

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Chemie
Studijní obor: Chemie a biologie se zaměřením na vzdělávání



Veronika Majerová

Regenerační schopnosti obratlovců

Regeneration abilities among vertebrates

Bakalářská práce

Školitelka: Mgr. Zuzana Starostová, Ph.D.

Praha, 2021

Poděkování

Ráda bych poděkovala své školitelce Mgr. Zuzaně Starostové, Ph.D. za její čas, trpělivost a cenné rady při zpracování této bakalářské práce. Také bych chtěla poděkovat své rodině, kamarádům a příteli za jejich podporu.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu. Bakalářská práce je školním dílem a může být použita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana Přírodovědecké fakulty Karlovy univerzity v Praze.

dne

podpis

Abstrakt

Mezi obratlovci je napříč taxony nerovnoměrně rozložena schopnost regenerovat různé tělní struktury, od buněčné úrovně až po komplexní orgány či celé části těla jako jsou končetiny či ocas. Regenerace je chápána jako obnova poškozených či úplně ztracených tkání, kdy je obnovená struktura více či méně podobná nebo dokonce identická se strukturou původní. Ve volné přírodě regeneraci často předchází setkání s predátorem, kdy je jedinec přímo zraněn nebo může dojít k autotomii, tedy dobrovolnému odvržení části těla. Autotomie i regenerace mají spoustu výhod i nevýhod, které se mezi sebou často prolínají a následně jedince ovlivňují. Za přeborníky v regeneraci jsou považováni především ocaseatí obojživelníci, kteří jsou schopni dokonale zregenerovat různé tělní struktury (např. oční čočku, končetinu či ocas) a tato schopnost jim přetrvává po celý život, na rozdíl od žab, u kterých schopnost regenerace po metamorfóze výrazně klesá. Oproti obojživelníkům je regenerační schopnost u ptáků a savců značně limitována. Cílem této práce je přiblížit schopnost regenerace a mechanismy, kterými regenerace probíhá. Proces regenerace bude popsán na vybraných (z různých hledisek zajímavých a široce zkoumaných) strukturách, které se u obratlovců regenerují. Cílem je také poukázat na podobnosti či rozdíly při procesu regenerace u různých skupin živočichů a poskytnout jakýsi přehled o regenerační kapacitě mezi obratlovci.

Klíčová slova: blastém, obojživelníci, obratlovci, regenerace, tkáň

Abstract

Among vertebrates the ability to regenerate various body structure, from the cellular level to diverse internal organs or even the complex body structures (such as limb or tail), is unequally distributed across animal taxa. Regeneration is understood as the restoration of damaged or completely lost tissues, while the restored structure is more or less similar or even identical to the original structure. Regeneration is naturally often preceded by an encounter with a predator, when the animal is directly injured by the predator or an autotomy may occur as an anti-predator mechanism, which means that the animal voluntarily releases an appendage. Autotomy and following regeneration have many advantages but there can also appear some costs associated with these events which may have various consequences. Masters in regeneration are considered to be mainly urodele amphibians who are able to perfectly regenerate various body structures (such as eye lens, limb or tail) and this ability persists throughout their lives, unlike anuran amphibians, in which the ability to regenerate after metamorphosis decreases significantly. In contrast to amphibians, the ability to regenerate among mammals or birds is severely limited. The aim of this work is to approach the ability of regeneration and the mechanisms by which regeneration occurs. The process of regeneration will be described on selected (from various points of view interesting and widely researched) structures that are being regenerated in vertebrates. The aim is also to point out the similarities or differences in the regeneration process in different groups of animals and to provide some overview of the regeneration capacity among vertebrates.

Key words: amphibians, blastema, regeneration, tissue, vertebrates

Obsah

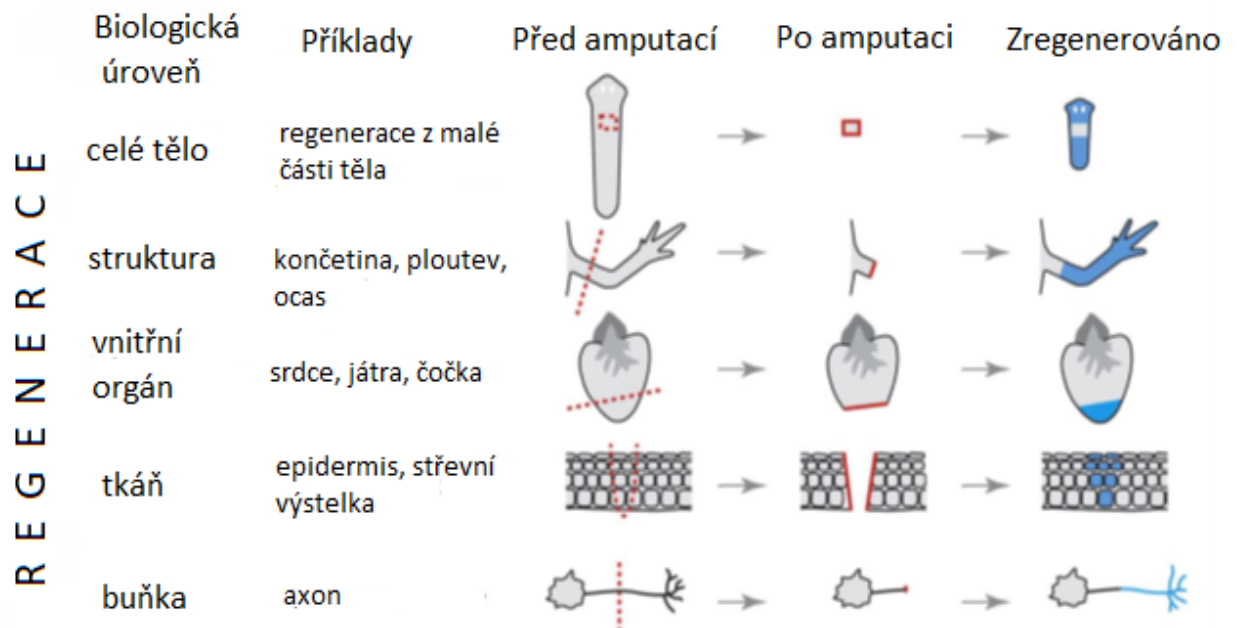
1	Úvod	1
1.1	Regenerace	1
1.2	Co předchází regeneraci	5
1.3	Výhody a nevýhody regenerace	6
2	Regenerace srdce	7
2.1	Mechanismus regenerace srdce u dána pruhovaného	8
3	Regenerace oční čočky	10
3.1	Mechanismus regenerace čočky u ocasatých obojživelníků	10
3.2	Mechanismus regenerace u larválních stádií žab	12
4	Regenerace kůže	13
4.1	Mechanismus regenerace kůže u savců	14
5	Regenerace ocasu	17
5.1	Mechanismus regenerace ocasu u plazů	18
6	Regenerace končetiny a párových ploutví s endoskeletem	20
6.1	Mechanismus regenerace končetiny u ocasatých obojživelníků	22
6.2	Regenerace párových ploutví s endoskeletem	24
7	Závěr	25
8	Seznam použité literatury	27

