

ОБЗОРЫ

УДК 576.53

**РОЛЬ СИСТЕМЫ МИОСАТЕЛЛИТОВ В ПРОЦЕССАХ
МЫШЕЧНОЙ РЕПАРАЦИИ**

Дремина Н.Н., Трухан И.С., Шурыгина И.А.

*ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», Иркутск,
e-mail: drema76@mail.ru*

В обзорной статье представлена роль миосателлитной системы в процессах мышечной репарации. Описаны типы миосателлитных клеток в зависимости от функциональных и морфологических характеристик. Так, по морфологическим признакам миосателлиты делятся на клетки 1-го типа, с электронноплотным ядром, узкой каймой цитоплазмы с небольшим количеством органелл, и клетки 2-го типа, имеющие электронносветлое ядро, широкую кайму цитоплазмы с немногочисленными органеллами, выраженный аппарат Гольджи и гранулярный эндоплазматический ретикулум, а также увеличенные в размере митохондрии. Перечислены белки (Notch, миостатин и мускулин), отвечающие за поддержание состояния покоя сателлитных клеток, находящихся главным образом в неактивной фазе. Представлены маркеры миосателлитных клеток, экспрессия которых напрямую зависит от стадии миосателлитов в процессе репарации. В отличие от неактивных сателлитных клеток, экспрессирующих преимущественно Pax7, активированные миосателлиты имеют на поверхности такие маркеры, как Myf5 и MyoD. В стадии клеточной дифференцировки отмечается экспрессия миогенина, MRF4 (Myf6) и тропонина T. Рассмотрены этапы мышечной репарации, которые включают утилизацию поврежденного мышечного волокна путем фагоцитоза, активацию миосателлитных клеток, стадии дифференцировки и регенерации поврежденного или формирования нового мышечного волокна. Также представлены белки, участвующие в активации миосателлитов, пролиферации и клеточной дифференцировки.

Ключевые слова: миосателлиты, мышечная репарация, маркеры, регуляторные белки

**THE ROLE OF THE MYOSATELLITE SYSTEM
IN THE PROCESSES OF MUSCLE REPAIR**

Dremina N.N., Trukhan I.S., Shurygina I.A.

Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, e-mail: drema76@mail.ru

The review article presents the role of the myosatellite system in the muscle repair processes. The types of myosatellite cells depending on functional and morphological characteristics are described. Thus, according to morphological features, myosatellite are divided into 2 types. Cells of type 1 are characterized by an electron-dense nucleus, and narrow cytoplasmic border with a small number of organelles, whereas myosatellites of type 2 are distinguished by an electron-light nucleus, a wide cytoplasmic border with few organelles, marked Golgi complex and granular endoplasmic reticulum, as well as increased in size mitochondria. Proteins (Notch, myostatin, and myf) responsible for maintaining the rest state of satellite cells staying predominantly in the inactive stage are discussed. In addition, markers of myosatellite cells the expression of which directly depends on the stage of myosatellite in the regeneration process are presented. Unlike inactive satellite cells expressing mainly Pax7, activated myosatellites have surface markers such as Myf5 and MyoD. However, at the stage of cellular differentiation, the expression of myogenin, MRF4 (MYF6) and troponin T is noted. The stages of muscle repair which include utilization of damaged muscle fiber by phagocytosis, activation of myosatellite cells, stages of differentiation and regeneration of damaged muscle fiber or formation of a new one are considered. Proteins involved in the myosatellite activation, proliferation and cellular differentiation are also presented.

Keywords: myosatellite, muscle repair, markers, regulatory proteins

Скелетные мышцы, осуществляющие такие жизненно важные функции, как двигательная, энергетическая и дыхательная, обладают исключительной способностью к регенерации. Регенерация является сложным физиологическим процессом с большим количеством вовлеченных белков и клеток, среди которых одно из главных мест отводится миосателлитам.

Цель – определить значимость миосателлитных клеток в репаративных процессах мышцы.

Поперечно-полосатая скелетная мышца – самая распространенная ткань чело-

веческого организма, составляющая приблизительно 35–45% от общей массы тела. На основе сократительного и метаболического фенотипов классифицировать скелетные мышцы можно на медленно окислительные – тип I, быстро окислительные – тип IIa и быстро гликолитические – тип IIb [1, 2]. Скелетные мышцы поддерживают метаболический баланс и локомоции, обладают высоким адаптационным потенциалом, а также исключительной регенеративной способностью. Регенерировать скелетные мышцы способны в ответ на различные повреждения, благодаря наличию

резидентных мышечных стволовых клеток (миосателлитов) – одноядерных мало-дифференцированных клеток размером от 10 до 100 мкм, которые были описаны еще в середине прошлого столетия при изучении взрослых мышц лягушки под электронным микроскопом [3]. Недостаточное количество данных клеток значительно влияет на регенеративный процесс, а в некоторых случаях приводит к фатальным последствиям. Так, в эксперименте продемонстрировано, что у мышей Pax7-null низкое содержание миосателлитов приводит к неизбежной постнатальной гибели в течение всего нескольких недель [4].

Долгое время считалось, что миосателлиты являются однородной популяцией клеток, однако в настоящее время данные клетки подразделяются на типы в зависимости от функциональных и морфологических характеристик, определенных при электронной микроскопии. Клетки 1-го типа, являющиеся более дифференцированными, имеют электронноплотное ядро из-за большого содержания в нем гетерохроматина, узкую кайму цитоплазмы вокруг с небольшим количеством органелл. У миосателлитов 2-го типа (менее дифференцированных) ядро электронносветлое, широкая кайма цитоплазмы с немногочисленными органеллами, но более выражен аппарат Гольджи, а также увеличен объем гранулярного эндоплазматического ретикулума и размер митохондрий [5].

