

dr Marta Migocka-Patrzałek,  
dr Magda Dubińska-Magiera,  
dr Damian Lewandowski,  
mgr Magdalena Elias,  
prof. dr hab. Małgorzata Daczevska ✉

Zakład Biologii Rozwoju Zwierząt, Wydział Nauk Biologicznych, Uniwersytet Wrocławski

[https://doi.org/10.18388/pb.2021\\_411](https://doi.org/10.18388/pb.2021_411)

✉ autor korespondujący: malgorzata.daczewska@uwr.edu.pl

**Słowa kluczowe:** miogeneza, danio pręgowany, *Drosophila melanogaster*, choroby nerwowo-mięśniowe

Autorzy dziękują Narodowemu Centrum Nauki (NCN, Polska) za wsparcie finansowe na prowadzenie badań związanych z zagadnieniami poruszonymi w niniejszej pracy (projekty numer 2014/13/d/NZ4/02038; 2017/01/X/NZ4/00093 oraz 2017/24/C/NZ3/00117). Artykuł powstał dzięki finansowaniu Ministerstwa Edukacji i Nauki (subwencja na badania naukowe 2020/2021).

### STRESZCZENIE

Mięśnie szkieletowe są wysoce wyspecjalizowaną tkanką zwierzęcą, której podstawową funkcją jest skurcz, przekładający się na ruch zwierząt. Jednym z typów mięśni szkieletowych są mięśnie tułowi (miotomalne) należące do najstarszej filogenetycznie grupy mięśni. Porównawcze badania miogenezy miotomalnej wykazały, że mięśnie te mają podobny plan budowy, jednak mimo kontroli przez te same czynniki genetyczne, mogą różnicować się odmiennie u poszczególnych gatunków kręgowców (zarówno u gatunków modelowych jak i niemodelowych). Poznanie mechanizmów rozwoju mięśni szkieletowych jest warunkiem *sine qua non* w zrozumieniu stanów chorobowych tkanki mięśniowej obserwowanych u ludzi. W pracy podsumowano aktualną wiedzę dotyczącą różnicowania mięśni szkieletowych zwierząt, stanów patologicznych mięśni spowodowanych mutacjami w genach białek strukturalnych oraz metabolicznych mięśni.

### WPROWADZENIE

Typologia tkanki mięśniowej u zwierząt obejmuje trzy podstawowe rodzaje mięśni: poprzecznie prążkowane serca, poprzecznie prążkowane szkieletowe oraz gładkie. Tkanki te różnią się między sobą budową, miejscem występowania oraz charakterem skurczu. Tkanka poprzecznie prążkowana serca, jak wskazuje nazwa, buduje serce. Poprzez skurcz i następujący po nim rozkurcz, zapewnia krążenie krwi w organizmie. Etymologia określenia mięśnie „szkieletowe” wywodzi się z faktu, że mięśnie te u zwierząt bezkręgowych przyłączone są do egzoszkieletu. Natomiast u kręgowców mięśnie te tworzą połączenia z wewnętrznym układem szkieletowym (chrzęstnym lub kostnym). Podstawową funkcją mięśni szkieletowych jest skurcz, przekładający się na ruch zwierząt. Mięśnie gładkie występują głównie w ścianach narządów wewnętrznych. Skurcz tej tkanki powoduje m.in. zwiększanie lub zmniejszanie się światła narządów wewnętrznych. Przykładem funkcji tej grupy mięśni jest zapewnienie przesuwania się treści pokarmowej w układzie pokarmowym. U niektórych zwierząt bezkręgowych tkanka ta współtworzy wór powłokowo-mięśniowy, wspomagając tym samym ruch zwierząt.

Histologia zwierząt szczegółowo opisuje rodzaje mięśni, ich budowę i funkcje. Warto podkreślić, że zawsze budowa danej tkanki przekłada się na funkcję jaką pełni. Podobnie jest w przypadku mięśni. Wysoce wyspecjalizowanymi tkankami mięśniowymi są mięśnie poprzecznie prążkowane (sercowy oraz szkieletowy). Mięśnie szkieletowe zbudowane są z wielojądrowych włókien mięśniowych, kształtu cylindrycznego. Mięsień sercowy budują widlasto rozgałęzione jedno- lub dwujądrowe kardiomiocyty. Nazwę „poprzecznie prążkowane” mięśnie te zawdzięczają, regularnemu, repetytywnemu układowi miofilamentów cienkich (aktynowych) oraz grubych (miozynowych), obserwowanemu w obrazach histologicznych. W tkance mięśniowej gładkiej wrzecionowate miocyty są jednojądrowe, a układ miofilamentów nie przyjmuje regularnej organizacji [1].

### BUDOWA I TYPY MIĘŚNI SZKIELETOWYCH

Tkanka mięśniowa poprzecznie prążkowana szkieletowa, ze względu na pełnioną funkcję, stanowi wysoce wyspecjalizowany rodzaj tkanki zwierzęcej. Zbudowana jest z cylindrycznych, wydłużonych włókien otoczonych sarkolemmą (błona komórkowa włókna mięśniowego) oraz blaszką podstawną. Wnętrznne włókna mięśniowego wypełnione jest sarkoplazmą (cytoplazmą włókna mięśniowego), w której zlokalizowane są liczne jądra usytuowane peryferycznie oraz pozostałe organelle komórkowe, takie jak sarkosomy (mitochondria), siateczka sarkoplazmatyczna (retikulum endoplazmatyczne), aparat Golgiego, krople lipidowe oraz ziarna glikogenu. Charakterystyczne ułożenie miofibryli, czyli białek aparatu kurczliwego w sarkoplazmie tworzy podstawową jednostkę strukturalną i funkcjonalną mięśnia, jaką jest sarkomer [2].

Ciekawą grupą komórek charakterystycznych dla mięśni szkieletowych są komórki satelitarne. Komórki te zlokalizowane są pomiędzy sarkolemmą a blaszką podstawną. Komórki satelitarne charakteryzuje stan niezróżnicowany (embrionalny), a ich podstawową funkcją w życiu postnatalnym jest regeneracja włókna mięśniowego. Komórki te w wyniku uszkodzenia włókna, czy w jego stanach chorobowych, rozpoczynają proces różnicowania się w kierunku miogennym, dostarczając tym samym puli komórek progenitorowych mięśni (mioblastów), stąd często nazywane są komórkami macierzystymi tkanki mięśniowej [3,4]. Podczas embriogenezy, komórki te zaangażowane są we wzrost mięśni: hipertroficzny (zwiększenie liczby jąder w już uformowanych włóknach mięśniowych), czy hiperplastyczny (tworzenie się nowych włókien mięśniowych) [5,6].

Budowę sarkomerów charakteryzuje naprzemienne ułożenie prążków jasnych (izotropowych) oraz ciemnych (anizotropowych). W prążku izotropowym obserwuje się filamenty aktynowe, a w prążku anizotropowym występują filamenty miozynowe. Siateczka sarkoplazmatyczna w mięśni szkieletowych jest silnie rozbudowana i tworzy pomiędzy prążkiem jasnym i ciemnym dwie cysterny brzeżne będące magazynem jonów  $Ca^{2+}$ . pomiędzy cysternami brzeżnymi znajduje się wpuklenie sarkolemmy tworzące tzw. kanałik poprzeczny T. Układ sarkoplazmatyczny zawierający kanałik T wraz z dwoma sąsiadującymi cysternami brzeżnymi nazywany jest triadą. Pojawienie się potencjału czynnościowego na błonie sarkoplazmatycznej powoduje otwarcie kanałów wapniowych i masowy napływ jonów  $Ca^{2+}$  do sarkoplazmy, dzięki czemu możliwy jest skurcz mięśnia [7].

#### TYPY MIĘŚNI SZKIELETOWYCH KRĘGOWCÓW

W mięśniach szkieletowych kręgowców obserwuje się trzy typy włókien, charakteryzujących się odmienną fizjologią, miejscem usytuowania, unerwieniem czy szybkością skurczu wynikająca z aktywności ATPazowej. Są to: włókna szybkie (czerwone), wolne (białe) oraz pośrednie (różowe) [8].