1 Úvod

V následujících kapitolách budou probrány některé konkrétní příklady regenerace na různých úrovních komplexity, se kterými se mezi obratlovci můžeme setkat. Vybraný seznam regenerujících orgánů a komplexnějších struktur není zcela vyčerpávající. Záběr této práce je regenerace od úrovně vnitřních orgánů výše, tedy nezaměřuji se na regeneraci na úrovni jednotlivých buněk či tkání, ale na orgány a komplexnější struktury jako jsou tělní výběžky (Obr. 1) a to zejména na příklady, které jsou zajímavé především z biomedicínského hlediska a které jsou za tímto účelem také intenzivně zkoumány. Cílem této práce je poskytnout přehled o rozšíření schopnosti regenerace mezi obratlovci, přiblížit mechanismus, kterým regenerace konkrétních struktur probíhá a shrnout, kteří živočichové tuto schopnost ovládají.

1.1 Regenerace

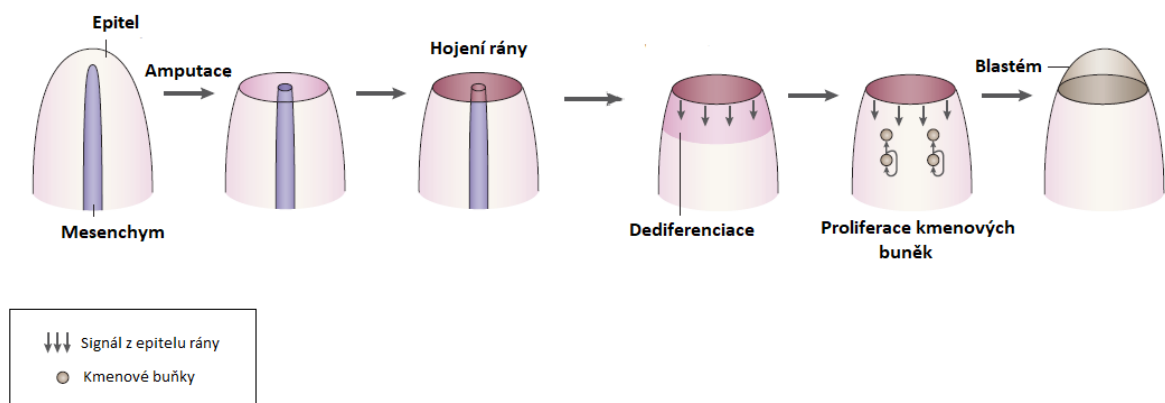
Regenerací rozumíme obnovu ztracené či nějakým způsobem poškozené části těla. Mezi živočichy probíhá na mnoha úrovních, od regenerace na buněčné úrovni přes regeneraci vnitřních orgánů až po regeneraci celých komplexních struktur jako jsou končetiny či ocas nebo dokonce na úrovni celého těla (Bely & Nyberg, 2010; Obr. 1). Mezi obratlovci nebyla nikdy pozorována schopnost zregenerovat celé tělo, avšak regenerace alespoň některé tělesné struktury je častá a vyskytuje se u většiny skupin živočichů (Bely & Nyberg, 2010; Daponte et al., 2021; Tabulka č.1). Za přeborníky v regeneraci komplexních struktur jsou mezi obratlovci považováni zejména ocasatí obojživelníci, kde mezi nejzkoumanější druhy patří čolek ohňobřichý (*Cynops pyrrhogaster*) a axolotl mexický (*Ambystoma mexicanum*) (Tsonis, 2000; Slack et al., 2005). Naopak u ptáků a savců se tato schopnost regenerovat komplexní struktury nevyskytuje. Savci jsou však schopni regenerovat játra (Stanger, 2015) a někteří regenerují i kůži (Seifert et al. 2012b); špičky prstů (Simkin et al., 2015) nebo třeba ušní tkáň (Williams- Boyce & Daniel, 1986; Gawriluk et al., 2016).



Obrázek č. 1: V živočišné říši je regenerace pozorována na různých úrovních. Toto schéma zobrazuje úrovně regenerace i s konkrétními příklady. Červená přerušovaná čára naznačuje rovinu amputace, plná červená čára povrch rány a modrá výplň zobrazuje zregenerovanou část. Převzato a upraveno z Bely & Nyberg, 2010.

Proces regenerace zahrnuje prvotní rozpoznání ztráty nebo poškození tkáně a následné mechanismy, které přispívají k obnově dané struktury. Regenerační odpověď je iniciována právě ztrátou tkáně či jejím lokálním poškozením (Brockes & Kumar, 2008). K regeneraci dochází prostřednictvím různých vývojových mechanismů a vytváří se struktury, které jsou identické nebo do značné míry podobné jako ty původní (Bely & Nyberg, 2010). Stupeň obnovy a dokonalost regenerace tkání a struktur se mezi obratlovci a také u různých typů tkání liší. Rozlišujeme dva typy regenerace, a to morfalaxi a epimorfózu (Bely & Nyberg, 2010; Seifert & Muneoka, 2018). Základním rozdílem mezi těmito dvěma typy je, že oproti morfalaxi dochází během epimorfózy k buněčné proliferaci a často i k formaci blastému (viz Obr. 2). Příkladem epimorfní regenerace, kdy se blastém tvoří, je regenerace končetiny u některých ocasatých obojživelníků (Sánchez Alvarado, 2000) nebo regenerace ocasu u plazů (Cox, 1969; McLean, & Vickaryous, 2011). Blastémem rozumíme jakési uskupení nediferenciovaných buněk, které se následně diferenciuje do různých buněčných typů a tvoří tak novou strukturu. Bylo zjištěno, že každá tkáň, která při regeneraci přispívá do blastému, produkuje progenitorové buňky s omezeným potenciálem. Proto je blastém heterogenní uskupení omezených progenitorových buněk (Kragl et al., 2009). Blastém může

být tvořen primárně kmenovými buňkami, buňkami, které prošly procesem dediferenciace či kombinací obou těchto typů buněk (Sánchez Alvarado, 2000; Bely & Nyberg, 2010). Příkladem epimorfní regenerace bez tvorby blastému je regenerace založena na dediferenciaci buněk. Konkrétně se jedná o to, že terminálně diferencované buňky opětovně vstupují do buněčného cyklu a ztrácejí své charakteristické vlastnosti a funkce, stávají se z nich progenitorové buňky a ty se následně mohou transdiferencovat, respektive změnit se v jiný buněčný typ (Tsonis, 2000). Tento mechanismus je uplatňován při regeneraci čočky u čolků, kdy dochází k transdiferenciaci pigmentových buněk dorzální duhovky do buněk čočky (Del Rio-Tsonis & Tsonis, 2003; Call et al., 2005). Při morfalaxi vychází regenerace z remodelace existující tkáně a nezahrnuje žádnou, případně velmi omezenou buněčnou proliferaci. S tímto typem regenerace se můžeme setkat u některých bezobratlých živočichů, například u nezmarů (rod *Hydra*) (Bely & Nyberg, 2010; Pellettieri, 2019).



