

Rola czynników troficznych w rozwoju i regeneracji mięśni szkieletowych

ANNA CIECIERSKA*, **, TOMASZ SADKOWSKI*, TOMASZ MOTYL*

*Katedra Nauk Fizjologicznych, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

**Katedra Żywności Człowieka, Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji,

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159C, 02-776 Warszawa

Otrzymano 21.02.2019

Zaakceptowano 22.05.2019

Ciecierska A., Sadkowski T., Motyl T.

Role of trophic factors in development and regeneration of skeletal muscles

Summary

The process of skeletal muscle development is regulated by many biologically active factors, which are responsible for stimulating the proliferation and differentiation of muscle cells. Biologically active factors function in paracrine, autocrine and endocrine manner to control myogenesis. The main regulators include hormones, growth and differentiation factors, as well as cytokines. The process of skeletal muscle regeneration associated with the activation of satellite cells for their proliferation and differentiation requires the involvement of many growth factors secreted by the surrounding tissue, including inflammatory cells, blood vessels and damaged muscle fiber, as well as extracellular matrix. A number of trophic factors regulating the activity of satellite cells during muscle regeneration have been identified, e.g. fibroblast growth factors, transforming growth factors- β , insulin-like growth factors, hepatocyte growth factor, tumor necrosis factor- α , interleukin-6. These factors are responsible for maintaining a balance between the processes of proliferation and differentiation of satellite cells in order to restore the proper architecture and functioning of muscle tissue.

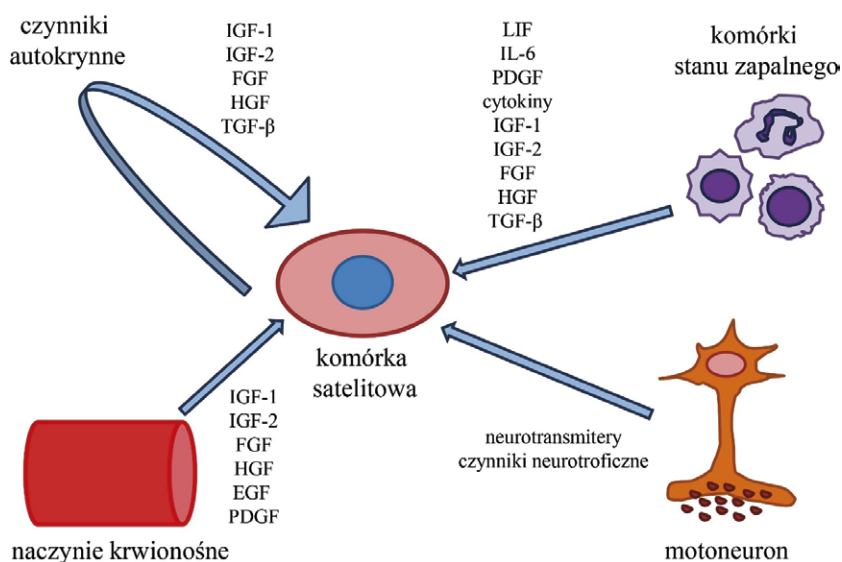
Keywords: trophic factors, myogenesis, regeneration of skeletal muscles

Miogeneza, czyli rozwój mięśni szkieletowych, jest bardzo złożonym procesem, w trakcie którego dochodzi do rozwoju i wzrostu włókien mięśniowych. W przebiegu tego procesu dochodzi do proliferacji mięśniowych komórek prekursorowych (muscle precursor cells, MPCs), nazywanych mioblastami, ich migracji, fuzji i różnicowania w dojrzałe włókna mięśniowe, a finalnie – wytworzenia funkcjonalnie wyspecjalizowanej tkanki mięśniowej. Proces miogenezy zachodzi głównie w okresie prenatalnym (życiu płodowym) oraz wczesnym okresie postnatalnym. W przypadku mięśni dorosłych osobników miogeneza odpowiada za regenerację tkanki mięśniowej. Proces miogenezy można podzielić na trzy główne etapy: 1) rozwój embrionalny i płodowy, podczas którego prekursorowe komórki mięśniowe podlegają proliferacji i różnicowaniu w miotuby i włókna mięśniowe; 2) rozwój okołoporodowy, w trakcie którego następuje wzrost włókien mięśniowych oraz 3) rozwój poporodowy, podczas którego dochodzi do dojrzwania już istniejących włókien mięśniowych (39). Okres płodowy jest kluczowym etapem dla rozwoju mięśni szkieletowych, ponieważ wzrost mięśni w trakcie tego

etapu związany jest ze zwiększaniem liczby budujących je włókien mięśniowych (hiperplazją). Etap ten kończy się w momencie narodzin. W trakcie rozwoju postnatalnego liczba włókien mięśniowych nie zwiększa się, natomiast zachodzą procesy przerostu, czyli hipertrofii. Polegają one na zwiększeniu masy i objętości już istniejących włókien mięśniowych (15, 41, 68).

Proces miogenezy podlega regulacji humoralnej. Wiele biologicznie aktywnych czynników wykazuje działanie mitogenne, promujące procesy proliferacji komórek bądź też działanie miogenne, a zatem promujące procesy różnicowania komórek mięśniowych. Czynniki biologicznie aktywne kontrolujące proces miogenezy mogą działać na komórki miogenne lokalnie, na drodze parakrynej lub autokrynej bądź też mogą wykazywać działanie ogólne, na drodze endokrynej. Do głównych regulatorów zalicza się hormony, czynniki wzrostu i różnicowania komórek, jak również cytokiny.

