

Received: 23.04.2020  
Accepted: 15.12.2020  
Published: 02.06.2021

## Udział czynników endokrynnych i komórek macierzystych w regeneracji mięśni szkieletowych\*

### Role of endocrine factors and stem cells in skeletal muscle regeneration

Barbara Morawin, Agnieszka Zembroń-Łacny

Katedra Fizjologii Stosowanej i Klinicznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Zielonogórski

\*Manuskrypt przygotowano w oparciu o przegląd piśmiennictwa w ramach realizacji projektu badawczego finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki (2016/21/N/NZ7/03329).

#### Streszczenie:

Proces odbudowy uszkodzonych mięśni szkieletowych obejmuje cztery fazy: degeneracji, odpowiedzi zapalnej i immunologicznej, regeneracji oraz reorganizacji, regulowanych przez wiele cząsteczek o charakterze immuno-endokrynnym oddziałujących na komórki mięśniowe oraz komórki macierzyste mięśni. Do tych cząsteczek należy testosteron (T), który wiążąc się z wewnątrzkomórkowym receptorem androgenowym inicjuje ekspresję mięśniowej izoformy insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF-1Ec). Współdziałanie T i IGF-1Ec stymuluje wzrost i regenerację mięśni z powodu zahamowania apoptozy, nasilenia proliferacji i różnicowania SCs. W wyniku starzenia się, dystrofii mięśniowych lub chorób wyniszczających liczba SCs ulega znacznemu obniżeniu. Regularny wysiłek fizyczny zapobiega jej obniżeniu i tym samym podwyższa potencjał regeneracyjny mięśni zarówno u młodych, jak i starszych osób. Jednym z wyzwań współczesnej medycyny jest możliwość wykorzystania komórek macierzystych oraz podłoży imitujących macierz zewnątrzkomórkową w medycynie regeneracyjnej i molekularnej, zwłaszcza w chorobach degeneracyjnych i pourazowej rekonstrukcji mięśni szkieletowych. Celem pracy jest przedstawienie aktualnych informacji na temat molekularnych i komórkowych mechanizmów regeneracji mięśni szkieletowych, roli testosteronu i czynników wzrostu w aktywacji SCs oraz możliwości ich terapeutycznego wykorzystania w stymulacji odbudowy uszkodzonych włókien mięśniowych.

#### Słowa kluczowe:

insulinopodobny czynnik wzrostu, komórki satelitarne, sarkopenia, testosteron, transplantacja komórkowa, wysiłek fizyczny

#### Summary:

The process of reconstructing damaged skeletal muscles involves degeneration, inflammatory and immune responses, regeneration and reorganization, which are regulated by a number of immune-endocrine factors affecting muscle cells and satellite cells (SCs). One of these molecules is testosterone (T), which binds to the androgen receptor (AR) to initiate the expression of the muscle isoform of insulin-like growth factor 1 (IGF-1Ec). The interaction between T and IGF-1Ec stimulates the growth and regeneration of skeletal muscles by inhibiting apoptosis, enhancement of SCs proliferation and myoblasts differentiation. As a result of sarcopenia, muscle dystrophy or wasting diseases, the SCs population is significantly reduced. Regular physical exercise attenuates a decrease in SCs count, and thus elevates the regenerative potential of muscles in both young and elderly people. One of the challenges of modern medicine is the application of SCs and extracellular matrix scaffolds in regenerative and molecular medicine, especially in the treatment of degenerative diseases and post-traumatic muscle reconstruction. The aim of the study is to present current information on the molecular and cellular mechanisms of skeletal muscle regeneration, the role of testosterone and growth factors in the activation of SCs and the possibility of their therapeutic use in stimulating the reconstruction of damaged muscle fibers.

|                    |                                                                                                                      |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Keywords:</b>   | <b>insulin-like growth factor satellite cells, sarcopenia, testosterone, cell transplantation, physical exercise</b> |
| <b>GICID</b>       | 01.3001.0014.9125                                                                                                    |
| <b>DOI:</b>        | 10.5604/01.3001.0014.9125                                                                                            |
| <b>Word count:</b> | 7 936                                                                                                                |
| <b>Tables:</b>     | 4                                                                                                                    |
| <b>Figures:</b>    | 2                                                                                                                    |
| <b>References:</b> | 106                                                                                                                  |

**Adres autorki:** dr Barbara Morawin, Katedra Fizjologii Stosowanej i Klinicznej, Collegium Medicum, Uniwersytet Zielonogórski ul. Zyty 28, 65-046 Zielona Góra, e-mail: b.morawin@cm.uz.zgora.pl

#### Wykaz skrótów:

**ADSCs** – komórki macierzyste pochodzące ze zrębu tkanki tłuszczowej (adipose-derived stem cells, adipose-derived stromal cells), **Akt** – serynowo-treoninowa kinaza białkowa (serine/threonine-specific protein kinase), **ALS** – kwasowo-labilna podjednostka (acid-labile subunit), **AR** – wewnątrzkomórkowy receptor androgenowy (androgen receptor), **BM-MSC** – mezenchymalne komórki macierzyste szpiku kostnego (bone marrow mesenchymal stem cell), **CD** – antygen różnicowania powierzchniowego (cluster of differentiation), **DMD** – dystrofia mięśniowa Duchenne’a (Duchenne muscular dystrophy), **DMI** – dystrofia miotyczna typu 1 (Myotonic Dystrophy Type 1), **DNA** – kwas deoksyrybonukleinowy (deoxyribonucleic acid), **ECM** – macierz zewnątrzkomórkowa (extracellular matrix), **ERK1/2** – kinaza regulowana zewnątrzkomórkowo (extracellular signal regulated kinase), **FGF** – czynnik wzrostu fibroblastów (fibroblast growth factor), **FOXO** – rodzina czynników transkrypcyjnych (forkhead box-containing), **FoxO3** – białko kodowane przez gen *FoxO3* (forkhead box protein O3), **GDF-8** – czynnik różnicowania wzrostu 8 (growth/differentiation factor 8), **GFP** – białko zielonej fluorescencji (green fluorescent protein), **GR** – receptor glukokortykoidowy (glucocorticoid receptor), **HGF** – czynnik wzrostu hepatocytów (hepatocyte growth factor), **hGH** – ludzki hormon wzrostu (human growth hormone), **HRE** – element odpowiedzi hormonalnej (hormone response element), **Hsp90** – białko z rodziny szoku cieplnego (heat shock protein 90), **IGF-1** – insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insulin-like growth factor 1), **IGF-1Ea** – wątrobowa izoforma insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (insulin-like growth factor 1 Ea), **IGF-1Ec** – mięśniowa izoforma insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (insulin-like growth factor 1 Ec), **IGF-1R** – receptory błonowe IGF-1 (insulin-like growth factor-1 i 2 receptors), **IGFBP-1-6** – białka wiążące insulinopodobny czynnik wzrostu 1-6 (insulin-like growth factor-binding protein 1-6), **IL-1β, -1ra, -6, -8-10, -12, -15, -18** – interleukiny IL-1β, -1ra, -6, -8-10, -12, -15, -18 (interleukin), **MAPK** – kinaza białkowa aktywowana przez mitogen (mitogen-activated kinase), **MHC** – łańcuch ciężki miozyny (myosin heavy chain), **MMP** – metaloproteinazy macierzy pozakomórkowej (matrix metalloproteinase), **MRF** – miogeniczny czynnik regulatorowy (myogenic regulatory factor), **Myf4** – miogeniczny czynnik 4 (myogenic factor 4), **Myf5** – miogeniczny czynnik 5 (myogenic factor 5), **MyoD** – białko determinujące mioblast (myoblast determination protein 1), **mysz mdx** – zwierzęcy model dystrofii Duchenne’a (mouse-the genetic homologue of Duchenne muscular dystrophy), **NF-κB** – czynnik jądrowy kappa B (nuclear factor-kappa B), **Pax 3,-7** – białka z rodziny Pax (paired box protein), **Pax7-/PW1+** – komórki interstycjalne Pax7-/PW1+ (Pax7-/PW1+ interstitial cells), **PD 098059** – swoisty inhibitor aktywacji MAPK (specific inhibitor of the activation of MAPK), **PDGF** – płytkopochodny czynnik wzrostu (platelet-derived growth factor), **PICs** – populacja komórek interstycjalnych (interstitial cells, PICs), **rhGH** – rekombinowana postać hormonu wzrostu (recombinant human growth hormone), **rhIGF-1** – rekombinowana postać insulinopodobnego czynnika wzrostu (recombinant insulin-like growth factor), **rhIGFBP-3** – rekombinowana postać białka IGFBP-3 wiążącego insulinopodobny czynnik wzrostu, **SCs** – komórki macierzyste mięśni (satellite cells), **SHBG** – beta-globulina osocza wiążąca hormony płciowe (sex hormone-binding globulin), **SOXF** – rodzina genów SOX (SOX gene family), **T** – testosteron (testosterone), **TGF-α** – transformujący czynnik wzrostu alfa (transforming growth factor α), **TGF-β1** – transformujący czynnik wzrostu beta 1 (transforming growth factor β1), **TNF-α** – czynnik martwicy nowotworów (tumor necrosis factor), **VEGF** – czynnik wzrostu śródbłónka naczyńowego (vascular endothelial growth factor).

**Tabela 1.** Wybrane czynniki wzrostu regulujące aktywność komórek satelitowych (SCs)

| Czynnik            | Pochodzenie                                         | Proliferacja/Różnicowanie                                                |
|--------------------|-----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| HGF                | komórki immunologiczne, endotelium, ECM             | +/- aktywuje i pobudza proliferację SCs oraz hamuje procesy różnicowania |
| FGF                | komórki immunologiczne, endotelium, ECM             | +/- niewyjaśniona dokładna rola                                          |
| IGF-1              | komórki immunologiczne, endotelium, ECM, hepatocyty | +++ wykazuje działanie mitogenne                                         |
| VEGF               | różne populacje komórek                             | +/? stymuluje angiogenezę                                                |
| PDGF-AA<br>PDGF-BB | komórki immunologiczne, endotelium                  | -/+ wykazuje działanie przeciwstawne<br>+/- wzmacnia angiogenezę         |
| GDF-8              | krążenie, komórki wydzielnicze                      | -/- utrzymuje stan uśpionia SCs                                          |
| TGF-β1<br>TGF-α    | krążenie, komórki wydzielnicze                      | -/- zapobiega różnicowaniu mioblastów                                    |

+ zwiększa aktywność, - hamuje aktywność, ? brak jednoznacznych danych [87, 104]

## WPROWADZENIE

Mięśnie szkieletowe zbudowane są z wielojądrzastych, wrzecionowatych komórek. U osób młodych 5-7% jąder związanych z jedną komórką mięśniową należy do komórek satelitowych (satellite cells, SCs) położonych w niszy między sarkolemmą a błoną podstawną. W okresie intensywnego wzrostu liczba SCs w mięśniach jest wysoka, jednak ulega szybkiemu obniżeniu w następstwie starzenia się [51].