Mięśnie szybkie mają większy potencjał do pozyskiwania ATP w procesach anaerobowych oraz większą aktywność enzymów glikolitycznych, w tym kinazy pirogronianowej oraz dehydrogenazy aldehydu-3-fosfoglicerynowego. W odróżnieniu od mięśni szybkich, mięśnie wolne mają większy potencjał aerobowy w tym aktywność takich enzymów jak dehydrogenaza bursztynianowa [9,10]. Wymienione szlaki pozyskiwania energii pozwalają sklasyfikować włókna mięśniowe pod względem metabolicznym na oksydatywne (czerwone, które są bogate w mioglobinę będącą magazynem tlenu i pigmentem nadającym włóknom czerwone zabarwienie) oraz glikolityczne (prawie pozbawione mioglobiny, ponieważ zużycie tlenu w tych włóknach jest bardzo ograniczone) [11]. Ponadto, włókna budujące mięśnie wolne i szybkie wykazują wyraźne różnice ultrastrukturalne. Włókna wolne (czerwone) charakteryzują się większą liczbą mitochondriów oraz glikogenu na terenie sarkoplazmy, w porównaniu z włóknami białymi [10]. Oddzielnym typem włókien mięśniowych obserwowanych przede wszystkim u ryb są te, które wykazują cechy

pośrednie pomiędzy białymi i czerwonymi (tzw. mięśnie różowe) [12].

#### WCZESNE ETAPY RÓŻNICOWANIA MIĘŚNI SZKIELETOWYCH

Pierwsze badania dotyczące mechanizmu różnicowania mięśni szkieletowych prowadzone były głównie na gatunkach modelowych ptaków i ssaków. Mięśnie poprzecznie prążkowane szkieletowe rozwijają się z mezodermy, która w czasie rozwoju zarodkowego ulega zróżnicowaniu na: mezoderme przyosiową, pośrodkową oraz boczną. Zarówno mięśnie tułowia jak i kończyn, języka i przepony powstają z mezodermy przyosiowej. W kolejnych etapach mezoderma przyosiowa ulega metameryzacji, która prowadzi do powstania segmentalnych bloków komórkowych tzw. somitów [13,14].

Podczas somitogenezy powstają somity w równych odstępach czasu w gradiencie głowowo-ogonowym zarodka. Czas powstania pojedynczej pary somitów jest specyficzny gatunkowo i może wynosić od 30 minut u danio przegowanego (*Danio rerio*) do 4-5 godzin u człowieka [15]. Również liczba par somitów może wykazywać różnice pomiędzy gatunkami (od maksymalnie 30 par, u niektórych ryb, do kilkuset u węży [16]. W mezodermie przyosiowej ekspresja genów odpowiedzialnych za metameryzację mezodermy przyosiowej odbywa się zgodnie z gradientem głowowo-ogonowym i jest zintegrowana z cyklicznymi oscylacjami tzw. zegara segmentacyjnego (ang. *segmentation clock*). Nowo powstałe somity mają charakter nabłonkowy. Komórki nabłonkowe tworzące ścianę somitu oraz komórki mezenchymatyczne zlokalizowane w somitocelu (jamie somitu), wykazują aktywność mitotyczną. Pod wpływem działania sygnałów pochodzących ze struny grzbietowej, cewy nerwowej i mezodermy bocznej, część komórek somitu traci swój charakter nabłonkowy. W kolejnym etapie z somitu uwalniane są komórki mezenchymatyczne różnicujące się w sklerotom, a pozostała część nabłonkowa somitu tworzy dermomiotom. Sklerotom stanowi źródło komórek zaangażowanych w różnicowanie elementów łącznotkankowego szkieletu osiowego. Z dermomiotomu różnicują się komórki progenitorowe skóry właściwej oraz mięśni. W dermomiotomie wyróżnić możemy wargę grzbietową oraz brzuszную. Wargę brzuszную stanowi główne źródło komórek progenitorowych mięśni kończyn oraz brzucha [17-25].

#### MIOGENEZA MIĘŚNI TUŁOWIA

Źródłem komórek progenitorowych mięśni tułowia (mięśni miotomalnych) jest dermomiotom. Komórki nabłonkowe budujące dermomiotom przechodzą tranzycję nabłonkowo-mezenchymatyczną przyjmując ostateczne położenie pomiędzy sklerotomem i dermomiotomem. Podczas migracji, aktywnych mitotycznie komórek progenitorowych mięśni dochodzi do ich różnicowania, w wyniku czego powstaje populacja jednojądrowych, postmitotycznych, zróżnicowanych komórek (mioblastów), które tworzą miotom pierwotny. Mioblasty wydłużają się wzdłuż długiej osi ciała zarodka, następnie w wyniku fuzji, tworzą wielojądrowe miotuby (niedojrzałe włókna mięśniowe). W miotubach rozpoczyna się miofibrillogeneza, natomiast jądra jaj-

mują położenie centralne w sarkoplazmie. Podczas różnicowania miotub do form dojrzałych włókien mięśniowych, w wyniku intensywnej syntezy białek aparatu kurczliwego, jądra zajmują położenie peryferyczne w sarkoplazmie [26]. Mioblasty, które nie uległy fuzji z włóknem mięśniowym, pełnią funkcję komórek satelitarnych.

Podczas miogenezy powstają dwie populacje włókien mięśniowych. Włókna, które powstały podczas pierwszego etapu rozwoju mięśni szkieletowych (miogeneza pierwotna) bezpośrednio poprzez fuzję mioblastów określane są jako włókna pierwotne. W trakcie drugiego etapu różnicowania dochodzi do powstania włókien wtórnych, które charakteryzują się mniejszym rozmiarem, jednak stanowią większą populację w mięśniu [27,28].

#### GENETYCZNA REGULACJA ROZWOJU MIĘŚNI SZKIELETOWYCH

Regulacja genetyczna miogenezy kręgowców odbywa się dzięki ekspresji genów miogennych czynników transkrypcyjnych MRFs (ang. *Myogenic Regulatory Factors*), do których należą: MyoD, Myf5, myogenina (MyoG) oraz MRF4 [29-30]. Białka z rodziny MRFs posiadają domenę zasadową (*b-basic*) oraz domenę HLH (helisa – pętla – helisa, ang. *helix – loop – helix*) [31]. Wykazano, że białka te wykazują homologię w 70% zarówno w domenie HLH, jak również w odcinkach leżących blisko tej domeny bogatych w cysteinę/histydynę (od strony N-końca) oraz serynę/treoninę (od C-końca) [32]. Podczas miogenezy domena *basic* wiąże się z tzw. E-box, o sekwencji CANNTG (gdzie N oznacza dowolny nukleotyd) DNA, który jest obecny w promotorach genów mięśniowo specyficznych. Funkcją domeny HLH jest tworzenie oligomerów z białkami posiadającymi tę samą domenę [29,33,34]. Białka należące do rodziny MRFs tworzą homodimery, jednak najczęściej tworzą heterodimery z takimi białkami jak E12 lub E47 (ang. *Enhancer Binding Factor*), w których strukturze również występuje domena HLH [35,36].

Wyniki badań dowiodły, że nie wszystkie mięśniowo specyficzne geny (np. kodujące  $\alpha$ -aktynę lub ciężki łańcuch miozyny – MyHC) posiadają E-box o sekwencji CANNTG. Wykazano istnienie innej grupy czynników transkrypcyjnych tzw. MEF2 (ang. *Myocyte Enhancer Factor 2*), których produkty łączą się z genami mięśniowo specyficznymi w regionie E-box bogatym w pary T/A [34].

Wykazano, że u myszy nadanie mięśniowo-specyficznych kompetencji i wprowadzenie niezróżnicowanych komórek na drogę różnicowania w komórki prekursorowe mięśni szkieletowych jest zależne od Myf5, MyoD oraz MRF4. Natomiast za ostateczne różnicowanie mięśni szkieletowych u myszy odpowiedzialne są miogenina, MyoD oraz MRF4 [33].