Существует предположение, что образование той или иной сателлитной клетки зависит от типа мышечного волокна. Так, повреждение медленных мышечных волокон способствует образованию миосателлитов, которые впоследствии восстанавливают именно этот тип мышц, а миосателлиты от быстрых волокон регенерируют быстрые мышцы [6]. В эксперименте на курицах и перепелах с помощью иммуноблоттинга и иммуноцитохимии обнаружили, что сателлитные клетки были разных типов и что быстрые и медленные мышечные волокна различались по проценту каждого типа клеток. Первичные сателлитные клетки, выделенные из быстрых мышечных волокон, образовывали только быстрые волокна, в то время как до 25% из тех, которые были выделены из медленных, образовывали волокна как быстрые, так и медленные, остальные были только быстрыми [7]. Однако другая группа исследователей в эксперименте с человеческими клетками, выделенными из четырехглавой мышцы, такой закономерности не выявила, потому что миогенные клоны экспрессировали как быстрые цепи миозина, так

и медленные. На основании полученных результатов не нашли доказательств существования быстрых и медленных миосателлитов в постнатальных скелетных мышцах человека [8].

Кроме сателлитов 1-го и 2-го типов обнаружены негативные субпопуляции клеток, не экспрессирующие CD34, Myf5 и M-cadherin, и предположено, что данные клетки могут представлять собой предшественников, ответственных за поддержание популяции клеток-спутников [4]. При этом клетки, не экспрессирующие Myf5, обладают более высокой способностью к самообновлению и менее склонны к преждевременной дифференцировке, чем клетки-сателлиты Myf5-позитивные.

Сателлитные клетки, наряду с морфологическими признаками, также можно разделить, основываясь на уровне экспрессии маркера Pax7. Так, на трансгенных мышцах Tg:Pax7-nGFP было показано, что клетки высоко экспрессирующие Pax7-nGFP имеют более низкую метаболическую активность с низким уровнем пролиферации и отсроченным первым митозом по сравнению с низко экспрессирующими [9].

Количество клеток и их поведение зависит от типа и расположения мышечного волокна. Например, сравнивая миосателлиты разгибателя конечности и жевательных мышц, пришли к выводу, что полученные миобласты имели разные профили экспрессии генов. Так, в сравнении с клетками разгибателей, у клеток жевательных мышц был более высокий уровень пролиферации наряду с поздней клеточной дифференцировкой. Следовательно, мышечная структура, расположение и окружающая среда способны значительно влиять на количество и активность сателлитных клеток [10].

В молодом возрасте мышечная ткань содержит более 30% сателлитных клеток, однако со временем их количество уменьшается до 5%, что связано со снижением пролиферативной способности данных клеток [11, 12]. Снижение количества миосателлитов происходит в два этапа. Быстрое снижение связано с потерей субламинарных ядер, когда клетки входят в состояние покоя. У человека данный период длится до 9 лет. Второе снижение связано со значительным снижением пролиферативного потенциала клеток в процессе старения организма и происходит постепенно [13].

Во взрослом организме миосателлиты, как правило, находятся в неактивном состоянии, т.е. в стадии G0 с низким содержанием РНК и медленным метаболизмом, благодаря трансмембранным рецепторным белкам Notch одноименного сигнального

пути. В покоящихся сателлитных клетках путь Notch находится в активном состоянии и инактивируется, когда миосателлиты входят в активный цикл [14, 15]. Нарушение этого равновесия приводит к серьезным патологическим изменениям. Так, при дефиците Notch3 сигнального пути Notch у мышей с повторяющимися травмами ускоряется клеточная пролиферация, приводящая в итоге к гиперплазии мышечной ткани [16]. Вместе с Notch за состояние покоя у миосателлитов отвечают миостатин, индуцирующий ингибитор циклин-зависимой киназы, p21 и миогенный ингибитор мускулин (MyoR), снижающийся во время дифференцировки.

Однако состояние покоя у миосателлитов можно назвать относительным, так как в этой стадии активными считаются более 500 генов, являющихся отрицательными регуляторами клеточного цикла и миогенными ингибиторами, которые принимают участие в клеточной адгезии, регуляции клеточного роста, образовании внеклеточного матрикса, а также гомеостазе микроэлементов (Cu, Fe) и транспортировке липидов [17]. Сателлитные клетки хоть и находятся в этот момент в состоянии покоя, но в течение короткого периода времени после травмы готовы и способны к быстрой активации для запуска регенеративного процесса.

Маркеры сателлитных клеток

Миосателлитные клетки характеризуются экспрессией парных ядерных белков Pax3, Pax7 и кальцитонинового рецептора (CTR). Гены Pax кодируют группу факторов транскрипции. В отличие от Pax3, экспрессия которого в неактивных сателлитах находится на низком уровне (за исключением диафрагмальных мышц), Pax7 практически постоянно находится на поверхности миосателлитов. Наряду с Pax3 и Pax7, сателлитные клетки экспрессируют тирозин-протеинкиназу Met (c-met), адгезионную молекулу М-кадгерина (Cdh15), мембранные протеогликаны – синдекан 3 (Sdc3), синдекан 4 (Sdc4), сиаломуцин CD34, факторы транскрипции Foxk1, Sox8 и Sox15, $\alpha 7$ – и $\beta 1$ -интегрины, с-Х-С-С рецептор хемокина типа 4 (CXCR4), кальцитонин, кальвеолин-1, а также молекулу адгезии сосудистых клеток-1 (VCAM1) и молекулу адгезии нервных клеток-1 (NCAM1) [18]. При повреждении миосателлиты быстро активируются, экспрессируя мышечные факторы транскрипции – миогенный фактор 5 (Myf5), белок определения миобластов (MyoD), которые определяют мышечную идентичность и активируют впоследствии