W nieuszkodzonych mięśniach SCs nie dzielą się (quiescent state), ale zachowują zdolność do replikacji DNA i podziałów mitotycznych. W wyniku uszkodzenia SCs są aktywowane, dzielą się i różnicują w mioblasty. Następnie mioblasty w wyniku fuzji są włączane do istniejących włókien lub tworzą *de novo* wielojądrowe miotuby i włókna mięśniowe. Fuzja mioblastów jest jednym z głównych etapów regeneracji, w trakcie którego komórki wykazują ekspresję szeregu białek, m.in. insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (insulin-like growth factor, IGF-1) i białek adhezyjnych zaangażowanych w tworzenie połączeń między mioblastami (tab.1). Proces osiąga apogeum w ciągu 4-5 dni od uszkodzenia. W skrajnych przypadkach, tj. rozległego uszkodzenia mięśnia i ostrego stanu zapalnego, regeneracja może być wspomagana przez komórki niemięśniowe, takie jak rezydujące w mięśniach komórki interstycjalne (interstitial cells, PICs), obecne we krwi komórki hematopoetyczne lub związane z naczyiniami krwionośnymi komórki macierzyste o fenotypie CD133+ [6, 21, 103].

Odbudowa mięśni szkieletowych jest bardzo zsynchronizowanym procesem, kontrolowanym przez mechanizmy obejmujące interakcje komórka <-> komórka i komórka <-> środowisko zewnątrzkomórkowe. W mechanizmach tych uczestniczą cytokiny pro- i przeciwzapalne (IL-1β, -1ra, -6, -8, -10, 12, -15, -18 i TNF-α) oraz czynniki wzrostu (tab. 1) uwalniane w ciągu kilku godzin przez komórki mięśniowe i satelitowe oraz obecne w tkance mięśniowej komórki immunologiczne, nabłonkowe, śródmiąższowe i in. Badania potwierdziły także istotny wpływ androgenów na procesy regulacji aktywności SCs. Wymienione grupy cząsteczek, łącząc się z odpowiednim receptorem

wykazują różną aktywność, tzn. jedne silnie stymulują proliferację i wzrost komórek mięśniowych, inne mogą hamować [87, 104]. Celem pracy jest przedstawienie aktualnych informacji na temat molekularnych i komórkowych mechanizmów regeneracji mięśni szkieletowych, roli testosteronu i czynników wzrostu w aktywacji SCs oraz możliwości ich terapeutycznego wykorzystania w stymulacji odbudowy uszkodzonych włókien mięśniowych.

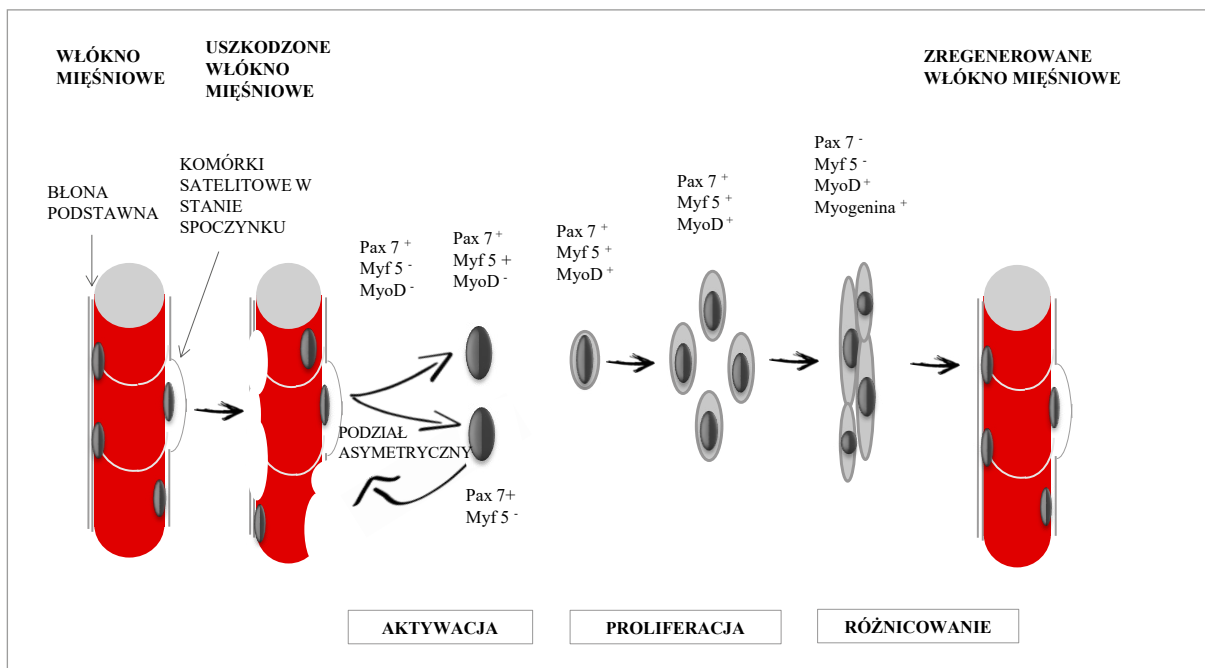
## UDZIAŁ KOMÓREK SATELITOWYCH W REGENERACJI MIĘŚNI SZKIELETOWYCH

Mięśnie szkieletowe mają niezwykłą zdolność do regeneracji i szybkiej naprawy dzięki obecności w tkance mięśniowej SCs. Pozostają w stanie spoczynku do chwili zadziałania bodźca (uszkodzenie włókna mięśniowego), który rozpoczyna wiele procesów prowadzących do odbudowy mięśni. Aktywowane SCs wznowiają cykl komórkowy, dzielą się, następnie różnicują w mioblasty i ostatecznie łączą się z istniejącym włóknem mięśniowym lub formują nowe włókna [33, 56]. Z wiekiem liczba SCs obniża się, tzn. w wieku 20-30 lat SCs stanowią 4-5%, natomiast w wieku 60-80 lat tylko 1% całkowitej liczby jąder komórkowych związanych z jedną komórką mięśniową [77]. Według Mackeya i wsp. [51] około 1,3% komórek satelitowych jest mitotycznie aktywnych, ale pod wpływem aktywności fizycznej ich liczba wzrasta wielokrotnie w każdym wieku u osób zdrowych, a także u pacjentów cierpiących na choroby, którym towarzyszy stopniowe osłabienie i zanik mięśni szkieletowych (tab. 2).

Komórki satelitowe obecne w dojrzałych mięśniach szkieletowych charakteryzują się ekspresją czynników transkrypcyjnych z rodziny MRF (myogenic regulatory factor) - MyoD, Myf5, Myf4, miogenina i SOX (SOX gene family) oraz rodziny Pax (paired box protein) - Pax3 i Pax7 (ryc.1). Wśród dziewięciu białek Pax, główną rolę w procesach miogenezy odgrywają białka Pax3 i Pax7 promując aktywację miogenicznych komórek progenitorowych i zapobiegając różnicowaniu niemiogenicznemu.

**Tabela 2.** Zmiana liczby komórek satelitowych (SCs) pod wpływem aktywności fizycznej

| Wysiłek                                                          | Badani                                                                                      | Liczba SCs                                                                      | Piśmiennictwo |
|------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| 10 tyg. trening wytrzymałościowy                                 | pacjenci, rozpoczęcie treningu po 4-7 tyg. chemioterapii<br>wiek 51 lat                     | ↑ we włóknach szybko kurczących się                                             | [64]          |
| 16 tyg. trening siłowy o dużej intensywności                     | pacjenci z przewlekłą niewydolnością nerek<br>wiek 54 ± 3 lata                              | ↑ 15% we włóknach wolno kurczących się<br><-> we włóknach szybko kurczących się | [61]          |
| 26 tyg. trening wytrzymałościowy                                 | pacjenci z chorobą Huntingtona<br>wiek 51,7 ± 7,9 lat vs. osoby zdrowe<br>wiek 50 ± 6,7 lat | ↑ wyłącznie u osób zdrowych                                                     | [65]          |
| po 12 tyg. trening siłowy w połączeniu z treningiem interwałowym | mężczyźni<br>wiek 74 ± 8 lat                                                                | ↑ we włóknach szybko i wolno kurczących się                                     | [86]          |
| bieg na dystansie 36 km                                          | biegacze długodystansowi<br>wiek 25 ± 3 lata                                                | ↑ 27% 8 dni po biegu                                                            | [51]          |
| jednorazowy wysiłek siłowy                                       | mężczyźni<br>wiek 21-35 lat<br>wiek > 60 lat                                                | ↑ 141% 24 godz. po wysiłku<br>↑ 51% 24 godz. po wysiłku                         | [27]          |
| 90-dniowy trening siłowy                                         | mężczyźni<br>wiek 24 ± 1 rok                                                                | ↑ 31%                                                                           | [44]          |
| 14 tyg. trening wytrzymałościowy                                 | mężczyźni<br>wiek 73 ± 3 lata                                                               | ↑ 29%                                                                           | [13]          |



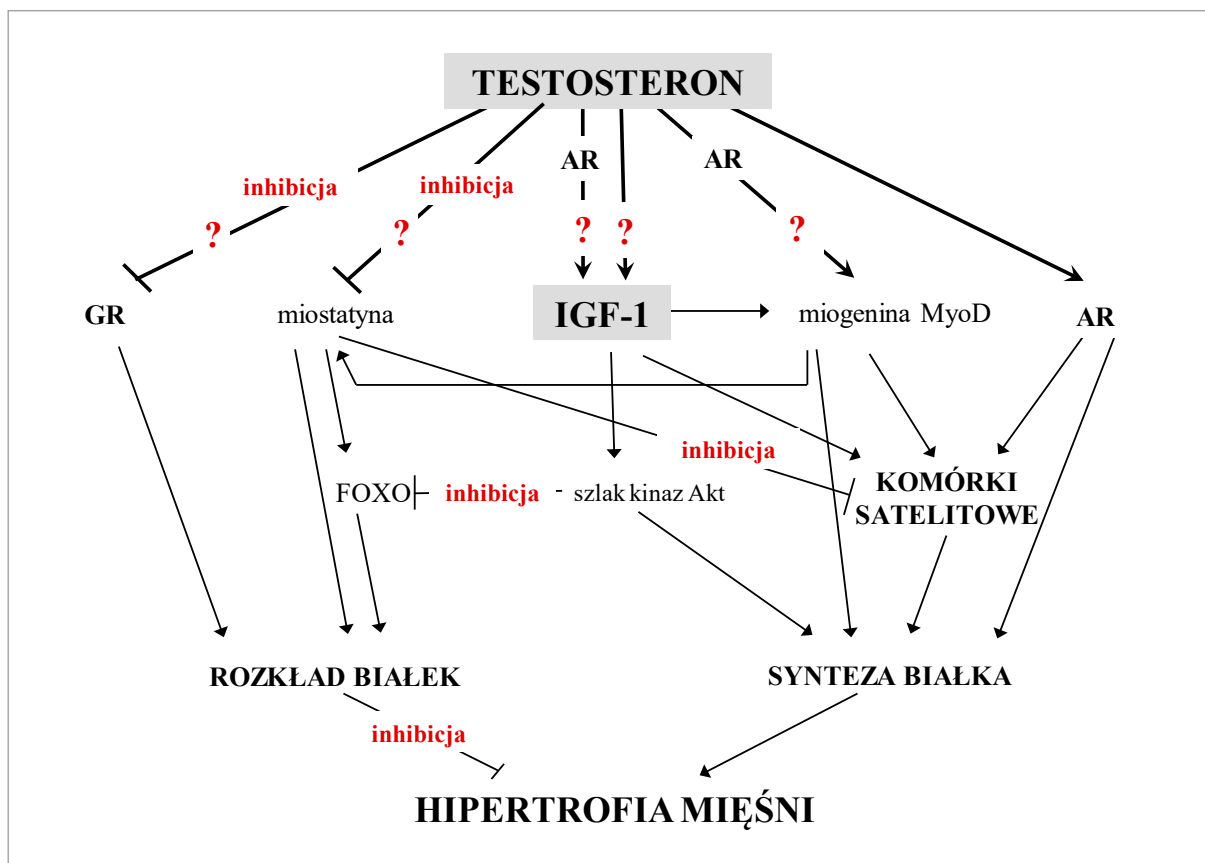
**Ryc. 1.** Ekspresja czynników transkrypcyjnych z rodziny MRF (MyoD, Myf5, miogenina) oraz rodziny Pax (Pax3 i Pax7); MRF – miogeniczny czynnik regulatorowy, MyoD – białko determinujące mioblast, Myf5 - miogeniczny czynnik 5, Pax 7 – białka z rodziny Pax [81]

Obecność czynnika Pax3 stwierdza się podczas rozwoju zarodkowego, natomiast obecność czynnika Pax7 i Myf5 (komórki Pax7+/Myf5+) jest charakterystyczna dla dojrzałych komórek satelitowych w stanie spoczynku, tzw. uśpienia (quiescent). W chwili aktywacji i proliferacji komórek satelitowych stopniowo zanika ekspresja Pax7 i Myf5 i zwiększona synteza MyoD.