Obrázek č. 2: Schéma zobrazující základní kroky při epimorfní regeneraci a tvorbě blastému. Převzato a upraveno z Alvarado & Tsonis, 2006.

taxon	orgán/struktura	konkrétní druh	vývojové stádium	zdroj
Bichři	párové ploutve	<i>Polypterus senegalus</i>	pouze larva	Nikiforova & Golichenkov, 2011
Kostnatí	ocasní ploutev	<i>Danio rerio</i>		Uemoto et al., 2020
	párové ploutve	<i>Carassius auratus</i>		Darnet et al., 2019
	kůže	<i>Danio rerio</i>		Richardson et al., 2013
	srdce	<i>Danio rerio</i>		Poss et al., 2002
	elektrický orgán	<i>Sternopygus macrurus</i>		Unguez, 2013
Dvojdyšní	párové ploutve	<i>Lepidosiren paradoxa</i>		Nogueira et al., 2016
	ocas	<i>Protopterus annectens</i>		Conant, 1973
Žáby	končetina	<i>Xenopus laevis</i>	pouze larva	Slack et al., 2004
	ocas	<i>Xenopus laevis</i>	pouze larva	Mochii et al., 2007
	kůže	<i>Xenopus laevis</i>	larva, juvenil	Bertolotti et al., 2013
	oční čočka	<i>Xenopus laevis</i>	pouze larva	Filoni, 1997
Ocasatí	kůže	<i>Ambystoma mexicanum</i>		Levesque et al., 2010
	ocas	<i>Ambystoma mexicanum</i>		Echeverri & Tanaka, 2002
	končetina	<i>Ambystoma mexicanum</i>		Kragl et al., 2009
		<i>Notophthalmus viridescens</i>		Iten & Bryant, 1973
	oční čočka	<i>Cynops pyrrhogaster</i>		Eguchi et al., 2011
	srdce	<i>Ambystoma mexicanum</i> <i>Notophthalmus viridescens</i>		Cano- Martínez et al., 2010 Bettencourt- Dias, et al., 2003
Plazi	ocas	<i>Eublepharis macularius</i>		McLean & Vickaryous, 2011
	kůže	<i>Eublepharis macularius</i> <i>Ailuroonyx tachyscopaeus</i>		Peacock et al., 2015
Savci	kůže	<i>Acomys cahirinus</i> <i>A. kemp</i> , <i>A. percivali</i>		Matias Santos et al., 2016
	ušní tkáň	<i>Oryctolagus cuniculus</i> <i>Acomys cahirinus</i> , <i>A. kemp</i> , <i>A. percivali</i>		Gawriluk et al., 2016
	špičky prstů	<i>Mus musculus</i>		Simkin et al., 2015

Tabulka č.1: V této tabulce je vypsána většina orgánů/ komplexních struktur, s jejichž regenerací se můžeme mezi obratlovci setkat. U každé struktury je uveden jako příklad konkrétní druh, na kterém byla regenerace zkoumána, přičemž regenerační schopnosti některých skupin živočichů jsou omezeny pouze na larvální stádia (bichři a žáby).

Inspirována v Jacyniak et al., 2017.

1.2 Co předchází regeneraci

V přírodě vede k regeneraci nejčastěji setkání s predátorem, kdy je živočich predátorem buď přímo zraněn nebo dojde k tzv. autotomii. Mezi živočichy se vyvinula řada strategií, jak se vyhnout predátorům a mezi nimi právě i autotomie (Labanick, 1984; Kelehear & Webb, 2006). Autotomií rozumíme reflexní odvrhnutí, respektive dobrovolné zbavení se postradatelné části těla (např. ocasu, končetiny). Jedná se o antipredační či obecně obrannou strategii úniku proti nebezpečí (Clause & Capaldi, 2006; Emberts et al., 2019). U obratlovců je nejčastější formou kaudální autotomie, tedy odvrhnutí ocasu, která je obzvláště rozšířená mezi plazy (Higham et al., 2013; Gillis & Higham, 2016), ale můžeme se setkat také s autotomií ocasu u některých obojživelníků (u mločků *Plethodontidae*) (Smits & Brodie, 1995; Labanick 1984) nebo s autotomií kůže u některých afrických bodlinatých myší rodu *Acomys* (Seifert et al., 2012b).

Tato schopnost slouží ve prospěch živočicha několika způsoby. Příkladem může být možnost se odvržením části těla dostat z uchopení predátora. Dalším příkladem je, že již autotomizovaný ocas je často schopen vlastního prudkého pohybu a svíjení se (po dobu několika sekund až minut po odvrhnutí), kdy odvede predátorovu pozornost a poskytuje jedinci čas na útěk do bezpečí (Clause & Capaldi, 2006). Navzdory okamžité výhodě přežití může mít však autotomie i nevýhody a významné důsledky v mnoha oblastech. Například absence autotomizovaného ocasu ovlivňuje rovnováhu a stabilitu spolu s výkonem řady pohybových aktivit (Maginnis, 2006). To může mít dopad na činnosti, které jsou nezbytné pro přežití a reprodukci, včetně úniku predátorům, získání potravy či hledání partnerů (Higham et al., 2013). Tato změna v morfologii může mít i další důsledky, jako je změna polohy těžiště nebo náhlé snížení dostupných zásob energie (Russel et al., 2015; Gillis & Higham, 2016). Pokud dojde k odvržením ocasu, může dojít ke ztrátě právě těchto zásob, které mají plazi často v ocase uloženy ve formě tuků a mohou tvořit až polovinu z celkových energetických zásob jedince (Píchová, 2019). Oproti tomu u některých obojživelníků, konkrétně např. u mločika *Oedipina uniformis*, si jedinci v ocase tukové zásoby nehromadí, ocas je poměrně svalnatý, a tak bude mít autotomie vliv zejména při dalším setkání s predátorem, kdy jedinec nebude schopen predátora např. ocasem rozptýlit (Smits & Brodie, 1995). Jelikož mločici *Plethodontidae* nemají vyvinuté plíce a dýchají zejména kůží, ztrácejí při autotomii ocasu relativně velký povrch pro dýchání. Byl tedy zkoumán vliv autotomie na proces dýchání a výsledky naznačují, že náklady autotomie spojené s dýcháním jsou zanedbatelné (Smits & Brodie, 1995).