маркеры дифференцировки, а также еще более повышается экспрессия Pax7. Следует отметить, что недостаточная экспрессия Pax7 способна привести к необратимым последствиям. Так, в эксперименте доказано, что при инактивации Pax7 дифтерийным токсином мышечная регенерация блокируется, приводя к истощению ювенильных сателлитов из-за ускоренной дифференцировки, предполагая, что Pax7 задерживает начало дифференциации, чтобы позволить увеличить пул миобластов [19, 20].

После активации клетки пролиферируют и сливаются, чтобы восстановить поврежденные или сформировать новые мышечные волокна [21]. Благодаря высокой скорости активации миосателлитов повреждение мышечных волокон при крупной травме со значительным нарушением структуры и функции может быть полностью восстановлено спустя всего несколько недель [4]. Вместе с мышечно-специфическим регуляторным фактором 4 (MRF4, известный как Myf6) и миогенином, которые повышаются во время дифференцировки миобластов, эти регуляторные факторы определяют миогенную активность мышечных предшественников. MRF4 экспрессируется исключительно в активированных миосателлитах и уровни мРНК MRF4 сильно варьируются в зависимости от типа волокна [13].

Поздним маркером клеточной дифференцировки считается тропонин Т, который связывает тропомиозин с образованием тропонин-тропомиозинового комплекса, что обеспечивает его физическое взаимодействие с актином и, следовательно, опосредует сокращение мышц. Тяжелая цепь миозина (MyHC), составляющая большую часть мышечных белков, является одним из основных компонентов сократительного аппарата всех мышц. При соединении миозина с актином образуется актомиозин – основной структурный элемент сократительной системы мышц [13].

Этапы мышечной репарации

Посттравматическая регенерация мышечной ткани взрослого человека практически повторяет эмбриональное развитие благодаря аналогичным, но не идентичным механизмам и происходит в несколько стадий. При этом большое значение имеет величина повреждения. Если дефект незначительный, то на обоих концах поврежденного мышечного волокна образуются мышечные почки, растущие навстречу друг другу. В итоге почки сливаются, структурно восстанавливая поврежденное мышечное волокно [12, 22]. В случае серьезных по-

вреждений процесс репаративной регенерации проходит по другому пути. При этом для выполнения регенерации на первом этапе требуется удаление повреждённого мышечного волокна из его ниши в базальной мембране. Затем в регенерацию вступают миосателлиты (Pax7+), располагающиеся между сарколеммой и базальной пластинкой, благодаря которым в итоге образуется новое мышечное волокно [23].

Утилизация повреждённого мышечного волокна происходит путём фагоцитоза. Применительно к посттравматическому периоду фагоцитоз – процесс утилизации фагоцитами мертвых клеток и тканей, а также продуктов распада. В этот момент фагоциты играют определяющую роль в организации воспалительной реакции после повреждения тканей, контролируя как провоспалительные, так и противовоспалительные процессы [24].

Во время посттравматической репарации фагоциты продвигаются к повреждённому волокну в две «волны». Первая волна – фагоцитарная популяция моноцитов (макрофаги M1 – классически активированные), которая поступает в мышцу сразу после её повреждения. Миграция макрофагов M1 инициируется в ответ на интерлейкины-1 и -8 (IL-1, IL-8), секретиромые нейтрофилами, также находящимися в зоне повреждения. В то же время само поврежденное мышечное волокно секретирует хемоаттрактантный белок моноцитов-1 (MCP1). Первой волны достаточно для лизиса мембран и запуска воспалительной реакции для разрушения содержимого повреждённых волокон [25]. Ранние моноциты M1 достигают своей максимальной численности через 24 ч после повреждения мышц, а спустя 48 ч их количество резко снижается. Именно время работы данных клеток в повреждённой ткани связывают с болями ощущениями после физической нагрузки.

Вторая волна – нефагоцитарная субпопуляция макрофагов (макрофаги M2 – альтернативно активированные), находящаяся вблизи регенерирующих волокон. Пик её численности находится между 2 и 4 сутками от момента повреждения мышечного волокна. Считается, что макрофаги секретируют растворимые сигнальные молекулы, которые наряду с другими клетками индуцируют активацию, пролиферацию и дифференцировку миосателлитов.

Уже во время утилизации повреждённого волокна наступает пролиферативная стадия, состоящая из этапов активации и пролиферации миосателлитов. Получив сигнал из окружающей среды, миосателли-

ты, играющие главную роль в регенерации значительно поврежденных мышечных волокон, начинают интенсивно пролиферировать, экспрессируя Pax7, MyoD, Myf5, и мигрировать для заполнения образовавшейся ниши [26]. Способствуют клеточной миграции коллаген и фибронектин, но самым мощным индуктором считается ламинин [27].

