

BIOLOGIA KOMÓREK MIOGENNYCH MIĘŚNI SZKIELETOWYCH STRUNOWCÓW*

BIOLOGY OF CHORDATE MYOGENIC CELLS OF SKELETAL MUSCLES

Leokadia KIEŁBÓWNA, Agata KACPERCZYK

Zakład Biologii Rozwoju Zwierząt, Instytut Zoologiczny, Uniwersytet Wrocławski

Streszczenie: Komórki miogenne są potencjalnymi komórkami mięśniowymi dzielącymi się mitotycznie. Komórki te po wyjściu z cyklu komórkowego w fazie G1/G0 wchodzą w stadium post-mitotycznych mioblastów. W ich jądrach rozpoczyna się ekspresja białek regulatorowych należących do rodziny MRF: MyoD, Myf5, myogenina i MRF-4, które tworzą heterodimery z białkami rodziny E (E12 i E47), wspomagane przez rodzinę białek MEF. Układ ten aktywizuje geny mięśniowo specyficzne. Mioblasty przed fuzją wydłużają się, układają się liniowo, przylegają do siebie i zlewają się z sobą w wydłużoną miotubę. W procesie adhezji i fuzji biorą udział białka transbłonowe, np. kadherine i integryny. W embriogenezie komórki miogenne mezodermy niesegmentowanej oraz nowopowstałych somitów podlegają działaniu białek sygnalizacyjnych, tj. Shh i Wnt emitowanych z sąsiednich tkanek. Białka te inicjują aktywność genów rodziny MRF (Myf5 i MyoD). Ponadto komórki miogenne wykazują dużą morfogenetyczną aktywność ruchową. U amniota translokują się pod dermomiotom. Pionierskie mioblasty miotomalne rosną i wydłużają się na całą długość somitu. U pewnych gatunków płazów w procesie somitogenezy, komórki miogenne rotują z położenia prostopadłego na równoległe do długiej osi ciała. U innych gatunków płazów wydłużają się zgodnie z długą osią ciała. W wyniku rotacji i wydłużania się zajmują całą długość miotomu, a następnie różnicują się w jednojądrowe miotuby. U ryb komórki miogenne mezodermy niesegmentowanej migrują z położenia przyosiowego na powierzchnię miotomu, a komórki zewnętrzne (ang. *external cells*) migrują w głąb miotomu. U płazów i ryb do miotomów migrują komórki mezenchymalne *via* miosepta. Mioblasty pochodzenia mezenchymalnego o potencji miogennej zlewają się z miotubą. Komórki miogenne wykazują ponadto zdolności migracyjne na stosunkowo duże odległości. U amniota komórki brzusznej wargi dermomiotomu, a u niższych strunowców brzusznej części somitu migrują np. do zawiązka kończyn, płetw i do rozwijających się mięśni brzusznych. Migrujące komórki wykazują ekspresję genów białek regulatorowych Pax3 oraz Lbx1.

Słowa kluczowe: komórki miogenne, migracja komórek, białka regulatorowe.

Summary: Myogenic cells are potential muscle cells which divide mitotically. Following their exit from the cell cycle at phase G1/G0 they enter the stage of post-mitotic myoblasts. Expression of regulatory proteins of MRF family (MyoD, Myf5, myogenin and MRF-4), which form heterodimers with E family

*Praca finansowana z projektu 2020/WZ/2007.

proteins E (E12 and E47) aided by MEF family proteins, starts in their nuclei. The system activates muscle-specific genes. Before the fusion the myoblasts elongate, become linearly arranged, adhere to each other and fuse into an elongated myotube. Transmembrane proteins, e.g. cadherins and integrins, participate in adhesion and fusion. Myogenic cells of non-segmented mesoderm and of newly formed somites are affected by signal proteins, Shh and Wnt, emitted from the neighbouring tissues. These proteins trigger the activity of genes of MRF family, Myf5 and MyoD. Besides, myogenic cells display a great morphogenetic mobility. In Amniota they translocate under the dermatomyotome. Pioneer myoblasts of the myotome grow and elongate. In some amphibian species during somitogenesis myogenic cells rotate from the perpendicular position to the position parallel to the body axis. In other amphibians they elongate along the body axis. As a result of rotation and elongation they occupy the whole length of the myotome and then differentiate into mononucleate myotubes. In fishes myogenic cells of non-segmented mesoderm migrate from paraxial position onto the myotome surface, while „external cells” migrate into the myotome. In amphibians and fishes mesenchymal cells migrate into the myotomes via miosepts. Myoblasts of mesenchymal origin fuse with the myotube. Moreover, myogenic cells are capable of migration for rather long distances. In Amniota cells of the ventral lip of dermatomyotome, and in lower chordates cells of the ventral part of the somite migrate e.g. to primordial limbs, fins and ventral muscles. The migrating cells show an expression of regulatory proteins Pax3 and Lbx1.

Key words: myogenic cells, cells migration, regulatory proteins.

WSTĘP

Źródłem komórek miogennych jest mezoderma przyosiowa. W rozwoju embrionalnym tworzy ona bilateralnie i symetrycznie ułożone pary somitów. Komórki miogenne somitów są źródłem mięśni tułowiowych.