Proces regeneracji mięśni szkieletowych związany z aktywacją komórek satelitowych, w celu ich proliferacji i różnicowania, wymaga wpływu wielu czynników wzrostu wydzielanych przez okoliczne tkanki,



Ryc. 1. Czynniki regulujące aktywność komórek satelitowych. Czynniki troficzne modulujące aktywność komórek satelitowych (chemotaksję, proliferację i różnicowanie) są uwalniane przez wiele tkanek, komórek oraz przez uszkodzone włókna mięśniowe (zmod. Hawke i Garry (20)).

komórki (w tym komórki stanu zapalnego), naczynia krwionośne lub przez uszkodzone włókna mięśniowe oraz macierz zewnątrzkomórkową (ryc. 1).

W wyniku urazu uszkodzone włókno mięśniowe uwalnia wiele aktywnych biologicznie czynników do przestrzeni zewnątrzkomórkowej, które na drodze autokrynnej wykazują działanie mitogenne na komórki satelitowe mięśni szkieletowych. Wykazano również, iż makrofagi, które naciekają miejsce uszkodzenia mięśnia szkieletowego i fagocytują fragmenty uszkodzonej tkanki, wydzielają czynniki troficzne o działaniu mitogennym, pobudzającym proliferację komórek. Ponadto wiadomo, iż niski poziom makrofagów zaburza proces regeneracji mięśni szkieletowych (32, 58).

Zidentyfikowano wiele czynników troficznych regulujących aktywność komórek satelitowych w trakcie regeneracji tkanki mięśniowej, a przez to zaangażowanych w procesy chemotaksji (aktywności ruchowej), proliferacji i różnicowania komórek satelitowych. Czynniki te odpowiedzialne są za utrzymanie równowagi pomiędzy procesami proliferacji i różnicowania komórek satelitowych w celu przywrócenia prawidłowej architektury i funkcjonowania tkanki mięśniowej. Wiadomo, że czynniki troficzne działając pojedynczo lub w połączeniu, mogą wywierać wpływ na właściwości proliferacyjne i różnicujące komórek satelitowych (głównie obserwacje w warunkach *in vitro*), natomiast tylko nieliczne z nich odpowiedzialne są za utrzymanie prawidłowych funkcji fizjologicznych w trakcie regeneracji tkanki mięśniowej w warunkach *in vivo* (11). Do czynników regulujących aktywność komórek satelitowych należą m.in.: czynnik wzrostu fibroblastów – FGF (fibroblast growth factor); transformujący czynnik wzrostu – TGF- β (transforming growth factor- β); insulinopodobny czynnik wzrostu – IGF (insulin-like growth factor); czynnik wzrostu hepatocytów – HGF (hepatocyte growth factor); czyn-

nik martwicy nowotworów – TNF- α (tumor necrosis factor- α); interleukina 6 – IL-6 (interleukin-6); PDGF (platelet-derived growth factor); LIF (leukemia inhibitory factor) (4, 11, 20).

HGF jest wielofunkcyjną cytokiną, początkowo opisywaną jako czynnik o działaniu mitogennym, pobudzającym proliferację hepatocytów (45). Obecnie HGF opisywany jest jako jeden z ważniejszych czynników zaangażowanych w procesy rozwoju, homeostazy oraz w procesy regeneracji wielu narządów, w tym mięśni szkieletowych. Czynnikiem wzrostu hepatocytów jest obecny w macierzy zewnątrzkomórkowej mięśni szkieletowych i ulega wydzielaniu w momencie uszkodzenia tkanki mięśniowej (47). Poziom ekspresji HGF zwiększa się na początku procesu naprawczego, natomiast w trakcie regeneracji mięśni poziom tego czynnika ulega

obniżeniu (5). HGF jest kluczowym regulatorem aktywności komórek satelitowych podczas regeneracji mięśni szkieletowych. Czynnikiem wzrostu hepatocytów oddziałuje bezpośrednio na komórki satelitowe mięśni szkieletowych przez receptor c-Met, zlokalizowany w spoczynkowych, jak i aktywnych komórkach satelitowych (52, 63). HGF jest odpowiedzialny za aktywację i pobudzenie proliferacji komórek satelitowych, ponadto osłabia procesy różnicowania mioblastów poprzez hamowanie mięśniowo-specyficznych czynników transkrypcyjnych, takich jak MyoD i miogeniny (18, 20, 52, 65). Wykazano, iż HGF jest kluczowym czynnikiem oddziałującym na spoczynkowe komórki satelitowe i pobudzającym ich aktywację. W warunkach *in vitro* HGF stymuluje uśpione komórki do wejścia w cykl komórkowy, zwiększając przez to liczbę proliferujących komórek prekursorowych mięśni szkieletowych z jednoczesnym hamowaniem procesu różnicowania (11). Dodatkowo HGF stymuluje migrację komórek satelitowych w miejsce urazu, co zostało zademonstrowane w badaniach *in vitro* (6, 55). Ponadto, obecność transkryptów HGF w nowo zregenerowanych miotubach i komórkach satelitowych sugeruje, iż HGF może wykazywać działanie mitogenne na komórki satelitowe na drodze parakrynnej i autokrynnej. W związku z powyższym czynnik wzrostu hepatocytów jest aktywatorem komórek satelitowych i pełni kluczową rolę we wczesnym etapie regeneracji mięśni szkieletowych (65).