Organismy, které používají tento mechanismus úniku před predátorem, jsou často schopné regenerovat ztracenou část (Clause & Capaldi, 2006). Regenerace je totiž způsob, kterým živočichové zmírňují některé náklady spojené se ztrátou části těla. Stejně jako autotomie může mít však regenerace struktury důležité důsledky pro různé aspekty jejich života, které budou zmíněny podrobněji níže (Maginnis, 2006).

1.3 Výhody a nevýhody regenerace

Schopnost regenerovat ztracené či poškozené části těla představuje spoustu výhod a nese s sebou mnoho benefitů, které jsou na první pohled zřejmé. Regenerace může zejména kompenzovat některé náklady spojené s autotomií, když se autotomizovaná část těla zregeneruje (Maginnis, 2006; Gillis & Higham, 2016). Regenerace může však mít i negativní dopady, které už tak zřejmé nejsou. Může mít důležité důsledky v různých aspektech a může negativně ovlivňovat např. somatický růst nebo reprodukci daného živočicha či jeho celkovou energetiku (Píchová, 2019). Opětovný růst struktury totiž vyžaduje alokaci zdrojů, které by jinak šly právě na somatický růst nebo reprodukci (Vitt, et al., 1977; Maginnis, 2006). Ve spojení s regenerací tělního výběžku u plazů a obojživelníků byl zaznamenán negativní vliv na plodnost, který se může projevit na celkovém počtu vajec, velikosti či hmotností jednotlivých vajec nebo např. na celkové hmotnosti plodu (Maiorana, 1977; Maginnis, 2006). Negativní vliv regenerace se může objevit již během samotného procesu regenerace, kdy struktura, která je částečně, ale dosud ne plně regenerována, může v některých případech bránit funkci organismu více než absence struktury. Dalším příkladem negativního dopadu je případ, kdy je regenerovaná struktura nedokonalou kopií originálu, což se týká zejména regenerace tělního výběžku u obojživelníků a plazů. Živočich pak v tomto případě může nést trvalé následky, kdy regenerát může být trvale menší, jiného tvaru, méně ohebný nebo mohou chybět určité struktury či tkáně, které se nepovedlo zregenerovat. Oproti originálu může být narušena i jeho funkčnost. V těchto případech se můžeme objevit zhoršená schopnost získávat potravu a jedinci mohou mít tak celkově nižší šance na přežití (Maginnis 2006; Bely & Nyberg, 2010). Omezený růst ocasu u plazů či obojživelníků může také ovlivnit růst těla živočicha. Pokud dojde k poškození např. ocasu u nedospělých jedinců, dávají někteří přednost regeneraci před somatickým růstem, a to může následně ovlivnit kondici živočicha v úspěšnosti páření (Píchová, 2019). Snížená rychlost růstu by také mohla prodloužit celkový čas potřebný pro dosažení dospělosti a reprodukční

aktivity (Clause a Capaldi, 2006; Maginnis 2006). Výhody regenerace by však měly převažovat nad negativními vlivy a nad náklady regenerace.

2 Regenerace srdce

Výzkumu regenerace srdce je věnována velká pozornost, a to zejména z hlediska biomedicínského. Hlavním důvodem zájmu o porozumění této schopnosti je, že srdce savců není schopné z makroskopického hlediska regenerovat. Při jeho poškození se uplatňují fibroblasty, buňky vazivové tkáně, které vylučují kolagen a tvoří tak jizvy. Tato fibrotická tkáň sice zachovává integritu srdeční stěny, ale způsobuje ztuhnutí srdeční komory a srdeční stěna pak není schopna kontrakce a přenosu elektrického impulsu (stimulu), protože produkuje izolační vrstvu kolagenu (González-Rosa et al., 2017; Chablais et al. 2011). Kardiovaskulární onemocnění, která často vyústí infarktem myokardu, jsou jednou z hlavních příčin úmrtí lidí po celém světě (Price et al., 2019). Infarkt myokardu nastává při náhlém ucpaní či výrazném zúžení jedné z věnčitých tepen. Následkem toho dochází k přerušení krevního zásobení části srdce, tedy k nedostatečnému okysličování svalové tkáně a následné odumření části srdečního svalu, které bývá nevratné. Tkáň mrtvého myokardu je nahrazena jizvou bohatou na kolagen, což má za následek různé patologie, mj. třeba další infarkt myokardu. Navíc se zbývající kardiomyocyty zvětšují, aby kompenzovaly ztrátu tkáně a to má na funkci srdce také negativní vliv. Neschopnost dospělých kardiomyocytů znovu vstoupit do buněčného cyklu je považována za hlavní limitaci a důvod špatného regeneračního potenciálu srdce u savců (Beffagna et al., 2019).

V živočišné říši se však můžeme setkat s pozoruhodnou schopností poškozené srdce zregenerovat, a to konkrétně u některých kostnatých ryb či u ocasatých obojživelníků (Poss et al., 2002; Bettencourt-Dias et al., 2003; Cano-Martínez et al., 2010). Modelovým organismem, u kterého je tento proces zkoumán nejčastěji, je dánío pruhované (*Danio rerio*) (Price et al., 2019; Jazwinska & Blanchoud, 2020). Srdce dospělců dánía je skvělým modelem obratlovců pro studium reakce na infarkt myokardu, protože je schopno úplně a bez jizev zregenerovat myokard po infarktu při postižení až 25 % komory (Chablais et al., 2011; González-Rosa et al., 2011).

2.1 Mechanismus regenerace srdce u dána pruhovaného

Srdce dána pruhovaného má jednu komoru a jednu síň, je tedy oproti savčímu srdci jednodušší a rozměrově menší, z histologického hlediska je však srovnatelné se srdcem savců i jiných obratlovců (Beffagna, 2019). Srdeční stěna se skládá ze tří vrstev, a to nejsvrchnějšího epikardu, myokardu a vnitřní vrstvy vystylající srdeční dutinu, endokardu. Myokard je nejmohutnější částí, jedná se srdeční svalovinu, která zajišťuje pravidelné stahy.

Nejvhodnější metodou pro zkoumání procesu regenerace srdce u dána se jeví metoda kryokauterizace, kdy se jedná o lokalizované poškození až 25 % srdeční komory. V tomto případě se kovové vlákno předem ochladí v tekutém dusíku a poté se aplikuje na povrch komory, aby se jeho část zmrazila. Rychlé zmrazení a rozmrazení buněk vede k tkáňové nekróze následované apoptózou buněk obklopujících nekrotickou oblast (Chablais et al., 2011; González-Rosa et al., 2017). Tento způsob se nejvíce přibližuje k poškození srdce při infarktu myokardu u savců, který je také mj. spojen s masivní buněčnou smrtí, zánětem a nutností odstranit nekrotické buněčné zbytky (Chablais et al., 2011). V tom tkví zásadní rozdíl oproti regeneraci, která následuje po metodě amputace (resekce) části srdce, která kryokauterizaci při výzkumu předcházela a při které se neuplatňuje ve velké míře buněčná apoptóza vyvolána ischemií a není potřeba odstraňovat nekrotické buněčné zbytky (Poss et al., 2002; Price, 2019).