Amerykańscy uczeni Bischoff i Holtzer (w 1969 r.) jako pierwsi podjęli badania dotyczące komórek miogennych [3]. Wprowadzenie metody *in vitro* umożliwiło rozwiązanie problemu powstawania wielojądrowych włókien mięśniowych. Wcześniej sądzono, że włókno mięśniowe jest wynikiem fuzji komórek lub powstaje w wyniku podziału jądra komórkowego bez plazmotomii. Z ich badań wynika, że podziały mitotyczne występują wyłącznie w jednojądrowych komórkach, w miotubach figur mitotycznych nie obserwowano [36]. Potwierdzeniem był brak syntezy DNA w jądrach miotub [69]. Obserwowano ponadto związek pomiędzy cyklem komórkowym a fuzją mioblastów. Wykazano, że komórki miogenne nie łączą się ze sobą w fazie S, G2 ani w fazie M, a jedynie w fazie post-mitotycznej G1 [3]. Badania cytofotometryczne jądrowego DNA w różnych fazach cyklu komórkowego i w jądrach miotub, potwierdziły jedną klasę jąder o diploidalnej (2C) zawartości DNA w jądrach miotub [70]. Dyskutowany wcześniej pogląd został rozwiązany: włókno mięśniowe jest syncytium komórkowym.

Mimo że budowa plazmolemy na poziomie molekularnym w tym okresie nie była jeszcze określona, autorzy zakładali, że przed fuzją musi dojść do rozpoznania się komórek kompetentnych do tworzenia miotuby i że powierzchnie komórek muszą być przygotowane do tego procesu [37]. Obecne badania białek powierzchniowych, uczestniczących w sygnalizacji komórek, adhezji i wzajemnej fuzji mioblastów, dają odpowiedź na wcześniej postawione pytania.

Komórki pochodzenia mezenchymalnego o potencji miogennej wykazują wiele wspólnych cech, a mianowicie proliferują, migrują, wydłużają się wzdłuż swej długiej osi, przylegają do siebie, a następnie łączą się w wielojądrowe miotuby. Obecne badania komórek miogennych prowadzone *in vitro* dotyczą głównie mioblastów gryzoni linii C2, L8 i L84 oraz komórek satelitarnych lub ich linii, np. C2C12, MM14. Komórki satelitarne zostały odkryte po raz pierwszy w dojrzałym włóknie mięśniowym pod błoną podstawną włókna mięśniowego kończyny płaza [55]. Zdaniem autora są to uśpione mioblasty.

BIAŁKA REGULATOROWE KOMÓREK MIOGENNYCH

W badaniach prowadzonych *in vitro* stwierdzono, że wyjście komórek z cyklu komórkowego w fazie G1/G0 jest warunkiem ekspresji genów mięśniowych. Promotorem różnicowania są jądrowe białka regulatorowe rodziny MRF (ang. *Myogenic Regulatory Factor*), takie jak: MyoD, Myf5, miogenina oraz MRF-4 z charakterystyczną domeną bHLH (ang. *basic helix loop helix*). Białka rodziny MRF występują wyłącznie w komórkach miogennych mięśni szkieletowych. Białka te tworzą heterodimery z białkami E (E12 i E47). Układ ten wspomagany jest przez rodzinę białek MEF2 (ang. *Myogenic Enhancers Factor*). Powstająca siatka pozytywnego sprzężenia zwrotnego utrzymuje transkrypcyjny miogeniczny program w komórce [58, 77]. Połączenie heterodimeru bHLH-E z określoną sekwencją nukleotydów DNA (E-box) uaktywnia ekspresję genów mięśniowo-specyficznych, takich jak: geny mięśniowej kinazy kreatynowej, lekkiego łańcucha miozyny, desminy i receptora acetylocholino [51]. Białka regulatorowe występują również w proliferujących komórkach miogennych, przed różnicowaniem, np. w jądrach komórek przyszłej mezodermy w stadium gastruli płazów [38]. Musi zatem istnieć mechanizm inaktywujący działanie tych regulatorów, a w procesie różnicowania musi istnieć blokada utrzymująca komórki w permanentnym stanie post-mitotycznym dla funkcjonowania miogenicznych białek regulatorowych. Ostatnio wykazano interakcje pomiędzy białkami regulatorowymi a cyklem komórkowym [11].

FUZJA MIOBLASTÓW

W badaniach *in vitro* komórki miogenne przed fuzją proliferują dla osiągnięcia odpowiedniej liczby komórek. Następnie mioblasty wydłużają się, układają się szeregowo w linii prostej i przylegają do siebie. W miejscu kontaktu, w obu przylegających mioblastach pojawiają się podsarkolemalne pęcherzyki, które prowadzą do zaniku ciągłości błon komórkowych [43]. W rezultacie powstaje wydłużona wielojądrowa miotuba.

Zmiany w zachowaniu się mioblastów zachodzące w procesach poprzedzających fuzję muszą być z sobą skoordynowane. Koordynacja tych procesów zachodzi poprzez sygnalizację zainicjowaną adhezją komórka-komórka [50]. Istotną rolę pełnią tu klasyczne kadheryny, które pośredniczą zarówno w adhezji, jak i sygnalizacji [74]. Kadheryny są białkami transbłonowymi, ich cytoplazmatyczna domena wchodzi w interakcje z kateninami, które wiążą się z filamentami aktynowymi cytoszkieletu, zaś ektodomena nawiązuje kontakt z przyległymi komórkami i odpowiada za interakcje komórka-komórka [74, 76]. Ponadto kadherynowa adhezja może aktywnie przewodzić sygnały [76]. Do prawidłowego różnicowania się komórek miogennych wymagana jest interakcja komórek ze środowiskiem poza komórkowym ECM (ang. *Extra Cellular Matrix*). Rolę tę pełnią integryny, które są głównymi receptorami komórkowymi dla wielu ligandów ECM. Integryny są białkami transbłonowymi wiążącymi aktyne cytoszkieletu z ECM. Podjednostki integryn α i $\beta 1$ uczestniczą w adhezji i fuzji mioblastów, a także w montowaniu sarkomerów [66, 10].