Podczas miogenezy, komórki miogenne delaminują z dermomiotomu i migrują do miotomu. Nabycie przez te komórki kompetencji „mięśniowych” jest regulowane przez Myf5 oraz MRF4 (niezależnie od Pax3/7). Z drugiej strony, równoczesna aktywacja genu Myf5 jest zależna od Pax3 [37]. Ekspresja MyoD podczas wczesnych etapów rozwoju jest zależna od Myf5, MRF4 oraz Pax3 [38,39].

#### UDZIAŁ BIAŁEK Pax3/Pax7 W POSTNATALNYM WZROŚCIE I REGENERACJI MIĘŚNI SZKIELETOWYCH

Geny z rodziny Pax (ang. *Paired – Homeobox Transcription Factors*) pełnią kluczową rolę podczas rozwoju tkanek i organów w trakcie embriogenezy. W proces rozwoju mięśni szkieletowych zaangażowane są dwa białka będące czynnikami transkrypcyjnymi z rodziny Pax: Pax3 oraz Pax7, stanowiących markery komórek progenitorowych mięśni [41].

Podczas rozwoju mięśni szkieletowych geny *Pax3/Pax7* ulegają ekspresji w komórkach dermomiotomu. Wykazano, że Pax3 jest aktywatorem ekspresji *MyoD*. Ponadto, *Pax3* ekspresjonowany jest w populacji migrujących prekursorów mięśni do zawiązków kończyn, a ekspresja *Pax7* ujawnia się dopiero, kiedy komórki zasiedlą obszar rozwijającego się pączka kończyny [26].

W pracy podsumowano aktualną wiedzę dotyczącą różnicowania mięśni szkieletowych zwierząt, stanów patologicznych mięśni spowodowanych mutacjami w genach białek strukturalnych oraz metabolicznych mięśni, w oparciu o literaturę światową oraz prace badawcze wykonane przez zespół Zakładu Biologii Rozwoju Zwierząt, Wydziału Nauk Biologicznych Uniwersytetu Wrocławskiego.

#### CZEGO JESZCZE NIE WIEMY O MIĘŚNIACH SZKIELETOWYCH?

##### PORÓWNAWCZE BADANIA RÓŻNICOWANIA MIĘŚNI MIOTOMALNYCH KRĘGOWCÓW

Wiedza na temat rozwoju i różnicowania mięśni szkieletowych kręgowców opiera się głównie o badania miogenezy gatunków modelowych, prowadzone na poziomie molekularnym [41,42]. Porównawcze badania miogenezy miotomalnej bezowodniowców, prowadzone w Zakładzie Biologii Rozwoju Zwierząt wykazały, że obowiązujący model miogenezy kręgowców, ustalony przede wszystkim na podstawie wyników badań prowadzonych na przedstawicielach owodniowców (ptaków i ssaków), nie jest spójny z przebiegiem tego procesu u ryb i płazów. Powszechnie wiadomo, że mięśnie szkieletowe wszystkich kręgowców są wielojądrowe. Porównawcze badania miogenezy miotomalnej wykazały, że wielojądrowość włókien mięśniowych może realizować się na kilka odmiennych sposobów, specyficznych dla ryb i płazów. Kryteriami wyjściowymi do badań była struktura somitów oraz miotomów, obecność i morfologia komórek uczestniczących we wzroście hipertroficznym i hiperplastycznym oraz morfologiczne cechy różnicujących się miotub i włókien mięśniowych.

U ryb (np. jesiotra syberyjskiego *Acipenser baeri*, rogozėba australijskiego *Neoceratodus forsteri*) podczas wczesnych etapów miogenezy, mioblasty pierwotne różnicują się w wielojądrowe blaszki mięśniowe. Blaszki te w kolejnych fazach miogenezy przekształcają się, w charakterystyczne dla wszystkich kręgowców, cylindryczne włókna mięśniowe. Mechanizm przekształcania się blaszek mięśniowych we włókna mięśniowe nie został jednak jednoznacznie wyjaśniony. Przypuszcza się, że w procesie tym dochodzi do podłużnego podziału blaszek (ang. „*splitting*”), reorganizacji ich cytoszkieletu, co ostatecznie prowadzi do uformowania

cyldrycznych włókien mięśniowych [43,44]. Natomiast, u przedstawicieli ryb kostnoszkieletowych (lipień pospolity *Thymallus thymallus*, sieja pospolita *Coregonus lavaretus*, szczupak pospolity *Esox lucius*) fuzja mioblastów bezpośrednio prowadzi do utworzenia wielojądrowych miotub [44,45]. Badania przeprowadzone na płazach (tj. żaba szponiasta *Xenopus laevis*, karlik szponiasty *Hymenochirus boettgeri*, kumak górski *Bombina variegata*) wykazały, że komórki miotomalne różnicują się w jednojądrowe dojrzałe morfologicznie i funkcjonalnie jednojądrowe miotuby [39,46,47], bądź bezpośrednio tworzą wielojądrowe miotuby (np. grzebiuszka ziemna *Pelobates fuscus*, żaba jeziorkowa *Rana lessonae*, traszka zwyczajna *Triturus vulgaris*) [48,49]. Przeprowadzone analizy dotyczące różnicowania się mięśni miotomalnych u ryb i płazów ujawniły, że podczas wczesnych stadiów miogenezy, komórkom miogennym w miotomach nie towarzyszą inne komórki, to oznacza, że miotom zbudowany jest z homogennej populacji komórek miogennych. W późniejszych stadiach miogenezy, w przerwach intermiotomalnych, a następnie w miotomach, obserwuje się aktywne proliferacyjne komórki mezenchymatyczne. U badanych gatunków bezwodniowców różnicowanie się komórek mezenchymatycznych zależne jest od ich położenia. Komórki pozostające w przerwach intermiotomalnych różnicują się w fibroblasty produkujące kolagen, uczestniczący następnie w tworzeniu połączeń mięśniowo-ścięgniowych. Natomiast komórki, które wmigrowały do miotomów pomiędzy miotuby różnicują się w mioblasty wtórne. Komórki te, podobnie jak komórki satelitarne opisane w miogenezie owodniowców, są Pax7 pozytywne. W jądrach tych komórek obserwuje się heterochromatynę usytuowaną pod otoczką jądrową. Wykazano, że ta grupa komórek u badanych gatunków uczestniczy we wzroście hipertroficznym oraz hiperplastycznym mięśni. Natomiast u *A. baeri* i *N. forsteri* alternatywnym źródłem wtórnych włókien mięśniowych, oprócz udziału mioblastów wtórnych w tym procesie, może być podział wielojądrowych blaszek mięśniowych [39,43-50].

Gady należą do grupy kręgowców słabo poznanych pod kątem różnicowania mięśni szkieletowych zarówno na poziomie morfologicznym jak i molekularnym. Badania biologii rozwoju gadów są podejmowane niezwykle rzadko ze względu na ogromne trudności takie jak: pozyskanie materiału badawczego, hodowla, sezonowość rozrodu zwierząt, określenie wieku zarodków oraz powtarzalność badań. Badania przeprowadzone w Zakładzie Biologii Rozwoju Zwierząt dotyczyły różnicowania mięśni tułowia jaszczurki zwinki (*Lacerta agilis*) oraz dwóch gatunków węży: zaskrońca zwyczajnego (*Natrix natrix*) oraz kobry egipskiej (*Naja haje*). Wykazano, że proces ten pod względem morfologicznym wykazuje znaczne podobieństwo do miogenezy obserwowanej u ptaków i ssaków [51-53]. Podobieństwa w miogenezie badanych gatunków gadów dotyczyły źródła komórek progenitorowych, formowania się miotomu pierwotnego oraz wzrostu mięśni na drodze hipertrofii oraz hiperplazji. W badaniach wykazano, że podobnie jak u ptaków i ssaków, źródłem komórek progenitorowych jest dermomiotom. Miotom pierwotny badanych gatunków utworzony jest z jednojądrowych mioblastów różnicujących się w jednojądrowe miotuby. Wzrost hipertroficzny i hiperplastyczny mięśni zachodzi dzięki fuzji komórek

