprzyjające proliferacji [140, 56], dzięki następującej w tych warunkach fosforylacji i degradacji MyoD [73, 56], powodowanej przez kompleks cykliny D1 i kinazy zależnej od cyklin-4 (ang. *Cyclin dependent kinase-4, Cdk4*) [128]. Z kolei w środowisku ubogim w czynniki proliferacyjne, kiedy mioblasty przechodzą 1-2 rundy podziałów komórkowych, podwyższony w poziom MyoD kieruje komórki na drogę różnicowania [56]. Jak wykazano w linii C2C12, w tej sytuacji MyoD aktywuje inhibitory cyklu komórkowego (np. Rb, p21) [137, 44] inicjując fuzjowanie komórek. Ponadto korelujące z podwyższoną ekspresją Myf5 obniżenie poziomu MyoD w fazie G0 cyklu komórkowego powoduje indukcję ekspresji innego inhibitora z rodziny pRb (białka retinoblastoma będące supresorem nowotworu siatkówki) – p130 – który hamuje nie tylko cykl komórkowy, ale również różnicowanie [11, 56].

Miogenina to jedyne białko z grupy MRF, którego brak skutkuje istotnymi zaburzeniami w powstawaniu tkanki mięśniowej, prowadzącymi do śmierci płodu tuż po porodzie, co sugeruje iż jej działanie w życiu płodowym nie może być kompensowane przez pozostałe czynniki transkrypcyjne [57, 83]. Co ciekawe, wyłączenie genu miogeniny zaledwie jeden dzień po porodzie nie upośledza morfologii tkanki mięśniowej, choć wiąże się z mniejszą masą ciała myszy [57]. Również funkcjonowanie mSC otrzymanych w takich warunkach nie jest istotnie zaburzone, co może wynikać z nasilonej ekspresji pozostałych MRF [83].

Ekspresja miogeniny inicjowana jest głównie przez MyoD na wczesnych etapach różnicowania [22, 25, 133, 123]. MyoD działa wraz z enzymami przeprowadzającymi acetylację i deacetylację w obrębie promotora miogeniny [80], w sposób zależny od Myf5 [134] i MEF2 [133]. Ostatnio wykazano, że miogenina jest odpowiedzialna za bezpośrednie wyciszenie aktywności Pax7 podczas różnicowania [89].

Najpóźniej odkryty MRF to mięśniowy czynnik regulacyjny-4, zwany też miogeninym czynnikiem-6 (ang. *Muscle Regulatory Factor-4, MRF4* lub *myogenic factor-6, Myf6*), uważany za białko charakterystyczne dla końcowych etapów różnicowania, którego ekspresja zależy od MyoD i Myf5 [23, 104, 22, 123]. Istnieją jednak doniesienia wskazujące, że ekspresja Myf6 pojawia się na początku różnicowania mSC *in vitro*, razem z Myf5 [112, 123], a podczas rozwoju embrionalnego jego poziom rośnie zanim obserwowane jest nasilenie ekspresji MyoD i miogeniny [53]. Mimo że nadekspresja Myf6 w fibroblastach umożliwia rozwój mięśniowego fenotypu [104], to w przeciwieństwie do MyoD i miogeniny, Myf6 nie aktywuje ekspresji CPK, charakterystycznej dla dojrzałych komórek mięśniowych [140].

## MIĘŚNIOWE miRNA (MIOMIRY)

MikroRNA (miRNA) to krótkie (19-25 nukleotydów) odcinki jednoniciowego RNA, które negatywnie regulują ekspresję genów. Wchodzą w skład kompleksu wyciszającego indukowanego przez RNA (ang. *RNA-Induced Silencing Complex*, RISC) i poprzez kluczowy fragment swojej sekwencji (ang. *seed sequence*) wiążą fragment UTR 3' wyciskanego transkryptu, powodując jego degradację lub hamując translację [114]. Ponieważ pełna komplementarność między miRNA a mRNA nie jest konieczna, jeden miRNA może wyciszać ekspresję wielu różnych genów. Geny związane z rozwojem, których ekspresja musi być czasowo zahamowana, mają długi odcinek UTR 3' i wiele miejsc wiązania dla miRNA, co ułatwia efektywne wyciszanie [114].

Transkrypcja miRNA zależy od polimerazy II RNA i prowadzi do powstania pri-miRNA o długości kilkuset nukleotydów, zawierających struktury dwuniciowego RNA. Obróbka tej cząsteczki początkowo zachodzi w jądrze, dzięki enzymowi Drosha o aktywności RNAzy typu III, którego niezbędnym kofaktorem jest wiążące RNA białko hemowe DGCR8 (ang. *Di George syndrome Critical Region 8*). Kolejne etapy obróbki zachodzą w cytoplazmie, dzięki nukleazie Dicer, i prowadzą do powstania dojrzałych miRNA [114].

**TABELA 2.** MiRNA nie należące do miomirów, regulujące funkcjonowanie mSC i mioblastów  
**TABLE 2.** MiRNA non specific for skeletal muscle tissue, but regulating also, apart from myomirs, mSC and myoblast

Nazwa	Funkcja	Wybrane pozycje literatury
mir-146a	Hamowanie ekspresji Numb i różnicowania mioblastów	[65]
mir-378	Hamowanie aktywności represora MyoD	[34]
mir-486	Hamowanie ekspresji Pax7	[30]
mir-214	Konieczny do różnicowania C2C12	[32]
mir-682	Konieczny do proliferacji mioblastów	[16]
mir-489	Hamowanie ekspresji Dek, konieczny do utrzymania populacji nieaktywnych mitotycznie mSC	[17]
miR-125b	Hamowanie ekspresji IGF-II i różnicowania mioblastów	[37]
miR-27	Hamowanie ekspresji Pax3	[28]

W ostatnich latach wykazano, że MRF, MEF2 i SRF wpływają na proliferację oraz różnicowanie mSC i mioblastów również poprzez regulację ekspresji grupy czterech miRNA, zwanych miomirami [100, 74, 55]. Miomiry, czyli mir-1, mir-133a, mir-133b i miR206 są charakterystyczne dla mięśni szkieletowych i kardiomiocytów [14, 115]. Ich przejściowa ekspresja podczas różnicowania mioblastów zarówno *in vitro* [100, 1] jak i *in vivo* [138, 14] negatywnie reguluje ekspresję genów docelowych i jest konieczna do prawidłowego rozwoju tkanki mięśniowej [1]. Transkrybowane są jako cząsteczki bicistronowe, zawierające pary miomirów o różnych sekwencjach kluczowych – mir-1/mir-133a oraz mir-206/mir-133b [81]. Wykazano, że co najmniej kilka innych miRNA wpływa na ekspresję genów związanych z miogenezą (tab. 2). Nie są one jednak zaliczane do klasycznych miomirów, gdyż ich obecność nie ogranicza się do tkanki mięśniowej.

Mir-1 i mir-206 uważane są za czynniki hamujące proliferację mioblastów i promujące ich różnicowanie poprzez odpowiednio obniżenie ekspresji polimerazy II DNA oraz inhibitorów MRF [55, 14, 115, 131]. Ich zwiększony poziom obserwowany np. w pierwotnych mSC wyizolowanych od myszy pozbawionych genu HO-1 [60] koreluje z nasileniem ekspresji białek charakterystycznych dla różnicujących lub dojrzałych komórek mięśniowych (MyoD, miogenina, MHC, CPK) oraz z fuzją mioblastów [55, 60, 81]. Udowodniono, że obniżenie mir-1 i miR-206 prowadzi do nasilenia ekspresji receptora c-Met i rozwoju mięsaka prążkowanokomórkowego (ang. *Rhabdomyosarcoma*, RMS) nowotworu tkanek miękkich, którego cechą charakterystyczną jest niekontrolowana proliferacja komórek mięśni prążkowanych [118, 135]. Ostatnio wykazano, że mir-1 i miR-206 współdziałają również podczas rozwoju płodowego, regulując ekspresję Pax3 [42], a w trakcie różnicowania mioblastów – Pax7 [15].