Для восстановления миогенного пула сателлитные клетки проходят несколько пролиферативных циклов, чему может способствовать IGF (инсулиноподобный фактор роста), сверхэкспрессия которого у мышей увеличивает продолжительность пролиферативной стадии, в результате чего образуется более многочисленная популяция миогенных клеток. Подобный эффект достигается *in vitro* и добавлением низких концентраций HGF (фактор роста гепатоцитов), в то время как высокие концентрации приводят к обратной реакции [28]. Аналогичным образом пролиферации миобластов способствует сигнальный путь JAK1/STAT1, блокирующий преждевременную дифференцировку путем подавления генов дифференцировки [29]. Также переход от пролиферации к дифференцировке контролируют некоторые микроРНК. Например, miR-221 и miR-222 более выражены в пролиферирующих миобластах, чем в дифференцирующихся миотрубках. Эти две микроРНК подавляют ингибитор клеточного цикла p27 и миогенин, что приводит к задержке выхода из клеточного цикла.

После пролиферации (миобластическая стадия) сателлитные клетки делятся на две субпопуляции. Одна из них участвует в образовании нового мышечного волокна, другая – останавливает свою пролиферацию и дифференцировку, образуя новый пул сателлитов для новообразованного волокна [30]. Образование нового мышечного волокна происходит путём слияния нескольких образовавшихся миобластов в миотрубку диаметром около 100 мкм и 1 см в длину [31]. Новообразованная миотрубка легко отличима от зрелых мышечных волокон центральным расположением ядер, выстроенных в одну линию. Впоследствии ядра смещаются от центра к сарколемме для образования на их месте новых миофибрилл [12].

Следом за миобластической наступает вторая стадия регенерации – стадия ранней дифференцировки миосателлитов, при которой наряду с MyoD и Myf5 повышается экспрессия миогенина, Myf6 (Mrf4) и MEF2, также входящих в семейство транскрипционных факторов и являющихся одними из главных регуляторов диффе-

ренцировки клеток [32]. Благодаря данным факторам происходит слияние мышечных клеток в многоядерную миотрубку. Этот процесс сопровождается снижением экспрессии Pax7 и Myf5 и увеличением уровня миогенина. Затем наступает стадия терминальной дифференцировки, когда миотрубки увеличиваются в размере, дифференцируясь в зрелое мышечное волокно. На этом этапе уровень MyoD снижается, в то время как тяжелая цепь миозина и другие сократительные белки начинают экспрессироваться. При этом баланс между Pax7 и MyoD определяет дальнейшую судьбу клеток. Например, сверхэкспрессия Pax7 в миообластах понижает MyoD, предотвращает индукцию миогенина, ингибируя миогенез. И наоборот, миогенин непосредственно влияет на экспрессию Pax7 и может иметь решающее значение для регуляции Pax7 в дифференцированных клетках. То есть высокое соотношение Pax7: MyoD способствует покою, среднее соотношение способствует пролиферации, но не дифференцировке, в то время как низкое – запускает клеточную дифференцировку [33].

Активация и генетический контроль дифференцировки

В зрелой мышце сателлитные клетки митотически неактивны, как уже говорилось ранее, и демонстрируют ограниченную экспрессию генов и синтез белков. Но они могут быть активированы в ответ на стресс, связанный с поднятием веса или травмой, например при ранении, или при миодегенеративных заболеваниях. Триггер до конца остаётся неизвестным.

Одним из внутренних сигналов самой клетки является синтез сигнального сфинголипида – сфингозин-1-фосфата (S1P) на внутренней стороне плазматической мембраны. Сфингозин-1-фосфат требуется для вхождения сателлитов в клеточный цикл, и окончание его синтеза резко обрывает мышечную регенерацию [34]. Кроме того, сфингозин-1-фосфат регулирует кальциевый гомеостаз сателлитных клеток, вызывая выход ионов Ca²⁺ из эндоплазматического ретикула в цитозоль [35]. Это вызывает полимеризацию актиновых нитей и структурные перестройки цитоскелета. Подробности данного регуляторного механизма остаются неизвестными, так как не выявлены молекулы-мишени S1P в эндоплазматической мембране.

Другим сигналом является быстрое снижение экспрессии рецептора кальцитонина – CTR. Ранее считалось, что CTR можно обнаружить только у неактивных миосателлитов. Однако при изучении экспрессии

CTR *in vivo* с помощью иммуногистохимии было показано, что через три дня после инъекции кардиотоксина на активированных клетках искомого белка обнаружено не было. Появление его было замечено спустя семь дней после инъекции на периферии крупных миофибрилл с центральным расположением ядер, но не на мелких волокнах, и со временем увеличивалось. Полученные результаты показывают, что экспрессия CTR обнаруживается не только на покоящихся сателлитных клетках, но и на вновь образованных, которые тесно связаны с созревающими волокнами [17].

Неестественное растяжение и повреждение мышечного волокна вызывает множество внутриклеточных сигналов, приводящих к синтезу оксида азота (NO), что в свою очередь приводит к выбросу HGF, фактора роста фибробластов (FGF) и в итоге к активации сателлитов [36]. Также оксид азота приводит к экспрессии фоллистатина – антагониста миостатина – негативного регулятора миогенеза, экспрессируемого неактивными сателлитами.

Наряду с HGF, FGF к активации миосателлитов приводят и другие факторы, так называемые раневые гормоны, секретируемые микроокружением. К ним относятся TGFβ (трансформирующий фактор роста бета) и IGF-1 (инсулиноподобный фактор роста 1), выступающие в качестве митогенов при повреждении. Являясь регуляторами активности миосателлитов при мышечной регенерации, данные ростовые факторы стимулируют покоящиеся клетки к пролиферации и дальнейшему слиянию в миотрубки [21, 37].