KOMÓRKI MIOGENNE W EMBRIOGENEZIE

1. Sygnały odbierane przez komórki miogenne

U amniota struna grzbietowa i płytka nerwowa wysyłają białka sygnałowe Shh (ang. *Sonic hedgehog*), a dorsalna część cewki nerwowej i ektoderma powierzchniowa białka Wnt [12, 20, 18]. Kombinacja tych sygnałów jest odpowiedzialna za zainicjowanie ekspresji genów białek regulatorowych Myf5 oraz MyoD. U myszy w komórkach miogennych środkowo-grzbietowej ściany nowoutworzonych somitów zachodzi ekspresja Myf-5, natomiast u przepiórki – MyoD [63, 7]. Komórki miogenne tej części somitu są prekursorami mięśni nadosiowych rozwijających się w mięśnie miotomalne, a w przyszłości w mięśnie grzbietu. Boczno-brzuszne części somitu dające początek mięśniom podosiowym nie ulegają indukcji przez białka sygnałowe, tj. SHh oraz Wnt, emitowane przez narządy osiowe. Komórki te rozwijają się np. w mięśnie ściany ciała i mięśnie kończyn [18].

U amniota niezależnie od czynników zewnętrznych indukujących miogenezę miotomalną, wykazano interakcję zachodzącą w presomitycznej mezodermie prowadzącą do autoindukcji. Wnt5b, którego ekspresja zachodzi w mezodermie niesegmentowanej, jest sygnałem wymaganym dla aktywacji genu MyoD w nowopowstałym somicie [51].

U *Brachydanio rerio* w stadium presomitycznym komórki przyosiowe (ang. *adaxial cells*) przylegające do struny grzbietowej odbierają sygnały emitowane ze struny grzbietowej. Są to białka należące do rodziny Hh (*Hedgehog*). Komórki te odpowiadają ekspresją genów białek regulatorowych MyoD oraz Myf5 [73, 5, 30, 19].

U strunowców wyjątek stanowią komórki zawiązka ogona osłonicy, które mają wewnętrzny program autonomicznego różnicowania się jednojądrowych komórek mięśniowych. W zapłodnionym jaju *Halocynthia roretzi* zlokalizowane materialne

determinanty w żółtej cytoplazmie (ang. *yellow cytoplasm*) skupiają się na biegunie wegetatywnym, a następnie przemieszczają się w określone miejsce ooplazmy. W procesie bruzdkowania segregują się do dwóch blastomerów b41, stadium ośmiokomórkowego. Blastomery te stają się prekursorami pierwotnych komórek mięśniowych [16, 65]. Dwa blastomery linii A41 i para blastomerów B42 różnicują się w drugorzędowe komórki mięśniowe. W miejscu występowania determinantów u *H. roretzi* stwierdzono obecność mRNA, który koduje białko macho-1 [61]. Zdaniem autorów jest to białko jądrowe pełniące funkcje czynnika transkrypcyjnego. Niezależnie od determinantów w komórkach mięśniowych rozwijającego się zarodka osłonicy, w ich genomie stwierdzono obecność jednego genu z rodziny MRF, a mianowicie MyoD [2, 56]. Występuje on w komórkach mięśniowych pochodnych blastomerów B41. Jego ekspresja ujawnia się w późniejszych stadiach różnicowania, nie może więc być mięśniowym determinantem [56]. Jest jednak do przyjęcia pogląd, że macho-1 promuje ekspresję MyoD [62].

2. Komórki miogenne budujące miotom

Somit amniota różnicuje się na część środkowo-grzbietową, która zachowuje budowę nabłonkową tworząc dermomiotom, oraz część brzuszną, która dezintegruje się na komórki mezenchymalne tworząc sklerotom. Dermomiotom jest potencjalnym źródłem komórek miogennych. Komórki dermomiotomu są aktywne mitotycznie [14]. Szczególnie dużą aktywność mitotyczną wykazują komórki warg grzbietowo-środkowej oraz brzuszno-bocznej [26]. Głównym miejscem uwalniania się komórek u ptaków są obie wargi dermomiotomu [41, 15, 26, 32]. Komórki opuszczające dermomiotom są wyciszone mitotycznie [41, 32]. Komórki te traslokują się pod dermomiotom tworząc miotom. Pierwsze uwolnione komórki zasiedlające miotom wydłużają się na całą długość somitu. Zdaniem autorów są to komórki pionierskie (ang. *pioneer cells*) [42, 32]. U ssaków Myf5 pozytywne mioblasty, po opuszczeniu wargi dermomiotomu migrują w kierunku dogłowym i doogonowym wargi, a następnie lokują się w środkowej części przyszłego miotomu. Z tej pozycji rozpoczynają wzrost i symetryczne wydłużanie się do zajęcia całej długości somitu. Duże jednojądrowe mioblasty z dużym jądrem pełnią rolę komórek pionierskich. U ssaków miotom budują również małe mioblasty – Myf5 pozytywne, które opuszczają dogłową i doogonową część wargi dermomiotomu. Ich stosunek do dużych mioblastów nie jest jasny, prawdopodobnie łączą się one z dużym mioblastem [71].

W postępującej embriogenezie dalszy rozwój miotomu zależy od białek Pax3 i Pax7, które są kluczowymi czynnikami regulującymi proces miogenezy [63].