Mir-1 indukuje różnicowanie hamując ekspresję deacetylazy histonowej-4 (ang. *Histone Deacetylase-4*, HDAC4) [14] oraz MEF2 [48], a jego transfer do komórek HeLa obniża ekspresję prawie 100 genów, których poziom jest również niski w tkance mięśni szkieletowych [72]. Przewidywanym genem docelowym dla mir-1 jest nasilający proliferację i różnicowanie insulinopodobny czynnik wzrostu (ang. *insulin-like Growth Factor*, IGF). Na początkowych etapach przebudowy tkanki mięśniowej wywołanej przeciążeniem obserwowane jest obniżenie ekspresji mir-1, prowadzące do promowanej przez IGF hipertrofii [81].

Z kolei mir-206 to najsilniejszy inhibitor proliferacji mioblastów, obecny wyłącznie w mięśniach szkieletowych, którego ekspresja może być nasilana przez Myf5, MyoD, Myf6 i miogeninę [55, 81]. Obniża poziom polimerazy DNA II, represorów transkrypcji MRF – MyoR (ang. *Myogenic repressor*) i Id1-3 – [55] oraz HDAC4, przez co nasila ekspresję miogeniny [131]. Do jego przewidywanych genów docelowych należy też Pax3 [28]. *In vivo* mir-206 pojawia się w nowo powstałych włóknach mięśniowych, ale jego obecności nie wykryto ani w dojrzałej tkance mięśniowej ani w proliferujących mioblastach [138]. Zaburzenia ekspresji mir-206 występują nie tylko podczas rozwoju RMS [118, 135], ale również

w innych stanach chorobowych charakteryzujących się nieprawidłowym funkcjonowaniem mięśni szkieletowych – stwardnieniu zanikowym bocznym (ang. *Amyotrophic Lateral Sclerosis*, ALS) [131] oraz mięśniowej dystrofii Duchenne’a (ang. *Duchenne Muscle Dystrophy*, DMD) [138] [81]. Wykazano, że w DMD zwiększony poziom mir-206 w przeponie obniża prawdopodobnie ekspresję genów, które w pozostałych mięśniach umożliwiają pewien stopień regeneracji, a *in vitro* nasila raczej aktywację i różnicowanie mSC niż ich samoodnowę [81].

Choć MRF aktywują również ekspresję mir-133a i miR-133b [100, 138, 74], których poziom wzrasta podczas różnicowania w sposób podobny do mir-1 i miR-206 [14, 100, 138, 16, 81], wciąż trwa dyskusja na temat ich roli w dojrzewaniu mioblastów. Niektóre doniesienia sugerują, że są one inhibitorami proliferacji, choć nie tak silnymi jak mir-1 i mir-206 [55]. Inni autorzy obserwowali natomiast przeciwny wpływ mir-133a i miR-133b na proliferację, związany z hamowaniem ekspresji SRF [14] oraz ograniczeniem ekspresji MyoD i MEF2 [70]. Poziom ekspresji wszystkich czterech miomirów zmienia się pod wpływem HO-1 – spadając w przypadku zwiększonej ekspresji tego enzymu, a rosnąc w mSC pozbawionych HO-1, co prowadzi odpowiednio do zahamowania lub nasilenia różnicowania [60].

## CZYNNIKI ZEWNĄTRZKOMÓRKOWE I SZLAKI PRZEKAZU SYGNAŁU

Nisza, którą w warunkach fizjologicznych zajmują mSC zapewnia z jednej strony kontakt z włóknami mięśniowymi, a z drugiej z błoną podstawną i składnikami macierzy zewnątrzkomórkowej. ECM stanowi magazyn czynników wzrostowych i cytokin, które normalnie związane z jej składnikami, są uwalniane podczas zranienia przez aktywowane metaloproteinazy (ang. *Matrix Metalloproteinase*, MMP) i biorą udział w regulowaniu aktywacji, proliferacji, różnicowania i samoodnowy mSC [62, 43, 6, 136]. O wyjątkowym znaczeniu ECM świadczą doświadczenia pokazujące, iż brak jej składników hamuje dojrzewanie komórek mięśniowych [92].

Większość mSC w obrębie tkanki mięśniowej lokalizuje się w pobliżu naczyń krwionośnych [18], a podczas zranienia otoczona jest przez naciekające mięsień komórki układu odpornościowego [122]. Zarówno komórki śródbłonkowe jak i makrofagi oraz neutrofile są więc ważnym źródłem związków parakrynnie wpływających na funkcjonowanie mSC. Także substancje uwalniane z samych komórek mięśniowych po ich uszkodzeniu nie tylko promują migrację komórek zapalnych [6], ale również regulują aktywność mSC [46] (tab. 3). Kluczowe znaczenie niszy w jakiej funkcjonują mSC potwierdzają doświadczenia pokazujące, że transplantacja włókien mięśniowych pobranych od starszego osobnika do młodego biorecy wzmacnia ich osłabioną zdolność do regeneracji tkanki mięśniowej [9], a kontakt z błoną podstawną jest konieczny do utrzymania stanu wyciszenia tych komórek [63].

**TABELA 3.** Najczęściej występujące czynniki wzrostowe i cytokiny regulujące funkcjonowanie mSC  
**TABLE 3.** Growth factors and cytokines regulating mSC

Nazwa	Źródło	Receptor	Funkcja w mSC	Wybrana literatura
HGF	ECM	c-Met	↑ aktywacja	[117]
bFGF	ECM / mSC	FGFR	↑ proliferacja; ↓ różnicowanie	[13, 136]
SDF-1 $\alpha$	mSC / ECM	CXCR4	↑ migracja; ↓ różnicowanie	[101, 60]
IGF	układ krwionośny / mSC	IGF-R	↑ proliferacja; ↑ różnicowanie; ↑ hipertrofia	[79, 136]
miostatyna	układ krwionośny / mSC	ACVR2	↓ aktywacja; ↓ różnicowanie ↓ hipertrofia	[52]
TGF $\beta$	układ krwionośny	TGF- $\beta$ R	↓ różnicowanie	[58, 136]
WNT	ECM	Frizzled	↑ różnicowanie	[124, 136]
delta-1	mSC	Notch	↑ proliferacja; ↓ przedwczesne różnicowanie	[124]

Mimo wykazania, iż wiele cząsteczek promuje proliferację mSC [13], oddziaływanie czynnika wzrostu hepatocytów (ang. *Hepatocyte Growth Factor*, HGF) z receptorem c-Met pozostaje klasycznym szlakiem aktywacji wyciszonych progenitorów tkanki mięśniowej [117, 136]. Mechaniczne uszkodzenie mięśnia i wywołane uwalnianiem jonów Ca<sup>2+</sup> zwiększenie produkcji NO aktywuje MMP, które uwalniają HGF z ECM. Związanie HGF z receptorem c-Met stymuluje proliferację i migrację mSC [117], dzięki aktywacji szlaków przekazu sygnału zależnych od p38 i PI3K [25, 130, 51, 117]. Aktywacja i migracja jest też nasilana przez czynnik pochodzenia stromalnego (ang. *Stromal Derived Factor-1 $\alpha$* , SDF-1), którego źródłem są same mSC i znajdujące się poza mięśniami fibroblasty, a który wiąże się do receptora powierzchniowego CXCR4 [101, 7].

Dalsze etapy regeneracji tkanki mięśniowej regulowane są również głównie poprzez szlaki sygnałów zależnych od kinaz p38 i PI3K [75, 39, 136]. Są one aktywowane przez IGF – hormon peptydowy silnie stymulujący zarówno hipertrofię jak i hiperplazję mięśni szkieletowych [85]. Fosforylacja PI3K, a następnie kinazy białkowej Akt oraz kinazy hamowanej przez rapamycynę (ang. *mammalian Target Of Rapamycin*, mTOR) prowadzi do zwiększenia syntezy białek oraz powstrzymuje zahamowanie różnicowania wywołane przez czynniki z grupy transformującego czynnika wzrostu- $\beta$  (ang. *Transforming Growth Factor- $\beta$* , TGF- $\beta$ ) [39].