Непосредственно FGF активирует MAPK-киназный сигнальный каскад, а стресс-активируемые киназы p38α/β необходимы для регуляции выхода миосателлитов из состояния покоя [38]. Также FGF регулирует кальциевый гомеостаз сателлитных клеток, вызывая выход ионов кальция из межклеточной среды в цитозоль [39]. FGF относится к семейству факторов роста, участвующих в ангиогенезе, заживлении ран и эмбриональном развитии. Факторы роста фибробластов – это многофункциональные гепарин-связывающие белки, чаще всего они являются митогенами, но также оказывают регуляторное и структурное воздействие [40, 41]. Другое их название – «плюрипотентные» факторы роста – связано с их разнородным воздействием на многие типы клеток. Было доказано, что взаимодействия с расположенными на поверхности клеток протеогликанами необходимы для передачи сигнала факторов роста фибробластов. Большинство FGF – секретируемые белки,

которые связывают гепаринсульфат, и поэтому они могут закрепляться на внеклеточном матриксе, содержащем гепарансульфатпротогликан. Это позволяет им действовать локально как паракринные факторы.

Митоген-активируемая протеинкиназа p38 α активирует димеризацию MyoD и E47, которые, в свою очередь, активируют транскрипцию циклин-зависимой протеинкиназы p21, которая останавливает клеточный цикл и активирует дифференцировку. Анализ мутантного гена p38 α показал, что отключение p38 α вызывает задержки выхода из клеточного цикла и нарушение синтеза соответствующих ему регуляторов в культивируемых миобластах. Как результат неконтролируемой пролиферации и отсутствия ограничивающей рост обратной связи, мутанты по гену p38 α демонстрируют увеличенную пролиферацию миобластов в неонатальный период [42]. Данный эффект позволяет предположить возможность временного ингибирования p38 α для наращивания клеточного пула.

HGF и FGF стимулируют MAPK-киназные каскады, которые связаны с регуляцией пролиферации и дифференцировки во многих типах клеток, включая скелетные миобласты. Были определены следующие MAPK-семейства: регулируемые внеклеточными сигналами киназы ERK, c-Jun-NH₂-терминальные киназы и стресс-активируемые MAPK-протеинкиназы p38 [43]. Роль MAPK-киназных каскадов в миогенезе противоречива, так как активация MAPK причастна как к позитивной, так и к негативной регуляции миогенной дифференцировки. Эти противоречия могут появиться из-за различий в происхождении линий и поддержании этих линий в культурах. В зависимости от типа клеток, активация каскадов MKK1/2–ERK1/2 либо стимулирует (в клетках C3H10T1/2), либо ингибирует (23A2, L6A1, и C2C12) миогенную дифференцировку. Было установлено, что активация Raf–MKK1/2–ERK1/2 требуется для пролиферации линии миосателлитов MM14, но при этом несущественна для FGF-зависимого ингибирования терминальной дифференцировки [44]. К тому же активации MKK1/2–ERK1/2 недостаточно для стимуляции пролиферации клеток MM14, что вызывает предположение о существовании дополнительных FGF-зависимых путей [38].

В экспериментах, поставленных на линии клеток MM14, было показано, что киназы ERK1/2 требуются для запуска пролиферации, но не дифференцировки [44]. Для того чтобы выяснить, какие ещё MAPK-киназы имеют роль в пролифе-

рации и дифференцировке клеток линии MM14, была проведена ПЦР с обратной транскрипцией, направленная на поиск MAPK-киназ на разных стадиях индукции и дифференцировки. ERK1/2/3 не изменяли уровень своей экспрессии в процессе развития миосателлитов. ERK5 и p38 γ снижали свою экспрессию, а p38 α / β снижали её незначительно, что позволяет делать вывод об их значимости для миогенеза. В качестве сверочной точки использовалась экспрессия MyoD, которая демонстрирует скачок, а затем снижение в транскрипции мРНК. Содержание рецепторов фактора роста фибробластов FGFR1 также изначально увеличивается, а затем значительно снижается к 72 ч. В ядрах были обнаружены активные фосфорилированные формы p38 α / β .

Путём ингибирования активности киназы p38 α / β с помощью SB203580 было установлено, что они ответственны за экспрессию MyoD в миосателлитах. Это ещё раз подтвердило более ранние данные о регуляции активности Mef 2, а также регуляции транскрипционной активности MyoD и миогенина этими MAPK-киназами [45, 46]. Последствиями ингибирования p38 α / β становятся нарушения в пролиферации и дифференцировке миосателлитов и миобластов.

В то же время показано, что введение блокатора p38 MAP-киназы SB 203580 в зону регенерации мышечной ткани позволяет «затормозить» деление миосателлитов в ранние сроки репаративного процесса, а также ведет к резкому усилению окислительного фосфорилирования в зоне регенерации мышечной ткани [47].

Однако исследование роли MAPK-киназ p38 α / β в миогенезе развивающихся конечностей показало противоположный результат: миогенез был значительно усилен при ингибировании p38 α / β . Объяснение этому явлению пока что не было найдено. Стоит отметить, что в большинстве известных каскадов киназы p38 ведут к апоптозу клеток. Таким образом, мишени p38 α / β , регулирующие эти события, пока остаются неизвестными. Хотя многие данные показывают, что субстратами для p38 α и p38 β являются MEK2A и MEK2C, сателлитные клетки не экспрессируют эти гены до 96 ч инкубации, что говорит о маловероятной роли этих генов в p38 α / β -зависимой активации и пролиферации [48]. Другие известные субстраты p38 α / β включают в себя транскрипционные факторы (Max и ATF2) и фосфолипазу A2. В пролиферирующих клетках MM14 манипуляция активностью p38 α / β путём удаления из среды FGF или добавления ингибитора SB203580 не оказала значительного эффекта на ATF2-зависимую