progenitorowych mięśni wywodzących się z dermomiotomu. Pomimo istnienia wielu cech wspólnych w miogenezie owodniowców (gadów, ptaków i ssaków), w badaniach przebiegu rozwoju mięśni szkieletowych węży: zaskrońca zwyczajnego oraz kobry egipskiej, wykazano obecność cech unikalnych, charakterystycznych tylko dla tych gatunków. Podczas różnicowania mięśni tułowia w miotomach badanych gatunków węży wykazano obecność dwóch klas włókien mięśniowych. Do klasy I zaliczono włókna mięśniowe, w których miofibryle są rozmieszczone równomiernie w całej sarkoplazmie. Ten typ włókien mięśniowych pod względem budowy morfologicznej wykazuje cechy budowy mięśni typowych dla innych kręgowców. Klasa II włókien mięśniowych charakteryzuje się zupełnie odmienną morfologią. Jądra komórkowe tej klasy włókien są zlokalizowane w centralnej części włókna mięśniowego i otoczone przez liczne krople lipidowe. Miofibryle charakteryzuje nieregularny układ w środkowej części włókna, natomiast sarkoplazma podsarkolemmalna jest ich całkowicie pozbawiona. Badania immunocytochemiczne włókien mięśniowych klasy II zaskrońca zwyczajnego wykazały, że obecność kropli lipidowych jest ograniczona tylko do tych włókien, w których dochodzi do syntezy wolnej izoformy łańcucha ciężkiego miozyny. Obecność tego białka potwierdza, że ta klasa mięśni zaliczana jest do grupy mięśni czerwonych (wolnych). Wśród kręgowców węże są jedyną grupą, u której zaobserwowano gromadzenie się kropli lipidowych w sarkoplazmie włókien mięśniowych w okresie rozwoju zarodkowego. Na podstawie badań dwóch gatunków węży wysunięto hipotezę, że pojawienie się kropli lipidowych w wolnych włóknach mięśniowych charakteryzujących się odmienną morfologią można traktować jako najbardziej ekonomiczną formę gromadzenia energii będącą jednym z mechanizmów adaptacji do warunków środowiska podczas hibernacji.

Co ciekawe, szereg miopatii metabolicznych obserwowanych u ludzi (np. miopatia lipidowa) charakteryzuje się gromadzeniem na terenie sarkoplazmy kropli lipidowych powodując „stłuszczenie” mięśni. Powszechnie wiadomo, że krople lipidowe to niezwykle dynamiczne organelle komórkowe, które wchodzi w interakcje z licznymi białkami oraz innymi organellami, co umożliwia nie tylko zmiany w liczbie czy wielkości samych kropli, ale również skutkuje zmianami w składzie samych kropli lipidowych. Szczegółowa analiza akumulacji kropli lipidowych w prawidłowych mięśniach podczas rozwoju zarodkowego może być przydatna w poznaniu mechanizmu gromadzenia lipidów w stanach chorobowych mięśni.

#### GATUNKI MODELOWE W BADANIACH CHORÓB NERWOWO-MIĘŚNIOWYCH

Choroby nerwowo-mięśniowe to heterogenna klinicznie i genetycznie grupa schorzeń związanych z zaburzeniami struktury i prawidłowym funkcjonowaniem mięśni szkieletowych. Choroby te wywołane są upośledzoną czynnością nerwów dochodzących do mięśni i samych mięśni. Zważając na fakt, że tkanka mięśniowa jest wysoce wyspecjalizowana oraz zbudowana z setek białek, których funkcje są kluczowe do prawidłowego funkcjonowania mięśni, to mutacje w genach kodujących te białka wyraźnie zaburzą ich pracę. Lista poznanych jednostek chorobowych dotykających

mięśnie jest długa. Wśród chorób nerwowo-mięśniowych wyróżnić możemy podstawowe grupy schorzeń: dystrofie mięśniowe, miopatie wrodzone, miopatie metaboliczne, miastenie, neuropatie, rdzeniowy zanik mięśni. Większość z tych chorób prowadzi do osłabienia siły mięśniowej, zaniku mięśni, niedowładów, paraliżu, mialgii (ból mięśnia) oraz ich drżenia. Choroby te mogą być również letalne. Diagnostyka tej grupy chorób jest trudna i wymaga wielu specjalistycznych zabiegów, nie zawsze kończących się sukcesem. Etiologia tych chorób nie została do końca poznana, co skłania naukowców do dalszych wnikliwych badań [54].

Ogromną „zasługę” w badaniach przyczyn, czy leczenia chorób nerwowo-mięśniowych odnoszą gatunki modelowe. Gatunki te z dużym powodzeniem stosowane są w laboratoriach badawczych, a wyniki badań uzyskane z ich zastosowaniem wniosły kluczową wiedzę z zakresu biologii *sensu lato*, czy medycyny. Jednym z powszechnie stosowanych modeli badawczych z grupy bezkręgowców jest muszka owocowa (*Drosophila melanogaster*), natomiast wśród kręgowców są to: *X. laevis*, danio pręgowany (*Danio rerio*), kurczak czy mysz [41,55-58].

W Zakładzie Biologii Rozwoju Zwierząt prowadzone są badania analizy funkcjonalnej genów związanych z rozwojem i funkcjonowaniem mięśni szkieletowych oraz patogenezą chorób nerwowo-mięśniowych takich jak: miopatia desminowa (ang. *desmin-related myopathy*, DRM), choroba Charcota-Mariego-Tootha (CMT) oraz choroba McArdle'a (glikogenoza typu V). W obszarze naszych zainteresowań leży również ocena wpływu różnych substancji chemicznych, w tym leków, w kontekście rozwoju i funkcjonowania mięśni szkieletowych [41,60]. W badaniach wykorzystywane są dwa gatunki modelowe: *D. melanogaster* oraz *D. rerio* [35,36,41,42,55-57,59].

#### MIOPATIA ZALEŻNA OD DESMINY

Miopatia zależna od desminy (ang. *DRM – Desmin Related Myopathy*), jest chorobą nerwowo-mięśniową z długą listą symptomów, takich jak osłabienie mięśni, zaburzenia pracy serca czy katarakta. U człowieka choroba ta może być spowodowana mutacją w genie małego białka szoku cieplnego *CRYAB*, kodującym  $\alpha$ B-kryształinę, której funkcją

jest stabilizacja filamentów desminowych w sarkomerach, determinując ich poprawną organizację. Wykazano, że *CryAB* (*CryAB[L(2)efl]*) (ortolog  $\alpha$ B-kryształiny kręgowców) uczestniczy w rozwoju mięśni oraz stabilizacji sarkomerów *D. melanogaster*. Badania prowadzone były w trzecim stadium rozwoju larwalnego tego gatunku. Larwa w tym stadium ma w pełni ukształtowane i funkcjonalne mięśnie, które jednocześnie są relatywnie łatwe do obserwacji. W badaniach wykazano, że produkt genu *CryAB* jest obecny we wszystkich mięśniach larwalnych, a wzór jego rozmieszczenia znacząco przypomina rozmieszczenie  $\alpha$ B-kryształiny w komórkach mięśniowych kręgowców. Zastosowanie mięśniowo-specyficznego wyciszenia ekspresji genu *CryAB*, przy użyciu interferencyjnego RNA wykazało, że jego obniżona ekspresja prowadzi do nieprawidłowego rozwoju mięśni, przejawiającego się ich zmniejszonymi rozmiarami czy rozdzielaniem włókien mięśniowych, a także mniejszą liczbą sarkomerów. Analiza włókien mięśniowych w transmisyjnym mikroskopie elektronowym ujawniła liczne defekty w strukturze samych sarkomerów, jak również obecność mitochondriów o zaburzonej strukturze grzebieni mitochondrialnych. W sarkoplazmie, pomiędzy miofibrilami, autorzy pracy zaobserwowali liczne nagromadzenia ziaren glikogenu. Ponadto, przeprowadzone testy behawioralne ujawniły mniejszą sprawność ruchową oraz krótszy cykl życiowy larw z wyciszonym genem *CryAB*. Uzyskane wyniki potwierdziły istotną rolę produktów genu *CryAB* w rozwoju mięśni, stabilizacji sarkomerów jak również wpływ na długość cyklu życiowego *D. melanogaster*.