Celý proces regenerace srdce u dána můžeme rozdělit do 3 fází, které se vzájemně překrývají. V první fázi, během několika hodin po poškození, dochází kromě zjevné nekrózy také k rozsáhlé buněčné apoptóze kardiomyocytů, zejména v poškozené oblasti a blízké koronární vaskulatuře (Chablais et al., 2011). Buněčnou smrt provází také tvorba prozánětlivého prostředí, kdy je aktivován imunitní systém a makrofágové pomocí fagocytózy čistí poškozenou oblast, odstraňují odumřelé a nekrotické buňky a vytváří příznivé prostředí pro obnovu tkáně (De Preux Charles et al., 2016). Tyto imunitní buňky jsou nezbytné pro zajištění opětovného vstupu srdečních buněk do buněčného cyklu a následnou efektivní regeneraci. Bez nich by buněčné zbytky a fibrin nebyly účinně odstraněny. Přetrvávající poškozená tkáň by pravděpodobně zhoršila remodelaci tkáně, která by přímo nebo nepřímo blokovala proliferaci a migraci srdečních buněk (De Preux Charles et al., 2016). Odpověď na zranění ovlivňuje srdce v širším měřítku (Jopling et al., 2010). Dochází totiž také k aktivaci endokardu a epikardu, kdy je pro druhou fázi typická jejich aktivace, která předchází samotné regeneraci myokardu. Tyto nesvalové buňky hrají zásadní roli při tvorbě prostředí, které usnadňuje proliferaci myokardu (Chablais et al., 2011). V této

fázi se také tvoří fibrinová vrstva (již po čtyřech dnech), která utěsňuje ránu a dochází k akumulaci fibroblastů produkujících kolagen, který má zejména podpůrnou funkci. Vrstva fibrinu obklopuje vnější hranici po infarktu a uvnitř rány se nachází síť kolagenu. Ve třetí fázi, která je nejvíce pozoruhodná a oproti předchozím dějům je specifická pro regenerující srdce u dána (chybí např. u srdce savců), dochází k samotné regeneraci. Již diferenciované kardiomyocyty vstupují do buněčného cyklu. Buněčná proliferace ve vysoké míře trvá přibližně 30 dní, poté se tato míra snižuje a po 60 dnech již zesílená proliferace těchto buněk není pozorována, což naznačuje konec regeneračního procesu (Chablais et al., 2011). Dochází také k degradaci fibrinu a později i kolagenu. Po jejich odbourání jsou opětovně začleňovány regenerované kardiomyocyty (Poss et al., 2002). Zdá se, že regenerovaný srdeční sval pochází z většiny nebo plně z proliferace již existujících a diferencovaných kardiomyocytů a že kmenové či progenitorové buňky nejsou do obnovy tkáně významně zapojeny (Jopling et al., 2010).

Celý proces regenerace je provázen zvýšenou expresí několika genů, které jsou kardiomyocyty exprimovány. Některé z těchto genů jsou upregulovány v okolí poškozené části srdce a dá se předpokládat, že kódují molekuly, které by mohly působit jako iniciační signály pro regeneraci (Lien et al., 2006). Pro proliferaci kardiomyocytů je nutná signalizace PDGF a roli během regenerace hraje také signalizace FGF, kdy je upregulován např. růstový faktor IGF2 (Lien et al., 2006). Během regenerace srdce dochází ke zvýšené expresi genu PLK1, který souvisí s progresí buněčného cyklu a je nezbytný pro postup regenerace (Jopling et al., 2010). Fibroblasty exprimují protein vimentin (VIM) a jsou upregulovány i další extracelulární proteiny jako je např. tenascin- C (TNC) či fibronektin FN (Lien et al., 2006; Chablais et al., 2011).

Během regenerace je však patrná zhoršená srdeční funkce (prodloužený ventrikulární akční potenciál a zesílená komorová stěna), která se však normalizuje již během jednoho měsíce po poranění (Chablais et al., 2011). Po dvou měsících po navození infarktu se dá říci, že byla rozsáhlá kolagenní a fibrotická vrstva (jizva) plně resorbována (a eliminována buněčnou apoptózou) a nahrazena nově regenerovaným myokardem, který byl často nerozeznatelný od nepoškozeného myokardu (Jopling et al., 2010). Buněčná apoptóza se zdá být spojena s eliminací nekardiální tkáně během remodelace po poškození. Náhrada jizvy novou srdeční tkání zahrnuje odstranění této tkáně a začlenění nových kardiomyocytů (Chablais et al., 2011). Rekonstrukce srdečního svalu vede ke vzniku nového funkčně i strukturálně dokonale zregenerovaného myokardu bez jizev (Poss et al., 2002; Chablais et al., 2011; González-Rosa et al., 2011). Stejně jako u savců prochází tedy srdce dána po

poškození masivní fibrózou, ale na rozdíl od savců umí jizvu eliminovat a ztracený myokard regenerovat. Zdá se tedy, že tvorba jizev je kompatibilní s regenerací myokardu (González-Rosa et al., 2011; Price et al., 2019).