W odróżnieniu od amniota, u niższych strunowców miotom jest częścią somitu. Jego mioblasty różnicują się *in situ*. Jest cechą charakterystyczną, że mioblasty miotomalne płazów bezogonowych, tj. *Xenopus laevis*, *Hymenochirus boettgeri* oraz *Bombina variegata*, nie łączą się z sobą, lecz różnicują się w jednojądrowe miotuby zajmujące całą długość miotomu [45, 59, 49, 46, 22]. Pozycję tę mioblasty zajmują w wyniku różnych ruchów morfogenetycznych niezwiązanych z somitogenezą [47]. U *X. laevis* i *H. boettgeri* w wyniku rotacji z położenia prostopadłego

na równoległe do długiej osi ciała, a u *B. variegata* w wyniku wydłużania się. W somitogenezie *X. laevis* indywidualne komórki somitu w procesie rotacji zmieniają kształty i wypuszczają lamellipodia [78]. Sugeruje się, że proces rotacji komórek jest wysoce skoordynowany [44]. Skoordynowane ruchy komórek rozpoczynają się w mezodermie niesegmentowanej wydłużaniem się komórek w kierunku środkowo-bocznym i wzrastającą aktywnością filopodiów [1]. Jednakże komórki te zachowują ze sobą kontakt komórka-komórka, który jest zasadniczy dla rotacji koherentnej grupy komórek. Istotną rolę w skoordynowanej rotacji pełni białko kadheryna typu I [31]. Zdaniem autorów komórki, które nie zachowują ze sobą kontaktu, nie są zdolne do przekazywania informacji potrzebnej do ruchu komórek.

U *X. laevis* mioblasty miotomalne różnicują się w jednojądrowe miotuby. Ich jądra nie włączają znakowanej trytem tymidyny [49], a jądra jednojądrowych miotub *B. variegata* zawierają tetraploidalną (4C) zawartość DNA [46]. Przedstawione wyniki komplementarnych metod badawczych wskazują, że mioblasty w tym modelu miogenezy wycofują się z cyklu komórkowego w fazie G2. U *H. boettgeri* w jądrach mioblastów i różnicujących jednojądrowych miotub zachodzi ekspresja genu *MyoD*, która po zainicjowaniu różnicowania stopniowo zanika [22]. U innych gatunków płazów mioblasty łączą się w wielojądrowe miotuby [21, 24].

W stadium zaawansowanego procesu różnicowania jednojądrowych miotub, do miotomów migrują *via* miosepta komórki pochodzenia mezenchymalnego [46, 22, 49]. Są to bipotencjalne komórki różnicujące się w mioblasty i fibroblasty. Komórki, które znalazły się w bezpośrednim kontakcie z miotubami, są potencjalnymi mioblastami. W ich jądrach u *H. boettgeri* stwierdzono obecność białka regulatorowego MyoD [22]. U *B. variegata* mioblasty pochodzenia mezenchymalnego łączą się z miotubą w fazie G1 [46]. Migracje komórek mezenchymalnych do miotomów i ich funkcję miogenną stwierdzono po raz pierwszy u *B. variegata*. Komórki pochodzenia mezenchymalnego o potencji miogennej biorą również udział w miogenezie innych gatunków płazów [24] i wielu gatunków ryb [23]. U *Rana lessonae* mioblasty pochodzenia mezenchymalnego łączą się ze sobą w drugorzędowe miotuby miotomalne [21].

U *B. rerio* z wyjątkiem komórek miotomalnych różnicujących się *in situ*, inne wykazują daleko idące ruchy morfogenetyczne. U *B. rerio* i *Acipenser ruthenus* w stadium presomitycznym, komórki przyosiowe przylegające do struny grzbietowej pod wpływem białek sygnałowych SHh wydłużają się i przemieszczają na boczną powierzchnię miotomu, gdzie różnicują się w jednojądrowe, wolno kurczące się (czerwone) włókna mięśniowe [27, 17, 67]. Ekspresja N-kadheryny i M-kadheryny kontroluje migrację tych komórek w miotomie [17].

Komórki występujące początkowo w przedniej części somitu przemieszczają się na jego stronę boczną. Zmiana położenia tych komórek jest następstwem rotacji całego somitu o 90° [35]. W rezultacie subpopulacja ta w postaci pojedynczych komórek, znajdzie się na bocznej powierzchni miotomu [68]. Lokalizacja tych komórek nawiązuje do komórek zewnętrznych (ang. *external cells*) odkrytych i opisanych (w 1969 r.) przez Watermana [72]. Natomiast obecność w jądrach tych komórek białka regulatorowego Pax3 oraz Pax7 sugeruje podobieństwo do komórek dermomiotomu amniota [28]. Komórki Pax3 pozytywne po wmigrowaniu w głębi

miotomu różnicują się w szybkie (białe) włóka mięśniowe, a Pax7 pozytywne komórki – w komórki satelitarne [68, 35].

3. Komórki miogenne rozwijające się poza somitem

U amniota komórki miogenne uwalniające się z więzi nabłonkowej brzusznej części dermomiotomu są pojedynczymi mezynchymalnymi komórkami, migrującymi docelowo np. do pęczka kończyny [6, 9, 13]. Komórki te po dostaniu się w mezo-dermalną somatopleurę zawiązka kończyny proliferują, a następnie rozpoczynają proces różnicowania [33, 13]. Deepitelizacja i migracja komórek jest rezultatem interakcji trasblonowego receptora kinazy tyrozynowej c-met, którego ekspresja zachodzi w komórkach dermomiotomu, i jego ligandu SF/HGF (ang. *Scatter Factor/Hepatocyte Growth Factor*), produkowanego w komórkach somatopleury pęczka kończyn [4, 34, 8, 23]. Ligandy rozpoznawane przez receptor kinazy tyrozynowej mogą wysyłać sygnały dla migrujących komórek [4]. W migrujących komórkach miogennych zawiązującej się kończyny myszy stwierdzono ekspresję genu *Lbx1* [40]. Istnieją sugestie, że gen ten determinuje szczególne własności migrujących miogennych komórek i jest zasadniczy dla rozpoznania sygnałów, które nadają kierunek i utrzymują ich migrujący potencjał [40, 57, 9]. Markerem migrujących komórek jest białko regulatorowe Pax3 [25, 6, 75]. Uważa się, że Pax3 kontroluje uwalnianie się migrujących komórek z dermomiotomu, ponieważ ma wpływ na ekspresję c-met [13]. Komórki w czasie migracji z somitu do pęczka kończyny są zatrzymane w procesie różnicowania, przypuszczalnie w wyniku wysokiej koncentracji FGF (ang. *Fibroblast Growth Factor*) [39].