Następnie różnicowaniu i fuzji mioblastów oraz tworzeniu nowych miotub towarzyszy ekspresja miogeniny i Myf4. Nie wszystkie SCs różnicują w kierunku włókien mięśniowych, część komórek wykazujących ekspresję Pax7 przy braku ekspresji Myf5 (komórki Pax7+/Myf5-) odtwarza pulę komórek satelitowych [5, 6, 56, 83, 87].

**Tabela 3.** Wpływ wysiłku fizycznego na stężenie całkowitego testosteronu (T) we krwi

| Wysiłek                                                                                   | Badani                                                  | Stężenie T                                                                                                                  | Piśmiennictwo |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|
| Półmaraton                                                                                | Biegacze długodystansowi<br>wiek $31,3 \pm 12,3$        | $\uparrow 2,5\%$ (po 24 godz. )                                                                                             | [101]         |
| Zawody triathlonowe (pływanie 1500 m, jazda na rowerze 36 km, bieg 10 km)                 | Triathloniści<br>wiek $32,8 \pm 3,1$                    | $\downarrow 47\%$ (1 godz. po wysiłku)<br>$\downarrow 35\%$ (12 godz. po wysiłku)<br>$\downarrow 5\%$ (48 godz. po wysiłku) | [92]          |
| 8 tyg. trening oporowy<br>3 x w tyg.                                                      | Mężczyźni ze zdiagnozowaną sarkopenią<br>wiek 55-77 lat | $\uparrow 2\%$                                                                                                              | [67]          |
|                                                                                           | Zdrowa grupa mężczyzn<br>wiek 55-77 lat                 | $\uparrow 15\%$                                                                                                             |               |
| 12 tyg. trening aerobowy na ergometrze<br>3x40 min w tyg.                                 |                                                         | $\uparrow 2\%$                                                                                                              |               |
| 12 tyg. trening aerobowy na ergometrze +<br>trening siłowy                                | Pacjenci z niewydolnością serca                         | $\downarrow 26\%$                                                                                                           | [1]           |
| 3x20 + 20 min w tyg.                                                                      |                                                         |                                                                                                                             |               |
| 15 min jazda na ergometrze<br>40% V02peak                                                 | Biegacze wytrzymałościowi<br>wiek $20,3 \pm 0,3$ lat    | $\uparrow 83\%$                                                                                                             | [82]          |
| 15 min jazda na ergometrze<br>70% V02peak                                                 |                                                         | $\uparrow 133\%$                                                                                                            |               |
| 15 min jazda na ergometrze<br>90% V02peak                                                 |                                                         | $\uparrow 450\%$                                                                                                            |               |
|                                                                                           |                                                         |                                                                                                                             |               |
| 15 min jazda na ergometrze<br>40% V02peak                                                 | Nietrenujący mężczyźni<br>wiek $22,0 \pm 0,9$ lat       | $\uparrow 125\%$                                                                                                            |               |
| 15 min jazda na ergometrze<br>70% V02peak                                                 |                                                         | $\uparrow 225\%$                                                                                                            |               |
| 15 min jazda na ergometrze<br>90% V02peak                                                 |                                                         | $\uparrow 337\%$                                                                                                            |               |
|                                                                                           |                                                         |                                                                                                                             |               |
| Trening HIIT (4 x 4 min + 3 min odpoczynek)<br>Trening HVT (90 min)                       | Rowerzyści<br>wiek $14,0 \pm 1$                         |                                                                                                                             | [45]          |
| Bieg 75% HR – strefa tlenowa<br>Bieg 85% HR – strefa beztlenowa<br>wysiłek do wyczerpania | Piłkarze nożni<br>wiek $17,08 \pm 1,09$ lat             | $\uparrow$ ok. 120%<br>$\uparrow$ ok. 50%                                                                                   | [14]          |
| 19-dniowy obóz sportowy, specjalistyczny<br>trening                                       | Kajakarze<br>wiek $22,7 \pm 2,6$ lat                    | $\uparrow 5\%$                                                                                                              | [89]          |
| 15 min bieg na poziomie<br>65-75% HRmax                                                   | Uczniowie<br>wiek 14-15 lat                             | $\uparrow 29\%$                                                                                                             | [97]          |
| 5 tyg. intensywny trening przygotowujący do<br>startów/turniej                            | Tenisści<br>wiek $18,5 \pm 0,4$ lat                     | $\uparrow 13\%$                                                                                                             | [31]          |
| 6 tyg. wysiłek na poziomie<br>70-80% HRmax                                                | Mężczyźni<br>wiek $62,5 \pm 5,3$ lat                    | $\uparrow 28\%$                                                                                                             | [35]          |
| 14 tyg. intensywny trening przygotowujący<br>do zawodów lekkoatletycznych                 | Biegacze średniodystansowi<br>wiek $18,92 \pm 1,72$ lat | $\uparrow 5\%$                                                                                                              | [37]          |
| 60 min. trening siatkarski                                                                | Siatkarze<br>wiek $16,3 \pm 1,1$ lat                    | $\uparrow 14\%$                                                                                                             | [68]          |
| 10 tyg.<br>trening siłowy                                                                 | Mężczyźni<br>wiek 19-42 lat                             | $\uparrow 20\%$                                                                                                             | [9]           |



**Ryc. 2.** Schemat interakcji testosteronu z czynnikami regulującymi syntezę białka i hipertrofię mięśni, jak miostatyna (hamowanie), insulinopodobny czynnik wzrostu IGF-1 (stymulacja); Akt - serynowo-treoninowa kinaza białkowa, AR – wewnątrzkomórkowy receptor androgenowy, FOXO – rodzina czynników transkrypcyjnych, GR – receptor glukokortykoidowy, IGF-1 - insulinopodobny czynnik wzrostu 1, MyoD – białko determinujące mioblast [47, 48, 63]

Odbudowa włókien mięśniowych nie zawsze przebiega w sposób prawidłowy. Zaburzenia regeneracji mięśni szkieletowych obserwuje się u pacjentów cierpiących na choroby mięśniowe, takie jak dystrofie mięśniowe, rdzeniowy zanik mięśni, choroby nowotworowe lub przewlekła niewydolność nerek, które objawiają się stopniowym osłabieniem i zanikiem mięśni szkieletowych. Analiza proteomiczna ścieżek sygnalizacyjnych obejmujących wymienione czynniki transkrypcyjne dostarcza potencjalnych biomarkerów charakteryzujących się większą swoistością i czułością w porównaniu z dotychczas stosowanymi markerami białkowymi, np. kinaza kreatynowa, troponina, mioglobina czy miostatyna stosowanymi w diagnostyce chorób degeneracyjnych mięśni szkieletowych. Porównanie profili proteomicznych osób zdrowych i chorych, umożliwi w przyszłości wykrywanie zmian patologicznych tkanki mięśniowej, ujawniających się na poziomie komórkowym, przed wystąpieniem zmian klinicznych [30, 73, 102].

## UDZIAŁ TESTOSTERONU W REGENERACJI MIĘŚNI SZKIELETOWYCH

Testosteron (T) jest hormonem steroidowym wytwarzanym głównie przez komórki Leydiga (5-7 mg na dobę). Około 98% krążącego we krwi testosteronu występuje w postaci związanej z białkami, jedynie 1-2% to wolny

– biologicznie aktywny testosteron. Bezpośredni wpływ na stężenie testosteronu, zarówno u kobiet jak i u mężczyzn, mają zmiany stężenia beta-globuliny osocza wiążącej hormony płciowe (sex hormone-binding globulin, SHBG). T niezwiązany z SHBG nazywany jest testosteronem biodostępnym [47, 63, 84]; wpływa na mięśnie szkieletowe aktywując wewnątrzkomórkowy receptor androgenowy (androgen receptor, AR), który pełni funkcję czynnika transkrypcyjnego (ryc. 2). W nieobecności testosteronu, AR jest związany z czaperonem Hsp90 (heat shock protein 90). Aktywowany AR wiąże się do sekwencji DNA zwanej elementem odpowiedzi hormonalnej HRE (hormone response element) inicjując ekspresję mięśniowej izoformy czynnika IGF-1Ec, który nasila syntezę białka i stymuluje procesy naprawcze, reguluje gospodarkę węglowodanowo-lipidową, przyspiesza wzrost komórki oraz hamuje apoptozę. AR zwiększa także ekspresję miogennych czynników regulatorowych MRF kontrolujących proces różnicowania mioblastów i dojrzewanie miotub. Białka MRF tworzą z innymi czynnikami transkrypcyjnymi kompleksy, które uruchamiają syntezę wielu białek mięśniowych, takich jak desmina, lekkie i ciężkie łańcuchy miozyny, kinaza kreatynowa, receptor acetylocholino i in. Aktywowany AR osłabia ekspresję miostatyny, która jest negatywnym regulatorem proliferacji SCs oraz hamuje ekspresję FoxO3 (forkhead box protein O3) należącego do rodziny czynników