Kinazy p38 wydają się nasilać efekty działania IGF, gdyż zwiększają ekspresję i aktywność kinazy Akt [8]. Jak pokazują doświadczenia przeprowadzone głównie na komórkach C2C12 z wykorzystaniem farmakologicznych inhibitorów aktywności kinaz, izoformy p38 $\alpha/\beta$  są kluczowymi czynnikami regulującymi różnicowanie mioblastów [132, 8, 51]. Nie tylko aktywują transkrypcję zależną od MyoD i MEF2 [132], ale są również konieczne do ekspresji białek charakterystycznych dla terminalnie zróżnicowanych miocytów [8]. Udowodniono, że p38 $\alpha/\beta$  są istotne w aktywacji mSC przez FGF i są konieczne do indukcji ekspresji MyoD [51]. Co ciekawe, wykazano też przeciwny wpływ aktywacji p38 na miogenezę w mezenchymalnych komórkach macierzystych (ang. *Mesenchymal Stem Cells*, MSC) [130], a gwałtownie spadająca podczas miogenezы ekspresja p38 $\gamma$  sugeruje przeciwny efekt działania tej izoformy [51]. Potwierdzają to najnowsze doniesienia, wykazujące, iż p38 $\gamma$  hamuje aktywność transkrypcyjną MyoD i obniża tym samym ekspresję miogeniny [77, 38], a u myszy pozbawionych tej kinazy zachodzi przedwczesne różnicowanie mioblastów [38]. Ponadto wykazano iż p38 $\gamma$ , w przeciwieństwie do p38 $\alpha/\beta$ , nie indukuje ekspresji IGF i tym samym nie prowadzi do różnicowania wywołanego autokrynnie przez ten związek [77].

## mSC W CHOROBAH I TERAPII KOMÓRKOWEJ

Zrozumienie mechanizmów rządzących regeneracją mięśni szkieletowych oraz poznanie czynników wpływających na różnicowanie mSC może się przyczynić do rozwoju skutecznych terapii komórkowych, leczących schorzenia tkanki mięśniowej. Choroby degeneracyjne mięśni są często związane z upośledzeniem funkcji mSC, np. proliferacji w miotonicznej dystrofii typu 1 [121] lub różnicowania w dystrofii mięśniowej Emery-Dreifussa [40]. Także w dystrofii mięśniowej Duchenne’a czy Beckera, w których upośledzenie mSC nie jest głównym elementem patofizjologii [31], powtarzające się cykle uszkodzenia i regeneracji mięśni oraz zaburzona równowaga między samoodnową a różnicowaniem, prowadzą do przedwczesnego wyczerpania puli mSC [78]. Możliwe też, że istotnym powodem zaburzonej regeneracji mięśni w tych schorzeniach są sygnały zewnątrzkomórkowe, obniżające zdolność mSC do różnicowania [59].

Również starzenie się organizmów związane jest z utratą masy mięśniowej, spadkiem sprawności mięśni oraz obniżeniem ich potencjału regeneracyjnego [43]. Może to wynikać ze zmniejszającej się z wiekiem liczebności mSC oraz postępującego upośledzenia ich zdolności do samoodnowy, proliferacji, aktywacji i różnicowania [9, 76, 29], wywołanego pogłębiającymi się zaburzeniami statusu oksydacyjnego [33]. Także w tym przypadku podkreślana jest rola niszy, w jakiej mSC funkcjonują – zarówno komórki ludzkie [10] jak i mysie [21] wykazywały podwyższoną aktywność i proliferację, gdy stymulowano je surowicą pobraną od młodych osobników.



Zaburzenia w funkcjonowaniu mSC pojawiają się również podczas chronicznych komplikacji związanych z nowotworzeniem czy cukrzycą. Wykazano, że utrata masy mięśniowej związana z procesem nowotworowym toczącym się w organizmie może wynikać z upośledzonego różnicowania mSC [97]. W cukrzycy typu 1 [126] i cukrzycy typu 2 [87] obserwowano zaburzoną regenerację tkanki mięśniowej po urazie, co wiązano z mniejszą liczbą dzielących się mioblastów [87]. Ponadto mSC wyizolowane od zwierząt obarczonych cukrzycą nie tylko gorzej różnicowały w kierunku dojrzałej tkanki mięśniowej ale nasilały również patologiczną adipogenezę [139] i były bardziej wrażliwe na uszkodzenia wywołane stresem oksydacyjnym [27].

W 1989 roku pokazano, iż komórki linii C2C12 są w stanie wbudowywać się w mięśnie myszy *mdx* (pozbawionych funkcjonalnego genu dystrofiny, będących modelem dystrofii mięśniowej Duchenne'a) i zapewniać im ekspresję dystrofiny [95]. Od tego czasu pierwotne mSC, jako komórki przyczyniające się do regeneracji mięśni i posiadające zdolność do samoodnowy przy jednoczesnym braku ryzyka nowotworzenia, uważane są za potencjalne narzędzie nie tylko w terapii komórkowej chorób tkanki mięśniowej [96, 26], ale również zawału serca [91, 125], chorób układu moczowego [47], czy regeneracji kości i chrząstki [69].

Choć udowodniono, że mSC lub komórki od nich pochodzące są w stanie wbudować się w tkanki gospodarza [91, 12], ostateczny efekt terapii nigdy nie był w pełni zadowalający [120, 26]. Główne przeszkody to masowa apoptoza przeszczepionych komórek w ciągu trzech dni po transplantacji, słaba migracja oraz indukcja odpowiedzi immunologicznej prowadząca do odrzucenia podanych komórek w przeciągu dwóch tygodni [125, 4, 111].

Skuteczna terapia z wykorzystaniem progenitorowych komórek mięśniowych powinna nie tylko przewyższać te problemy, ale również utrzymywać zdolność podanych komórek do proliferacji, samoodnowy i różnicowania, co w efekcie mogłoby zapewnić odbudowę uszkodzonego mięśnia i przywrócenie populacji mSC. Aby to osiągnąć badano różne populacje mięśniowych komórek macierzystych oraz progenitorowych. Wykazano, że komórki długo proliferujące po transplantacji, ale mniej dojrzałe i zdolne do samoodnowy, lepiej funkcjonują po przeszczepieniu [69, 20, 12] i są w stanie zapewnić regenerację mięśni nawet u myszy *mdx* [69, 86]. Niestety, komórki takie są rzadkie [12, 86], przez co konieczne jest wielokrotne podawanie dużych ilości heterogennej populacji [111]. Zwiększa to ryzyko nasilonej odpowiedzi układu odpornościowego i pogłębia hipoksję. Z drugiej strony, izolacja czystych populacji wymaga z reguły skomplikowanej i długotrwałej preparatyki [69, 20], a ich propagacja *in vitro* wiąże się z pogorszeniem właściwości komórek [86].

Inne proponowane podejście to modyfikowanie komórek *ex vivo*, przed transplantacją. Wykazano że poprawę przeżywalności komórek po przeszczepieniu oraz zmniejszenie odpowiedzi immunologicznej można uzyskać poprzez nadekspresję erytropoetyny [107, 50], a wydajność transplantacji można poprawić również zwiększając nasilając migrację mioblastów dzięki podniesionej ekspresji MMP [98]. Z kolei komórki pozbawione MyoD lepiej przeżywały po przeszczepieniu dzięki mniejszej wrażliwości na apoptozę [3].