Kolejnym czynnikiem, opisywanym jako potencjalny aktywator proliferacji i inhibitor różnicowania mioblastów jest czynnik wzrostu fibroblastów. Czynnikiem FGF odgrywa kluczową rolę w regulacji wielu procesów biologicznych, m.in. wroście, przeżywalności oraz migracji komórek, jak również w rozwoju embrionalnym (45, 65). Jest niezbędny w procesie samoodnowy komórek satelitowych, a także w pro-

cesie rozwoju i regeneracji mięśni szkieletowych (42, 48). Spośród dziewięciu izoform czynnika wzrostu fibroblastów (FGF-1–FGF-9) na szczególną uwagę zasługuje czynnik FGF-6, którego poziom ekspresji ulega zwiększeniu w trakcie regeneracji tkanki mięśniowej (11, 65). Dodatkowo, czynniki FGF-1, -2, -4, -6 i -9 również stymulują proliferację komórek satelitowych w warunkach *in vitro*, podczas gdy czynniki FGF-5, -7 i -8 nie wykazują aktywności mitogennej (20, 64). Jednocześnie zaobserwowano pobudzenie procesu proliferacji komórek satelitowych po podaniu dodatkowo HGF z FGF-2, -4, -6 lub -9, co wskazuje na synergistyczne działanie tych dwóch czynników w procesie regeneracji mięśni szkieletowych (20). FGF-4 pełni także funkcję rezerwową w stosunku do FGF-6. FGF-2 odpowiedzialny jest za aktywację mioblastów w warunkach *in vitro*, jak również reguluje aktywność komórek satelitowych w trakcie procesów regeneracyjnych tkanki mięśniowej. Jest też obecny w błonie podstawnej otaczającej rozwijające się oraz dojrzałe włókno mięśniowe. Zaangażowany jest w proces proliferacji mioblastów w trakcie regeneracji tkanki mięśniowej (11, 65).

Czynniki wzrostu, tj. FGF i HGF przyczyniają się do aktywacji ścieżki sygnałowej p38 MAPKs (p38 mitogen-activated protein kinases), która reguluje proces proliferacji i różnicowania mioblastów (21). Wykazano, iż aktywacja p38 MAPKs jest niezbędnym czynnikiem warunkującym proces różnicowania mysich (C2C12) i szczurzych (L6) komórek mięśniowych (14, 66). Zaobserwowano również, iż zahamowanie aktywności p38 MAPKs zapobiega aktywacji i proliferacji komórek satelitowych. p38 MAPKs odpowiada za indukcję czynnika MyoD w komórkach satelitowych, co z kolei nasila proces różnicowania mysich komórek mięśniowych MM14 (21). Aktywacja p38 MAPK odgrywa kluczową rolę w procesie przebudowy chromatyny w komórkach miogennych niezbędnej podczas regeneracji włókien mięśniowych, jak również aktywacji miogennych czynników transkrypcyjnych (49). W związku z powyższym, p38 MAPKs uważana jest za molekularny przełącznik aktywacji różnicowania w procesie miogenezy (13).

Dobrze poznanymi czynnikami regulującymi wzrost i rozwój wielu tkanek są czynniki wzrostowe IGF-1 i IGF-2, które oprócz aktywności endokrynej przejawiają także działanie auto- i parakryne. Czynniki te są wydzielane przez mięśnie szkieletowe i odgrywają bardzo ważną rolę w kontrolowaniu wzrostu i rozwoju tkanki mięśniowej w trakcie rozwoju pre- i postnatalnego mięśni szkieletowych (50). Ponadto IGF-1 (35) i IGF-2 odgrywają kluczową rolę w regeneracji tkanki mięśniowej (20). Ich rola w rozwoju komórek mięśniowych jest podwójna, ze względu na pobudzenie zarówno procesu proliferacji, jak i różnicowania komórek mięśniowych (57). W wyniku krótkotrwałej ekspozycji na komórki, w warunkach *in vitro*, insulinopodobne czynniki wzrostu IGF-1 i IGF-2 wykazują

działanie mitogenne, pobudzając proliferację komórek satelitowych. Ich długotrwałe oddziaływanie powoduje natomiast nasilenie procesów różnicowania oraz fuzję mioblastów. W warunkach *in vitro* IGF-1 i IGF-2 są w stanie pobudzać ekspresję mięśniowo specyficznych czynników regulatorowych (MRFs), w wyniku czego dochodzi zarówno do pobudzania proliferacji, jak i różnicowania mioblastów oraz ich fuzji. W wyniku zwiększenia stężenia IGF-1 w obrębie komórek satelitowych w warunkach *in vivo* i *in vitro* dochodzi do uzyskania większych przyrostów tkanki mięśniowej na skutek zwiększenia ilości DNA, jak również syntezy białek charakterystycznych dla włókien mięśniowych (1, 37). Hipertoficzny efekt IGF-1 wynika zarówno z pobudzenia proliferacji komórek satelitowych, co powoduje zwiększenie liczby włókien mięśniowych, jak też ze zwiększonej syntezy białek w istniejących włóknach mięśniowych (11, 41, 65). Domięśniowe podanie czynnika IGF-1 u starszych zwierząt, po urazie mięśni szkieletowych, przyczynia się do pobudzenia proliferacji komórek satelitowych oraz do zwiększenia masy mięśniowej (10). W trakcie regeneracji tkanki mięśniowej poziom IGF-1 ulega podwyższeniu (32). Ponadto IGF-1 wspomaga proces regeneracji poprzez działanie antyapoptotyczne, zwiększające przeżywalność mioblastów (11).