Migracja komórek miogennych z somitu u *Bombina bombina* rozpoczyna się w stadium zaawansowanej miogenezy miotomalnej. Komórki miotomalne nie biorą udziału w ich migracji, jak sądzono wcześniej. Z brzusznej części somitu uwalniają się pojedyncze mezenchymalne komórki dermatomu i sklerotomu, do których przyłączają się komórki grzebienia nerwowego. Komórki te migrują w kierunku brzuszny. W kontakcie z somatopleurą obserwuje się rozpoczynający się proces różnicowania włókien mięśniowych mięśnia prostego brzucha (*musculus rectus abdominis*). Badania te nie pozwoliły na dokładne określenie, czy komórki dermatomu czy sklerotomu brały udział w rozwoju tego mięśnia. Miogeneza mięśnia prostego brzucha zachodząca na podłożu somatopleury, przypomina klasyczny model miogenezy [48]. U *X. laevis* komórki dolnej części somitu migrują w kierunku brzuszny. Komórki te wykazują ekspresję Pax3. Ich proces różnicowania w mięsień ściany ciała rozpoczyna się ekspresją Myf5 i MyoD [53]. Ponadto u *X. laevis* wykryto w migrujących komórkach ekspresję genu *Lbx1*. Proliferacja migrujących komórek jest silnie związana z zahamowaną ekspresją MyoD [54]. Zdaniem autorów, pierwszoplanową rolę *Lbx1* jest represja MyoD pozwalająca komórkom proliferować przed terminalnym różnicowaniem.

U *B. rerio* komórki miogenne uwalniają się z brzusznej części somitu i migrują do pęczka zawiązującej się płetwy piersiowej. Komórki te podobnie jak u amniota wykazują ekspresję genu *Lbx1* [60].

PODSUMOWANIE

W biologii komórek miogennych różne zachowanie się mioblastów miotomalnych zasługuje na szczególną uwagę. Jest znany fakt, że u wielu badanych gatunków płazów, mioblasty miotomalne tworzą syncytialną miotubę. Wyjątek stanowią gatunki płazów, tj. *X. laevis*, *H. boettgeri* oraz *B. variegata*, u których mioblasty miotomalne różnicują się w jednojądrowe wydłużone miotuby. Gatunki płazów *X. laevis* oraz *H. boettgeri* o odmiennym modelu miogenezy, należą do rodziny płazów bezogonowych starych filogenetycznie. Gatunek *B. variegata* jest z nimi blisko spokrewniony.

U ssaków pierwsze mioblasty budujące miotom są dużymi komórkami z dużym jądrem, natomiast komórki uwalniane z dermomiotomu w nieco późniejszej fazie rozwojowej są znacznie mniejszymi mioblastami. Duże mioblasty nie łączą się z sobą. Syncytialną miotubę tworzą małe komórki łączące się z dużym mioblastem.

W odróżnieniu od komórek miotomalnych, komórki miogenne pochodzenia mezenchymalnego różnicują się według klasycznego modelu miogenezy. Dotyczy to np. komórek różnicujących się w mięśnie brzuszne u płazów.

Komórki miogenne wykazują dużą morfogenetyczną aktywność ruchową. Komórki o zdolnościach migracyjnych stanowią istotny element w rozwoju mięśni miotomalnych. U ryb komórki przyosiowe w trakcie rozwoju migrują ku lateralnej części miotomu, gdzie różnicują się w komórki mięśni czerwonych (wolnych). Komórki znajdujące się na powierzchni miotomu, przypominające dermomiotom, migrują do miotomu i włączają się w dalszy rozwój mięśni miotomalnych.

Szczególną rolę pełnią komórki mezenchymalne migrujące do miotomów *via* miosepta u ryb oraz płazów. Są to proliferujące komórki zaangażowane zarówno we wzrost już istniejących miotub, jak i tworzenie nowych, drugorzędowych miotub. Podobną rolę w rozwoju mięśni miotomalnych u ptaków pełnią komórki uwalniające się z centralnej części dermomiotomu w późniejszej fazie rozwojowej mięśni miotomalnych. Stanowią one jedyną proliferującą populację komórek w miotomie.

Istotną rolę w zachowaniu się komórek miogennych pełnią białka powierzchniowe komórek, np. kadheryny oraz integryny i ich podjednostki. Białka te pośredniczą w kontaktach komórka-komórka oraz biorą udział w adhezji i fuzji mioblastów. M-kadheryny i N-kadheryny kierują migracją komórek w miotomie u ryb. Kontakt komórka-komórka jest także istotny w rotacji mioblastów płazów.

Obecne badania dotyczące badań białek powierzchniowych komórek, niewątpliwie przyczynią się do wyjaśnienia wielu zdarzeń w procesie miogenezy.