транскрипцию. Однако в дифференцирующихся клетках ATF2-зависимая транскрипция чувствительна к FGF и SB203580. Сходные данные были показаны для клеток MM14, где активность ERK1/2 была обнаружена для клеток, вступающих в S-фазу. Эти данные свидетельствуют о различных сигнальных путях в сателлитных клетках в зависимости от фенотипического положения скелетных мышц. При анализе различий в субстратной специфичности p38 α / β было показано, что большинство субстратов p38 α / β различны в пролиферирующих и в дифференцирующихся клетках. Таким образом, наблюдение этих киназ как в стадии пролиферации, так и при дифференцировке можно объяснить различием доступных субстратов, вызванных подготовкой к S-фазе и терминальной дифференцировке [38]. Для лучшего понимания роли p38 α / β требуется идентификация субстратов, специфичных для разных фаз.

Немаловажную роль в активации и дифференцировке миосателлитов, а также в дальнейшем их слиянии в миотрубки играют металлопротеазы MMP-2, MMP-9 [49]. Металлопротеазы способны расщеплять протеогликаны сульфата гепарина (HSP), с которым связан FGF, высвобождая последний, активирующий в свою очередь сателлитные клетки. Однако MMP-2, MMP-9 оказывают воздействие на разных стадиях регенерационного процесса. Так, в эксперименте показано, что экспрессия MMP-9 связана с реакцией воспаления с последующей активацией миосателлитов, в то время как MMP-2 способствует регенерации новых волокон.

На завершающем регенеративном этапе, когда поврежденное мышечное волокно структурно и функционально восстановлено, обновленный пул миосателлитов входит в состояние покоя. В этот процесс вовлечен Spry1 – ингибитор передачи сигналов рецепторной тирозинкиназы, который экспрессируется в покоящихся миосателлитах, снижается в пролиферирующих миогенных клетках при регенерации и повторно активируется, когда клетки возвращаются в состояние покоя во вновь сформированных волокнах [16]. В противном случае, если по какой-то причине происходит сбой экспрессии Spry1, миосателлиты не способны вернуться в состояние покоя и подвергаются апоптозу, что в свою очередь приводит к снижению численности сателлитных клеток.

Заключение

Клетки-сателлиты имеют большой регенеративный потенциал, и в процесс регене-

рации вовлечено огромное количество различных регуляторов. На сегодняшний день имеющаяся информация по данному вопросу весьма противоречива, и нет сомнений, что исследования в этом направлении необходимо продолжить. Требуются дальнейшие экспериментальные работы для более глубокого понимания взаимодействия веществ, вовлеченных в процесс восстановления поврежденных мышечных волокон.

Список литературы

1. Qaisar R., Bhaskaran S., Van Remmen H. Muscle fiber type diversification during exercise and regeneration. *Free Radic Biol Med.* 2016. Vol. 98. P. 56–67. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.03.025.
2. Yin H., Price F., Rudnicki M.A. Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiol Rev.* 2013. Vol. 93. No. 1. P. 23–67. DOI: 10.1152/physrev.00043.2011.
3. Mauro A. Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 1961 Vol. 9. P. 493–495.
4. Dumont N.A., Bentzinger C.F., Sincennes M.C., Rudnicki M.A. Satellite Cells and Skeletal Muscle Regeneration. *Comprehensive Physiology.* 2015. Vol. 5. P. 1027–1059. DOI: 10.1002/cphy.c140068.
5. Одинцова И.А., Чепурненко М.Н., Комарова А.С. Миосателлитозиты – камбиальный резерв поперечнополосатой мышечной ткани // *Гены & Клетки.* 2014. Т. 9. № 1. С. 6–14.
6. Sharma G.R., Kumar V., Kanojia R.K., Vaiphei K., Kansal R. Fast and slow myosin as markers of muscle regeneration in mangled extremities: a pilot study. *Eur J Orthop Surg Traumatol.* 2019. Vol. 29. No. 7. P. 1539–1547. DOI: 10.1007/s00590-019-02448-w.
7. Feldman J.L., Stockdale F.E. Skeletal muscle satellite cell diversity: satellite cells form fibers of different types in cell culture. *Dev Biol.* 1991. Vol. 143. No. 2. P. 320–334. DOI: 10.1016/0012-1606(91)90083-f.
8. Edom F., Mouly V., Barbet J.P., Fiszman M.Y., Butler-Browne G.S. Clones of human satellite cells can express in vitro both fast and slow myosin heavy chains. *Dev Biol.* 1994. Vol. 164. No. 1. P. 219–229. DOI: 10.1006/dbio.1994.1193.
9. Rocheteau P., Gayraud-Morel B., Siegl-Cachedenier I., Blasco M.A., Tajbakhsh S. A subpopulation of adult skeletal muscle stem cells retains all template DNA strands after cell division. *Cell.* 2012. Vol. 148. No. 1–2. P. 112–125. DOI: 10.1016/j.cell.2011.11.049.
10. Ono Y., Boldrin L., Knopp P., Morgan J.E., Zammit P.S. Muscle satellite cells are a functionally heterogeneous population in both somite-derived and branchiomeric muscles. *Dev Biol.* 2010. Vol. 337. No. 1. P. 29–41. DOI: 10.1016/j.ydbio.2009.10.005.
11. Relaix F., Zammit P.S. Satellite cells are essential for skeletal muscle regeneration: the cell on the edge returns centre stage. *Development.* 2012. Vol. 139. No. 16. P. 2845–2856. DOI: 10.1242/dev.069088.
12. Шурыгин М.Г., Болбат А.В., Шурыгина И.А. Миосателлиты как источник регенерации мышечной ткани // *Фундаментальные исследования.* 2015. № 1 (8). С. 1741–1746.
13. Rocheteau P., Vinet M., Chretien F. Dormancy and quiescence of skeletal muscle stem cells. *Results Probl Cell Differ.* 2015. Vol. 56. P. 215–35. DOI: 10.1007/978-3-662-44608-9_10.
14. Bjornson C.R.R., Cheung T.H., Liu L., Tripathi P.V., Steeper K.M., Rando T.A. Notch Signaling Is Necessary to Maintain Quiescence in Adult Muscle Stem Cells. *STEM CELLS.* 2012. Vol. 30. No. 2. P. 232–242. DOI: 10.1002/stem.773.
15. Koch U., Lehal R., Radtke F. Stem cells living with a Notch. *Development.* 2013. Vol. 140. No. 4. P. 689–704. DOI: 10.1242/dev.080614.