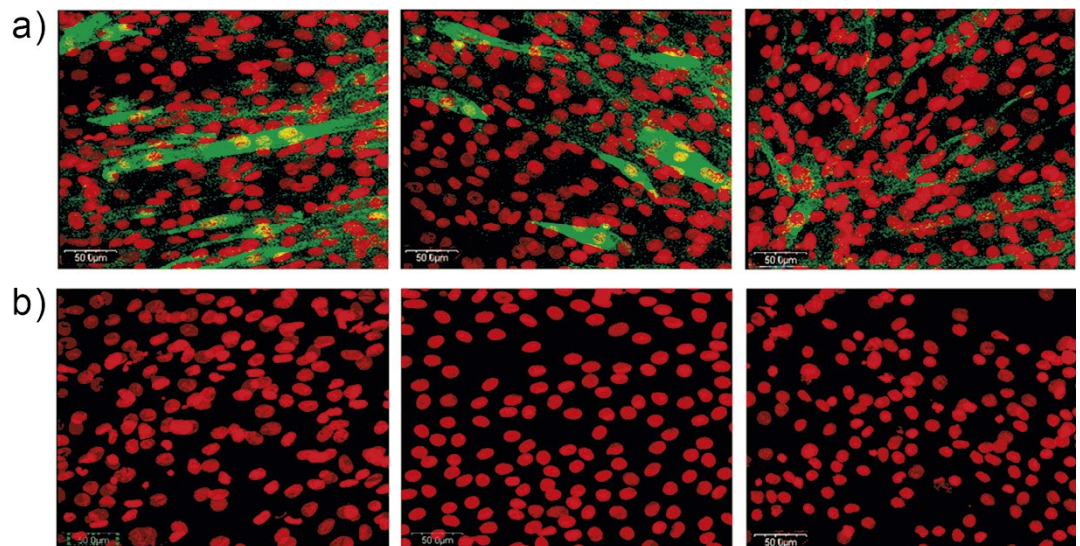
Czynnikiem troficznym zaangażowanym w proces miogenezy oraz regeneracji tkanki mięśniowej jest także czynnik martwicy nowotworów (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) (12, 31). Jako mediator reakcji zapalnej, TNF- α jest głównie syntetyzowany przez makrofagi. W wyniku urazu mięśnia dochodzi do wzrostu ekspresji tego czynnika we włóknach mięśniowych, a także do nacieku wytwarzających i uwalniających go makrofagów. Dodatkowo, w wyniku uszkodzenia tkanki mięśniowej dochodzi także do wzrostu ekspresji receptorów TNF- α typu I, pośredniczących w aktywacji ścieżki sygnałowej p38 MAPKs, kluczowej w procesie regeneracji. Zaobserwowano, iż mioblasty wykazują ekspresję TNF- α , którego aktywność wzrasta podczas różnicowania komórek mięśniowych. Wzrost ekspresji TNF- α jest skorelowany z aktywnością regeneracyjną mięśni szkieletowych (13). Z drugiej strony, podwyższone stężenie krążącego TNF- α uważane jest za czynnik patologiczny, który pośredniczy w takich zaburzeniach, jak: kachektyczny zanik mięśni, miopatie zapalne oraz oporność na insulinę. Wykazano, iż TNF- α hamuje proces różnicowania mioblastów i formowania włókien mięśniowych w wyniku aktywacji czynnika transkrypcyjnego NF- κ B (nuclear factor-kappa B) (67). NF- κ B hamuje proces miogenezy oraz nasila proteolizę białek mięśni szkieletowych, jak również hamuje syntezę czynnika MyoD i miogeniny w komórkach mięśniowych (59).

W proces regeneracji tkanki mięśniowej zaangażowany jest także czynnik LIF (leukemia inhibitory factor) oraz interleukina 6 (interleukin-6, IL-6). Należą one do rodziny cytokin produkowanych przez wiele

komórek, w tym przez mioblasty i makrofagi. W warunkach *in vitro* czynnik LIF stymuluje procesy wzrostu mioblastów, natomiast nie wpływa na procesy ich różnicowania i fuzji (53). Podanie czynnika LIF w miejsce urazu mięśnia skutkuje zwiększeniem stopnia regeneracji tkanki mięśniowej w wyniku pobudzenia proliferacji mioblastów, jak również zwiększeniem liczby i wielkości włókien mięśniowych (3, 60). W wyniku uszkodzenia mięśnia szkieletowego poziom ekspresji tego czynnika

ulega podwyższeniu. U mysich mutantów pozbawionych czynnika LIF ($LIF^{-/-}$) proces regeneracji tkanki mięśniowej po urazie ulega znacznemu osłabieniu, natomiast egzogenny LIF nasila proces regeneracji oraz powstawania włókien mięśniowych (28). W przeciwieństwie do czynnika LIF ekspresja interleukiny 6 w uszkodzonej tkance mięśniowej nie skutkuje nasileniem procesów proliferacji komórek satelitowych. Jej rola polega natomiast na degradacji martwych tkanek powstałych w wyniku urazu mięśnia. IL-6 uczestniczy również w synchronizacji cyklu komórkowego komórek satelitowych oraz pobudza proces apoptozy makrofagów w następstwie urazu tkanki mięśniowej (9, 24). W związku z powyższym czynniki te odgrywają integralną rolę w regeneracji mięśni szkieletowych.

Oprócz czynników pobudzających miogenezę na uwagę zasługują także inhibitory tego procesu, takie jak transformujący czynnik wzrostu – TGF- β oraz miostatyna, które należą do nadrodziny transformujących czynników wzrostu beta. Znanych jest wiele białek i cytokin należących do nadrodziny TGF-beta, m.in.: izoformy TGF-beta, aktywiny, białka morfogenetyczne kości BMPs (bone morphogenetic proteins) oraz czynniki wzrostu i różnicowania GDF (growth and differentiation factors) (54). Cytokiny te są kluczowe dla regulacji procesu wzrostu, różnicowania i migracji komórek. Są odpowiedzialne za formowanie i degradację składników macierzy zewnątrzkomórkowej, chemotaksję, apoptozę, jak również za utrzymanie homeostazy i odpowiedzi immunologicznej. Czynniki TGF- β od dawna są znane jako silne modulatory aktywności mioblastów, a ich rola polega na hamowaniu procesów proliferacji i różnicowania. Członkowie rodziny TGF- β wykazują działanie hamujące procesy proliferacji i różnicowania komórek mięśniowych poprzez wyciszenie transkrypcyjnej aktywacji czyn-



Ryc. 2. Dokumentacja fotograficzna z mikroskopu konfokalnego przedstawiająca ekspresję łańcucha ciężkiego miozyny MyHC (Alexa Fluor 488 – zielona fluorescencja) z jednoczesnym wybarwieniem jąder komórkowych (7-AAD – (czerwona fluorescencja) wykonana w szóstym dniu różnicowani komórek C2C12. a) grupa kontrolna oraz b) komórki poddane działaniu TGF- β 1 (za zgodą Wicik i wsp. (62)).