**Tabela 4.** Wpływ wysiłku fizycznego na stężenie insulinopodobnego czynnika wzrostu I (IGF-I) we krwi

| WYSIŁEK                                                                                                                 | BADANI                                                                                      | STĘŻENIE IGF-I                                                                      | PIŚMIENICTWO |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------|
| 16 tyg. Taekwondo<br>5x60 min w tyg.                                                                                    | Kobiety<br>wiek $\geq 65$ lat                                                               | $\uparrow 7\%$                                                                      | [18]         |
| 8 tyg. trening oporowy<br>3 x w tyg.                                                                                    | Mężczyźni ze zdiagnozowaną<br>sarkopenią<br>wiek 55-77 lat                                  | $\downarrow 2\%$<br>$\uparrow 6\%$                                                  | [67]         |
| 12 tyg. Oporowy<br>3 x w tyg.<br>15 min (8 ćwiczeń po 10-15 powtórzeń x 1)<br>45 min (8 ćwiczeń po 10-15 powtórzeń x 3) | Kobiety<br>wiek $\geq 60$ lat                                                               | $\uparrow 7\%$<br>$\uparrow 10\%$                                                   | [25]         |
| 16 tyg. trening aerobowy (40-65% HR max)<br>30-60 min + trening oporowy (40-60% 1RM)<br>3x w tyg.                       | Mężczyźni chorzy na cukrzycę<br>wiek 55-70 lat                                              | $\uparrow 16\%$                                                                     | [4]          |
| 3-miesięczny trening interwałowy<br>3x30 min w tyg.                                                                     | Kobiety i mężczyźni<br>wiek $68,4 \pm 4,3$ lat                                              | $\downarrow 2\%$                                                                    | [50]         |
| Test Wingate                                                                                                            | Mężczyźni<br>wiek $20,23 \pm 0,97$ lat                                                      | $\uparrow 13\%$                                                                     | [24]         |
| 16 tyg. okres kontrolny – brak ćwiczeń<br>16 tyg. trening siłowy,<br>3 razy w tyg.                                      | Pacjenci dializowani<br>wiek $>18$ lat                                                      | $\uparrow 21\%$<br>$\downarrow 18\%$                                                | [60]         |
| Ćwiczenia ekscentryczne<br>zginaczy łokcia<br>10 serii po 6 pełnych skurczy<br>5 serii po 6 pełnych skurczy             | Nietrenujący mężczyźni<br>wiek $20,1 \pm 0,4$ lat                                           | $\uparrow 20\%$<br>$\uparrow 3\%$                                                   | [93]         |
| 12 tyg. trening sztuk walki<br>3 x 60 min w tyg. o intensywności 50-70% HR<br>max                                       | Kobiety z nadwagą (BMI $\geq 25$<br>kg/m <sup>2</sup> ) wiek $41,4 \pm 5,5$ lat             | $\uparrow 7\%$                                                                      | [19]         |
| 12 tyg. trening oporowy<br>2 x 60-80 min w tyg.                                                                         | Mężczyźni<br>wiek $74,0 \pm 1,2$ lat<br>Kobiety<br>wiek $76,7 \pm 1,2$ lat                  | $\downarrow 12\%$<br>$\downarrow 4\%$                                               | [70]         |
| 8 tyg. trening wytrzymałościowy                                                                                         | Kobiety<br>wiek $20,2 \pm 2,1$ lat                                                          | $\downarrow 2\%$ (w trakcie wysiłku)<br>$\uparrow 1\%$ (po treningu)                |              |
| 8 tyg. trening siłowy                                                                                                   |                                                                                             | $\uparrow 4\%$ (w trakcie wysiłku)<br>$\uparrow 7\%$ (po treningu)                  | [69]         |
| 8 tyg. trening wytrzymałościowy i siłowy                                                                                |                                                                                             | $\uparrow 2\%$ (w trakcie wysiłku)<br>$\uparrow 3\%$ (po treningu)                  |              |
| Test o wzrastającej intensywności<br>do odnowy na cykloergometrze                                                       | Rowerzyści z przerostem<br>mięśnia lewej komory serca<br>wiek $22,5 \pm 1,3$ lat            | $\uparrow 10\%$                                                                     |              |
|                                                                                                                         | Rowerzyści z prawidłową<br>masą mięśnia lewej komory<br>serca<br>wiek $21,8 \pm 2,2$ lat    | $\uparrow 26\%$                                                                     | [106]        |
|                                                                                                                         | Grupa kontrolna<br>wiek $20,9 \pm 0,9$ lat                                                  | $\uparrow 36\%$                                                                     |              |
| Test Wingate                                                                                                            | Trenujący mężczyźni<br>wiek $59 \pm 1$ rok<br>Nietrenujący mężczyźni<br>wiek $58 \pm 1$ rok | $\uparrow 25\%$<br>$\uparrow 8\%$                                                   | [3]          |
| 30 – min test na ergometrze wiosłarskim;<br>maksymalny dystans                                                          | Wioślarze<br>wiek $22,8 \pm 4,5$                                                            | $\uparrow 8\%$ (bezpośrednio po wysiłku)<br>$\downarrow 22\%$ (30 minut po wysiłku) | [43]         |

transkrypcyjnych FOXO katabolicznych (forkhead box-containing). Ponadto T reguluje stosunek liczby włókien szybko- (MHC-IIa i MHC-IIx) do wolnokurczących się (MHC-I), w zależności od ekspresji AR w komórkach satelitowych [48, 57, 74]. Englund i wsp. [28] wykazali niedawno, że działanie genomowe i niegenomowe testosteronu w obrębie tkanki mięśniowej jest wystarczające do wywołania wzrostu mięśni szkieletowych i nie wymaga zwiększenia liczby SCs. Autorzy wskazują nowe możliwości terapeutyczne T wspomagające regenerację mięśni szkieletowych, zwłaszcza przy obniżonej liczbie SCs obserwowanej w starzejących się mięśniach [28]. Obniżenie stężenia T z wiekiem osłabia aktywność transkrypcyjną miogennych czynników regulatorowych oraz nasila ekspresję miostatyny, co zaburza funkcję mięśni szkieletowych u osób starszych [48, 57, 74].

Silnym czynnikiem oddziaływającym na syntezę i zmiany stężenia wolnego T we krwi jest czas wykonywanego wysiłku fizycznego. Największe zmiany obserwowano przy wysiłkach fizycznych trwających 1-3 godzin. Natomiast obniżenie stężenia T następowało, gdy wysiłek fizyczny trwał powyżej 3 godzin (tab. 3). W czasie jednorazowego wysiłku fizycznego wyższy wzrost stężenia T wykazano we krwi nietreningujących osób niż osób regularnie podejmujących aktywność fizyczną.

Stosowanie ćwiczeń siłowych w treningu zdrowotnym zwiększa stężenie całkowitego i wolnego T oraz liczbę SCs i mioblastów osłabiając starzenie się mięśni szkieletowych. U starszych mężczyzn podjęto próby podawania testosteronu, jako profilaktykę sarkopenii. Spadek stężenia T u mężczyzn powyżej 65 lat wynosi 1-2% rocznie. Utrzymywanie stężenia T we krwi 500-1000 ng/dL przez domięśniową iniekcję (100 mg/tydzień przez 4 tyg.), zwiększa syntezę białek mięśniowych, a także czynnika wzrostu IGF-1 oraz siłę skurczu mięśni ocenianą za pomocą ręcznego dynamometru izokinetycznego [22, 26]. Jednak stosowanie steroidów anaboliczno-androgennych wiąże się z poważnymi komplikacjami zdrowotnymi u starszych mężczyzn, takimi jak zaburzenia funkcji gruczołu krokowego łącznie z transformacją nowotworową oraz wzrost wartości hematokrytu >50%, co może nasilić dysfunkcję śródbłónka i zwiększyć ryzyko chorób sercowo-naczyniowych [7]. Wskazuje to, że regularna aktywność fizyczna jest najbardziej bezpiecznym sposobem utrzymania optymalnego stężenia T, zadowalającej masy i siły mięśni szkieletowych oraz uniknięcia chorób towarzyszących starzeniu się i niepełnosprawności w starszym wieku.

### WSPÓŁDZIAŁANIE TESTOSTERONU Z IGF-1 WE WZROŚCIE I REGENERACJI MIĘŚNI SZKIELETOWYCH

Testosteron tworząc kompleks z AR inicjuje ekspresję czynnika IGF-1 i hamuje wydzielanie IGFBP-4 (IGF-bond protein), który tłumi fizjologiczne działanie IGF-1. Obniżenie z wiekiem stężenia testosteronu zaburza oddziaływanie IGF-1 na mięśnie, a to nasila sarkopenię [53].

Insulinopodobny czynnik wzrostu jest wydzielany do krążenia głównie z wątroby (izoforma IGF-1Ea) pod wpływem hormonu wzrostu (human growth hormone, hGH)

i uczestniczy w jego anabolicznym i miogennym działaniu [94, 95]. Wątrobowa synteza IGF-1 stanowi 50% całkowitej puli obwodowego insulinopodobnego czynnika, pozostała część pochodzi z makrofagów, komórek śródbłónka i mięśni gładkich. IGF-1 wytwarzany w mięśniach szkieletowych (izoforma IGF-1Ec zwana mechanicznym czynnikiem wzrostu) działa wyłącznie w sposób auto- i parakrynowy stymulując proliferację SCs i różnicowanie mioblastów [100]. Interakcja między krążącym a mięśniowym IGF-1 może odgrywać ważną rolę w regulacji masy ciała [95].

IGF-1 oddziałuje na mięśnie przez receptory błonowe IGF-1 (insulin-like growth factor-1 i 2 receptors, IGF-1R). Związanie IGF-1 z receptorem IGF-1R aktywuje kaskady kinaz aktywowanych mitogenami MAPK (mitogen-activated kinase), a dokładnie kinazy regulowanej zewnątrzkomórkowo ERK1/2 (extracellular signal regulated kinase). Funkcjonalnym następstwem aktywacji kinazy ERK1/2 przez czynniki wzrostowe jest aktywacja biogennych czynników regulatorowych MyoD, miogenina, Myf5 i MRF4, które aktywują transkrypcję swoistych dla mięśni genów. Miogenne czynniki transkrypcyjne podlegają ekspresji w określonej kolejności w komórkach miogennych: Myf5 i MyoD ulegają zazwyczaj ekspresji wcześniej, następnie jest syntetyzowana miogenina i jako ostatni MRF4. Ta kolejność ekspresji czynników miogennych określa wczesne (Myf5/MyoD) i późne (miogenina/MRF4) etapy w regeneracji mięśni szkieletowych. Jest to także związane z funkcjami, jakie pełnią te czynniki w rozwoju i regeneracji mięśni: MyoD i Myf5 odgrywają rolę w transformacji komórek mięśniowych, miogenina kontroluje proces różnicowania mioblastów, natomiast MRF4 jest związany z dojrzewaniem miotub. Zastosowanie inhibitora kaskady MAPK, PD 098059 (specific inhibitor of the activation of MAPK), znosi oddziaływanie IGF-1 na mioblasty [33, 38, 53, 57, 87, 94].

Podczas ćwiczeń fizycznych, mięśnie nie tylko wytwarzają więcej IGF-1, ale również wykorzystują w większym stopniu krążący IGF-1 pochodzący z wątroby, komórek immunologicznych lub śródbłónka [84]. Wysiłek fizyczny jest silnym czynnikiem oddziałującym na syntezę i wzrost stężenia IGF-1 we krwi (tab. 4).

Około 95% krążącego IGF-1 występuje w kompleksach z IGFBP-3 i kwasowo labilną podjednostką ALS (acid-labile subunit). Pozostała część jest związana z innymi białkami; mniej niż 1% występuje w postaci niezwiązanej. Kompleksy IGF-1, IGFBP-3 i ALS nie są zdolne do przekraczania bariery naczyń włosowatych, ale odgrywają ważną rolę w stabilizacji cząsteczki, tj. wydłużają okres półtrwania IGF-1 z kilku minut do około 12-15 godzin [95]. Istotne jest to, że w uszkodzonych mięśniach aktywności anabolicznej IGF-1 towarzyszy wysoka ekspresja miostatyny hamując proliferację SCs, różnicowanie mioblastów i regenerację włókien mięśniowych. Blokowanie aktywności miostatyny m.in. przez zwiększenie ekspresji jej antagonisty – folistatyny, może być nową terapią w dystrofiach mięśniowych i poważnie uszkodzonych mięśniach [87].