U człowieka, substytucja argininy na glicynę w pozycji 120 (R120G) w sekwencji aminokwasowej  $\alpha$ B-kryształiny powoduje utratę przez nią właściwości opiekuńczych wobec filamentów pośrednich i tworzenie się w komórkach agregatów zawierających między innymi desminę. W konsekwencji prowadzi to do wywołania miopatii zależnej od desminy. Wykazano, że u *Drosophila* mięśniowo-specyficzna ekspresja zmutowanego białka *CryAB*<sup>R120G</sup> powoduje wytworzenie wewnątrzkomórkowych agregatów oraz zaburzenia w strukturze sarkomerów. Badania wykazały, że *CryAB* odgrywa istotną rolę w utrzymaniu cytoarchitektury mięśni *Drosophila*. To sugeruje, że *CryAB* dzieli ze swoim ludzkim odpowiednikiem nie tylko podobieństwo w sekwencji aminokwasowej, lecz także funkcje, dlatego też *D. melanogaster* może być właściwym organizmem modelowym do badań mechanizmów miopatii zależnej od desminy [60].

#### MAŁE BIAŁKA SZOKU CIEPLNEGO – UDZIAŁ W PATOGENEZIE CHOROBY NERWOWO-MIĘŚNIOWYCH

Rodzina białek szoku cieplnego (ang. *Heat Shock Proteins*, HSPs) została podzielona na różne grupy ze względu na masę cząsteczkową wyrażoną w kilodaltonach (kDa). Do grup zalicza się HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP10, HSPB i ubikwityna. HSPs mają bardzo wysoką homologię sekwencji aminokwasowej, ale różnią się wzorem ekspresji i lokalizacją wewnątrzkomórkową. W warunkach fizjologicznych HSPs umiejscowione są w cytoplazmie, mitochondriach, ER, a kiedy w komórce działają czynniki patologiczne, białka te zmieniają swoją dystrybucję np. przemieszczają się do jądra lub lokalizują się w błonie cytoplazmatycznej [61,62]. Jedną z grup tworzących rodzinę HSP obejmuje

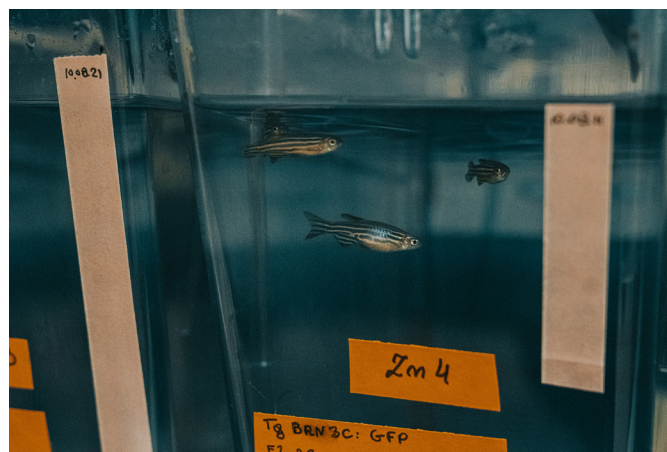


Rycina 1. Pracownia Danio Pręgowanego przy Zakładzie Biologii Rozwoju Zwierząt. System akwariów do hodowli danio pręgowanego (*Danio rerio*). Autorka: Alina Metelytsia.

małe białka szoku cieplnego (ang. *small Heat Shock Proteins*, sHSPs, HSPBs). sHSPs należą do grupy białek chroniących komórki organizmów żywych przed skutkami działania różnych stresorów takich jak np.: podwyższona temperatura, metale ciężkie, endotoksyny, rozpuszczalniki organiczne i reaktywne formy tlenu czy głodzenie. Głównym zadaniem sHSPs jest funkcja opiekuńcza, zwana także czaperonową, która na poziomie molekularnym przejawia się ich udziałem w kontroli fałdowania polipeptydów. Na poziomie komórkowym, sHSPs biorą również udział w regulacji procesów takich jak apoptoza, karcynogeneza, starzenie komórek czy utrzymywanie prawidłowej struktury cytoszkieletu. Dzięki swojej szerokiej aktywności sHSPs są również zaangażowane w rozwój organizmów [63,64]. Wykazano, że mutacje w genach sHSPs są przyczyną różnych chorób, w tym nerwowo-mięśniowych czy degeneracyjnych, do których zaliczamy między innymi: miopatię zależną od desminy, chorobę Charcota-Mariego-Tootha (CMT), miopatię miofibrylną, dziedziczną neuropatię ruchową czy zaćmę [65,66]. Badania dotyczące roli sHSPs w prawidłowym i patologicznym funkcjonowaniu mięśni szkieletowych były realizowane w Zakładzie Biologii Rozwoju Zwierząt z udziałem zarówno *D. melanogaster*, jak i *D. rerio* (Ryc. 1–3).

Zastosowanie układu modelowego *D. melanogaster*. Pozwoliło na realizację badań dotyczących analizy funkcjonalnej małego białka szoku cieplnego Hsp67Bc (funkcjonalnego ortologa *HSPB8* kręgowców). Badania wykazały, że białko Hsp67Bc w mięśniach larwalnych *Drosophila* wykazuje sarkomeryczną lokalizację w linii Z oraz prążku A. Białko to jest również obserwowane w strukturze połączeń nerwowo-mięśniowych. Ze względu na funkcjonalne podobieństwo do występującego u kręgowców ortologa, jakim jest wspomniane HSPB8, podjęto prace nad wybranymi wariantami tego białka. Wspomniane warianty objęły mutacje punktowe Hsp67Bc (*Hsp67BC<sup>R126E</sup>* oraz *Hsp67BC<sup>R126N</sup>*) naśladujące patogenne warianty ludzkiego HSPB8 (*HSPB8<sup>K141E/N</sup>*) powiązane wcześniej m.in. z chorobą Charcota-Mariego-Tootha (CMT) [67]. U mutantów linii *Hsp67BC<sup>R126N</sup>* oraz *Hsp67BC<sup>R126E</sup>* zaobserwowano zaburzenia w strukturze sarkomerów. Ekspresja *Hsp67BC<sup>R126E</sup>* powoduje zaburzenia motoryki mięśni larwalnych. Przypuszcza się, że zmniejszenie aktywności ruchowej jest powodowane zaburzeniami w funkcjonowaniu mitochondriów oraz defektami w strukturze połączeń nerwowo-mięśniowych przejawiającymi się zmniejszoną liczbą pęcherzyków synaptycznych. U mutantu *Hsp67BC<sup>R126N</sup>* zaobserwowano na terenie sarkoplazmy włókien mięśniowych obecność agregatów będących miejscem gromadzenia zmutowanego białka. Badania wykazały, że u badanego mutantu agregaty zmutowanego białka powodowały zaburzenia w strukturze mięśni w mniejszym stopniu w porównaniu do mutantu *Hsp67BC<sup>R126E</sup>*. Wyniki powyższych badań mogą przyczynić się do lepszego zrozumienia mechanizmów leżących u podstaw chorób, takich jak choroba CMT, wywoływanych przez mutacje ortologicznych genów, takich jak ludzki *HSPB8* [68].