3 Regenerace oční čočky

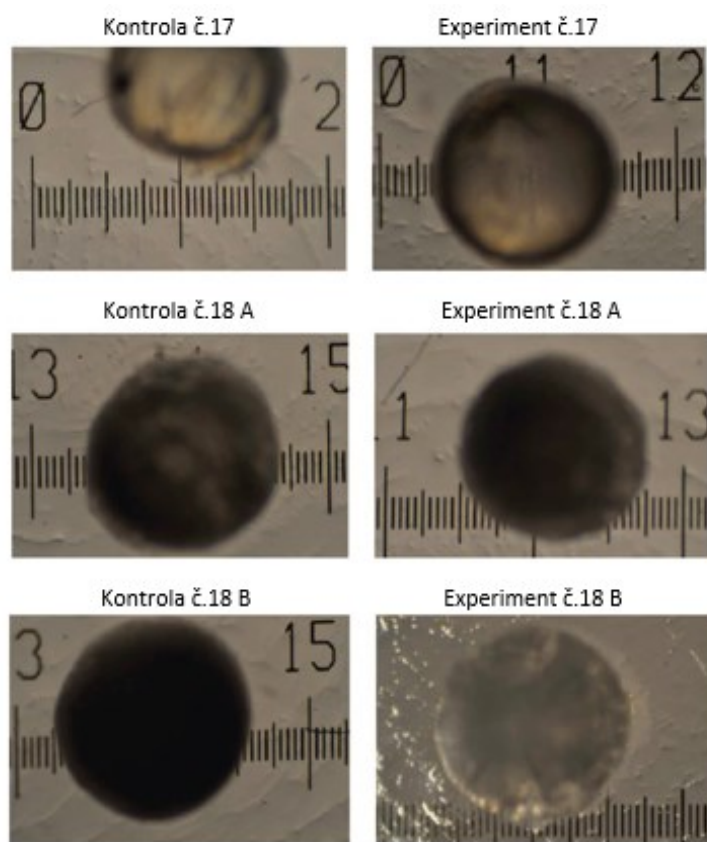
Mezi obratlovci se schopnost regenerovat oční čočku vyskytuje pouze u některých obojživelníků, konkrétně u čolků (zkoumáno zejména u čolka zelenavého či čolka ohňobřichého) a u larválních stádií žab (Del Rio-Tsonis & Tsonis, 2003). Mechanismus regenerace oční čočky však není u těchto skupin živočichů shodný, i když je proces u obou skupin zajišťován transdiferenciací buněk. Jedním z nejzásadnějších rozdílů je, že u žab dochází k regeneraci prostřednictvím transdiferenciace buněk vnitřní vrstvy rohovky do buněk čočky (Freeman, 1963; Del Rio-Tsonis & Tsonis, 2003), kdežto u čolků dochází k regeneraci čočky procesem transdiferenciace pigmentových buněk dorzální duhovky (Call et al., 2005). Dalším rozdílem je, že žáby (konkrétně rod *Xenopus* (Reeve & Wild, 1978; Natalia Vergara et al., 2018)) jsou této regenerace schopny jen v larválních stádiích. Tato schopnost regenerovat novou čočku z vnější části rohovky se s postupujícím vývojem snižuje. Během metamorfózy je téměř zanedbatelná a po ní mizí úplně (Filoni et al., 1997).

3.1 Mechanismus regenerace čočky u ocasatých obojživelníků

Jak již bylo řečeno výše, u čolků dochází k regeneraci čočky procesem transdiferenciace pigmentových buněk dorzální duhovky do buněk čočky (Call et al., 2005). Tyto pigmentové buňky dorzální duhovky se nejprve dediferenciují, to mj. znamená, že ztrácí charakteristické vlastnosti, které jsou pro tyto buňky typické, např. dochází ke ztrátě pigmentace (Eguchi, 1963). Depigmentace buněk duhovky lze dosáhnout dvěma mechanismy – ameboidní buňky (makrofágové), které jsou rekrutovány do místa regenerace, pomáhají tento proces zprostředkovat, přímo pinocytyjí jejich pigmentové granule anebo jsou tyto granule uvolňovány do lumenu pryč z buněk (Eguchi, 1963). Jakmile dojde po odstranění čočky k dediferenciaci pigmentových buněk dorzální části duhovky, dochází k opětovnému vstupu těchto buněk do buněčné cyklu a začíná buněčná proliferace (Call et al., 2005). Depigmentované buňky značně proliferují a přibližně 10 dní po odstranění čočky se vytváří čočkový váček. Mezi 12. a 16. dnem začíná syntéza krystalinů a buňky vnitřní vrstvy váčku se začínají prodlužovat a diferencovat do buněk primárních čočkových vláken. Kolem 15.

až 20. dne začíná buněčná proliferace a depigmentace zpomalovat a na okraji vnějších vrstev se objevují nedělicí se sekundární vlákna čočky. Po 25 až 30 dnech je zformována kompletní čočka (Eguchi, 1963,1964; Del Rio-Tsonis & Tsonis, 2003; Call et al., 2005).

Čolci jsou schopni regenerovat čočku opakovaně. Dlouho však nebylo jasné, jestli se schopnost regenerovat čočku mění s rostoucím věkem jedinců a zda má na kvalitu regenerace vliv počet opakování tohoto procesu. Z toho důvodu Eguchi spolu se svými kolegy provedl experiment, který tyto vlivy zkoumal. Experiment trval 16 let a během těchto 16 let byla čočka odstraněna 18krát opakovaně u stejných jedinců. Zkoumaným jedincům čolka ohňobřichého (*Cynops pyrrhogaster*) bylo ke konci experimentu minimálně 30 let. Eguchi se svými kolegy dospěl na základě experimentu k závěru, že opakování procesu regenerace a ani věk zkoumaných jedinců neovlivňuje regenerační schopnosti čolků a nikterak nemění a nesnižuje kvalitu regenerované čočky. Experimentální čočky (regeneráty) a kontrolní čočky byly v porovnání stejné velikosti a průhlednosti (viz Obr. 3) a i genová exprese byla velmi podobná. Regenerovaná čočka dosáhla normální velikosti v průměru do 5 měsíců po odstranění čočky ve všech 18 experimentech (Eguchi et al., 2011).



Obrázek č. 3: Porovnání velikosti experimentální a kontrolní čočky po 17. a 18. odstranění čočky. Jako kontrola byla použita čočka jedinců, kteří nikdy neprošli regenerací čočky.

Obrázek obsahuje pravítko jako škálu k zobrazení podobnosti ve velikosti zregenerované a kontrolní čočky. Převzato a upraveno z Eguchi et al., 2011.

Za regeneraci čočky jsou zodpovědné pigmentové epiteliální buňky dorzální části duhovky, buňky ventrální části se regenerace neúčastní (Eguchi & Shingai, 1971). Byl však proveden experiment, ve kterém se pozorovaly rozdíly v netknuté duhovce a duhovce během regenerace a na základě pozorované genové exprese se zjistilo, že ventrální duhovka není pasivní tkání. Ventrální duhovka prochází podobnými procesy jako ta dorzální, buňky také opětovně vstupují do buněčného cyklu (v nižší míře) a regulační geny (např. SIX3, BMP, PAX6), které se podílejí na indukci regenerace čočky, jsou exprimovány i zde (Makarev et al., 2007). Srovnání ventrální a dorzální duhovky ukázala možné regulátory regenerace čočky, jsou jimi SIX3, retinová kyselina a BMP75. SIX3 je transkripční faktor, respektive regulátor vývoje čočky a oka, který pracuje ve zpětné vazbě s genem PAX6 specifickým pro oko (Alvarado & Tsonis, 2006). Zdá se, že také FGF a jejich receptory hrají důležitou roli, konkrétně při transdiferenciaci pigmentovaných buněk epitelu na buňky čočky (Hyuga & Eguchi, 1993). Mezi další důležité faktory, které se podílejí na regeneraci čoček, patří např. komponenty komplementu, Wnt, hedgehog, HOX geny, PROX1 a BMP (Henry et al., 2013; Natalia Vergara et al., 2018)

Zdá se, že v procesu regenerace hraje důležitou roli také trombin, který se aktivuje po 20 minutách po odstranění čočky na okraji dorzální části duhovky (ve ventrální části tuto aktivaci nevidíme) z prekursoru protrombinu (Imokawa & Brockes, 2003). Jedná se tedy o jednu z prvotních reakcí během regenerace čočky. Za aktivaci trombinové cesty je zodpovědný tkáňový faktor (F3) (Imokawa & Brockes, 2003). Vytváří se fibrinová sraženina, fibrin pak rekrutuje makrofágy a FGF k zahájení procesu buněčné dediferenciace a opětovného vstupu do S-fáze buněčného cyklu (Imokawa & Brockes, 2003; Natalia Vergara et al., 2018).

