

Porównawcze badania rozwoju mięśni miotomalnych oraz mięśni kończyn wybranych przedstawicieli gadów (Reptilia).

Porównawcze badania różnicowania mięśni u gadów obejmowały analizę rozwoju mięśni tułowiowych u dwóch gatunków węży: zaskrońca zwyczajnego (*Natrix natrix*) i kobry egipskiej (*Naja haje*) oraz mięśni kończyn jaszczurki zwinki (*Lacerta agilis*). W badaniach wykorzystano techniki mikroskopii świetlnej, konfokalnej, TEM oraz metodę Western blot.

Analiza w mikroskopie konfokalnym wykazała, że podczas wczesnych etapów rozwoju, somit zaskrońca zwyczajnego tworzy pęcherzyk, którego ściany zbudowane są z jednej warstwy Pax3-pozytywnych komórek nabłonkowych, otaczających jamę somitu (somitocel). W kolejnym etapie somity *N. natrix* ulegają zróżnicowaniu na nabłonkowy dermomiotom i mezenchymatyczny sklerotom. W części nadosiowej dermomiotomu wyróżnia się wargę grzbietową (DL) natomiast w części podosiowej – wargę brzuszną (VL). Analiza immunocytochemiczna wykazała obecność białka Pax3 w komórkach obu warg, natomiast środkową część dermomiotomu budują Pax7-pozytywne komórki. Miotom pierwotny zaskrońca zwyczajnego oraz kobry egipskiej zbudowany jest z jednojądrowych miotub pierwotnych, w których obserwuje się początki miofibrylogenezy. Główną masę miotomu pierwotnego zaskrońca zwyczajnego stanowią miotuby. W miotomie obserwuje się również Pax3-pozytywne komórki zlokalizowane w sąsiedztwie wargi brzusznej. Analiza przy zastosowaniu metody Western blot wykazała, że w analizowanych stadiach rozwoju (I - VIII) zaskrońca zwyczajnego poziom białka Pax3 spada podczas różnicowania mięśni. Natomiast poziom białka Pax7 utrzymuje na porównywalnym poziomie podczas wszystkich analizowanych stadiów rozwoju. Podczas miogenezy miotomalnej zaskrońca zwyczajnego zaobserwowano, że włókna wolne (czerwone) i szybkie (białe) zajmują podobny obszar w miotomie, o czym świadczy immunodetekcja wolnych i szybkich izoform łańcuchów ciężkich miozyny.

W badaniach wykazano, że we wzrost mięśni (hipertroficzny, hiperplastyczny) zaskrońca zwyczajnego oraz kobry egipskiej zaangażowane są komórki satelitarne towarzyszące miotubom. Komórki satelitarne zaskrońca zwyczajnego mają charakter Pax7-pozytywny. Pośrednim dowodem morfologicznym na fuzję komórek satelitarnych z włóknami mięśniowymi kobry egipskiej jest obecność pęcherzyków podsarkolemmalnych na obszarze kontaktu komórki satelitarnej i włókna mięśniowego.

W zaawansowanych etapach miogenezy zaskrońca zwyczajnego oraz kobry egipskiej wykazano obecność dwóch klas włókien mięśniowych. Klasa I jest reprezentowana przez typowe włókna mięśniowe, w których miofibryle wypełniają całą objętość włókna. Włókna klasy II charakteryzują się centralnie zlokalizowanym jądrem komórkowym otoczonym przez miofibryle oraz krople lipidowe. We włóknach klasy II wykazano obecność wolnej izoformy łańcucha ciężkiego miozyny.

Podczas wczesnych etapów rozwoju jaszczurki zwinki zawiązek kończyny, pod postacią pączka kończyny, otoczony jest jednowarstwowym nabłonkiem. Wnętrze zawiązka wypełnione jest komórkami mezenchymatycznymi. Komórki progenitorowe mięśni kończyn migrują z wargi brzusznej dermomiotomu do zawiązka kończyny gdzie tworzą pola miogenne. W części grzbietowej oraz brzusznej pól miogennych wykazano obecność Pax3- i Lbx2-pozytywnych komórek. Immunodetekcja białka Pax3 wykazała jego obecność w wardze brzusznej dermomiotomu. Jednojądrowe komórki zlokalizowane w bliskim sąsiedztwie wargi brzusznej dermomiotomu wykazują charakter Lbx2-pozytywny. Różnicowanie mięśni kończyn, w przeciwieństwie do miogenezy miotomalnej, przebiega w sposób asynchroniczny, co oznacza, że w polach miogennych równocześnie obserwuje się premyoblasty, mioblasty oraz miotuby. Badania przy użyciu metody Western blot wykazały, że białka Pax3 i Lbx2 są obecne we wszystkich analizowanych stadiach rozwoju kończyny jaszczurki zwinki (Stadia 22-32). Nie stwierdzono obecności białka Pax7 w związku kończyny, podczas gdy jego obecność wykazano w miotomach w analizowanych stadiach rozwoju.

Na podstawie uzyskanych wyników można wnioskować, że budowa somitu, pochodzenie komórek progenitorowych mięśni, formowanie miotomu pierwotnego oraz wzrost mięśni zaskrońca zwyczajnego i kobry egipskiej wykazuje cechy miogenezy owodniowców (ptaków, ssaków). Rozwój kończyn u jaszczurki zwinki przebiega podobnie jak o innych Tetrapoda. Pomimo dużego podobieństwa miogenezy miotomalnej węży do miogenezy owodniowców w badaniach wykazano cechy unikatowe i specyficzne tylko dla węży. Przypuszcza się, że włókna klasy II posiadające zdolność do gromadzenia tłuszczu należą do grupy mięśni czerwonych, które nie spełniają funkcji motorycznych, a mogą stanowić ważny magazyn lipidów wykorzystywanych u dorosłych osobników podczas hibernacji. Obecność tej szczególnej klasy mięśni nie została dotychczas opisana w literaturze.

04.05.2011
[Signature]