Zastosowanie kolejnego organizmu modelowego, danio pęgowanego, umożliwiło przeprowadzenie pogłębionej charakterystyki *hspb8*, który jest ortologiem ludzkiego *HSPB8*, Zastosowanie różnych technik z obszaru biologii molekularnej (m.in. RT-qPCR, Western blot, immunofluore-



Rycina 2. Ryby danio pęgowane (*Danio rerio*). Danio to szeroko stosowany w nauce organizm modelowy. Jest to mała, słodkowodna ryba charakteryzująca się krótkim cyklem życiowym i dużą liczbą potomstwa. Autorka: Alina Metelytsia.

scencja, koimmunoprecypitacja, LC-MS) umożliwiło nam pogłębienie wiedzy na temat ekspresji *hspb8* u danio pęgowanego podczas rozwoju w warunkach normalnych i szoku termicznego, a także na temat jego specyficznej lokalizacji tkankowej i subkomórkowej. Nasze prace potwierdziły, że ekspresja rybiego *hspb8* ulega zmianie pod wpływem szoku cieplnego, co jest typowe dla wielu przedstawicieli rodziny HSP, nie tracąc przy tym swojej sarkomerycznej lokalizacji. Dzięki przeprowadzonym badaniom wykazano, że Hspb8 oddziałuje z różnymi partnerami białkowymi i dlatego może być zaangażowane w różne procesy istotne dla integralności i funkcjonowania tkanek. Analiza potencjalnych interakcji białkowych pozwoliła nam stwierdzić, że rybie Hspb8, podobnie jak jego ludzki ortolog, może wchodzić w interakcje z białkami, takimi jak Bag3 i Hsc70, które są kluczowe dla tworzenia kompleksu inicjującego autofagię, czyli proces odpowiedzialny za kontrolowane usuwanie przez komórkę cząsteczek chemicznych oraz organelli komórkowych. Badania prowadzone z zastosowaniem techniki przejściowego wyciszenia ekspresji genu za pomocą oligonukleotydów morfolino pozwoliły nam dowiedzieć, że przejściowe wyciszenie *hspb8* ma negatywny wpływ na morfologię zarodków danio pęgowanego, ultrastrukturę mięśni szkieletowych i zachowanie ruchowe ryby. Nasze badania stanowią cenne źródło informacji na temat potencjalnego wykorzystania danio pęgowanego jako modelu do badania stanów patologicznych związanych z zaburzeniami *HSPB8* [69].

#### CHOROBA MCARDLE'A

Mięśniowa forma fosforylasy glikogenu (Pygm) jest enzymem odpowiadającym za katalizę reakcji będącej pierwszym etapem glikogenolizy. Podczas intensywnego wysiłku fizycznego w mięśniach szkieletowych nasila się proces glikogenolizy, podczas którego glikogen jest przekształcany w produkty metaboliczne stanowiące źródło energii. Mutacja w ludzkim genie mięśniowej formy fosforylasy glikogenu, inaktywuje enzym, co prowadzi do choroby McArdle'a (zespołu braku mięśniowej formy fosforylasy glikogenu, nazywanej także glikogenozą typu V) [70]. Jest to recesywna choroba genetyczna, dziedziczona autosomalnie. Poznano ponad 150 różnych mutacji genu *PYGM*, prowadzących do



**Rycina 3.** Muszka owocowa (*Drosophila melanogaster*). Muszka, bezkręgowiec, jest to często używany w badaniach naukowych model zwierzęcy. Dzięki niewielkim rozmiarom, łatwej hodowli i krótkiemu cyklowi życiowemu wykorzystywana jest m. in. do badania wpływu mutacji poszczególnych genów na morfologię i funkcjonowanie mięśni. Autorka: Alina Metelytsia.

zaburzeń glikogenolizy w mięśniach chorych osób. Choroba objawia się obniżoną zdolnością do podejmowania intensywnego wysiłku fizycznego, przedwczesnym zmęczeniem oraz bólem wynikającym z uszkodzenia mięśni. Obecnie terapia choroby opiera się na stosowaniu odpowiedniej diety i treningu, jednak nie istnieje jeszcze lek, który efektywnie pomógłby chorym osobom [71,72]. Co więcej, badania wskazują, że białko Pygm pełni także istotną rolę w innych procesach biologicznych. „PYGM” jest obecne także w tkankach innych niż mięśnie, takich jak mózg, tkanki limfoidalne i krew. „PYGM” ma znaczenie w tak różnorodnych procesach, jak szlaki sygnałowe insuliny i glukagonu, insulinooporność, nekroptoza, odpowiedź immunologiczna i fototransdukcja. Oprócz choroby McArdle’a „PYGM” jest także istotny w innych procesach patologicznych, takich jak schizofrenia czy nowotwór [73].

W badaniach prowadzonych w Zakładzie Biologii Rozwoju Zwierząt podjęto próbę stworzenia zwierzęcego modelu ludzkiej choroby McArdle’a w danio przegowanym. Mięśnie szkieletowe danio wykazują duże podobieństwo do ludzkich mięśni szkieletowych. Z tego powodu ten zwierzęcy model jest często wykorzystywany w badaniach ludzkich miopatii. Ponadto dwie formy enzymu, które są ekspresjonowane w organizmie danio przegowanego, Pygma i Pygmb, wykazują ponad 80% identyczności sekwencji aminokwasowej z ludzkim białkiem PYGM. Nasze badania wykazały, że poziom Pygm zmienia się zarówno na poziomie mRNA, jak i białka w różnych stadiach rozwoju danio przegowanego, co jest skorelowane z poziomem glikogenu. Rozmieszczenie białka Pygm w mięśniach także zmienia się dynamicznie, osiągając precyzyjną organizację w 72 godzinie po zapłodnieniu. Przejściowe wyciszenie *pygma* i *pygmb* osiągnięte dzięki zastosowaniu oligonukleotydów morfolino doprowadziło do obniżenia poziomu Pygm w morfantach danio. Efekty wyciszenia przypominały objawy choroby McArdle’a obserwowane u pacjentów, mianowicie zmienione, zdeintegrowane mięśnie i akumulację ziaren glikogenu [74]. Te zmiany wskazują, że danio przegowane z wyciszoną ekspresją białka Pygm może stanowić efektywny model tej ludzkiej choroby i w przyszłości przyczynić się do lepszego zrozumienia jej mechanizmów molekularnych

i opracowania odpowiedniego leczenia. Obecnie trwają eksperymenty mające na celu otrzymanie stabilnej linii ryb – zwierzęcego modelu choroby McArdle’a (Ryc. 3).

## PODSUMOWANIE I PERSPEKTYWY

Badania rozwoju mięśni szkieletowych są wciąż rozwijającą się dziedziną nauki. Modele zwierzęce, zwłaszcza badania indukowanych stanów patologicznych, są szansą na odkrycie szczegółów molekularnego mechanizmu działania mięśni i procesów w nich zachodzących. Szczególną szansą na odkrycie nowych aspektów działania mięśni, również w aspekcie ewolucyjnym, są badania prowadzone na organizmach niemodelowych. Wyniki uzyskanych badań mają potencjał aplikacyjny, zwłaszcza w kontekście terapii chorób nerwowo-mięśniowych.

## PODZIĘKOWANIA

Dziękujemy Działowi do spraw Komunikacji UW, w szczególności pani Alinie Metelytsia, za wykonanie zdjęć zamieszczonych w publikacji. Do przygotowania streszczenia graficznego wykorzystano ilustracje dostępne w darmowej witrynie [www.onlinewebfonts.com](http://www.onlinewebfonts.com).