LITERATURA

- [1] AFONIN B, HO M, GUSTIN JK, MELOTY-KAPPELLA C, DOMINGO CR. Cell behaviors associated with somite segmentation and rotation in *Xenopus laevis*. *Dev Dyn* 2006; **235**: 3268–3279.

- [2] ARAKI I, SAIGA H, MAKABE KW, SATOH N. Expression of *AMD1*, a gene for a MyoD1-related factor in the ascidian *Halocynthia roretzi*. *Roux's Arch Dev Biol* 1994; **203**: 320–327.
- [3] BISCHOFF R, HOLTZER H. Mitosis and the processes of differentiation of myogenic cells *in vitro*. *J Cell Biol* 1969; **41**: 188–200.
- [4] BLADT F, RLETHMACHER D, ISENMMAN S, AGUZZI A, BIRCHMELER C. Essential role for the c-met receptor in the migration of myogenic precursor cells into the limb bud. *Nature* 1995; **376**: 768–771.
- [5] BLAGDEN CS, CURRIE PO, INGHAM PW, HUGHES SM. Notochord induction zebrafish slow muscle mediated by Sonic hedgehog. *Genes Dev* 1997; **11**: 2163–2175.
- [6] BOBER E, FRANZ T, ARNOLD HH, GRUSS P, TREMBLAY P. Pax-3 is required for the development of limb muscles: a possible role for the migration of dermomyotomal muscle progenitor cells. *Development* 1994; **120**: 603–612.
- [7] BORYCKI AG, BRUNK B, TAJBAKSH S, BUCKINGHAM M, CHIANG C, EMERSON CPJR. Sonic hedgehog controls epaxial muscle determination through Myf5 activation. *Development* 1999; **126**: 4053–4063.
- [8] BRAND-SABERI B, MULLER TS, WILTING SM. Scatter factor/Hepatocyte Growth Factor (SF/HGF) induces migration of myogenic cells at interlimb levels *in vivo*. *Dev Biol* 1996; **179**: 303–308.
- [9] BROHMANN H, JAGLA K, BIRCHMEIER C. The role of Lbx1 in migration of muscle precursor cells. *Development* 2000; **127**: 437–445.
- [10] BRZÓSKA E, BELLO V, DARRIBERE T, MORACZEWSKI J. Integrin alpha 3 subunit participates in myoblast adhesion and fusion *in vitro*. *Differentiation* 2005; **74**: 105–118.
- [11] BUCKINGHAM M. Skeletal muscle formation in vertebrates. *Curr Opin Genet Dev* 2001; **11**: 440–448.
- [12] BUFFINGER N, STOCKDALE FE. Myogenic specification in somites: Induction by axial structures. *Development* 1994; **120**: 1443–1462.
- [13] CHRIST B, BRAND-SABERI B. Limb muscle development. *Int J Dev Biol* 2002; **46**: 905–914.
- [14] CHRIST B, ORDAHL CP. Early stage of chick somite development. *Anat Embryol (Berl)* 1995; **191**: 381–396.
- [15] CINNAMON Y, KAHANE N, KALCHEIM C. Characterization of the early development of specific hypaxial muscles from the ventro-lateral myotome. *Development* 1999; **126**: 4305–4315.
- [16] CONKLIN EG. The organization and cell lineage of the ascidian egg. *J Acad Natl Sci (Phil)* 1905; **13**: 1–119.
- [17] CORTES F, DAGGETT D, BRYSON-RICHARDSON JR, NEYT C, MAULE J, GAUTIER P, HOLLWAY GE, KEENAN D, CURRIE PD. Cadherin-mediated differential cell adhesion controls slow muscle cell migration in the developing zebrafish myotome. *Dev Cell* 2003; **5**: 865–976.
- [18] COSSU G, BORELLO U. Wnt signaling and the activation of myogenesis in mammals. *EMBO J* 1999; **18**: 6867–6872.
- [19] COUELLE O, BLAGDEN CS, HAMPSON R, HALAI C, RIGBY PW, HUGHES SM. Hedgehog signaling is required for maintenance of myf5 and myoD expression and timely terminal differentiation in zebrafish adaxial myogenesis. *Dev Biol* 2001; **236**: 130–150.
- [20] CURRIE PD, INGHAM Ph W. The generation and interpretation of positional information with the vertebrate myotome. *Mech Dev* 1998; **73**: 3–21.
- [21] DACZEWSKA M, PAŁUCKA M. Development of primary and secondary muscle fibres in the myotomes of *Rana lessonae*. *Zool Pol* 1999; **44**: 59–69.
- [22] DACZEWSKA M. Mechanism of multinucleate myotomal muscle fibre formation in *Hymenochirus boettgeri* (Anura, Pipidae). *Zoomorphology* 2001; **121**: 27–36.
- [23] DACZEWSKA M. Comparative analysis of myotomal muscle differentiation in vertebrates with special reference to the role of mesenchymal cells. *Zool Pol* 2006; **51**: 5–54.
- [24] DACZEWSKA M, KIELBÓWNA L. Myotomal myogenesis in *Triturus vulgaris* L. (Urodela) with special reference to the role mesenchymal cells. *Folia Biol (Kraków)* 2000; **48**: 37–42.
- [25] DASTON G, LAMAR E, OLIVER M, GOULDING M. Pax-3 is necessary for migration but not differentiation of limb muscle precursors in the mouse. *Development* 1996; **122**: 1017–1027.
- [26] DENETCLAW WF, ORDAHL CP. The growth of the dermomyotome and formation of early myotome lineages in thoracolumbar somites of chicken embryos. *Development* 2000; **127**: 893–906.
- [27] DEVOTO SH, MELANCON E, EISEN JS, WESTERFIELD M. Identification of separate slow and fast muscle precursor cell *in vivo*, prior to somite formation. *Development* 1996; **122**: 3371–3380.
- [28] DEVOTO SH, STOIBER W, HAMMOND CL, STEINBACHER P, HASLEFT JR, BARRESI MJF, PATTERSON SE, ADIARTE E, HUGHES SM. Generality of vertebrate developmental patterns: evidence for a dermomyotome in fish. *Evol Dev* 2006; **8**: 101–110.