ników należących do rodziny MyoD (20, 34). TGF- β jest bardzo silnym inhibitorem miogenezy. Efekt ten potwierdzono w przypadku kilku linii komórkowych, takich jak: BC3H1, C2C12 i L6 (ryc. 2) (62). Ponadto TGF- β 1 wykazuje działanie hamujące procesy różnicowania, natomiast nie wpływa na procesy proliferacji (40). Cytokiny te są wydzielane głównie przez komórki jednojądrzaste w miejscu reakcji zapalnej. Przyczyniają się do stymulacji fibroblastów zasiedlających mięśnie, w wyniku czego dochodzi do zwiększonej produkcji kolagenu i fibronektyny, co skutkuje zwiększonym zwłóknieniem śródmiąższowym mięśni szkieletowych (5, 33). Poziom ekspresji tych cytokin ulega znacznemu podwyższeniu w przebiegu chorób dystroficznych mięśni szkieletowych. Miostatyna, znana również jako GDF8 (growth and differentiation factor 8) jest czynnikiem wzrostowym należącym do nadrodziny TGF- β , ulegającym ekspresji tylko w mięśniach szkieletowych. Jest silnym negatywnym regulatorem wzrostu i różnicowania tkanki mięśniowej, zarówno w trakcie rozwoju embrionalnego, jak również w okresie pourodzeniowym. Miostatyna wpływa hamująco na proces miogenezy poprzez wiązanie się z receptorami aktywinowymi typu II (Act RIIb) (16, 17, 44). Wiele badań dowodzi, iż miostatyna wywiera swój wpływ na rozwój mięśni szkieletowych poprzez negatywną regulację aktywacji, proliferacji i różnicowania komórek satelitowych (45). Miostatyna hamuje przechodzenie komórek z fazy G0 lub G1 cyklu komórkowego do fazy S. Ponadto hamuje również różnicowanie komórek satelitowych w kierunku dojrzałych włókien mięśniowych, poprzez obniżenie ekspresji czynników transkrypcyjnych należących do rodziny MRFs (MyoD, Myf5, miogeniny i Mrf4) (2, 22, 29). Fizjologiczna rola miostatyny opiera się na zapobieganiu przerostowi tkanki

mięśniowej, a zatem utrzymaniu jej normalnej masy poprzez wywieranie hamującego działania na proces proliferacji mięśni szkieletowych. Brak aktywnej formy miostatyny prowadzi do znacznego zwiększenia masy mięśni szkieletowych, co potwierdziły badania na wielu modelach zwierzęcych (8, 30, 51). U myszy pozbawionych genu kodującego miostatynę zaobserwowano hiperplazję tkanki mięśniowej, spowodowaną zwiększeniem liczby budujących ją włókien mięśniowych oraz hipertrofię, związaną ze zwiększeniem wielkości włókien mięśniowych (36). Dodatkowo, mutacje w obrębie genu miostatyny u niektórych ras bydła związane są z tzw. fenotypem podwójnego umięśnienia, charakteryzującym się hipertrofią mięśni szkieletowych (19, 23). Wykazano, iż zablokowanie endogennej miostatyny przy użyciu przeciwciał JA-16 przyczyniło się do zwiększenia masy mięśniowej u myszy (61). Ponadto, u myszy z dystrofią mięśniową zablokowanie miostatyny wyżej wspomnianymi przeciwciałami zapobiegało wystąpieniu objawów chorobowych (7). Wiadomo również, iż miostatyna hamuje procesy związane z regeneracją tkanki mięśniowej poprzez osłabienie aktywacji i proliferacji komórek satelitowych oraz migracji makrofagów do miejsca urazu. Badania przeprowadzone przez Kirk i wsp. (26) wykazały podwyższony poziom miostatyny w obrębie uszkodzonych włókien mięśniowych w momencie przebiegu procesu degeneracyjnego, z jednoczesnym osłabieniem aktywacji i hamowaniem proliferacji komórek satelitowych. Uszkodzone mięśnie pozbawione aktywnej miostatyny charakteryzują się nasileniem procesu regeneracji tkanki mięśniowej, zmniejszeniem procesu włóknienia, z jednoczesnym pobudzeniem aktywacji komórek satelitowych. Nadekspresja miostatyny prowadzi natomiast do zmniejszenia masy mięśniowej (51). Wyniki badań przeprowadzonych *in vitro* na kurzych mioblastach dowiodły, iż poziom miostatyny ulega znacznemu podwyższeniu w trakcie procesów różnicowania i fuzji komórek mięśniowych (27). Dodatkowo, badania *in vitro* na mysim modelu komórek C2C12 wykazały zwiększoną ekspresję miostatyny skutkującą hamowaniem proliferacji i różnicowania komórek C2C12 (46, 56).

Innymi komórkami uczestniczącymi w regeneracji mięśni szkieletowych są mezenchymalne komórki zrębu (mesenchymal stromal cells, MSCs). Komórki te uwalniają czynniki biologiczne, wykazujące działanie immunoregulacyjne lub/i regeneracyjne (25). Wydzielane czynniki hamują powstawanie blizn w tkankach oraz chronią przed stanami fibrotycznymi, mogącymi osłabiać procesy naprawy i powrót do pełnej funkcjonalności tkanki mięśniowej. Dodatkowo, wzmagają funkcję komórek progenitorowych, tj. komórek satelitowych, poprzez nasilenie procesu proliferacji, mobilności i ochrony przed apoptozą, jak również przeciwdziałają zbyt wczesnemu powstawaniu włókien mięśniowych (38). MSCs wykazują właściwości stymulujące proces angiogenezy, zależny od

skierowania MSCs na drogę różnicowania w pericyty lub od wydzielania przez MSCs cytokin proangiogennych, tj. PDGF, FGF, VEGF (vascular endothelial growth factor) oraz CXCL12 (*C-X-C*-motif chemokine ligand 12) (43). Przywrócenie sieci naczyń krwionośnych jest niezbędnym procesem w celu skutecznej naprawy uszkodzonego mięśnia. MSCs, poprzez działanie parakryne, odgrywają rolę w hamowaniu lub zmniejszeniu lokalnego odczynu zapalnego oraz pobudzaniu procesów proliferacji i różnicowania komórek, promując w ten sposób proces regeneracji mięśni szkieletowych (43).