3.2 Mechanismus regenerace u larválních stádií žab

Jak již bylo řečeno, u žab dochází k regeneraci prostřednictvím transdiferenciace buněk vnitřní vrstvy rohovky do buněk čočky (Freeman, 1963; Del Rio-Tsonis & Tsonis, 2003). Pokud došlo k poranění vnější rohovky u pŭlců, regenerace čočky nebyla vůbec zahájena (Reeve & Wild, 1978). Tato transdiferenciace je vícestupňový proces, který vyžaduje přítomnost různých faktorů, dokud není dosaženo stádia diferenciace vláken čočky. Tyto

faktory odpovědné za transdiferenciaci rohovky do čočky jsou produkovány nervovou sítnicí a hromadí se ve sklivci. Faktor sítnice podporuje proliferaci buněk rohovky a specifikuje a udržuje fenotyp čočky (Filoni, 2009). V normálním oku tyto faktory nemohou dosáhnout vnější části rohovky, protože vůči nim čočka a vnitřní rohovka působí jako mechanické bariéry (Filoni et al., 1997; Filoni, 2009). Při odstranění čočky se však faktory stávají přístupnými. Toto zjištění bylo prokázáno v experimentech, kdy kousek vnější rohovky mohl transdiferencovat na čočku, když byl umístěn do komory sklivce, dokonce i v přítomnosti další čočky (Reeve & Wild, 1978, Del Rio-Tsonis & Tsonis, 2003).

Ukázalo se, že důvodem snižující se schopnosti regenerovat čočku je částečně potlačená transdiferenciace čočky vnější rohovky. Zdá se, že je za toto potlačení zodpovědná zejména zmíněná mechanická inhibice vnitřní rohovky (Filoni et al., 1997). Pokles je způsoben hlavně zpomalováním transdiferenciace vnější rohovky a stále rychlejším hojením vnitřní rohovky vedoucím ke stále rychlejšímu vytváření mechanické bariéry proti šíření faktorů sítnice směrem k vnější části rohovky (Filoni et al., 1997; Filoni, 2009).

Transdiferenciace rohovky je vyvolána jedinou interakcí zahrnující faktory produkované sítnicí (retinální faktory). Bylo zjištěno, že některé geny (např. PAX6, OTX2, SOX3 nebo PROX1) jsou exprimovány jak během embryogeneze, tak i během transdiferenciace buněk čočky do buněk rohovky (Schaefer et al., 1999). I když přesné složení retinálních faktorů je zatím stále neznáme, podstatnou složkou by mohl být FGF1, protože bylo zjištěno, že FGF1 podporuje transdiferenciaci rohovky na čočku *in vitro* (Filoni, 2009).

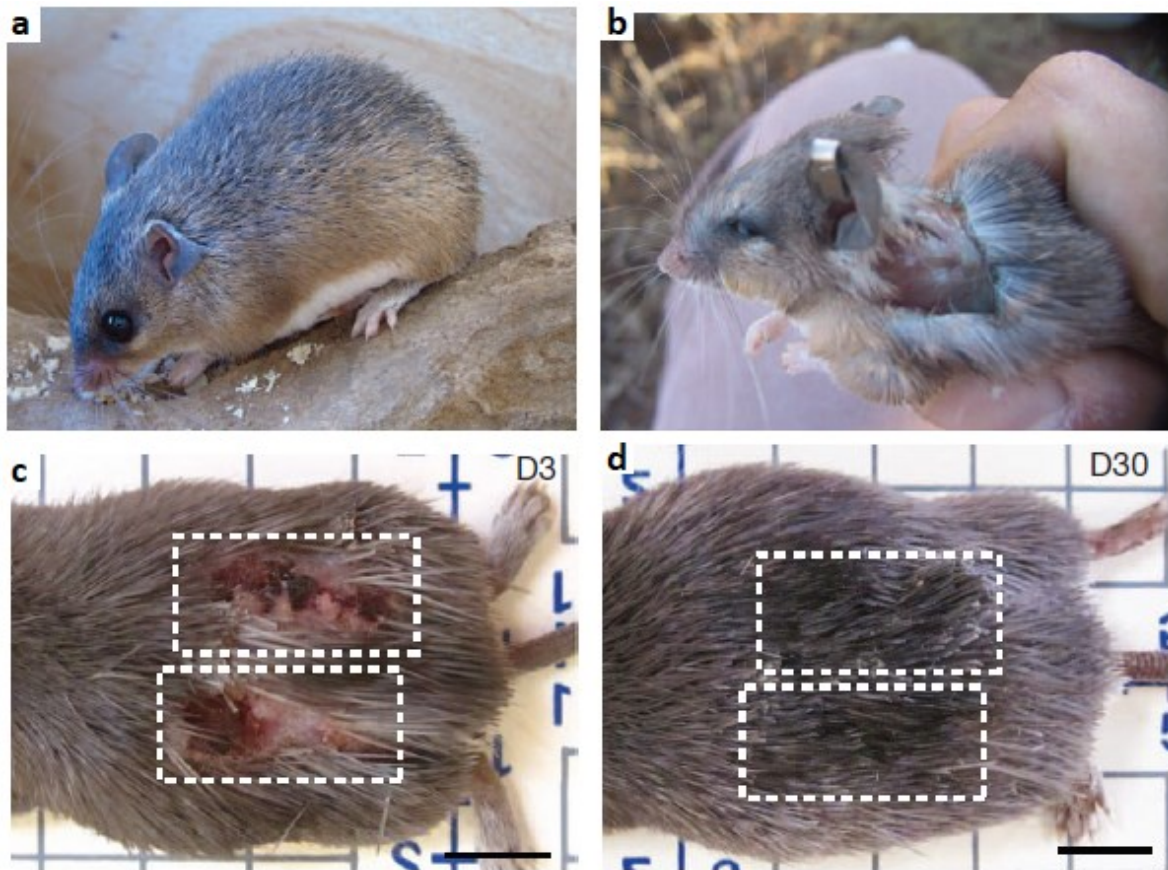
4 Regenerace kůže

Kůže tvoří primární rozhraní mezi vnějším prostředím a samotným organismem, udržuje jeho integritu a slouží jako strukturní bariéra při prevenci ztráty vody, brání vstupu patogenů, hraje také důležitou roli v termoregulaci a je součástí sensorického nervového systému. Jakékoliv porušení kůže může tyto funkce vážně narušit, a proto je vyžadována rychlá regenerační odpověď, která je důležitá pro udržení integrity a homeostázy (Peacock et al., 2015). Poškození kůže se může zhojit dvěma způsoby, buď za tvorby jizvy nebo téměř dokonale obnovenou kůží. U savců kožní oprava obvykle zahrnuje fibrózu, abnormální ukládání kolagenu a vznik jizev. Jizva sice obnovuje mechanickou bariéru, nejde však o plnohodnotnou funkční náhradu. U savčích kožních jizev jsou po regeneraci postrádány