## PIŚMIENNICTWO

1. Sawicki W, Malejczyk J (2020) Histologia, PZWL Wydawnictwo Lekarskie, Warszawa
2. Obinata T (1993) Contractile proteins and myofibrillogenesis. *Int Rev Cytol* 143: 153-89
3. Mauro A (1961) Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J Biophys Biochem Cytol* 9 (2): 493-495
4. Christov C, Chretien F, Abou-Khalil R, Bassez G, Vallet G, Authier FJ, Bassaglia Y, Shinin V, Tajbakhsh S, Chazaud B, Gherardi RK, Bronner-Fraser M (2007) Muscle Satellite Cells and Endothelial Cells: Close Neighbors and Privileged Partners. *Mol Biol Cell* 18 (4): 1397-1409
5. Rowe RW, Goldspink G (1969) Muscle fibre growth in five different muscles in both sexes of mice. *J Anat* 104 (3): 519-530
6. Fowler SP, Champion DR, Marks HL, Reagan JO (1980) An analysis of skeletal muscle response to selection for rapid growth in Japanese quail (*Coturnix coturnix* Japonica). *Growth* 44 (3): 235-252
7. Hwang PM, Sykes BD (2015) Targeting the sarcomere to correct muscle function. *Nat Rev Drug Discov* 14: 313-328
8. Devoto SH, Melancon E, Eisen JS, Westerfield M (1996) Identification of separate slow and fast muscle precursor cells *in vivo*, prior to somite formation. *Development* 122 (11): 3371-3380
9. Gleeson TT, Putnam RW, Bennett AF (1980) Histochemical, enzymatic, and contractile properties of skeletal muscle fibers in the lizard *Dipsosaurus dorsalis*. *J Exp Zool* 214 (3): 293-302
10. Takekura H, Yoshioka T (1990) Ultrastructural and metabolic characteristics of single muscle fibres belonging to the same type in various muscles in rats. *J Muscle Res Cell M* 11 (2): 98-104
11. Listrat A, Lebreton B, Louveau I, Astruc T, Bonnet M, Lefaucheur L, Picard B, Bugeon J (2016) How Muscle Structure and Composition Influence Meat and Flesh Quality. *Sci World J* 2016:1-14
12. Stoiber W, Stanger AM (1996) An electron microscopic investigation into the possible source of new muscle fibres in teleost fish. *Anat Embryol* 194 (6): 569-579
13. Stockdale FE (1990) The Myogenic Lineage: Evidence for Multiple Cellular Precursors during Avian Limb Development. *Exp Biol M* 194 (2): 71-75
14. Buckley PA, Konigsberg IR, Myogenic fusion and the duration of the post-mitotic gap (G1). *Dev Biol* 37 (1): 193-212
15. Dequéant ML, Pourquoi O (2008) Segmental patterning of the vertebrate embryonic axis. *Nat Rev Genet* 9 (5): 370-382

16. Richardson MK, Allen SP, Wright GM, Raynaud A, Hanken J (1998) Somite number and vertebrate evolution. *Development* 125 (2): 151-160
17. Jacob M, Jacob HJ, Christ B (1975) Die frühe Differenzierung des chondranen Bindegewebes. Raster- und transmissionselektronenmikroskopische Untersuchungen an Hühnerembryonen. *Experientia* 31 (9) 1083-1086
18. Christ B, Ordahl CP (1995) Early stages of chick somite development. *Anat Embryol* 191 (5): 381-396
19. Brand-Saber B, Wilting J, Ebensperger C, Christ B (1996) The formation of somite compartments in the avian embryo. *Int J Dev Biol* 40 (1): 411-420
20. Denetclaw Jr, Christ B, Ordahl CP (1997) Location and growth of epaxial myotome precursor cells. *Development* 124 (8): 1601-10
21. Takahashi Y, Sato Y (2008) Somitogenesis as a model to study the formation of morphological boundaries and cell epithelialization: Boundary formation during somitogenesis. *Dev Growth Differ* 50:149-155
22. Hirsinger E, Jouve C, Dubrulle J, Pourquie O (2000) Somite formation and patterning. *I Rev Cytol* 198: 1-65
23. Mok GF, Sweetman D (2011) Many routes to the same destination: lessons from skeletal muscle development. *Reproduction* 141 (3): 301-312
24. Bentzinger CF, Wang YX, Rudnicki MA (2012) Building Muscle: Molecular Regulation of Myogenesis. *CHS Perspect Biol* 4 (2): a008342
25. Lewandowski D, Dubińska-Magiera M, Garbiec A, Daczewska M (2019) Primary myogenesis in the sand lizard (*Lacerta agilis*) limb bud. *Dev Genes Evol* 229: 147-159
26. Rossi G, Messina G (2014) Comparative myogenesis in teleosts and mammals. *Cell Mol Life Sci* 71 (16):3081-3099
27. Beermann DH, Cassens RG, Hausman GJ (1978) A Second Look at Fiber Type Differentiation in Porcine Skeletal Muscle. *J Anim Sci* 46 (1): 125-132
28. Miller JB, Everitt EA, Smith TH, Block NE, Dominov JA (1993) Cellular and molecular diversity in skeletal muscle development: News from in vitro and in vivo. *BioEssays* 15 (3): 191-196
29. Weintraub H (1993) The MyoD family and myogenesis: Redundancy, networks, and thresholds. *Cell* 75 (7): 1241-1244
30. Rudnicki MA, Jaenisch R (1995) The MyoD family of transcription factors and skeletal myogenesis. *BioEssays* 17 (3):203-209
31. Massari ME, Murre C (2000) Helix-loop-helix proteins: regulators of transcription in eucaryotic organisms. *Mol Cell Biol* 20 (2):429-440
32. Olson EN (1990) MyoD family: a paradigm for development? *Genes Dev* 4 (9):1454-1461
33. Buckingham M (2006) Myogenic progenitor cells and skeletal myogenesis in vertebrates. *Curr Opin Genes Dev* 16(5):525-532
34. Olson EN, Perry M, Schulz RA (1995) Regulation of Muscle Differentiation by the MEF2 Family of MADS Box Transcription Factors. *Dev Biol* 172 (1):2-14
35. Lewandowski D, Dubińska-Magiera M, Migocka-Patrzałek M, Niedbalska-Tarnowska J, Haczekiewicz-Leśniak K, Dziegiel P, Daczewska M (2020) Everybody wants to move - Evolutionary implications of trunk muscle differentiation in vertebrate species. *Semin Cell Dev Biol* 104:3-13
36. Daczewska M (2020) Differentiation of skeletal muscles. *Semin Cell Dev Biol* 104:1-2
37. Buckingham M, Bajard L, Dubas P, Esner M, Lagha M, Relaix F, Rocancourt D (2006) Myogenic progenitor cells in the mouse embryo are marked by the expression of Pax3/7 genes that regulate their survival and myogenic potential. *Anat Embryol* 211: 51-56
38. Kielbówna L, Migocka-Patrzałek M (2014) Molecular factors in myoblast fusion. *Postępy Biol Komórki* 41(4): 559-582
39. Kielbówna L, Migocka-Patrzałek M (2017) Models of amphibian myogenesis - the case of *Bombina variegata*. *Int J Dev Biol* 61:17-27
40. Buckingham M, Relaix F (2007) The role of Pax genes in the development of tissues and organs: Pax3 and Pax7 regulate muscle progenitor cell functions. *Annu Rev Cell Dev Biol* 23 (1): 645-673
41. Dubińska-Magiera M, Daczewska M, Lewicka A, Migocka-Patrzałek M, Niedbalska-Tarnowska J, Jagla K (2016) Zebrafish: A Model for the Study of Toxicants Affecting Muscle Development and Function. *Int J Mol Sci* 17 (11):1941
42. Plantié E, Migocka-Patrzałek M, Daczewska M, Jagla K (2015) Model Organisms in the Fight against Muscular Dystrophy: Lessons from *Drosophila* and Zebrafish. *Molecules* 20 (4): 6237-6253
43. Daczewska M, Saczko J (2005) Myotomal myogenesis of axial muscle in the sturgeon (*Acipenser baerii*) (Chondrostei, Acipenseriformes). *Folia Biol-Krakow* 53 (1):29-38
44. Kacperczyk A, Daczewska M (2006) Mixed Mesodermal and Mesenchymal Origin of Myotomal Muscles in Pike (*Esox lucius*: Teleostei). *Anat Histol Embryol* 35 (1): 57-65
45. Kacperczyk A, Jagla T, Daczewska M (2009) Pax-3 and Pax-7 Label Muscle Progenitor Cells During Myotomal Myogenesis in *Coregonus lacareus* (Teleostei: Coregonidae). *Anat Histol Embryol* 38 (6): 411-418
46. Kielbówna L, Kościński B (1979) Myotomal myogenesis in *Bombina variegata* L. *Wilehm Roux Arch Dev Biol* 185 (4): 295-303
47. Kielbówna L, Daczewska M (2005) The origin of syncytial muscle fibres in the myotomes of *Xenopus laevis* - a revision. *Folia Biol-Krakow* 53 (1): 39-44
48. Kielbówna L (1981) The formation of somites and early myotomal myogenesis in *Xenopus laevis*, *Bombina variegata* and *Pelobates fuscus*. *J Embryol Exp Morph* 64: 295-304
49. Daczewska M, Kielbówna L (2000) Myotomal myogenesis in *Triturus vulgaris* L. (Urodela) with special reference to the role of mesenchymal cells. *Folia Biol-Krakow* 48 (1-2): 37-42
50. Kielbówna L, Daczewska M (2004) Onto-phylogenetic aspect of myotomal myogenesis in Chordata. *Folia Biol-Krakow* 52 (1-2): 1-12
51. Rupik W, Swadźba E, Dubińska-Magiera M, Jędrzejowska I, Daczewska M (2012) Reptilian myotomal myogenesis - lessons from the sand lizard *Lacerta agilis* L. (Reptilia, Lacertidae). *Zoology* 115 (5): 330-338
52. Lewandowski D, Dubińska-Magiera M, Posytniak E, Rupik W, Daczewska M (2017) Does the grass snake (*Natrix natrix*) (Squamata: Serpentes: Natricinae) fit the amniotes-specific model of myogenesis? *Protoplasma* 254 (4): 1507-1516
53. Khan Noon ER, Rupik W, Lewandowski D, Dubińska-Magiera M, Swadźba E, Daczewska M (2016) Unique features of myogenesis in Egyptian cobra (*Naja haje*) (Squamata: Serpentes: Elapidae). *Protoplasma* 253 (2) :625-33
54. Morrison B (2016) Neuromuscular Diseases. *Semina Neurol* 36 (05): 409-418
55. Plantié E, Migocka-Patrzałek M, Daczewska M, Jagla K (2015) Model Organisms in the Fight against Muscular Dystrophy: Lessons from *Drosophila* and Zebrafish. *Molecules* 20 (4): 6237-6253
56. Elias M, Migocka-Patrzałek M (2019) Danio przegowany jako przykład organizmu modelowego wykorzystywanego w badaniach naukowych. *Poszerzamy Horyzonty* XII: 553-560
57. Dubińska-Magiera M, Migocka-Patrzałek M, Cegłowska (2020) A Danio adventure. *Developmental biology of the zebrafish in science popularization*. *J Biol Educ* doi: 10.1080/00219266.2020.1776752
58. Wójtowicz I, Jabłońska J, Zmojdździan M, Taghli-Lamalle, Renaud Y, Junion G, Daczewska M, Huelsmann S, Jagla K, Jagla T (2015) *Drosophila* small heat shock protein CryAB ensures structural integrity of developing muscles, and proper muscle and heart performance. *Development* 142 (5): 994-1005
59. Dubińska-Magiera M, Migocka-Patrzałek M, Damian L, Daczewska M, Jagla K (2021) Zebrafish as a Model for the Study of Lipid-Lowering Drug-Induced Myopathies. *Int J Mol Sci* 22 (11): 5654
60. Wójtowicz I, Jabłońska J, Zmojdździan M, Taghli-Lamalle O, Renaud Y, Junion G, Daczewska M, Huelsmann S, Jagla K, Jagla T (2015) *Drosophila* small heat shock protein CryAB ensures structural integrity of developing muscles, and proper muscle and heart performance. *Development* 142(5):994-1005
61. Rzymowska J, Gawron A, Pawlikowska-Pawlega B, Jakubowicz-Gil J, Wojciorowski J (1999) The effect of quercetin on induction of apoptosis. *Folia Histochem Cytobiol* 37 (2): 125-6