Postępujące z wiekiem obniżenie stężenia IGF-1 i IGFBP-3, wzrost stosunku IGF-1 do IGFBP-3 jest związane z procesem

starzenia tkanek, zaburzeniami funkcji układu mięśniowego i układu krążenia oraz zwiększonym ryzykiem chorób nowotworowych, neurodegeneracyjnych i osteoporozy [38, 98, 99]. Dlatego podjęto próby stosowania rekombinowanej postaci IGF-1 (recombinant insulin-like growth factor, rhIGF-1) w iniekcji podskórnej. Badania przeprowadzone w grupie kobiet w wieku powyżej 70 r.ż. wykazały, że stosowanie rhIGF-1 powoduje wzrost beztłuszczowej masy ciała i obniżenie tkanki tłuszczowej. W grupie, w której podawano wysokie dawki rhIGF-1, zmianom anabolicznym towarzyszyły liczne działania niepożądane, w tym bóle głowy, letarg, obrzęki, bóle stawów i wzdęcia [90]. Ze względu na działanie podobne do insuliny najczęstszym skutkiem niepożądanym egzogenego IGF-1 jest hipoglikemia [17, 40]. Stosowanie IGF-1 oraz innych czynników anabolicznych, tj. T i hGH, powinno być ograniczone wyłącznie do niezbędnego leczenia [42]. rhIGF-1 stosuje się jako długoterminową terapię u pacjentów cierpiących na zespół Larona [17, 40] oraz u osób chorych na dystrofię miotyczną typu 1 (myotonic dystrophy type 1, DM1) [36, 96]. W starzeniu się mięśni najbardziej skuteczną metodą utrzymania optymalnego poziomu ekspresji IGF-1 jest regularna aktywność fizyczna [15]. Zapobiega to nie tylko obniżeniu liczby SCs, ale także usprawnia metabolizm węglowodanów [46].

## PRZYSZŁOŚĆ TERAPII Z UDZIAŁEM KOMÓREK SATELITOWYCH

Możliwości zastosowania komórek macierzystych w regeneracji tkanek doprowadziło do rozwoju transplantologii komórkowej. Sukces działania komórek macierzystych zależy od takich czynników, jak rodzaj zastosowanych komórek i potencjał miogenny, sposób podania oraz zdolności do przeżycia w organizmie biorcy. Pierwsze doświadczenia z przeszczepianiem SCs przeprowadzono pod koniec lat 70 ub.w. na modelach zwierzęcych, a w latach 90 ub.w. wykonano pierwsze próby kliniczne. Najwięcej badań dotyczy przeszczepów komórkowych w dystrofiach mięśniowych i niewydolnego mięśnia sercowego. Prowadzone są również badania nad wykorzystaniem komórek mięśniowych w nietrzymaniu moczu [11].

Mimo doskonalenia technik inżynierii tkankowej, przeprowadzenie transplantacji komórkowych nadal wiąże się z poważnymi problemami, np. słaba przeżywalność mioblastów spowodowana silną reakcją zapalną i immunologiczną biorcy, generacja reaktywnych form tlenu i apoptoza oraz brak możliwości dystrybucji przeszczepionych komórek w organizmie [71]. W pierwszych badaniach prowadzonych w latach 90 ub.w. określono przeżywalność mioblastów na poziomie 1% po 4 dniach od przeszczepu po podaniu bezpośrednio do mięśnia nawet dużej liczby komórek 100-500 tys. [8, 76]. W innych badaniach dziesięciu chłopców z dystrofią mięśniową Duchenne'a po wstrzyknięciu 100 milionów mioblastów w mięsień piszczelowy przedni tylko u jednego pacjenta stwierdzono obecność przeszczepionych komórek 6 miesięcy po zabiegu, mimo ciągłego stosowania cyklosporyny [58]. Oznacza to, że czas przeżycia komórek po transplantacji jest ograniczony nawet wówczas, gdy

reakcja immunologiczna biorcy jest hamowana. Comiesięczne nastrzykiwanie dystroficznych mięśni zdrowymi mioblastami nie doprowadziło do poprawy stanu pacjenta [54]. Późniejsze badania wykazały, że długotrwała hodowla *in vitro* mięśniowych komórek prekursorowych obniża ich przeżywalność po przeniesieniu do organizmu biorcy [62, 78, 80]. Powtarzane pasażowanie zmienia fenotyp linii potomnych komórek satelitowych, które wykazują skłonność do nieswoistego różnicowania i niskiego poziomu ekspresji białka Pax7 [34].

W celu zwiększenia efektywności transplantacji wykonuje się przeszczepy autologiczne, podejmuje się próby osłabienia reakcji zapalnej przez zastosowanie przeciwciał skierowanych przeciwko cytokinom prozapalnym, głównie przeciw cytokinie IL-1 $\beta$  (interleukin 1 beta), której stężenie wzrasta w ciągu 24 godzin po przeszczepie. Ogranicza adhezję neutrofili i limfocytów blokując aktywność cząsteczek adhezyjnych, takich jak selektyny i integryny. Stosuje się preinkubację z antyoksydantami, takich jak N-acetylocysteina, askorbinian lub dysmutaza ponadtlenkowa, co ogranicza stres oksydacyjny i dwukrotnie zwiększa przeżywalność komórek po reimplantacji [39, 72]. Zwiększenie potencjału miogenego uzyskuje się także przez selekcję komórek podczas hodowli lub hodowle mieszane. Zaobserwowano, że najlepiej przeżywają komórki, które najwolniej przylegały do podłoża i wykazywały ekspresję desminy w 75% populacji. Dla porównania, komórki wykazujące ekspresję desminy w ponad 95% populacji, gwałtownie ginęły po przeszczepie (utrata 96% komórek w ciągu 48 godz.) [75]. Kokultury zapewniają bezpośredni kontakt komórek macierzystych pochodzących z różnych tkanek z mioblastami, dzięki czemu mają szansę odpowiedzieć na czynniki wydzielane przez mioblasty, np. IGF-1 i rozpocząć różnicowanie [85].

Innym sposobem zwiększenia potencjału miogenego komórek jest wykorzystanie w hodowlach macierzy zewnątrzkomórkowej (extracellular matrix, ECM), która w warunkach *in vivo* tworzy rusztowanie zapewniające właściwą strukturę komórek i tkanek oraz miejsce magazynowania czynników wzrostu. Składniki ECM przez wiązanie czynników wzrostu regulują ich dostępność i aktywność w tkance, modyfikując tym samym ich wpływ na mioblasty czy włókna mięśniowe. Głównymi składnikami ECM w mięśniach szkieletowych są kolagen typu I, III, IV, laminina, tenascyna, fibronektyna oraz siarczan dermatanu i siarczan heparanu, które pełnią funkcję strukturalną i wpływają również na adhezję, migrację i fuzję mioblastów [41, 66]. Hodowle SCs i mioblastów otulone ECM zawierającą 72% kolagenu mają większą aktywność proliferacyjną w porównaniu do kultur komórkowych w pożywce niezawierającej kolagenu typu I. Hodowle w ECM zawierającą laminę wykazują wyższą ekspresję Pax7 w porównaniu do hodowanych w obecności kolagenu, żelatyny i fibronektyny [87].

Głównymi cząsteczkami regulatorowymi w tworzeniu, przebudowie i degradacji składników macierzy zewnątrzkomórkowej są metaloproteinazy macierzy (matrix metalloproteinase, MMP). W mięśniach szkieletowych

MMP odgrywają ważną rolę w utrzymaniu homeostazy i integralności miofibryli poprzez rozkład ECM i regulację migracji, różnicowania oraz regeneracji komórek [12, 16]. Białka macierzy zewnątrzkomórkowej oddziałują bezpośrednio z receptorami na powierzchni komórki, inicjując szlaki przekazywania sygnałów [88]. W wyniku uszkodzenia włókien mięśniowych dochodzi do degradacji białek ECM i uwolnienia różnych czynników wzrostu związanych z ECM w tym IGF-1 [2, 10]. MMP są odpowiedzialne za uaktywnienie czynników wzrostu, które są związane z powierzchnią komórek. IGF-1 związany z białkami IGFBP tworzy nieaktywne kompleksy, które uniemożliwiają wiązanie się z receptorami (IGF-1R). Proteoliza IGFBP może regulować biodostępność IGF-1, hamując i/lub wzmacniając jego aktywność w wielu typach komórek [52]. Wykazano, że kompleks IGFBP-1 ulega degradacji przez MMP-11, IGFBP-3 przez MMP-1, MMP-2 i MMP-3, a IGFBP-5 przez MMP-1 i MMP-2. Biodostępny IGF-1 indukuje proces proliferacji komórek. Białka IGFBP, oprócz zdolności do regulowania dostępu IGF do receptorów, mogą się wiązać z odrębnymi białkami powierzchniowymi lub białkami w macierzy pozakomórkowej, a te interakcje mają wpływ na wiele funkcji komórkowych [20].

Wykorzystuje się także techniki inżynierii genetycznej, takie jak transferowanie podawanych mioblastów genem kodującym antagonistę receptora interleukiny-1 $\beta$  lub genem kinazy Akt (serine/threonine-specific protein kinase), a to chroni komórki przed niszczącym działaniem czynników apoptotycznych. Zaobserwowano, że wymienione zabiegi znacznie zmniejszają odsetek komórek ginących po 48, 72 i 120 godzinach od transplantacji. Opracowuje się również metody uodparniania przeszczepionych komórek bez konieczności stosowania terapii genowej. Jak wcześniej wspomniano może to być tzw. hartowanie, czyli poddawanie komórek działaniu czynników fizycznych, wysokiej temperaturze (42–43°C) lub hipoksji, które stymulują ekspresję białek ochronnych Hsp [39, 49]. Liu i wsp. [49] zaobserwowali wzrost ekspresji białka Pax7 i samoodnawiania się po zastosowaniu w hodowli mioblastów atmosfery zawierającej 2% tlenu.

Podejmowane są także próby poszukiwania populacji somatycznych komórek macierzystych, które mogłyby znaleźć zastosowanie w rekonstrukcji mięśni szkieletowych. Duże nadzieje na wykorzystanie w chorobach mięśni wiąże się z komórkami macierzystymi pochodzącymi z naczyń krwionośnych o fenotypie CD133+. Komórki te są zdolne do migracji w naczyniach krwionośnych i zasiedlania niemal wszystkich obszarów mięśni szkieletowych. Hodowane z mioblastami są zdolne do rozpoczęcia różnicowania miogenicznego wyrażonego ekspresją Pax7, Myf5, M-kadheryna i CD34. Wprowadzenie ich do krwioobiegu dystroficznych myszy poprawiło regenerację mięśni, utworzyło przez komórki CD133+ włókna wytwarzające dystrofina oraz zasiedliło przez nie niszy SCs. Obecność komórek CD133+ w mięśniach wpłynęła także na wzrost siły skurczu mięśni [6, 91]. Potencjał miogeniczny komórek CD133+ potwierdzono w innych badaniach [55].

W 2005 r. po raz pierwszy opisano zdolność komórek macierzystych pochodzących ze zrębu tkanki tłuszczowej (adipose-derived stem cells, adipose-derived stromal cells, ADSCs) do regeneracji mięśni i ekspresji dystrofiny w mysim modelu dystrofii Duchenne’a (Duchenne muscular dystrophy, DMD) [79]. Obecnie badania obejmują zastosowania ADSCs w regeneracji uszkodzonych miocytów. W rozległych uszkodzeniach mięśni szkieletowych pula endogennych komórek macierzystych, tj. komórek satelitowych może być niewystarczająca do zapewnienia prawidłowej regeneracji. Zaburzona rekonstrukcja włókien mięśniowych często jest związana z utratą masy mięśniowej oraz nadmiernym tworzeniem się tkanki łącznej. Terapie mające na celu poprawę regeneracji mięśni szkieletowych i zapobieganie zwłóknieniu mogą polegać na przeszczepie różnych rodzajów komórek macierzystych zdolnych do różnicowania miogenicznego. Wśród takich komórek są ADSC, które są stosunkowo łatwe do wyizolowania, hodowli i manipulacji [32].