## PODSUMOWANIE

mSC oraz mioblasty, będące jedynym fizjologicznym źródłem dojrzałych komórek tkanki mięśniowej, są naturalnym celem terapii schorzeń związanych z zaburzoną regeneracją mięśni szkieletowych. Jednak brak wyraźnych sukcesów w transplatacji komórek progenitorowych mięśni szkieletowych skłania do prowadzenia dalszych badań nad funkcjonowaniem tych komórek. Wciąż poszukuje się bowiem czynnika czy też metody, które zmniejszałyby wrażliwość mSC i mioblastów na apoptozę indukowaną stresem oksydacyjnym, hamując jednocześnie aktywację układu odpornościowego gospodarza, bez wpływania na ich zdolność do różnicowania i proliferacji. Do grupy dość dobrze poznanych czynników regulujących funkcjonowanie mSC i mioblastów, takich jak MRF czy szlaki przekazu sygnałów zależnych od kinazy p38, w ostatnich latach dołączyły również miomiry. Ich zdolność do regulacji proliferacji i różnicowania komórek progenitorowych tkanki mięśniowej wydaje się mieć znaczenie w powstawaniu terapii nowotworu tkanki mięśniowej – RMS, a w przyszłości być może przełoży się również na znalezienie metody jego leczenia. Dlatego dogłębne poznanie fizjologii mSC i mioblastów jest ważne dla dalszych poszukiwań czynników wpływających na ich funkcjonowanie mSC i mioblastów, które np. tak jak HO-1 regulacją ekspresję MRF lub miomirów.

## PODZIĘKOWANIA

Finansowanie: Badania autorów dotyczące roli HO-1 finansowane są z grantów przyznanych przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (Iuventus Plus – IP2012 025572) oraz Narodowego Centrum Nauki (Harmonia – NCN 2012/06/M/NZ1/00008 oraz Maestro – NCN 2012/06/A/NZ1/00004). Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii Uniwersytetu Jagiellońskiego jest członkiem Konsorcjum, które uzyskało status Krajowego Naukowego Ośrodka

## LITERATURA

- [1] ANDERSON C, CATOE H, WERNER R. MIR-206 regulates connexin43 expression during skeletal muscle development. *Nucleic acids research* 2006; 34: 5863-5871.
- [2] ARCHACKA K, KOWALSKI K, BRZOSKA E. [Are satellite cells stem cells?]. *Postepy biochemii* 2013; 59: 205-218.
- [3] ASAKURA A, HIRAI H, KABLAR B, MORITA S, ISHIBASHI J, PIRAS BA, CHRIST AJ, VERMA M, VINERETSKY KA, RUDNICKI MA. Increased survival of muscle stem cells lacking the MyoD gene after transplantation into regenerating skeletal muscle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2007; 104: 16552-16557.
- [4] BEAUCHAMP JR, HESLOP L, YU DS, TAJBAKHSH S, KELLY RG, WERNIG A, BUCKINGHAM ME, PARTRIDGE TA, ZAMMIT PS. Expression of CD34 and Myf5 defines the majority of quiescent adult skeletal muscle satellite cells. *The Journal of cell biology* 2000; 151: 1221-1234.

- [5] BELLES-ISLES M, ROY R, DANSEREAU G, GOULET M, ROY B, BOUCHARD JP, TREMBLAY JP. Rapid selection of donor myoblast clones for muscular dystrophy therapy using cell surface expression of NCAM. *European journal of histochemistry* : EJH 1993; 37: 375-380.
- [6] BRZOSKA E, CIEMERYCH MA, PRZEWOZNIAK M, ZIMOWSKA M. Regulation of muscle stem cells activation the role of growth factors and extracellular matrix. *Vitamins and hormones* 2011; 87: 239-276.
- [7] BRZOSKA E, KOWALEWSKA M, MARKOWSKA A, KOWALSKI K, ARCHACKA K, ZIMOWSKA M, GRABOWSKA I, CZERWINSKA AM, GORA M, STREMIŃSKA W, JANCZYK-ILACH K, CIEMERYCH MA. The Sdf-1 (CXCL12) improves skeletal muscle regeneration via the mobilization of Cxcr4 and CD34 expressing cells. *Biology of the cell / under the auspices of the European Cell Biology Organization* 2012.
- [8] CABANE C, COLDEFY AS, YEOW K, DERIJARD B. The p38 pathway regulates Akt both at the protein and transcriptional activation levels during myogenesis. *Cellular signalling* 2004; 16: 1405-1415.
- [9] CARLSON BM, FAULKNER JA. Muscle transplantation between young and old rats: age of host determines recovery. *The American journal of physiology* 1989; 256: C1262-1266.
- [10] CARLSON ME, SUETTA C, CONBOY MJ, AAGAARD P, MACKEY A, KJAER M, CONBOY I. Molecular aging and rejuvenation of human muscle stem cells. *EMBO molecular medicine* 2009; 1: 381-391.
- [11] CARNAC G, FAJAS L, L'HONORE A, SARDET C, LAMB NJ, FERNANDEZ A. The retinoblastoma-like protein p130 is involved in the determination of reserve cells in differentiating myoblasts. *Curr Biol* 2000; 10: 543-546.
- [12] CERLETTI M, JURGA S, WITCZAK CA, HIRSHMAN MF, SHADRACH JL, GOODYEAR LJ, WAGERS AJ. Highly efficient, functional engraftment of skeletal muscle stem cells in dystrophic muscles. *Cell* 2008; 134: 37-47.
- [13] CHARGE SB, RUDNICKI MA. Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiological reviews* 2004; 84: 209-238.
- [14] CHEN JF, MANDEL EM, THOMSON JM, WU Q, CALLIS TE, HAMMOND SM, CONLON FL, WANG DZ. The role of microRNA-1 and microRNA-133 in skeletal muscle proliferation and differentiation. *Nature genetics* 2006; 38: 228-233.
- [15] CHEN JF, TAO Y, LI J, DENG Z, YAN Z, XIAO X, WANG DZ. microRNA-1 and microRNA-206 regulate skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation by repressing Pax7. *The Journal of cell biology* 2010; 190: 867-879.
- [16] CHEN Y, GELFOND J, MCMANUS LM, SHIREMAN PK. Temporal microRNA expression during in vitro myogenic progenitor cell proliferation and differentiation: regulation of proliferation by miR-682. *Physiological genomics* 2011; 43: 621-630.
- [17] CHEUNG TH, QUACH NL, CHARVILLE GW, LIU L, PARK L, EDALATI A, YOO B, HOANG P, RANDO TA. Maintenance of muscle stem-cell quiescence by microRNA-489. *Nature* 2012; 482: 524-528.
- [18] CHRISTOV C, CHRETIEN F, ABOU-KHALIL R, BASSEZ G, VALLET G, AUTHIER FJ, BASSAGLIA Y, SHININ V, TAJBAKHSH S, CHAZAUD B, GHERARDI RK. Muscle satellite cells and endothelial cells: close neighbors and privileged partners. *Molecular biology of the cell* 2007; 18: 1397-1409.
- [19] COLLINS CA, GNOCCHI VF, WHITE RB, BOLDRIN L, PEREZ-RUIZ A, RELAIX F, MORGAN JE, ZAMMIT PS. Integrated functions of Pax3 and Pax7 in the regulation of proliferation, cell size and myogenic differentiation. *PLoS one* 2009; 4: e4475.
- [20] COLLINS CA, OLSEN I, ZAMMIT PS, HESLOP L, PETRIE A, PARTRIDGE TA, MORGAN JE. Stem cell function, self-renewal, and behavioral heterogeneity of cells from the adult muscle satellite cell niche. *Cell* 2005; 122: 289-301.
- [21] CONBOY IM, CONBOY MJ, WAGERS AJ, GIRMA ER, WEISSMAN IL, RANDO TA. Rejuvenation of aged progenitor cells by exposure to a young systemic environment. *Nature* 2005; 433: 760-764.
- [22] COOPER RN, TAJBAKHSH S, MOULY V, COSSU G, BUCKINGHAM M, BUTLER-BROWNE GS. In vivo satellite cell activation via Myf5 and MyoD in regenerating mouse skeletal muscle. *Journal of cell science* 1999; 112 ( Pt 17): 2895-2901.
- [23] CORNELISON DD, OLWIN BB, RUDNICKI MA, WOLD BJ. MyoD(-/-) satellite cells in single-fiber culture are differentiation defective and MRF4 deficient. *Developmental biology* 2000; 224: 122-137.
- [24] CORNELISON DD, WILCOX-ADELMAN SA, GOETINCK PF, RAUVALA H, RAPRAEGER AC, OLWIN BB. Essential and separable roles for Syndecan-3 and Syndecan-4 in skeletal muscle development and regeneration. *Genes & development* 2004; 18: 2231-2236.