62. Rupik W, Jasik K, Bemberek J, Widlak W (2011) The expression patterns of heat shock genes and proteins and their role during vertebrate's development. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 159 (4): 349-66
63. Dubińska-Magiera M, Jabłońska J, Saczko J, Kulbacka J, Jagla T, Daczewska M (2014) Contribution of small heat shock proteins to muscle development and function. *FEBS Lett* 14: 517-530
64. Jagla T, Dubińska-Magiera M, Poovathumkadavil P, Daczewska M, Jagla K (2018) Developmental Expression and Functions of the Small Heat Shock Proteins in *Drosophila*. *Int J Mol Sci* 19 (11): 3441, doi: 10.3390/ijms19113441
65. Moreau L, King J (2012) Protein misfolding and aggregation in cataract disease and prospects for prevention. *Trends Mol Med* 18 (5):273-282
66. Ciechanover A, Kwon YT (2017) Protein Quality Control by Molecular Chaperones in Neurodegeneration. *Front Neurosci* 11:185, doi: 10.3389/fnins.2017.00185
67. Ghaoui R, Palmio J, Brewer J, Lek M, Needham M, Evilä A, Hackman P, JonsonPH, Penttilä S, Vihola A, Huovinen S, Lindfors M, Davis LR, Waddell L, Kaur S, Yiannikas C, North K, Clarke N, MacArthur DG, Sue MC, Udd B (2016) Mutations in HSPB8 causing a new phenotype of distal myopathy and motor neuropathy. *Neurology* 86 (4): 391-398
68. Jabłońska J, Dubińska-Magiera M, Jagla T, Jagla K, Daczewska M (2018) *Drosophila* Hsp67Bc hot-spot variants alter muscle structure and function. *Cell Mol Life Sci* 75 (23): 4341-4356
69. Dubińska-Magiera M, Niedbalska-Tarnowska J, Migocka-Patrzałek M, Posyński E, Daczewska M (2020) Characterization of Hspb8 in Zebrafish. *Cells* 9 (6): 1562, doi: 10.3390/cells9061562
70. McArdle B (1951) Myopathy due to a defect in muscle glycogen breakdown. *Clin Sci* 10 (1): 13-35
71. Migocka-Patrzałek M, Kosieradzka A, Lewandowski D, Posyński E, Dubińska-Magiera M, Daczewska M (2015) Choroba McArdle'a: patogeneza i perspektywy terapii. *Postępy Biol Komórki* 42 (3): 431-444
72. Quinlivan R, Martinuzzi A, Schoser B (2014) Pharmacological and nutritional treatment for McArdle disease (Glycogen Storage Disease type V). *Cochrane Database Syst Rev* 2014 (11):CD003458, doi: 10.1002/14651858.CD003458.pub5
73. Migocka-Patrzałek M, Elias M (2021) Muscle Glycogen Phosphorylase and Its Functional Partners in Health and Disease. *Cells* 10 (4): 883, doi: 10.3390/cells10040883
74. Migocka-Patrzałek M, Lewicka A, Elias M, Daczewska M (2020) The effect of muscle glycogen phosphorylase (Pygm) knockdown on zebrafish morphology. *Int J Biochem Cell Biol* 118:105658, doi: 10.1016/j.biocel.2019.105658

## What is unknown in skeletal muscles?

Marta Migocka-Patrzałek, Magda Dubińska-Magiera, Damian Lewandowski, Magdalena Elias and Małgorzata Daczewska✉

Department of Animal Developmental Biology, Faculty of Biological Sciences, University of Wrocław

✉corresponding author: malgorzata.daczewska@uwr.edu.pl

Key words: myogenesis, zebrafish, *Drosophila melanogaster*, neuromuscular diseases

### ABSTRACT

Skeletal muscles are a highly specialized animal tissue whose basic function is the contraction, which leads into animal movement. One of the types of skeletal muscles are trunk (myotomal) muscles, which in vertebrates belong to the oldest phylogenetically group of muscles. The comparative studies of myotomal myogenesis have shown that these muscles, despite a similar structure plan and under the control of the same genetic factors, may differentiate differently in individual species of vertebrates (both in model and non-model species). The understanding of the skeletal muscle development mechanisms seem to be a precondition for understanding the muscle tissue diseases observed in humans. This paper summarizes the current knowledge on the skeletal muscles differentiation in animals, pathological states of muscles caused by mutations in the genes of structural and metabolic proteins.