Potencjał miogenny komórek zrębowych pochodzących z tkanki tłuszczowej udokumentowano zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*, po przeszczepie do mięśni myszy mdx (mouse-the genetic homologue of Duchenne muscular dystrophy). Mysz mdx jest najczęściej wykorzystywanym zwierzęcym modelem DMD. Obserwuje się u nich mutację w eksonie 23, która prowadzi do powstania skróconego białka dystrofiny we włóknach mięśni szkieletowych. Wyniki eksperymentów *in vivo* wykazały, że miogenne progenitory pochodzące z ADSC można wszczepić w mięsień i przyczynić się do regeneracji miofibryli, czego dowodem są dystrofina i podwójnie dodatnie miowłókna GFP (green fluorescent protein) wykryte do 12 tygodni po przeszczepie. Sugeruje to, że mają one długotrwały potencjał terapeutyczny. Oprócz udziału w regeneracji miofibryli przeszczepione komórki ADSC uzupełniają pulę komórek satelitowych [105]. Potwierdza to, że komórki te mogą skolonizować tkankę i uczestniczyć w jej regeneracji. Niektóre badania sugerują, że ADSC są bardziej podatne na różnicowanie miogeniczne niż komórki macierzyste szpiku kostnego (bone marrow stem cell, BM-MSC). Przeszczep tych komórek do uszkodzonych włókien mięśniowych często poprawia regenerację przez ich właściwości immunomodulujące [32]. W kilku pracach wykazano obiecujące dane dotyczące udziału ADSC w odbudowie uszkodzonych mięśni szkieletowych. Identyfikacja nowych protokołów i narzędzi może pomóc w przyspieszeniu regeneracji mięśni [29].

Zwrócono także uwagę na populację komórek interstycjalnych (interstitial cells, PICs) rezydujących w mięśniach szkieletowych. PICs charakteryzują się wyższym potencjałem regeneracyjnym i samoodnawialnością niż do tej pory badane komórki macierzyste wykorzystywane w rekonstrukcji mięśni szkieletowych. Cechą charakterystyczną tych komórek jest brak ekspresji czynnika transkrypcyjnego Pax7, natomiast ekspresja czynnika PW1 współuczestniczącego w regulacji szlaku sygnalizacyjnego NF $\kappa$ B /TNF- $\alpha$  [59]. Odkrycie komórek Pax7-/PW1+ jest nadzieją na poprawę efektywności transplantacji komórek macierzystych w chorobach degeneracyjnych i pourazowej rekonstrukcji mięśni szkieletowych [23].

## PODSUMOWANIE

Badania proteomu mięśni szkieletowych prowadzone od 2017 roku potwierdziły, że mięśnie są tkanką niezwykle plastyczną pod względem zmian metabolicznych i adaptacji do zmieniających się warunków wzrostu i odbudowy uszkodzonych włókien mięśniowych [73]. Regeneracja mięśni szkieletowych zależy od wewnętrznej sygnalizacji, a także od interakcji między SCs a ECM, która w warunkach *in vivo* tworzy rusztowanie zapewniające właściwą strukturę komórek i tkanek oraz miejsce magazynowania czynników wzrostu. Komórki satelitarne obecne w dojrzałych mięśniach szkieletowych pozostają w stanie spoczynku do momentu ich aktywacji pod wpływem ćwiczeń fizycznych lub urazów mięśni. Jednak w takich sytuacjach, jak starzenie się, dystrofia mięśniowa czy choroby wyniszczające, pula aktywnych proliferacyjnie SCs ulega wyczerpaniu, co skutkuje osłabieniem procesów regeneracyjnych, obniżeniem masy i siły skurczu mięśni szkieletowych [56, 66]. Proces odbudowy uszkodzonych mięśni jest kontrolowany przez wiele czynników immuno-endokrynnych, a ważną rolę w tym procesie odgrywa T i IGF-1. Niezależne ścieżki sygnalizacyjne T i IGF-1 oraz interakcja między mięśniową izoformą IGF-1Ec a AR wpływają na aktywację, proliferację, różnicowanie SCs i fuzję mioblastów [47]. Wyjaśnienie zależności pomiędzy sygnalizacją IGF-1 a niegenomową aktywnością AR jest istotne dla opracowania efektywnych terapii przeciwdziałających sarkopenii i zapobiegających niepełnosprawności pacjentów z postępującym osłabieniem i zanikiem mięśni. Kilka lat temu podjęto próby podawania testosteronu i rhIGF-1, jednak

pojawiające się komplikacje zdrowotne powstrzymały dalsze próby kliniczne. Do tej pory najbardziej bezpieczną metodą utrzymania optymalnego stężenia testosteronu i IGF-1 jest regularna aktywność fizyczna, która zapobiega obniżeniu liczby SCs i osłabieniu potencjału regeneracyjnego mięśni zarówno u osób młodych, jak i starszych [7, 15, 26, 90].

W ostatnich latach zwrócono uwagę na wykorzystanie SCs w medycynie regeneracyjnej i molekularnej szczególnie w chorobach degeneracyjnych i pourazowej rekonstrukcji mięśni szkieletowych. Udział SCs w odbudowie uszkodzonych włókien mięśniowych może być wspomagany przez komórki CD133+ i ADSCs oraz rezydujące w mięśniach komórki interstycjalne PICs. Wprowadzenie PICs do uszkodzonego mięśnia inicjuje w sposób parakrynnny wydzielanie cytokiny IL-6 oraz czynników wzrostu, tj. IGF-1, FGF, HGF i 1TGF-β. Czynniki te inicjują proliferację i różnicowanie komórek progenitorowych mięśni szkieletowych oraz stymulują angiogenezę, prowadząc do przyspieszonej odbudowy miofibryli [11, 22, 23, 55, 105].

Potencjał regeneracyjny mięśni szkieletowych jest w dużej mierze determinowany przez mikrośrodowisko komórek macierzystych. Dlatego w celu zwiększenia skuteczności terapii komórkowej stosowane są w hodowlach specjalne rusztowania komórkowe, które stanowią tymczasowe zamienniki naturalnej macierzy zewnątrzkomórkowej. Powinny one zapewnić komórkom środowisko jak najbardziej zbliżone do naturalnego, determinujące i przyspieszające proces tworzenia nowej tkanki mięśniowej [41, 66, 87].

## PIŚMIENNICTWO

- [1] Agapitou V., Tzanis G., Dimopoulos S., Karatzanos E., Karga H., Nanas S.: Effect of combined endurance and resistance training on exercise capacity and serum anabolic steroid concentration in patients with chronic heart failure. *Hellenic. J. Cardiol.*, 2018; 59: 179-181
- [2] Allen D.L., Teitelbaum D.H., Kurachi K.: Growth factor stimulation of matrix metalloproteinase expression and myoblast migration and invasion in vitro. *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.*, 2003; 284: C805-C815
- [3] Amir R., Ben-Sira D., Sagiv M.: IGF-I and FGF-2 responses to Wingate anaerobic test in older men. *J. Sports. Sci. Med.*, 2007; 6: 227-232
- [4] Annibaldi G., Lucertini F., Agostini D., Vallorani L., Gioacchini A., Barbieri E., Guescini M., Casadei L., Passalia A., Del Sal M., Piccoli G., Andreani M., Federici A., Stocchi V.: Concurrent aerobic and resistance training has anti-inflammatory effects and increases both plasma and leukocyte levels of IGF-1 in late middle-aged type 2 diabetic patients. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2017; 2017: 3937842
- [5] Archacka K., Kowalski K.K., Brzóska-Wójtowicz E.: Czy komórki satelitarne są macierzyste? *Post. Bioch.*, 2013; 59: 205-218
- [6] Archacka K., Moraczewski J., Grabowska I.: Udział niemięśniowych komórek macierzystych w regeneracji mięśni szkieletowych. *Post. Biol. Komórki*, 2010; 37: 187-207
- [7] Basualto-Alarcón C., Varela D., Duran J., Maass R., Estrada M.: Sarcopenia and androgens: A link between pathology and treatment. *Front. Endocrinol.*, 2014; 5: 217
- [8] Beauchamp J.R., Morgan J.E., Pagel C.N., Partridge T.A.: Dynamics of myoblast transplantation reveal a discrete minority of precursors with stem cell-like properties as the myogenic source. *J. Cell. Biol.*, 1999; 144: 1113-1122
- [9] Bhasin S., Storer T., Berman N., Callegari C., Clevenger B., Phillips J., Bunnell T.J., Tricker R., Shirazi A., Casaburi R.: The effects of supraphysiologic doses of testosterone on muscle size and strength in normal men. *N. Engl. J. Med.*, 1996; 335: 1-7
- [10] Bosicki M., Lubkowska A.: Starzenie się a ekspresja metaloproteinaz macierzy zewnątrzkomórkowej w mięśniach. *Pomeranian J. Life. Sci.*, 2019; 65: 105-112
- [11] Burdzińska A., Berwid S., Orzechowski A.: Transplantacje komórek mięśniowych – oczekiwania, możliwości i ograniczenia. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2005; 59: 299-308
- [12] Carmeli E., Moas M., Lennon S., Powers S.K.: High intensity exercise increases expression of matrix metalloproteinases in fast skeletal muscle fibres. *Exp. Physiol.*, 2005; 90: 613-619
- [13] Charifi N., Kadi F., Féasson L., Denis C.: Effects of endurance training on satellite cell frequency in skeletal muscle of old men. *Muscle Nerve*, 2003; 28: 87-92
- [14] Chaudhary S., Shenoy S.: Analysis of hormonal responses to aerobic and anaerobic zone training. *J. M. S. C. R.*, 2015; 3: 4677-4683
- [15] Chen H.T., Chung Y.C., Chen Y.J., Ho S.Y., Wu H.J.: Effects of different types of exercise on body composition, muscle strength, and IGF-1 in the elderly with sarcopenic obesity. *J. Am. Geriatr. Soc.*, 2017; 65: 827-832