Piśmiennictwo

1. Adams G. R., McCue S. A.: Localized infusion of IGF-I results in skeletal muscle hypertrophy in rats. *J. Appl. Physiol.* 1998, 84, 1716-1722.
2. Ahmad S., Jan A. T., Baig M. H., Lee E. J., Choi I.: Matrix gla protein: An extracellular matrix protein regulates myostatin expression in the muscle developmental program. *Life Sci.* 2017, 172, 55-63.
3. Austin L., Bower J. J., Bennett T. M., Lynch G. S., Kapsa R., White J. D., Barnard W., Gregorevic P., Byrne E.: Leukemia inhibitory factor ameliorates muscle fiber degeneration in the mdx mouse. *Muscle Nerve* 2000, 23, 1700-1705.
4. Bazgir B., Fathi R., Rezazadeh Valojerdi M., Mozdziak P., Asgari A.: Satellite Cells Contribution to Exercise Mediated Muscle Hypertrophy and Repair. *Cell J.* 2017, 18, 473-484.
5. Bentzinger C. F., von Maltzahn J., Rudnicki M. A.: Extrinsic regulation of satellite cell specification. *Stem Cell Res. Ther.* 2010, 1, 27.
6. Bischoff R.: Chemotaxis of skeletal muscle satellite cells. *Dev. Dyn.* 1997, 208, 505-515.
7. Bogdanovich S., Krag T. O., Barton E. R., Morris L. D., Whittemore L. A., Ahima R. S., Khurana T. S.: Functional improvement of dystrophic muscle by myostatin blockade. *Nature* 2002, 420, 418-421.
8. Camporez J. P., Petersen M. C., Abudukadier A., Moreira G. V., Jurczak M. J., Friedman G., Haqq C. M., Petersen K. F., Shulman G. I.: Anti-myostatin antibody increases muscle mass and strength and improves insulin sensitivity in old mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2016, 113, 2212-2217.
9. Cantini M., Carraro F.: Control of cell proliferation by macrophage-myoblast interactions. *Basic Appl. Myol.* 1996, 6, 485-489.
10. Chakravarthy M. V., Davis B. S., Booth F. W.: IGF-I restores satellite cell proliferative potential in immobilized old skeletal muscle. *J. Appl. Physiol.* 2000, 89, 1365-1379.
11. Chargé S. B., Rudnicki M. A.: Cellular and molecular regulation of muscle regeneration. *Physiol. Rev.* 2004, 84, 209-238.
12. Chen S. E., Gerken E., Zhang Y., Zhan M., Mohan R. K., Li A. S., Reid M. B., Li Y. P.: Role of TNF- α signaling in regeneration of cardiotoxin-injured muscle. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2005, 289, C1179-1187.
13. Chen S. E., Jin B., Li Y. P.: TNF- α regulates myogenesis and muscle regeneration by activating p38 MAPK. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2007, 292, C1660-1671.
14. Cuenda A., Cohen P.: Stress-activated protein kinase-2/p38 and a rapamycin-sensitive pathway are required for C2C12 myogenesis. *J. Biol. Chem.* 1999, 274, 4341-4346.
15. Du M., Tong J., Zhao J., Underwood K. R., Zhu M., Ford S. P., Nathanielsz P. W.: Fetal programming of skeletal muscle development in ruminant animals. *J. Anim. Sci.* 2010, 88, E51-60.
16. Formicola L., Pannérec A., Corrales R. M., Gayraud-Morel B., Ollitrault D., Besson V., Tajbakhsh S., Lachey J., Seehra J. S., Marazzi G., Sassoon D. A.: Inhibition of the Activin Receptor Type-2B Pathway Restores Regenerative Capacity in Satellite Cell-Depleted Skeletal Muscle. *Front. Physiol.* 2018, 9, 515.
17. Franzén P., ten Dijke P., Ichijo H., Yamashita H., Schulz P., Heldin C. H., Miyazono K.: Cloning of a TGF beta type I receptor that forms a heteromeric complex with the TGF beta type II receptor. *Cell* 1993, 75, 681-692.
18. Gal-Levi R., Leshem Y., Aoki S., Nakamura T., Halevy O.: Hepatocyte growth factor plays a dual role in regulating skeletal muscle satellite cell proliferation and differentiation. *Biochim. Biophys. Acta* 1998, 1402, 39-51.
19. Grobet L., Martin L. J., Poncelet D., Pirotin D., Brouwers B., Riquet J., Schoeberlein A., Dunner S., Ménissier F., Massabanda J., Fries R., Hanset R., Georges M.: A deletion in the bovine myostatin gene causes the double-muscling phenotype in cattle. *Nat. Genet.* 1997, 17, 71-74.