16. Montarras D., L'honoré A., Buckingham M. Lying low but ready for action: the quiescent muscle satellite cell. *FEBS J.* 2013. Vol. 280. No. 17. P. 4036–4050. DOI: 10.1111/febs.12372.
17. Fukada S., Uezumi A., Ikemoto M., Masuda S., Segawa M., Tanimura N., Yamamoto H., Miyagoe-Suzuki Y., Takeda S. Molecular signature of quiescent satellite cells in adult skeletal muscle. *Stem Cells.* 2007. Vol. 25. No. 10. P. 2448–2459. DOI: 10.1634/stemcells.2007-0019.
18. Bentzinger C.F., Wang Y.X., Dumont N.A., Rudnicki M.A. Cellular dynamics in the muscle satellite cell niche. *EMBO Rep.* 2013. Vol. 14. No. 12. P. 1062–1072. DOI: 10.1038/embor.2013.182.
19. Von Maltzahn J., Jones A.E., Parks R.J., Rudnicki M.A. Pax7 is critical for the normal function of satellite cells in adult skeletal muscle. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013. Vol. 110. No. 41. P. 16474–16479. DOI: 10.1073/pnas.1307680110.
20. Marroncelli N., Bianchi M., Bertin M., Consalvi S., Saccone V., De Bardi M., Puri P.L., Palacios D., Adamo S., Moresi V. HDAC4 regulates satellite cell proliferation and differentiation by targeting P21 and Sharp1 genes. *Sci Rep.* 2018. Vol. 8. No. 1. P. 3448. DOI: 10.1038/s41598-018-21835-7.
21. Morgan J., Partridge T. Skeletal muscle in health and disease. *Dis Model Mech.* 2020. Vol. 13. No. 2. dmm042192. DOI: 10.1242/dmm.042192.
22. Шурыгина И.А., Дремина Н.Н., Шаульская Е.С., Шурыгин М.Г. Активность митогенактивируемых сигнальных каскадов при травме поперечнополосатой мышцы // Современные проблемы науки и образования. 2016. № 5. С. 145.
23. Shadrin I.Y., Khodabukus A., Bursac N. Striated muscle function, regeneration, and repair. *Cell Mol Life Sci.* 2016. Vol. 73. No. 22. P. 4175–4202. DOI: 10.1007/s00018-016-2285-z.
24. Chazaud B. Inflammation and Skeletal Muscle Regeneration: Leave It to the Macrophages! *Trends Immunol.* 2020. Vol. 41. No. 6. P. 481–492. DOI: 10.1016/j.it.2020.04.006.
25. Dueweke J.J., Awan T.M., Mendias C.L. Regeneration of skeletal muscle after eccentric injury. *J Sport Rehabil.* 2017. Vol. 26. No. 2. P. 171–179. DOI: 10.1123/jsr.2016-0107.
26. Giordani L., Parisi A., Le Grand F. Satellite Cell Self-Renewal. *Curr Top Dev Biol.* 2018. Vol. 126. P. 177–203. DOI: 10.1016/bs.ctdb.2017.08.001.
27. Holmberg J., Durbeej M. Laminin-211 in skeletal muscle function. *Cell Adh Migr.* 2013. Vol. 7. No. 1. P. 111–121. DOI: 10.4161/cam.22618.
28. Yamada M., Tatsumi R., Yamanouchi K., Hosoyama T., Shiratsuchi S., Sato A., Mizunoya W., Ikeuchi Y., Furuse M., Allen R.E. High concentrations of HGF inhibit skeletal muscle satellite cell proliferation *in vitro* by inducing expression of myostatin: A possible mechanism for reestablishing satellite cell quiescence in vivo. *Am J Physiol Cell. Physiol.* 2010. Vol. 298. No. 3. P. 465–476. DOI: 10.1152/ajpcell.00449.2009.
29. Sun L., Ma K., Wang H., Xiao F., Gao Y., Zhang W., Wang K., Gao X., Ip N., Wu Z. JAK1-STAT1-STAT3, a key pathway promoting proliferation and preventing premature differentiation of myoblasts. *J Cell Biol.* 2007. Vol. 179. P. 129–138. DOI: 10.1083/jcb.200703184.
30. Dumont N.A., Wang Y.X., Rudnicki M.A. Intrinsic and extrinsic mechanisms regulating satellite cell function. *Development.* 2015. Vol. 142. No. 9. P. 1572–1581. DOI: 10.1242/dev.114223.
31. Chen B., Shan T. The role of satellite and other functional cell types in muscle repair and regeneration. *Journal of Muscle Research and Cell Motility. J Muscle Res Cell Motil.* 2019. Vol. 40. No. 1. P. 1–8. DOI: 10.1007/s10974-019-09511-3.
32. Taylor M.V., Hughes S.M. Mef2 and the skeletal muscle differentiation program. *Semin Cell Dev Biol.* 2017. Vol. 72. P. 33–44. DOI: 10.1016/j.semcdb.2017.11.020.
33. Olguin H.C., Yang Z., Tapscott S.J., Olwin B.B. Reciprocal inhibition between Pax7 and muscle regulatory factors modulates myogenic cell fate determination. *J Cell Biol.* 2007. Vol. 177. No. 5. P. 769–779. DOI: 10.1083/jcb.200608122.