- [25] CORNELISON DD, WOLD BJ. Single-cell analysis of regulatory gene expression in quiescent and activated mouse skeletal muscle satellite cells. *Developmental biology* 1997; 191: 270-283.
- [26] COSSU G, SAMPAOLESI M. New therapies for muscular dystrophy: cautious optimism. *Trends in molecular medicine* 2004; 10: 516-520.
- [27] COSTFORD SR, CRAWFORD SA, DENT R, MCPHERSON R, HARPER ME. Increased susceptibility to oxidative damage in post-diabetic human myotubes. *Diabetologia* 2009; 52: 2405-2415.
- [28] CRIST CG, MONTARRAS D, PALLAFACCHINA G, ROCANCOURT D, CUMANO A, CONWAY SJ, BUCKINGHAM M. Muscle stem cell behavior is modified by microRNA-27 regulation of Pax3 expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2009; 106: 13383-13387.
- [29] DAY K, SHEFER G, SHEARER A, YABLONKA-REUVENI Z. The depletion of skeletal muscle satellite cells with age is concomitant with reduced capacity of single progenitors to produce reserve progeny. *Developmental biology* 2010; 340: 330-343.
- [30] DEY BK, GAGAN J, DUTTA A. miR-206 and -486 induce myoblast differentiation by downregulating Pax7. *Molecular and cellular biology* 2011; 31: 203-214.
- [31] FARINI A, RAZINI P, ERRATICO S, TORRENTE Y, MEREGALLI M. Cell based therapy for Duchenne muscular dystrophy. *Journal of cellular physiology* 2009; 221: 526-534.
- [32] FENG Y, CAO JH, LI XY, ZHAO SH. Inhibition of miR-214 expression represses proliferation and differentiation of C2C12 myoblasts. *Cell biochemistry and function* 2011; 29: 378-383.
- [33] FULLE S, DI DONNA S, PUGLIELLI C, PIETRANGELO T, BECCAFICO S, BELLOMO R, PROTASI F, FANO G. Age-dependent imbalance of the antioxidative system in human satellite cells. *Experimental gerontology* 2005; 40: 189-197.
- [34] GAGAN J, DEY BK, LAYER R, YAN Z, DUTTA A. MicroRNA-378 targets the myogenic repressor MyoR during myoblast differentiation. *The Journal of biological chemistry* 2011; 286: 19431-19438.
- [35] GARRY DJ, YANG Q, BASSEL-DUBY R, WILLIAMS RS. Persistent expression of MNF identifies myogenic stem cells in postnatal muscles. *Developmental biology* 1997; 188: 280-294.
- [36] GAYRAUD-MOREL B, CHRETIEN F, FLAMANT P, GOMES D, ZAMMIT PS, TAJBAKHSH S. A role for the myogenic determination gene Myf5 in adult regenerative myogenesis. *Developmental biology* 2007; 312: 13-28.
- [37] GE Y, SUN Y, CHEN J. IGF-II is regulated by microRNA-125b in skeletal myogenesis. *The Journal of cell biology* 2011; 192: 69-81.
- [38] GILLESPIE MA, LE GRAND F, SCIME A, KUANG S, VON MALTZAHN J, SEALE V, CUENDA A, RANISH JA, RUDNICKI MA. p38- $\gamma$ -dependent gene silencing restricts entry into the myogenic differentiation program. *The Journal of cell biology* 2009; 187: 991-1005.
- [39] GLASS DJ. PI3 kinase regulation of skeletal muscle hypertrophy and atrophy. *Current topics in microbiology and immunology* 2010; 346: 267-278.
- [40] GNOCCHI VF, ELLIS JA, ZAMMIT PS. Does satellite cell dysfunction contribute to disease progression in Emery-Dreifuss muscular dystrophy? *Biochemical Society transactions* 2008; 36: 1344-1349.
- [41] GNOCCHI VF, WHITE RB, ONO Y, ELLIS JA, ZAMMIT PS. Further characterisation of the molecular signature of quiescent and activated mouse muscle satellite cells. *PloS one* 2009; 4: e5205.
- [42] GOLJANEK-WHYSALL K, SWEETMAN D, ABU-ELMAGD M, CHAPNIK E, DALMAY T, HORNSTEIN E, MUNSTERBERG A. MicroRNA regulation of the paired-box transcription factor Pax3 confers robustness to developmental timing of myogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2011; 108: 11936-11941.
- [43] GOPINATH SD, RANDO TA. Stem cell review series: aging of the skeletal muscle stem cell niche. *Aging cell* 2008; 7: 590-598.
- [44] GUO K, WANG J, ANDRES V, SMITH RC, WALSH K. MyoD-induced expression of p21 inhibits cyclin-dependent kinase activity upon myocyte terminal differentiation. *Molecular and cellular biology* 1995; 15: 3823-3829.
- [45] HALEVY O, PIESTUN Y, ALLOUH MZ, ROSSER BW, RINKEVICH Y, RESHEF R, ROZENBOIM I, WLEKLINSKI-LEE M, YABLONKA-REUVENI Z. Pattern of Pax7 expression during myogenesis in the posthatch chicken establishes a model for satellite cell differentiation and renewal. *Dev Dyn* 2004; 231: 489-502.
- [46] HAUGK KL, ROEDER RA, GARBER MJ, SCHELLING GT. Regulation of muscle cell proliferation by extracts from crushed muscle. *Journal of animal science* 1995; 73: 1972-1981.