20. Hawke T. J., Garry D. J.: Myogenic satellite cells: physiology to molecular biology. *J. Appl. Physiol.* 2001, 91, 534-551.
21. Jones N. C., Tyner K. J., Nibarger L., Stanley H. M., Cornelison D. D., Fedorov Y. V., Ohwin B. B.: The p38alpha/beta MAPK functions as a molecular switch to activate the quiescent satellite cell. *J. Cell Biol.* 2005, 169, 105-116.
22. Joulia D., Bernardi H., Garandel V., Rabenoelina F., Vernus B., Cabello G.: Mechanisms involved in the inhibition of myoblast proliferation and differentiation by myostatin. *Exp. Cell Res.* 2003, 286, 263-275.
23. Kambadur R., Sharma M., Smith T. P., Bass J. J.: Mutations in myostatin (GDF8) in double-muscling Belgian Blue and Piedmontese cattle. *Genome Res.* 1997, 7, 910-916.
24. Kami K., Senba E.: Localization of leukemia inhibitory factor and interleukin-6 messenger ribonucleic acids in regenerating rat skeletal muscle. *Muscle Nerve* 1998, 21, 819-822.
25. Kan I., Melamed E., Offen D.: Autotransplantation of bone marrow-derived stem cells as a therapy for neurodegenerative diseases. *Handb. Exp. Pharmacol.* 2007, 219-242.
26. Kirk S., Oldham J., Kambadur R., Sharma M., Dobbie P., Bass J.: Myostatin regulation during skeletal muscle regeneration. *J. Cell Physiol.* 2000, 184, 356-363.
27. Kocamis H., McFarland D. C., Killefer J.: 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.* 2001, 186, 146-152.
28. Kurek J. B., Bower J. J., Romanella M., Koentgen F., Murphy M., Austin L.: The role of leukemia inhibitory factor in skeletal muscle regeneration. *Muscle Nerve* 1997, 20, 815-822.
29. Lee E. J., Jan A. T., Baig M. H., Ashraf J. M., Nahm S. S., Kim Y. W., Park S. Y., Choi I.: Fibromodulin: a master regulator of myostatin controlling progression of satellite cells through a myogenic program. *FASEB J.* 2016, 30, 2708-2719.
30. Lee S. J.: Extracellular Regulation of Myostatin: A Molecular Rheostat for Muscle Mass. *Immunol. Endocr. Metab. Agents Med. Chem.* 2010, 10, 183-194.
31. Li Y. P., Schwartz R. J.: TNF-alpha regulates early differentiation of C2C12 myoblasts in an autocrine fashion. *FASEB J.* 2001, 15, 1413-1415.
32. Liu X., Liu Y., Zhao L., Zeng Z., Xiao W., Chen P.: Macrophage depletion impairs skeletal muscle regeneration: The roles of regulatory factors for muscle regeneration. *Cell Biol. Int.* 2017, 41, 228-238.
33. Mahdy M. A. A.: Skeletal muscle fibrosis: an overview. *Cell Tissue Res.* 2018, DOI: 10.1007/s00441-018-2955-2.
34. Martin J. F., Li L., Olson E. N.: Repression of myogenin function by TGF-beta 1 is targeted at the basic helix-loop-helix motif and is independent of E2A products. *J. Biol. Chem.* 1992, 267, 10956-10960.
35. Matheny R. W. Jr, Carrigan C. T., Abdalla M. N., Geddis A. V., Leandry L. A., Aguilar C. A., Hobbs S. S., Urso M. L.: RNA transcript expression of IGF-1/PI3K pathway components in regenerating skeletal muscle is sensitive to initial injury intensity. *Growth Horm. IGF Res.* 2017, 32, 14-21.
36. McPherron A. C., Lee S. J.: Double muscling in cattle due to mutations in the myostatin gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997, 94, 12457-12461.
37. Musarò A., McCullagh K., Paul A., Houghton L., Dobrowolny G., Molinaro M., Barton E. R., Sweeney H. L., Rosenthal N.: Localized Igf-1 transgene expression sustains hypertrophy and regeneration in senescent skeletal muscle. *Nat. Genet.* 2001, 27, 195-200.
38. Nöth U., Rackwitz L., Steinert A. F., Tuan R. S.: Cell delivery therapeutics for musculoskeletal regeneration. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2010, 62, 765-783.
39. Oksbjerg N., Gondret F., Vestergaard M.: Basic principles of muscle development and growth in meat-producing mammals as affected by the insulin-like growth factor (IGF) system. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2004, 27, 219-240.
40. Olson E. N.: Interplay between proliferation and differentiation within the myogenic lineage. *Dev. Biol.* 1992, 154, 261-272.
41. Ono S., Yoshida N., Maekawa D., Kitakaze T., Kobayashi Y., Kitano T., Fujita T., Okuwa-Hayashi H., Harada N., Nakano Y., Yamaji R.: 5-Hydroxy-7-methoxyflavone derivatives from *Kaempferia parviflora* induce skeletal muscle hypertrophy. *Food Sci. Nutr.* 2018, 7, 312-321.
42. Pawlikowski B., Vogler T. O., Gadek K., Ohwin B. B.: Regulation of skeletal muscle stem cells by fibroblast growth factors. *Dev. Dyn.* 2017, 246, 359-367.
43. Pojda Z., Machaj E., Kurzyk A., Mazur S., Dębski T., Gilewicz J., Wysocki J.: Mezenchymalne komórki macierzyste. *Post. Biochemii* 2013, 59, 187-197.
44. Rebbapragada A., Benchabane H., Wrana J. L., Celeste A. J., Attisano L.: Myostatin signals through a transforming growth factor beta-like signaling pathway to block adipogenesis. *Mol. Cell Biol.* 2003, 23, 7230-7242.
45. Rhoads R. P., Fernyhough M. E., Liu X., McFarland D. C., Velleman S. G., Hausman G. J., Dodson M. V.: Extrinsic regulation of domestic animal-derived myogenic satellite cells II. *Domest. Anim. Endocrinol.* 2009, 36, 111-126.
46. Ríos R., Carneiro I., Arce V. M., Devesa J.: Myostatin regulates cell survival during C2C12 myogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001, 280, 561-566.