- [16] Chen X., Li Y.: Role of matrix metalloproteinases in skeletal muscle: Migration, differentiation, regeneration and fibrosis. *Cell. Adh. Migr.*, 2009; 3: 337-341
- [17] Chernauek S.D., Backeljauw P.F., Frane J., Kuntze J., Underwood L.E., GH Insensitivity Syndrome Collaborative Group: Long-term treatment with recombinant insulin-like growth factor (IGF)-I in children with severe IGF-I deficiency due to growth hormone insensitivity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2007; 92: 902-910
- [18] Cho S.Y., Roh H.T.: Taekwondo enhances cognitive function as a result of increased neurotrophic growth factors in elderly women. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2019; 16: 962
- [19] Chyu M.C., Zhang Y., Brismée J.M., Dagda R.Y., Chaung E., Von Bergen V., Doctolero S., Shen C.L.: Effects of martial arts exercise on body composition, serum biomarkers and quality of life in overweight/obese premenopausal women: A pilot study. *Clin. Med. Insights Womens Health*, 2013; 6: 55-65
- [20] Clemmons D.R.: Role of IGF-binding proteins in regulating IGF responses to changes in metabolism. *J. Mol. Endocrinol.*, 2018; 61: T139-T169
- [21] Collins C.A., Olsen I., Zammit P.S., Heslop L., Petrie A., Partridge T.A., Morgan J.E.: Stem cell function, self-renewal, and behavioral heterogeneity of cells from the adult muscle satellite cell niche. *Cell*, 2005; 122: 289-301
- [22] Corotchi M.C., Popa M.A., Simionescu M.: Testosterone stimulates proliferation and preserves stemness of human adult mesenchymal stem cells and endothelial progenitor cells. *Rom. J. Morphol. Embryol.*, 2016; 57: 75-80
- [23] Cottle B.J., Lewis F.C., Shone V., Ellison-Hughes G.M.: Skeletal muscle-derived interstitial progenitor cells (PICs) display stem cell properties, being clonogenic, self-renewing, and multi-potent in vitro and in vivo. *Stem Cell. Res. Ther.*, 2017; 8: 158
- [24] Cui S.F., Li W., Niu J., Zhang C.Y., Chen X., Ma J.Z.: Acute responses of circulating microRNAs to low-volume sprint interval cycling. *Front Physiol.*, 2015; 6: 311
- [25] Cunha P.M., Nunes J.P., Tomeleri C.M., Nascimento M.A., Schoenfeld B.J., Antunes M., Gobbo L.A., Teixeira D., Cyrino E.S.: Resistance training performed with single and multiple sets induces similar improvements in muscular strength, muscle mass, muscle quality, and IGF-1 in older women: A randomized controlled trial. *J. Strength Cond. Res.*, 2020; 34: 1008-1016
- [26] Deane C.S., Hughes D.C., Sculthorpe N., Lewis M.P., Stewart C.E., Sharples A.P.: Impaired hypertrophy in myoblasts is improved with testosterone administration. *J. Steroid. Biochem. Mol. Biol.*, 2013; 138: 152-161
- [27] Dreyer H.C., Blanco C.E., Sattler F.R., Schroeder E.T., Wiswell R.A.: Satellite cell numbers in young and older men 24 hours after eccentric exercise. *Muscle Nerve*, 2006; 33: 242-253
- [28] Englund D.A., Peck B.D., Murach K.A., Neal A.C., Caldwell H.A., McCarthy J.J., Peterson C.A., Dupont-Verteegden E.E.: Resident muscle stem cells are not required for testosterone-induced skeletal muscle hypertrophy. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2019; 317: C719-C724
- [29] Forcales S.V.: Potential of adipose-derived stem cells in muscular regenerative therapies. *Front. Aging Neurosci.*, 2015; 7: 123
- [30] Fukada S.I.: The roles of muscle stem cells in muscle injury, atrophy and hypertrophy. *J. Biochem.*, 2018; 163: 353-358
- [31] Gomes R.V., Moreira A., Lodo L., Nosaka K., Coutts A.J., Aoki M.S.: Monitoring training loads, stress, immune-endocrine responses and performance in tennis players. *Biol. Sport*, 2013; 30: 173-180
- [32] Grabowska I., Zimowska M., Maciejewska K., Jablonska Z., Bazga A., Ozieblo M., Streminska W., Bem J., Brzoska E., Ciemerych M.A.: Adipose tissue-derived stromal cells in matrigel impacts the regeneration of severely damaged skeletal muscles. *Int. J. Mol. Sci.*, 2019; 20: 3313
- [33] Harridge S.D.: Plasticity of human skeletal muscle: Gene expression to in vivo function. *Exp. Physiol.*, 2007; 92: 783-797
- [34] Hashimoto H., Rebagliati M., Ahmad N., Muraoka O., Kurokawa T., Hibi M., Suzuki T.: The Cerberus/Dan-family protein Charon is a negative regulator of Nodal signaling during left-right patterning in zebrafish. *Development*, 2004; 131: 1741-1753
- [35] Hayes L.D., Grace F.M., Sculthorpe N., Herbert P., Ratcliffe J.W., Kilduff L.P., Baker J.S.: The effects of a formal exercise training programme on salivary hormone concentrations and body composition in previously sedentary aging men. *Springerplus*, 2013; 2: 18
- [36] Heatwole C.R., Eichinger K.J., Friedman D.I., Hilbert J.E., Jackson C.E., Logigian E.L., Martens W.B., McDermott M.P., Pandya S.K., Quinn C., Smirnow A.M., Thornton C.A., Moxley R.T.3rd: Open-label trial of recombinant human insulin-like growth factor-1/recombinant human insulin-like growth factor binding protein-3 (rhIGF-1/rhIGFBP-3) in myotonic dystrophy type 1. *Arch. Neurol.*, 2011; 68: 37-44
- [37] Hejazi K., Hosseini S.R.: Influence of selected exercise on serum immunoglobulin, testosterone and cortisol in semi-endurance elite runners. *Asian J. Sports Med.*, 2012; 3: 185-192
- [38] Higashi Y., Gautam S., Delafontaine P., Sukhanov S.: IGF-1 and cardiovascular disease. *Growth. Horm. IGF Res.*, 2019; 45: 6-16
- [39] Huard J., Gharraibeh B., Usas A.: Regenerative medicine based on muscle-derived stem cells. *Oper. Tech. Orthop.*, 2010; 20: 119-126
- [40] Itariu B.K., Zeyda M., Prager G., Stulnig T.M.: Insulin-like growth factor 1 predicts post-load hypoglycemia following bariatric surgery: A prospective cohort study. *PLoS One*, 2014; 9: e94613
- [41] Jung P., Zimowska M.: Metaloproteinyz macierzy zewnątrzkomórkowej w rozwoju, fizjologii i procesach degeneracyjnych mięśni szkieletowych. *Post. Bioch.*, 2016; 62: 25-35
- [42] Junnila R.K., List E.O., Berryman D.E., Murrey J.W., Kopchick J.J.: The GH/IGF-1 axis in ageing and longevity. *Nat. Rev. Endocrinol.*, 2013; 9: 366-376
- [43] Jürimäe J., Jürimäe T.: Leptin responses to short term exercise in college level male rowers. *Br. J. Sports Med.*, 2005; 39: 6-9
- [44] Kadi F., Schjerling P., Andersen L.L., Charifi N., Madsen J.L., Christensen L.R., Andersen J.L.: The effects of heavy resistance training and detraining on satellite cells in human skeletal muscles. *J. Physiol.*, 2004; 558: 1005-1012
- [45] Kilian Y., Engel F., Wahl P., Achtzehn S., Sperlich B., Mester J.: Markers of biological stress in response to a single session of high-intensity interval training and high-volume training in young athletes. *Eur. J. Appl. Physiol.*, 2016; 116: 2177-2186
- [46] Kim T., Chang J.S., Kim H., Lee K.H., Kong I.D.: Intense walking exercise affects serum IGF-1 and IGFBP3. *J. Lifestyle Med.*, 2015; 5: 21-25
- [47] Kraemer W.J., Ratamess N.A., Hymer W.C., Nindl B.C., Fragala M.S.: Growth hormone(s), testosterone, insulin-like growth factors, and cortisol: Roles and integration for cellular development and growth with exercise. *Front. Endocrinol.*, 2020; 11: 33
- [48] Kvorning T., Andersen M., Brixen K., Schjerling P., Suetta C., Madsen K.: Suppression of testosterone does not blunt mRNA expression of myoD, myogenin, IGF, myostatin or androgen receptor post strength training in humans. *J. Physiol.*, 2007; 578: 579-593
- [49] Liu W., Wen Y., Bi P., Lai X., Liu X.S., Liu X., Kuang S.: Hypoxia promotes satellite cell self-renewal and enhances the efficiency of myoblast transplantation. *Development*, 2012; 139: 2857-2865
- [50] Maass A., Düzel S., Brigadski T., Goerke M., Becke A., Sobieray U., Neumann K., Lövdén M., Lindenberger U., Bäckman L., Braun-Dullaeus R., Ahrens D., Heinze H.J., Müller N.G., Lessmann V., Sendtner M., Düzel