- [47] HUARD J, YOKOYAMA T, PRUCHNIC R, QU Z, LI Y, LEE JY, SOMOGYI GT, DE GROAT WC, CHANCELLOR MB. Muscle-derived cell-mediated ex vivo gene therapy for urological dysfunction. *Gene therapy* 2002; 9: 1617-1626.
- [48] IKEDA S, HE A, KONG SW, LU J, BEJAR R, BODYAK N, LEE KH, MA Q, KANG PM, GOLUB TR, PU WT. MicroRNA-1 negatively regulates expression of the hypertrophy-associated calmodulin and Mef2a genes. *Molecular and cellular biology* 2009; 29: 2193-2204.
- [49] ILLA I, LEON-MONZON M, DALAKAS MC. Regenerating and denervated human muscle fibers and satellite cells express neural cell adhesion molecule recognized by monoclonal antibodies to natural killer cells. *Annals of neurology* 1992; 31: 46-52.
- [50] JIA Y, WARIN R, YU X, EPSTEIN R, NOGUCHI CT. Erythropoietin signaling promotes transplanted progenitor cell survival. *Faseb J* 2009; 23: 3089-3099.
- [51] JONES NC, TYNER KJ, NIBARGER L, STANLEY HM, CORNELISON DD, FEDOROV YV, OLWIN BB. The p38alpha/beta MAPK functions as a molecular switch to activate the quiescent satellite cell. *The Journal of cell biology* 2005; 169: 105-116.
- [52] JOULIA-EKAZA D, CABELLO G. Myostatin regulation of muscle development: molecular basis, natural mutations, physiopathological aspects. *Experimental cell research* 2006; 312: 2401-2414.
- [53] KASSAR-DUCHOSSOY L, GAYRAUD-MOREL B, GOMES D, ROCAN COURT D, BUCKINGHAM M, SHININ V, TAJBAKHSH S. Mrf4 determines skeletal muscle identity in Myf5:Myod double-mutant mice. *Nature* 2004; 431: 466-471.
- [54] KAWIAK J, BRZOSKA E, GRABOWSKA I, HOSER G, STREMIŃSKA W, WASILEWSKA D, MACHAJ EK, POJDA Z, MORACZEWSKI J. Contribution of stem cells to skeletal muscle regeneration. *Folia histochemica et cytobiologica / Polish Academy of Sciences, Polish Histochemical and Cytochemical Society* 2006; 44: 75-79.
- [55] KIM HK, LEE YS, SIVAPRASAD U, MALHOTRA A, DUTTA A. Muscle-specific microRNA miR-206 promotes muscle differentiation. *The Journal of cell biology* 2006; 174: 677-687.
- [56] KITZMANN M, FERNANDEZ A. Crosstalk between cell cycle regulators and the myogenic factor MyoD in skeletal myoblasts. *Cell Mol Life Sci* 2001; 58: 571-579.
- [57] KNAPP JR, DAVIE JK, MYER A, MEADOWS E, OLSON EN, KLEIN WH. Loss of myogenin in postnatal life leads to normal skeletal muscle but reduced body size. *Development (Cambridge, England)* 2006; 133: 601-610.
- [58] KOLLIAS HD, MCDERMOTT JC. Transforming growth factor-beta and myostatin signaling in skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2008; 104: 579-587.
- [59] KOTTLORS M, KIRSCHNER J. Elevated satellite cell number in Duchenne muscular dystrophy. *Cell and tissue research* 2010; 340: 541-548.
- [60] KOZAKOWSKA M, CIESLA M, STEFANSKA A, SKRZYPEK K, WAS H, JAZWA A, GROCHOT-PRZECZEK A, KOTLIŃSKI J, SZYMULA A, BARTELIK A, MAZAN M, YAGENSKY O, FLORCZYK U, LEMKE K, ZEBZDA A, DYDUCH G, NOWAK W, SZADE K, STEPNIŃSKI J, MAJKA M, DERLACZ R, LOBODA A, DULAK J, JOZKOWICZ A. Heme oxygenase-1 inhibits myoblast differentiation by targeting myomirs. *Antioxidants & redox signaling* 2012; 16: 113-127.
- [61] KUANG S, CHARGE SB, SEALE P, HUH M, RUDNICKI MA. Distinct roles for Pax7 and Pax3 in adult regenerative myogenesis. *The Journal of cell biology* 2006; 172: 103-113.
- [62] KUANG S, GILLESPIE MA, RUDNICKI MA. Niche regulation of muscle satellite cell self-renewal and differentiation. *Cell stem cell* 2008; 2: 22-31.
- [63] KUANG S, KURODA K, LE GRAND F, RUDNICKI MA. Asymmetric self-renewal and commitment of satellite stem cells in muscle. *Cell* 2007; 129: 999-1010.
- [64] KUANG S, RUDNICKI MA. The emerging biology of satellite cells and their therapeutic potential. *Trends in molecular medicine* 2008; 14: 82-91.
- [65] KUANG W, TAN J, DUAN Y, DUAN J, WANG W, JIN F, JIN Z, YUAN X, LIU Y. Cyclic stretch induced miR-146a upregulation delays C2C12 myogenic differentiation through inhibition of Numb. *Biochemical and biophysical research communications* 2009; 378: 259-263.
- [66] L'HONORE A, LAMB NJ, VANDROMME M, TUROWSKI P, CARNAC G, FERNANDEZ A. MyoD distal regulatory region contains an SRF binding CArG element required for MyoD expression in skeletal myoblasts and during muscle regeneration. *Molecular biology of the cell* 2003; 14: 2151-2162.



- [67] L'HONORE A, RANA V, ARSIC N, FRANCKHAUSER C, LAMB NJ, FERNANDEZ A. Identification of a new hybrid serum response factor and myocyte enhancer factor 2-binding element in MyoD enhancer required for MyoD expression during myogenesis. *Molecular biology of the cell* 2007; 18: 1992-2001.
- [68] LEE HJ, GORING W, OCHS M, MUEHLFELD C, STEDING G, PAPROTTA I, ENGEL W, ADHAM IM. Sox15 is required for skeletal muscle regeneration. *Molecular and cellular biology* 2004; 24: 8428-8436.
- [69] LEE JY, QU-PETERSEN Z, CAO B, KIMURA S, JANKOWSKI R, CUMMINS J, USAS A, GATES C, ROBBINS P, WERNIG A, HUARD J. Clonal isolation of muscle-derived cells capable of enhancing muscle regeneration and bone healing. *The Journal of cell biology* 2000; 150: 1085-1100.
- [70] LEWIS BP, BURGE CB, BARTEL DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005; 120: 15-20.
- [71] LI S, CZUBRYT MP, MCANALLY J, BASSEL-DUBY R, RICHARDSON JA, WIEBEL FF, NORDHEIM A, OLSON EN. Requirement for serum response factor for skeletal muscle growth and maturation revealed by tissue-specific gene deletion in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2005; 102: 1082-1087.
- [72] LIM LP, LAU NC, GARRETT-ENGELE P, GRIMSON A, SCHELTER JM, CASTLE J, BARTEL DP, LINSLEY PS, JOHNSON JM. Microarray analysis shows that some microRNAs downregulate large numbers of target mRNAs. *Nature* 2005; 433: 769-773.
- [73] LINDON C, MONTARRAS D, PINSET C. Cell cycle-regulated expression of the muscle determination factor Myf5 in proliferating myoblasts. *The Journal of cell biology* 1998; 140: 111-118.
- [74] LIU N, WILLIAMS AH, KIM Y, MCANALLY J, BEZPROZVANNAYA S, SUTHERLAND LB, RICHARDSON JA, BASSEL-DUBY R, OLSON EN. An intragenic MEF2-dependent enhancer directs muscle-specific expression of microRNAs 1 and 133. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2007; 104: 20844-20849.
- [75] LLUIS F, PERDIGUERO E, NEBREDAR, MUNOZ-CANOVES P. Regulation of skeletal muscle gene expression by p38 MAP kinases. *Trends in cell biology* 2006; 16: 36-44.
- [76] LORENZON P, BANDI E, DE GUARRINI F, PIETRANGELO T, SCHAFFER R, ZWEYER M, WERNIG A, RUZZIER F. Ageing affects the differentiation potential of human myoblasts. *Experimental gerontology* 2004; 39: 1545-1554.
- [77] LOVETT FA, COSGROVE RA, GONZALEZ I, PELL JM. Essential role for p38alpha MAPK but not p38gamma MAPK in Igf2 expression and myoblast differentiation. *Endocrinology* 2010; 151: 4368-4380.
- [78] LUZ MA, MARQUES MJ, SANTO NETO H. Impaired regeneration of dystrophin-deficient muscle fibers is caused by exhaustion of myogenic cells. *Brazilian journal of medical and biological research = Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas / Sociedade Brasileira de Biofisica [et al]* 2002; 35: 691-695.
- [79] MACHIDA S, BOOTH FW. Insulin-like growth factor 1 and muscle growth: implication for satellite cell proliferation. *The Proceedings of the Nutrition Society* 2004; 63: 337-340.
- [80] MAL A, HARTER ML. MyoD is functionally linked to the silencing of a muscle-specific regulatory gene prior to skeletal myogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003; 100: 1735-1739.
- [81] MCCARTHY JJ. MicroRNA-206: the skeletal muscle-specific myomiR. *Biochimica et biophysica acta* 2008; 1779: 682-691.
- [82] MCKINNEL I, ISHIBASHI J, LE GRAND F, PUNCH VG, ADDICKS GC, GREENBLATT JF, DILWORTH FJ, RUDNICKI MA. Pax7 activates myogenic genes by recruitment of a histone methyltransferase complex. *Nature cell biology* 2008; 10: 77-84.
- [83] MEADOWS E, CHO JH, FLYNN JM, KLEIN WH. Myogenin regulates a distinct genetic program in adult muscle stem cells. *Developmental biology* 2008; 322: 406-414.
- [84] MEGENEY LA, KABLAR B, GARRETT K, ANDERSON JE, RUDNICKI MA. MyoD is required for myogenic stem cell function in adult skeletal muscle. *Genes & development* 1996; 10: 1173-1183.
- [85] MENETREY J, KASEMKIJWATTANA C, DAY CS, BOSCH P, VOGT M, FU FH, MORELAND MS, HUARD J. Growth factors improve muscle healing in vivo. *The Journal of bone and joint surgery* 2000; 82: 131-137.
- [86] MONTARRAS D, MORGAN J, COLLINS C, RELAIX F, ZAFFRAN S, CUMANO A, PARTRIDGE T, BUCKINGHAM M. Direct isolation of satellite cells for skeletal muscle regeneration. *Science (New York, N.Y.)* 2005; 309: 2064-2067.