- [29] DIETRICH S, ABOU-REBYEH F, BROHMANN H, BLADT F, SONNENBERG-RIETHMACHER E, YAMAAIT, LUMSDEN A, BRAND-SABERI B, BIRCHMEIER C. The role of SF/HGF and c-Met in the development of skeletal muscle. *Development* 1999; **126**: 1621–1629.
- [30] FENG X, ADIARTE EG, DEVOTO SH. Hedgehog acts directly on the zebrafish dermomyotome to promote myogenic differentiation. *Dev Biol* 2006; **300**: 736–746.
- [31] GIACOMELLO E, VALIN J, MORALI O, COULTER IS, BOULEKBACHE H, THIERY JP, BRODERS F. Type I cadherins are required for differentiation and coordinated rotation in *Xenopus laevis* somitogenesis. *Int J Dev Biol* 2002; **46**: 785–792.
- [32] GROS J, SCAAL M, MARCELLE C. A two-step mechanism for myotome formation in chick. *Development* 2004; **6**: 875–882.
- [33] HAYASHI K, OZAWA E. Myogenic cell migration from somites is induced by tissue contact with medial region of the presumptive limb mesoderm in chick embryos. *Development* 1995; **121**: 661–669.
- [34] HEYMANN S, ROUDROVA M, ARNOLD H, KOSTER M, BRAUN T. Regulation and function of SH/HGF during migration of limb muscle precursor cells in chicken. *Dev Biol* 1996; **180**: 566–578.
- [35] HOLLWAY GE, BRYSON-RICHARDSON RJ, BERGER S, COLE J, HALL TE, CURRIE PD. Whole-somite rotation generates muscle progenitor cell compartments in the developing zebrafish embryo. *Dev Cell* 2007; **12**: 207–219.
- [36] HOLTZER H, ABBOTT J, LASCH J. On the formation of multinucleated myotubes. *Anat Rec* 1958; **131**: 567–569.
- [37] HOLTZER H, BISCHOFF R, CHACKO S. Activities of the cells surface during myogenesis and chondrogenesis. W: Cellular Recognition. R T Smith and R A Good (eds) North-Holland Publishing Company Amsterdam: 1969.
- [38] HOPWOOD ND, PLUCK A, GURDON JB, DILWORTH SM. Expression of XmyoD protein in early *Xenopus laevis* embryos. *Development* 1992; **114**: 31–38.
- [39] ITOH N, MIMA T, MIKAWA T. Loss of fibroblast growth factors receptor is necessary for termin differentiation of embryonic limb muscle. *Development* 1996; **122**: 291–300.
- [40] JAGLA K, DOLLE P, MATTEI MG, JAGLA T, SCHUHBAUR B, DRETZEN G, BELLARD F, BELLARD M. Mouse Lbx1 and human LBX1 define a novel mammalian homeobox gene family related to the *Drosophila* lady bird genes. *Mech Dev* 1995; **53**: 345–356.
- [41] KAHANE N, CINNAMON Y, KALCHEIM C. The cellular mechanism by which the dermomyotome contributes to the second wave of myotome development. *Development* 1998; **125**: 4259–4271.
- [42] KAHANE N, CINNAMON Y, KALCHEIM C. Thy origin and fate of pionier myotomal cells in the avian embryo. *Mech Dev* 1998; **74**: 59–73.
- [43] KALDERON N, GILULA B. Membrane events involved in myoblast fusion. *J Cell Biol* 1979; **81**: 411–425.
- [44] KELLER R. The origin and morphogenesis of amphibian somites. *Curr Top Dev Biol* 2000; **47**: 183–246.
- [45] KIELBÓWNA L. Cytological and cytophotometrical studies on myogenesis in *Xenopus laevis* (Daudin). *Zool Pol* 1966; **11**: 245–255.
- [46] KIELBÓWNA L, KOŚCIELSKI B. Myotomal myogenesis in *Bombina variegata* L. *Wilhelm Roux' s Archives* 1979; **185**: 295–303.
- [47] KIELBÓWNA L. The formation of somites and early myotomal myogenesis in *Xenopus laevis*, *Bombina variegata* and *Pelobates fuscus*. *J Embryol Exp Morph* 1981; **64**: 295–304.
- [48] KIELBÓWNA L. Origin and development of musculus rectus abdominis in *Bombina bombina* (Anura). *Zool Pol* 1993; **38**: 39–51.
- [49] KIELBÓWNA L, DACZEWSKA M. The origin of syncytial muscle fibres in the myotomes of *Xenopus laevis* – a revision. *Folia Biol (Kraków)* 2005; **53**: 1–6.
- [50] KRAUSSE RS, COLE F, GALO D, TAKAESU, G, ZHANG W, KANQ JS. Close encounters: regulation of vertebrate skeletal myogenesis by cell-cell contact. *J Cell Sci* 2005; **118**: 2355–2362.
- [51] LASSAR AB, SKAPEK SX, NOVITCH B. Regulatory mechanisms that coordinate skeletal muscle differentiation and cell cycle withdrawal. *Curr Opin Cell Biol* 1994; **6**: 788–794.
- [52] LINKER C, LESBROS C, STARK MR, MARCELLE CH. Intrinsic signals regulate the initial steps of myogenesis in vertebrates. *Development* 2003; **130**: 4797–4807.
- [53] MARTIN BL, HARLAND RM. Hypaxial muscle migration during primary myogenesis in *Xenopus laevis*. *Dev Biol* 2001; **239**: 270–280.
- [54] MARTIN BL, HARLAND RM. A novel role for lbx1 in *Xenopus* hypaxial myogenesis. *Development* 2006; **133**: 195–208.
- [55] MAURO A. Satellite cells of skeletal muscle fibres. *J Biophys Biochem Cytol* 1961; **9**: 493–495.