34. Hodun K., Chabowski A., Baranowski M. Sphingosine-1-phosphate in acute exercise and training. *Scand J Med Sci Sports.* 2021. Vol. 31. No. 5. P. 945–955. DOI: 10.1111/sms.13907.
35. Sassoli C., Formigli L., Bini F., Tani A., Squecco R., Battistini C., Zecchi-Orlandini S., Francini F., Meacci E. Effects of SIP on skeletal muscle repair/regeneration during eccentric contraction. *J Cell Mol Med.* 2011. Vol. 15. No. 11. P. 2498–511. DOI: 10.1111/j.1582-4934.2010.01250.x.
36. Buono R., Vantaggiato C., Pisa V., Azzoni E., Bassi M.T., Brunelli S., Sciorati C., Clementi E. Nitric oxide sustains long-term skeletal muscle regeneration by regulating fate of satellite cells via signaling pathways requiring Vangl2 and cyclic GMP. *Stem Cells.* 2012. Vol. 30. No. 2. P. 197–209. DOI: 10.1002/stem.783.
37. Delaney K., Kasprzycka P., Ciemerych M.A., Zimowska M. The role of TGF- β 1 during skeletal muscle regeneration. *Cell Biol Int.* 2017. Vol. 41. No. 7. P. 706–715. DOI: 10.1002/cbin.10725.
38. Jones N.C., Tyner K.J., Nibarger L., Stanley H.M., Cornelison D.D.W., Fedorov Y.V., Olwin B.B. The p38 α / β MAPK functions as a molecular switch to activate the quiescent satellite cell. *The Journal of Cell Biology.* 2005. Vol. 169. P. 105–116. DOI: 10.1083/jcb.200408066.
39. Liu Y., Schneider M.F. FGF2 activates TRPC and Ca²⁺ signaling leading to satellite cell activation. *Front Physiol.* 2014. Vol. 5. P. 38. DOI: 10.3389/fphys.2014.00038.
40. Шурыгин М.Г., Дремина Н.Н., Шурыгина И.А., Мачхин И.Н. Основные активаторы ангиогенеза и их применение в кардиологии (обзор литературы) // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2005. № 6 (44). С. 199–207.
41. Дремина Н.Н., Шурыгин М.Г., Чепурных Е.Е., Шурыгина И.А. Роль факторов роста при спящем процессе в брюшной полости // *Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal)*. 2019. Т. 4. № 5. С. 98–103.
42. Segalés J., Perdiguero E., Muñoz-Cánoves P. Regulation of Muscle Stem Cell Functions: A Focus on the p38 MAPK Signaling Pathway. *Front Cell Dev Biol.* 2016. Vol. 4. P. 91. DOI: 10.3389/fcell.2016.00091.
43. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Зеленин Н.В., Люшинова Н.И. Воздействие на митогенактивируемые протеинкиназы как новое направление регуляции роста соединительной ткани // Бюллетень сибирской медицины. 2017. Т. 16. № 4. С. 86–93.
44. Jones N.C., Fedorov Y.V., Rosenthal R.S., Olwin B.B. ERK1/2 is required for myoblast proliferation but is dispensable for muscle gene expression and cell fusion. *Journal of Cellular Physiology.* 2001. Vol. 186. P. 104–115. DOI: 10.1002/1097-4652(200101)186:1<104::AID-JCP1015>3.0.CO;2-0.
45. Wu Z., Woodring P.J., Bhakta K.S., Tamura K., Wen F., Feramisco J.R., Karin M., Wang J.Y., Puri P.L. p38 and extracellular signal-regulated kinases regulate the myogenic program at multiple steps. *Mol Cell Biol.* 2000. Vol. 20. No. 11. P. 3951–3964. DOI: 10.1128/MCB.20.11.3951-3964.2000.
46. Nagata Y., Kobayashi H., Umeda M., Ohta N., Kawashima S., Zammit P.S., Matsuda R. Sphingomyelin levels in the plasma membrane correlate with the activation state of muscle satellite cells. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry.* 2006. Vol. 54. No. 4. P. 375–384. DOI: 10.1369/jhC.5A6675.2006.
47. Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г. Влияние p38 MAPK на окислительное фосфорилирование при регенерации мышечной ткани // *Патогенез.* 2018. Т. 16. № 4. С. 66–70.
48. Ornatsky O.I., Cox D.M., Tangirala P., Andreucci J.J., Quinn Z.A., Wrana J.L., Prywes R., Yu Y.T., McDermott J.C. Post-translational control of the MEF2A transcriptional regulatory protein. *Nucleic Acids Research.* 1999. Vol. 27. No. 13. P. 2646–2654. DOI: 10.1093/nar/27.13.2646.
49. Шурыгин М.Г., Шурыгина И.А., Дремина Н.Н., Князя О.В. Матриксная металлопротеаза 9 и ремоделирование при инфаркте миокарда // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 2013. № 2–1 (90). С. 138–141.