47. Rodgers J. T., Schroeder M. D., Ma C., Rando T. A.: HGFA Is an Injury-Regulated Systemic Factor that Induces the Transition of Stem Cells into GAlert. *Cell Rep.* 2017, 19, 479-486.
48. Saera-Vila A., Kish P. E., Kahana A.: Fgf regulates dedifferentiation during skeletal muscle regeneration in adult zebrafish. *Cell Signal.* 2016, 28, 1196-1204.
49. Segalés J., Perdiguer E., Muñoz-Cánoves P.: Regulation of Muscle Stem Cell Functions: A Focus on the p38 MAPK Signaling Pathway. *Front. Cell Dev. Biol.* 2016, 4, 91.
50. Sharples A. P., Hughes D. C., Deane C. S., Saini A., Selman C., Stewart C. E.: Longevity and skeletal muscle mass: the role of IGF signalling, the sirtuins, dietary restriction and protein intake. *Aging Cell* 2015, 14, 511-523.
51. Shibaguchi T., Maeoka T., Yoshihara T., Naito H., Goto K., Yoshioka T., Sugiura T.: Age-related changes in myostatin expression in rat skeletal muscles. *J. Phys. Fitness Sports Med.* 2018, 7, 221-227.
52. Snijders T., Nederveen J. P., McKay B. R., Joannisse S., Verdijk L. B., van Loon L. J., Parise G. L.: Satellite cells in human skeletal muscle plasticity. *Front. Physiol.* 2015, 6, 283.
53. Spangenburg E. E., Booth F. W.: Multiple signaling pathways mediate LIF-induced skeletal muscle satellite cell proliferation. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2002, 283, C204-211.
54. Stepień-Wyrobiec O., Hrycek A., Wyrobiec G.: Transforming growth factor beta (TGF-beta): its structure, function, and role in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Postepy Hig. Med. Dosw. (Online)* 2008, 62, 688-693.
55. Suzuki J., Yamazaki Y., Li G., Kaziro Y., Koide H.: Involvement of Ras and Ral in chemotactic migration of skeletal myoblasts. *Mol. Cell Biol.* 2000, 20, 4658-4665.
56. Taylor W. E., Bhasin S., Artaza J., Byhower F., Azam M., Willard D. H. Jr, Kull F. C. Jr, Gonzalez-Cadavid N.: Myostatin inhibits cell proliferation and protein synthesis in C2C12 muscle cells. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2001, 280, E221-228.
57. Tidball J. G., Welc S. S.: Macrophage-Derived IGF-1 Is a Potent Coordinator of Myogenesis and Inflammation in Regenerating Muscle. *Mol. Ther.* 2015, 23, 1134-1135.
58. Tonkin J., Temmerman L., Sampson R. D., Gallego-Colon E., Barberi L., Bilbao D., Schneider M. D., Musarò A., Rosenthal N.: Monocyte/Macrophage-derived IGF-1 Orchestrates Murine Skeletal Muscle Regeneration and Modulates Autocrine Polarization. *Mol. Ther.* 2015, 23, 1189-1200.
59. Wang H., Hertlein E., Bakkar N., Sun H., Acharyya S., Wang J., Carathers M., Davuluri R., Guttridge D. C.: NF-kappaB regulation of YY1 inhibits skeletal myogenesis through transcriptional silencing of myofibrillar genes. *Mol. Cell Biol.* 2007, 27, 4374-4387.
60. White J. D., Bower J. J., Kurek J. B., Austin L.: Leukemia inhibitory factor enhances regeneration in skeletal muscles after myoblast transplantation. *Muscle Nerve* 2001, 24, 695-697.
61. Whittemore L. A., Song K., Li X., Aghajanian J., Davies M., Girgenrath S., Hill J. J., Jalenak M., Kelley P., Knight A., Maylor R., O'Hara D., Pearson A., Quazi A., Ryerson S., Tan X. Y., Tomkinson K. N., Veldman G. M., Widom A., Wright J. F., Wudyka S., Zhao L., Wolfman N. M.: Inhibition of myostatin in adult mice increases skeletal muscle mass and strength. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003, 300, 965-971.
62. Wicik Z., Sadkowski T., Jank M., Motyl T.: Transcriptional pattern of TGF-beta1 inhibitory effect on mouse C2C12 myoblasts differentiation. *Pol. J. Vet. Sci.* 2010, 13, 629-638.
63. Witt R., Weigand A., Boos A. M., Cai A., Dippold D., Boccaccini A. R., Schubert D. W., Hardt M., Lange C., Arkudas A., Horch R. E., Beier J. P.: Mesenchymal stem cells and myoblast differentiation under HGF and IGF-1 stimulation for 3D skeletal muscle tissue engineering. *BMC Cell Biol.* 2017, 18, 15.
64. Yablonka-Reuveni Z., Danoviz M. E., Phelps M., Stueltz P.: Myogenic-specific ablation of Fgf1 impairs FGF2-mediated proliferation of satellite cells at the myofiber niche but does not abolish the capacity for muscle regeneration. *Front. Aging Neurosci.* 2015, 7, 85.
65. Yin H., Price F., Rudnicki M. A.: Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiol. Rev.* 2013, 93, 23-67.
66. Zetsler A., Gredinger E., Bengal E.: p38 mitogen-activated protein kinase pathway promotes skeletal muscle differentiation. Participation of the Mef2c transcription factor. *J. Biol. Chem.* 1999, 274, 5193-5200.
67. Zhao Q., Yang S. T., Wang J. J., Zhou J., Xing S. S., Shen C. C., Wang X. X., Yue Y. X., Song J., Chen M., Wei Y. Y., Zhou Q. P., Dai T., Song Y. H.: TNF alpha inhibits myogenic differentiation of C2C12 cells through NF-kB activation and impairment of IGF-1 signaling pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2015, 458, 790-795.
68. Zhu M. J., Ford S. P., Nathanielsz P. W., Du M.: Effect of maternal nutrient restriction in sheep on the development of fetal skeletal muscle. *Biol. Reprod.* 2004, 71, 1968-1973.