- [56] MEEDEL T, FARMER SC, LEE JJ. The single MyoD family gene of *Ciona intestinalis* encodes two differentially expressed proteins: implications for the evolution of chordate muscle gene regulation. *Development* 1997; **124**: 1711–1721.
- [57] MENNERICH D, SCHAFFER K, BRAUN T. Pax-3 is necessary but not sufficient for *lhx1* expression in myogenic precursor cell of the limb. *Mech Dev* 1998; **73**: 147–158.
- [58] MOLKENTIN JD, OLSON EN. Defining the regulatory networks for muscle development. *Curr Opin Genet Dev* 1996; **6**: 445–453.
- [59] MUNTH L. Myogenesis in the trunk and leg during development of the tadpole of *Xenopus laevis* (Daudin 1802). *J Embryol Exp Morph* 1975; **33**: 757–774.
- [60] NEYT C, JAGLA K, THISSE C, THISSE B, HAINES L, CURRIE PD. Evolutionary origins of vertebrate appendicular muscle. *Nature* 2000; **408**: 82–86.
- [61] NISHIDA M, SAWADA K. Macho-1 encodes a localized mRNA in ascidian eggs that specifies muscle fate during embryogenesis. *Nature* 2001; **409**: 724–729.
- [62] POURQUIE O. A macho-1 way to make muscles. *Nature* 2001; **409**: 679–680.
- [63] POWNALL ME, EMERSON CE. Sequential activation of three myogenic regulatory genes during somite morphogenesis in quail embryos. *Dev Biol* 1992; **151**: 67–79.
- [64] RELAIX F, ROCANCOURT D, MANSOURI A, BUCKINGHAM M. A Pax3/Pax7-dependent population of skeletal muscle progenitor cells. *Nature* 2005; **435**: 948–953.
- [65] SATOH N, ARAKI I, SATOU Y. An intrinsic genetic program for autonomous differentiation of muscle cells in the ascidian embryo. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; **18**: 9315–9321.
- [66] SCHWANDER M, LEU M, STUMM M, DORCHIES DM, RUEGG UT, SCHITTNY J, MULLER U. Beta1 integrins regulate myoblast fusion and sarcomere assembly. *Development* 2003; **4**: 673–685.
- [67] STEINBACHER P, HASLETT JR, SANGER AM, STOIBER W. Evolution of myogenesis in fish: a sturgeon view of the mechanisms of muscle development. *Anat Embryol* 2006; **211**: 311–322.
- [68] STELLABOTTE F, DOBBS Mc, AULIFFE B, FERNANDES DA, FENG X, DEVOTO SH. Dynamic somite cell rearrangements lead to distinct waves of myotome growth. *Development* 2007; **134**: 1253–1257.
- [69] STOCKDALE FE, HOLTZER H. DNA synthesis and myogenesis. *Exp Cell Res* 1961; **24**: 508–520.
- [70] STREHLER BL, KONIGSBERG IR, KELLEY FEL. Ploidy of myotube nuclei developing *in vitro* as determined with a recording double-beam microspectrophotometer. *Exp Cell Res* 1963; **32**: 232–241.
- [71] VENTERS SJ, THORSTEINSPOTTIR S, DUXSON MJ. Early development myotome in the mouse. *Dev Dyn* 1999; **216**: 219–232.
- [72] WATERMAN E. Development of lateral musculature in the teleost *Brachydanio rerio*: A fine structural study. *Am J Anat* 1969; **125**: 457–493.
- [73] WEINBERG ES, ALLENDE ML, KELLY CS, ABDELHAMID A, MURAKAMI T, ANDERMANN P, DOERRE OG, GRUNWALD DJ, RIGGLEMAN B. Developmental regulation of zebrafish MyoD in wild-type, no tail and spedetail embryos. *Development* 1996; **122**: 271–280.
- [74] WHEELOCK MJ, JOHNSON KR. Cadherins as modulators of cellular phenotype. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2003; **19**: 207–235.
- [75] WILLIAMS BA, ORDAHL CP. Pax-3 expression in segmental mesoderm marks early stages in myogenic cell specification. *Development* 1994; **120**: 785–796.
- [76] YAP AS, KOVACS EM. Direct cadherin-activated cell signaling: a view from the plasma membrane. *J Cell Biol* 2003; **160**: 11–16.
- [77] YUN K, WOLD B. Skeletal muscle determination and differentiation story of a core regulatory network and its context. *Curr Opin Cell Biol* 1996; **8**: 887–889.
- [78] YOUN WW, MALACINSKI GM. Comparative analysis of amphibian somite myogenesis cell rearrangement patterns during rosette formation and myoblast fusion. *J Embryol Exp Morph* 1981; **66**: 1–26.

Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak

Otrzymano: 15.12. 2007 r.

Przyjęto: 14.02. 2008 r.

ul. Antonia Vivaldiego 46/11, Wrocław 52-129

e-mail: kacperczyka@biol.uni.wroc.pl