- [87] NGUYEN MH, CHENG M, KOH TJ. Impaired Muscle Regeneration in Ob/ob and Db/db Mice. *TheScientificWorldJournal* 2011; 11: 1525-1535.
- [88] OLGUIN HC, OLWIN BB. Pax-7 up-regulation inhibits myogenesis and cell cycle progression in satellite cells: a potential mechanism for self-renewal. *Developmental biology* 2004; 275: 375-388.
- [89] OLGUIN HC, YANG Z, TAPSCOTT SJ, OLWIN BB. Reciprocal inhibition between Pax7 and muscle regulatory factors modulates myogenic cell fate determination. *The Journal of cell biology* 2007; 177: 769-779.
- [90] ONO Y, BOLDRIN L, KNOPP P, MORGAN JE, ZAMMIT PS. Muscle satellite cells are a functionally heterogeneous population in both somite-derived and branchiomeric muscles. *Developmental biology* 2010; 337: 29-41.
- [91] OSHIMA H, PAYNE TR, URISH KL, SAKAI T, LING Y, GHARAIBEH B, TOBITA K, KELLER BB, CUMMINS JH, HUARD J. Differential myocardial infarct repair with muscle stem cells compared to myoblasts. *Mol Ther* 2005; 12: 1130-1141.
- [92] OSSES N, BRANDAN E. ECM is required for skeletal muscle differentiation independently of muscle regulatory factor expression. *American journal of physiology* 2002; 282: C383-394.
- [93] OTTO A, COLLINS-HOOVER H, PATEL K. The origin, molecular regulation and therapeutic potential of myogenic stem cell populations. *Journal of anatomy* 2009; 215: 477-497.
- [94] OUSTANINA S, HAUSE G, BRAUN T. Pax7 directs postnatal renewal and propagation of myogenic satellite cells but not their specification. *The EMBO journal* 2004; 23: 3430-3439.
- [95] PARTRIDGE TA, MORGAN JE, COULTON GR, HOFFMAN EP, KUNKEL LM. Conversion of mdx myofibres from dystrophin-negative to -positive by injection of normal myoblasts. *Nature* 1989; 337: 176-179.
- [96] PEAULT B, RUDNICKI M, TORRENTE Y, COSSU G, TREMBLAY JP, PARTRIDGE T, GUSSONI E, KUNKEL LM, HUARD J. Stem and progenitor cells in skeletal muscle development, maintenance, and therapy. *Mol Ther* 2007; 15: 867-877.
- [97] PENNA F, COSTAMAGNA D, FANZANI A, BONELLI G, BACCINO FM, COSTELLI P. Muscle wasting and impaired myogenesis in tumor bearing mice are prevented by ERK inhibition. *PLoS one* 2010; 5: e13604.
- [98] PICHAVANT C, GARGIOLI C, TREMBLAY JP. Intramuscular Transplantation of Muscle Precursor Cells over-expressing MMP-9 improves Transplantation Success. *PLoS currents* 2011; 3: RRN1275.
- [99] RANTANEN J, HURME T, LUKKA R, HEINO J, KALIMO H. Satellite cell proliferation and the expression of myogenin and desmin in regenerating skeletal muscle: evidence for two different populations of satellite cells. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology* 1995; 72: 341-347.
- [100] RAO PK, KUMAR RM, FARKHONDEH M, BASKERVILLE S, LODISH HF. Myogenic factors that regulate expression of muscle-specific microRNAs. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2006; 103: 8721-8726.
- [101] RATAJCZAK MZ, MAJKA M, KUCIA M, DRUKALA J, PIETRZKOWSKI Z, PEIPER S, JANOWSKA-WIECZOREK A. Expression of functional CXCR4 by muscle satellite cells and secretion of SDF-1 by muscle-derived fibroblasts is associated with the presence of both muscle progenitors in bone marrow and hematopoietic stem/progenitor cells in muscles. *Stem cells (Dayton, Ohio)* 2003; 21: 363-371.
- [102] RELAIX F, MONTARRAS D, ZAFFRAN S, GAYRAUD-MOREL B, ROCANCOURT D, TAJBAKHSH S, MANSOURI A, CUMANO A, BUCKINGHAM M. Pax3 and Pax7 have distinct and overlapping functions in adult muscle progenitor cells. *The Journal of cell biology* 2006; 172: 91-102.
- [103] RELAIX F, ZAMMIT PS. Satellite cells are essential for skeletal muscle regeneration: the cell on the edge returns centre stage. *Development (Cambridge, England)* 2012; 139: 2845-2856.
- [104] RHODES SJ, KONIECZNY SF. Identification of MRF4: a new member of the muscle regulatory factor gene family. *Genes & development* 1989; 3: 2050-2061.
- [105] RUDNICKI MA, SCHNEGELSBURG PN, STEAD RH, BRAUN T, ARNOLD HH, JAENISCH R. MyoD or Myf-5 is required for the formation of skeletal muscle. *Cell* 1993; 75: 1351-1359.
- [106] SABOURIN LA, GIRGIS-GABARDO A, SEALE P, ASAKURA A, RUDNICKI MA. Reduced differentiation potential of primary MyoD<sup>-/-</sup> myogenic cells derived from adult skeletal muscle. *The Journal of cell biology* 1999; 144: 631-643.