- E.: Relationships of peripheral IGF-1, VEGF and BDNF levels to exercise-related changes in memory, hippocampal perfusion and volumes in older adults. *Neuroimage*, 2016; 131: 142-154
- [51] Mackey A., Kjaer M., Dandanell S., Mikkelsen K.H., Holm L., Døssing S., Kadi F., Koskinen S.O., Jensen C.H., Schrøder H.D., Langberg H.: The influence of anti-inflammatory medication on exercise-induced myogenic precursor cell response in humans. *J. Appl. Physiol.*, 2007; 103: 425-431
- [52] Mañes S., Mira E., Barbacid M.M., Ciprés A., Fernández-Resa P., Buesa J.M., Mérida I., Aracil M., Márquez G., Martínez-A C.: Identification of insulin-like growth factor-binding protein-1 as a potential physiological substrate for human stromelysin-3. *J. Biol. Chem.*, 1997; 272: 25706-25712
- [53] Marcell T.J., Harman S.M., Urban R.J., Metz D.D., Rodgers B.D., Blackman M.R.: Comparison of GH, IGF-I, and testosterone with mRNA of receptors and myostatin in skeletal muscle in older men. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2001; 281: E1159-E1164
- [54] Mendell J.R., Kissel J.T., Amato A.A., King W., Signore L., Prior T.W., Sahenk Z., Benson S., McAndrew P.E., Rice R., Nagaraja H., Stephens R., Lantry L., Morris G.E., Burghes A.H.: Myoblast transfer in the treatment of Duchenne's muscular dystrophy. *N. Engl. J. Med.*, 1995; 333: 832-838
- [55] Meng J., Muntoni F., Morgan J.: CD133+ cells derived from skeletal muscles of Duchenne muscular dystrophy patients have a compromised myogenic and muscle regenerative capability. *Stem. Cell Res.*, 2018; 30: 43-52
- [56] Mierzejewski B., Archacka K., Grabowska I., Florkowska A., Ciemerych M.A., Brzoska E.: Human and mouse skeletal muscle stem and progenitor cells in health and disease. *Semin. Cell. Dev. Biol.*, 2020; 104: 93-104
- [57] Milewska M., Grabiec K., Grzelkowska-Kowalczyk K.: Interakcje szlaków sygnałowych proliferacji i różnicowania w biogenezie. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2014; 68: 516-526
- [58] Miller R.G., Sharma K.R., Pavlath G.K., Gussoni E., Mynhier M., Lantot A.M., Greco C.M., Steinman L., Blau H.M.: Myoblast implantation in Duchenne muscular dystrophy: The San Francisco study. *Muscle Nerve*, 1997; 20: 469-478
- [59] Mitchell K.J., Pannérec A., Cadot B., Parlakian A., Besson V., Gomes E.R., Marazzi G., Sassoon D.A.: Identification and characterization of a non-satellite cell muscle resident progenitor during postnatal development. *Nat. Cell Biol.*, 2010; 12: 257-266
- [60] Molsted S., Andersen J.L., Eidemak I., Harrison A.P., Jørgensen N.: Resistance training and testosterone levels in male patients with chronic kidney disease undergoing dialysis. *Biomed. Res. Int.*, 2014; 2014: 121273
- [61] Molsted S., Andersen J.L., Harrison A.P., Eidemak I., Mackey A.L.: Fiber type-specific response of skeletal muscle satellite cells to high-intensity resistance training in dialysis patients. *Muscle Nerve*, 2015; 52: 736-745
- [62] Montarras D., Morgan J., Collins C., Relaix F., Zaffran S., Cumano A., Partridge T., Buckingham M.: Direct isolation of satellite cells for skeletal muscle regeneration. *Science*, 2005; 309: 2064-2067
- [63] Morawin B.: Rola testosteronu w regeneracji mięśni szkieletowych po wysiłku fizycznym. *Rocznik Lubuski*, 2014; 40: 95-105
- [64] Møller A.B., Lønbro S., Farup J., Voss T.S., Rittig N., Wang J., Højris I., Mikkelsen U.R., Jessen N.: Molecular and cellular adaptations to exercise training in skeletal muscle from cancer patients treated with chemotherapy. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, 2019; 145: 1449-1460
- [65] Mueller S.M., Mihaylova V., Frese S., Petersen J.A., Ligon-Auer M., Aguayo D., Flück M., Jung H.H., Toigo M.: Satellite cell content in Huntington's disease patients in response to endurance training. *Orphanet J. Rare Dis.*, 2019; 14: 135
- [66] Mukund K., Subramaniam S.: Skeletal muscle: A review of molecular structure and function, in health and disease. *Wiley Interdiscip. Rev. Syst. Biol. Med.*, 2020; 12: e1462
- [67] Negaresh R., Ranjbar R., Baker J.S., Habibi A., Mokhtarzade M., Gharibvand M.M., Fokin A.: Skeletal muscle hypertrophy, insulin-like growth factor 1, myostatin and follistatin in healthy and sarcopenic elderly men: The effect of whole-body resistance training. *Int. J. Prev. Med.*, 2019; 10: 29
- [68] Nemet D., Portal S., Zadik Z., Pilz-Burstein R., Adler-Portal D., Meckel Y., Eliakim A.: Training increases anabolic response and reduces inflammatory response to a single practice in elite male adolescent volleyball players. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.*, 2012; 25: 875-880
- [69] Nindl B.C., Alemany J.A., Tuckow A.P., Rarick K.R., Staab J.S., Kraemer W.J., Maresh C.M., Spiering B.A., Hatfield D.L., Flyvbjerg A., Frystyk J.: Circulating bioactive and immunoreactive IGF-I remain stable in women, despite physical fitness improvements after 8 weeks of resistance, aerobic, and combined exercise training. *J. Appl. Physiol.*, 2010; 109: 112-120
- [70] Onambele-Pearson G.L., Pearson S.J.: The magnitude and character of resistance-training-induced increase in tendon stiffness at old age is gender specific. *Age*, 2012; 34: 427-438
- [71] Partridge T.: Myoblast transplantation. *Neuromuscul. Disord.*, 2002; 12: S3-S6
- [72] Peng H., Huard J.: Muscle-derived stem cells for musculoskeletal tissue regeneration and repair. *Transpl. Immunol.*, 2004; 12: 311-319
- [73] Petriz B.A., Gomes C.P., Almeida J.A., De Oliveria G.P.Jr., Ribeiro F.M., Pereira R.W., Franco O.L.: The effects of acute and chronic exercise on skeletal muscle proteome. *J. Cell Physiol.*, 2017; 232: 257-269
- [74] Pronsato L., Milanese L., Vasconsuelo A., La Colla A.: Testosterone modulates FoxO3a and p53-related genes to protect C2C12 skeletal muscle cells against apoptosis. *Steroids*, 2017; 124: 35-45
- [75] Qu Z., Balkir L., van Deutekom J.C., Robbins P.D., Pruchnic R., Huard J.: Development of approaches to improve cell survival in myoblast transfer therapy. *J. Cell Biol.*, 1998; 142: 1257-1267
- [76] Rando T.A., Blau H.M.: Primary mouse myoblast purification, characterization, and transplantation for cell-mediated gene therapy. *J. Cell Biol.*, 1994; 125: 1275-1287
- [77] Renault V., Thornell L.E., Eriksson P.O., Butler-Browne G., Mouly W.: Regenerative potential of human skeletal muscle during aging. *Aging Cell*, 2002; 1: 132-139
- [78] Riederer I., Negroni E., Bencze M., Wolff A., Aamiri A., Di Santo J.P., Silva-Barbosa S.D., Butler-Browne G., Savino W., Mouly V.: Slowing down differentiation of engrafted human myoblasts into immunodeficient mice correlates with increased proliferation and migration. *Mol. Ther.*, 2012; 20: 146-154
- [79] Rodriguez A.M., Pisani D., Dechesne C.A., Turc-Carel C., Kurzenne J.Y., Wdziekonski B., Villageois A., Bagnis C., Breittmayer J.P., Groux H., Ailhaud G., Dani C.: Transplantation of a multipotent cell population from human adipose tissue induces dystrophin expression in the immunocompetent mdx mouse. *J. Exp. Med.*, 2005; 201: 1397-1405
- [80] Sacco A., Doyonnas R., Kraft P., Vitorovic S., Blau H.M.: Self-renewal and expansion of single transplanted muscle stem cells. *Nature*, 2008; 456: 502-506
- [81] Saini A., Mastana S., Myers F., Lewis M.P.: 'From death, lead me to immortality' - mantra of ageing skeletal muscle. *Curr. Genomics*, 2013; 14: 256-267
- [82] Sato K., Iemitsu M., Katayama K., Ishida K., Kanao Y., Saito M.: Responses of sex steroid hormones to different intensities of exercise in endurance athletes. *Exp. Physiol.*, 2016; 101: 168-175
- [83] Schmidt M., Schüler S.C., Hüttner S.S., von Eyss B., von Maltzahn J.: Adult stem cells at work: Regenerating skeletal muscle. *Cell. Mol. Life Sci.*, 2019; 76: 2559-2570
- [84] Schoenfeld B.J.: The mechanisms of muscle hypertrophy and their application to resistance training. *J. Strength Cond. Res.*, 2010; 24: 2857-2872

- [85] Schulze M., Belembe-Bedada F., Technau A., Braun T.: Mesenchymal stem cells are recruited to striated muscle by NFAT/IL-4-mediated cell fusion. *Genes. Dev.*, 2005; 19: 1787-1798
- [86] Snijders T., Nederveen J.P., Bell K.E., Lau S.W., Mazara N., Kumbhare D.A., Phillips S.M., Parise G.: Prolonged exercise training improves the acute type II muscle fibre satellite cell response in healthy older men. *J. Physiol.*, 2019; 597: 105-119
- [87] Song T., Sadayappan S.: Featured characteristics and pivotal roles of satellite cells in skeletal muscle regeneration. *J. Muscle. Res. Cell. Motil.*, 2020; 41: 341-353
- [88] Streuli C.: Extracellular matrix remodelling and cellular differentiation. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1999; 11: 634-640
- [89] Sutkowy P.B., Augustyńska B., Woźniak A., Rakowski A.: Physical exercise combined with whole-body cryotherapy in evaluating the level of lipid peroxidation products and other oxidant stress indicators in kayakers. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2014; 2014: 402631
- [90] Thompson J.L., Butterfield G.E., Marcus R., Hintz R.L., Van Loan M., Ghiron L., Hoffman A.R.: The effects of recombinant human insulin-like growth factor-I and growth hormone on body composition in elderly women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1995; 80: 1845-1852
- [91] Torrente Y., Belicchi M., Sampaioles M., Pisati F., Meregalli M., D'Antona G., Tonlorenzi R., Porretti L., Gavina M., Mamchaoui K., Pellegrino M.A., Furling D., Mouly V., Butler-Browne G.S., Bottinelli R. i wsp.: Human circulating AC133+ stem cells restore dystrophin expression and ameliorate function in dystrophic skeletal muscle. *J. Clin. Invest.*, 2004; 114: 182-195
- [92] Tota Ł., Piotrowska A., Pałka T., Morawska M., Mikuláková W., Mucha D., Żmuda-Pałka M., Pilch W.: Muscle and intestinal damage in triathletes. *PLoS One*, 2019; 14: e0210651
- [93] Tsuchiya Y., Sakuraba K., Ochi E.: High force eccentric exercise enhances serum tartrate-resistant acid phosphatase-5b and osteocalcin. *J. Musculoskelet. Neuronal. Interact.*, 2014; 14: 50-57
- [94] Vassilakos G., Barton E.R.: Insulin-like growth factor I regulation and its actions in skeletal muscle. *Compr. Physiol.*, 2018; 9: 413-438
- [95] Velloso C.P.: Regulation of muscle mass by growth hormone and IGF-I. *Br. J. Pharmacol.*, 2008; 154: 557-568
- [96] Vlachopapadopoulou E., Zachwieja J.J., Gertner J.M., Manzione D., Bier D.M., Matthews D.E., Slonim A.E.: Metabolic and clinical response to recombinant human insulin-like growth factor I in myotonic dystrophy - a clinical research center study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1995; 80: 3715-3723
- [97] Wegner M., Koedijker J.M., Budde H.: The effect of acute exercise and psychosocial stress on fine motor skills and testosterone concentration in the saliva of high school students. *PLoS One*, 2014; 9: e92953
- [98] Wennberg A.M., Hagen C.E., Machulda M.M., Hollman J.H., Roberts R.O., Knopman D.S., Petersen R.C., Mielke M.M.: The association between peripheral total IGF-1, IGFBP-3, and IGF-1/IGFBP-3 and functional and cognitive outcomes in the Mayo Clinic Study of Aging. *Neurobiol. Aging*, 2018; 66: 68-74
- [99] Wennberg A.M., Hagen C.E., Petersen R.C., Mielke M.M.: Trajectories of plasma IGF-1, IGFBP-3, and their ratio in the Mayo Clinic Study of Aging. *Exp. Gerontol.*, 2018; 106: 67-73
- [100] Wędrychowicz A., Dziatkowiak H., Sztęfko K., Nazim J.: Zachowanie się IGF-I i jego białek wiążących IGFBP-1 i IGFBP-3 u dzieci i młodzieży chorych na cukrzycę typu 1 oraz ich zależność od kontroli metabolicznej cukrzycy. *Diabetol. Dośw. Klin.*, 2003; 3: 489-499
- [101] Wiewelhove T., Schneider C., Döweling A., Hanakam F., Rasche C., Meyer T., Kellmann M., Pfeiffer M., Ferrauti A.: Effects of different recovery strategies following a half-marathon on fatigue markers in recreational runners. *PLoS One*, 2018; 13: e0207313
- [102] Yamakawa H., Kusumoto D., Hashimoto H., Yuasa S.: Stem cell aging in skeletal muscle regeneration and disease. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020; 21: 1830
- [103] Zammit P.S., Relaix F., Nagata Y., Ruiz A.P., Collins C.A., Partridge T.A., Beauchamp J.R.: Pax7 and myogenic progression in skeletal muscle satellite cells. *J. Cell Sci.*, 2006; 119: 1824-1832
- [104] Zembroń-Łacny A., Krzywański J., Ostapiuk-Karolczuk J., Kasperska A.: Cell and molecular mechanisms of regeneration and reorganization of skeletal muscles. *Ortop. Traumatol. Rehabil.*, 2012; 14: 1-11
- [105] Zhang Y., Zhu Y., Li Y., Cao J., Zhang H., Chen M., Wang L., Zhang C.: Long-term engraftment of myogenic progenitors from adipose-derived stem cells and muscle regeneration in dystrophic mice. *Hum. Mol. Genet.*, 2015; 24: 6029-6040
- [106] Żebrowska A., Gąsior Z., Langfort J.: Serum IGF-I and hormonal responses to incremental exercise in athletes with and without left ventricular hypertrophy. *J. Sports. Sci. Med.*, 2009; 8: 67-76

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.