- [107] SCHNEIDER BL, PEDUTO G, AEBISCHER P. A self-immunomodulating myoblast cell line for erythropoietin delivery. *Gene therapy* 2001; 8: 58-66.
- [108] SEALE P, SABOURIN LA, GIRGIS-GABARDO A, MANSOURI A, GRUSS P, RUDNICKI MA. Pax7 is required for the specification of myogenic satellite cells. *Cell* 2000; 102: 777-786.
- [109] SHEFER G, WLEKLINSKI-LEE M, YABLONKA-REUVENI Z. Skeletal muscle satellite cells can spontaneously enter an alternative mesenchymal pathway. *Journal of cell science* 2004; 117: 5393-5404.
- [110] SHI X, GARRY DJ. Muscle stem cells in development, regeneration, and disease. *Genes & development* 2006; 20: 1692-1708.
- [111] SKUK D, GOULET M, ROY B, PIETTE V, COTE CH, CHAPDELAIN P, HOGREL JY, PARADIS M, BOUCHARD JP, SYLVAIN M, LACHANCE JG, TREMBLAY JP. First test of a “high-density injection” protocol for myogenic cell transplantation throughout large volumes of muscles in a Duchenne muscular dystrophy patient: eighteen months follow-up. *Neuromuscul Disord* 2007; 17: 38-46.
- [112] SMITH CK, 2ND, JANNEY MJ, ALLEN RE. Temporal expression of myogenic regulatory genes during activation, proliferation, and differentiation of rat skeletal muscle satellite cells. *Journal of cellular physiology* 1994; 159: 379-385.
- [113] SORICHTER S, MAIR J, KOLLER A, MULLER E, KREMSE C, JUDMAIER W, HAID C, CALZOLARI C, PUSCHENDORF B. Creatine kinase, myosin heavy chains and magnetic resonance imaging after eccentric exercise. *Journal of sports sciences* 2001; 19: 687-691.
- [114] STEFANI G, SLACK FJ. Small non-coding RNAs in animal development. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9: 219-230.
- [115] TAKAYA T, ONO K, KAWAMURA T, TAKANABE R, KAICHI S, MORIMOTO T, WADA H, KITA T, SHIMATSU A, HASEGAWA K. MicroRNA-1 and MicroRNA-133 in spontaneous myocardial differentiation of mouse embryonic stem cells. *Circ J* 2009; 73: 1492-1497.
- [116] TAPSCOTT SJ, LASSAR AB, WEINTRAUB H. A novel myoblast enhancer element mediates MyoD transcription. *Molecular and cellular biology* 1992; 12: 4994-5003.
- [117] TATSUMI R. Mechano-biology of skeletal muscle hypertrophy and regeneration: possible mechanism of stretch-induced activation of resident myogenic stem cells. *Animal science journal = Nihon chikusan Gakkaiho* 2010; 81: 11-20.
- [118] TAULLI R, BERSANI F, FOGLIZZO V, LINARI A, VIGNA E, LADANYI M, TUSCHL T, PONZETTO C. The muscle-specific microRNA miR-206 blocks human rhabdomyosarcoma growth in xenotransplanted mice by promoting myogenic differentiation. *The Journal of clinical investigation* 2009; 119: 2366-2378.
- [119] TAYLOR-JONES JM, MCGEHEE RE, RANDO TA, LECKA-CZERNIK B, LIPSCHITZ DA, PETERSON CA. Activation of an adipogenic program in adult myoblasts with age. *Mechanisms of ageing and development* 2002; 123: 649-661.
- [120] TEDESCO FS, DELLAVALLE A, DIAZ-MANERA J, MESSINA G, COSSU G. Repairing skeletal muscle: regenerative potential of skeletal muscle stem cells. *The Journal of clinical investigation* 2010; 120: 11-19.
- [121] THORNELL LE, LINDSTOM M, RENAULT V, KLEIN A, MOULY V, ANSVED T, BUTLER-BROWNE G, FURLING D. Satellite cell dysfunction contributes to the progressive muscle atrophy in myotonic dystrophy type 1. *Neuropathology and applied neurobiology* 2009; 35: 603-613.
- [122] TIDBALL JG. Inflammatory processes in muscle injury and repair. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2005; 288: R345-353.
- [123] TOMCZAK KK, MARINESCU VD, RAMONI MF, SANOUDDOU D, MONTANARO F, HAN M, KUNKEL LM, KOHANE IS, BEGGS AH. Expression profiling and identification of novel genes involved in myogenic differentiation. *FASEB journal: official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology* 2004; 18: 403-405.
- [124] TSIVITSE S. Notch and Wnt signaling, physiological stimuli and postnatal myogenesis. *International journal of biological sciences* 2010; 6: 268-281.
- [125] VAN DER BOGT KE, SHEIKH AY, SCHREPPE S, HOYT G, CAO F, RANSOHOFF KJ, SWIENBURG RJ, PEARL J, LEE A, FISCHBEIN M, CONTAG CH, ROBBINS RC, WU JC. Comparison of different adult stem cell types for treatment of myocardial ischemia. *Circulation* 2008; 118: S121-129.

- [126] VIGNAUD A, RAMOND F, HOURDE C, KELLER A, BUTLER-BROWNE G, FERRY A. Diabetes provides an unfavorable environment for muscle mass and function after muscle injury in mice. *Pathobiology* 2007; 74: 291-300.
- [127] WATANABE S, HIRAI H, ASAKURA Y, TASTAD C, VERMA M, KELLER C, DUTTON JR, ASAKURA A. MyoD Gene Suppression By Oct4 is Required for Reprogramming in Myoblasts to Produce Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem cells* (Dayton, Ohio) 2011.
- [128] WEI Q, PATERSON BM. Regulation of MyoD function in the dividing myoblast. *FEBS letters* 2001; 490: 171-178.
- [129] WEINTRAUB H, TAPSCOTT SJ, DAVIS RL, THAYER MJ, ADAM MA, LASSAR AB, MILLER AD. Activation of muscle-specific genes in pigment, nerve, fat, liver, and fibroblast cell lines by forced expression of MyoD. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1989; 86: 5434-5438.
- [130] WESTON AD, SAMPAIO AV, RIDGEWAY AG, UNDERHILL TM. Inhibition of p38 MAPK signaling promotes late stages of myogenesis. *Journal of cell science* 2003; 116: 2885-2893.
- [131] WILLIAMS AH, VALDEZ G, MORESI V, QI X, MCANALLY J, ELLIOTT JL, BASSEL-DUBY R, SANES JR, OLSON EN. MicroRNA-206 delays ALS progression and promotes regeneration of neuromuscular synapses in mice. *Science (New York, N.Y)* 2009; 326: 1549-1554.
- [132] WU Z, WOODRING PJ, BHAKTA KS, TAMURA K, WEN F, FERAMISCO JR, KARIN M, WANG JY, PURI PL. p38 and extracellular signal-regulated kinases regulate the myogenic program at multiple steps. *Molecular and cellular biology* 2000; 20: 3951-3964.
- [133] YABLONKA-REUVENI Z, PATERSON BM. MyoD and myogenin expression patterns in cultures of fetal and adult chicken myoblasts. *J Histochem Cytochem* 2001; 49: 455-462.
- [134] YABLONKA-REUVENI Z, RUDNICKI MA, RIVERA AJ, PRIMIG M, ANDERSON JE, NATANSON P. The transition from proliferation to differentiation is delayed in satellite cells from mice lacking MyoD. *Developmental biology* 1999; 210: 440-455.
- [135] YAN D, DONG XDA E, CHEN X, WANG L, LU C, WANG J, QU J, TU L. MicroRNA-1/206 targets c-Met and inhibits rhabdomyosarcoma development. *The Journal of biological chemistry* 2009; 284: 29596-29604.
- [136] YIN H, PRICE F, RUDNICKI MA. Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiological reviews* 2013; 93: 23-67.
- [137] YOSHIDA N, YOSHIDA S, KOISHI K, MASUDA K, NABESHIMA Y. Cell heterogeneity upon myogenic differentiation: down-regulation of MyoD and Myf-5 generates 'reserve cells'. *Journal of cell science* 1998; 111 ( Pt 6): 769-779.
- [138] YUASA K, HAGIWARA Y, ANDO M, NAKAMURA A, TAKEDA S, HIJIKATA T. MicroRNA-206 is highly expressed in newly formed muscle fibers: implications regarding potential for muscle regeneration and maturation in muscular dystrophy. *Cell structure and function* 2008; 33: 163-169.
- [139] YUE T, YIN J, LI F, LI D, DU M. High glucose induces differentiation and adipogenesis in porcine muscle satellite cells via mTOR. *BMB reports* 2010; 43: 140-145.
- [140] YUTZEY KE, RHODES SJ, KONIECZNY SF. Differential trans activation associated with the muscle regulatory factors MyoD1, myogenin, and MRF4. *Molecular and cellular biology* 1990; 10: 3934-3944.
- [141] ZAMMIT PS, GOLDING JP, NAGATA Y, HUDON V, PARTRIDGE TA, BEAUCHAMP JR. Muscle satellite cells adopt divergent fates: a mechanism for self-renewal? *The Journal of cell biology* 2004; 166: 347-357.
- [142] ZAMMIT PS, RELAIX F, NAGATA Y, RUIZ AP, COLLINS CA, PARTRIDGE TA, BEAUCHAMP JR. Pax7 and myogenic progression in skeletal muscle satellite cells. *Journal of cell science* 2006; 119: 1824-1832.

*Redaktor prowadzący – Maciej Zabel*

*Otrzymano: 12.01.2015*

*Przyjęto: 13.04.2015*

*Alicja Józkowicz*

*Zakład Biotechnologii Medycznej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii,*

*Uniwersytet Jagielloński*

*ul. Gronostajowa 7, 30-387 Kraków*

*tel.: 12 664 6411*

*email: alicja.jozkowicz@uj.edu.pl*