vlasové folikuly a potní žlázy, a proto není kůže schopna přispívat například k termoregulaci (Driskell et al. 2013; Peacock et al., 2015). Mezi savci však byla dokumentována výjimka u afrických ostnatých myší rodu *Acomys* (Seifert et al., 2012b; Matias Santos et al., 2016). K téměř dokonalé regeneraci kůže dochází u některých obojživelníků a plazů, zejména v souvislosti s regenerací ocasu (Seifert et al., 2012a; Peacock et al., 2015). U axolotla je prokázána dokonalá regenerace kůže bez tvorby jizvy, kdy dochází k rychlé reepitelizaci rány (Levesque et al., 2010). V oblasti rány není patrná přítomnost neutrofilů, což naznačuje nízkou nebo dokonce žádnou zánětlivou reakci. Expresí proteinů během hojení ran se zdá oproti savcům rozdílná (Levesque et al., 2010). S regenerací kůže se můžeme setkat i u některých kostnatých ryb, kdy se tvoří jizva pouze minimálně (zkoumáno např. u dánia pruhovaného) (Richardson et al., 2013).

4.1 Mechanismus regenerace kůže u savců

Jak již bylo zmíněno výše, i mezi savci se najdou výjimky a může docházet k regeneraci bez jizev. U afrických ostnatých myší rodu *Acomys* byla zjištěna schopnost autotomie kůže a její následná regenerace bez jizev, kdy se regenerují i vlasové folikuly (Seifert et al., 2012b; Jiang et al., 2019; Obr.4). Tyto drobné druhy hlodavců jsou na hřbetě opatřeny chlupy podobnými bodlinám, které jsou taktéž regenerovány (Gawriluk et al., 2016). Pozoruhodné také je, že jsou schopni autotomie, tedy využívají odvržení kůže jako únikovou strategii v nebezpečí (Seifert et al., 2012b). Kůže u rodu *Acomys* je anatomicky srovnatelná s kůží u rodu *Mus* i s kůží jiných hlodavců, kteří nejsou takovéto regenerace schopni a u nichž se tvoří jizva. Kůže u *Acomys* má však několik rozdílných vlastností. V hypodermis například obsahuje velkou část tukové tkáně (Jiang et al., 2019), má také větší vlasové folikuly a méně pojivové tkáně (Seifert et al., 2012b). Kůže je tedy slabá, málo elastická a křehká, je náchylnější k natržení a při manipulaci se lehko odlupuje. Roztržení kůže může vyústit do velkých otevřených ran, rychle však dochází k hojení ran pokožky a opětovnému růstu ostnatých chloupků, které zcela pokryjí ránu (Seifert et al., 2012b; Jiang et al., 2019).



Obrázek č. 4: (a) *Acomys kempfi*, (b) *A. kempfi* po autotomii dorzální části kůže, (c) *A. kempfi* po 3 dnech od poranění, (d) *A. kempfi* po 30 dnech od poranění. Převzato a upraveno z Seifert et al., 2012b.

Další schopnost, která byla pozorována u afrických ostnatých myší a králíků, se týká regenerace ušních tkání (Goss & Grimes, 1972; Gawriluk et al., 2016). Tito jedinci dokáží zregenerovat díru v uchu, a tak se zdá, že regenerační kapacita savců může být vyšší, než se myslelo (Seifert et al., 2012b; Gawriluk et al., 2016; Jiang et al., 2019). Ušní tkáň obsahuje chrupavku, tukovou tkáň, sval, dermis a epidermis s bohatými vlasovými folikuly a mazovými žlázami. Zástupci rodu *Acomys* jsou schopni všechny tyto tkáně zregenerovat, včetně nervových vláken a cévního zásobení (Matias Santos et al., 2016). Během procesu regenerace je pozorován prstenec vysoce proliferativní tkáně po obvodu rány, který roste směrem dovnitř a zcela uzavírá ránu během 2 měsíců (Matias Santos et al., 2016). Při pozorování regenerace ušní tkáně bylo u *A. cahirus* potvrzeno, že se jedná o epimorfni regeneraci a poranění indukuje tvorbu blastému (Gawriluk et al., 2016). S tvorbou blastému se můžeme setkat i při regeneraci ocasu či končetiny (viz dále).

Proces tvorby jizev u většiny savců se od dokonalé regenerace kůže v několika aspektech liší. Tkáň jizvy se liší uspořádáním dermálního kolagenu, kterého je nadbytek a také absencí elastinu. Liší se i proces hojení těchto ran. U jedinců, u kterých se tvoří jizva, dochází nejprve k zánětlivé reakci, fagocytóze bakterií a odstranění tkáňových zbytků a ke srážení krve. Dále je vytvořena granulační tkáň z makrofágů, fibroblastů, kolagenu a kyseliny hyaluronové. Tkáň obsahuje také fibronectin, je dobře prokrvená a je charakterizována infiltrací velkého počtu neutrofilů a také expresí prozánětlivých cytokinů. Dochází k reepitelizaci, kdy je tkáň kryta novou epidermis rány. Dále je fibronectin eliminován a kolagen typu I je naopak akumulován. Tento proces vede k hladké jizvě bez srsti (Richardson et al., 2013; Brant et al., 2015; Brant et al., 2016). Naproti tomu u regenerace kůže dochází k rychlejšímu uzavření epitelu rány (rychlé kontrakci), zpomalení vývoje krevních elementů, kolagen se v lůžku rány ukládá v menší míře a je zde snižena tvorba granulační tkáně. Zánětlivá fáze zde zahrnuje pouze omezený počet neutrofilů, nižší koncentraci zánětlivých markerů a zvýšenou expresi protizánětlivých cytokinů (Gurtner et al. 2008; Seifert et al., 2012b; Brant et al., 2015; Peacock et al., 2015). Následně dochází také k regeneraci vlasových folikulů (Seifert et al., 2012b).

Další rozdíly při regeneraci poranění kůže u *Mus* a *Acomys* bychom našli v genové expresi (Brant et al., 2015; Brant et al., 2016). Ložisko rány u *Acomys* je charakterizováno nízkou expresí myofibroblastů, což je ostrý kontrast k normální odezvě u *Mus* (Jiang et al., 2019). Při regeneraci ucha je u *Acomys* pozorována vysoká hladina některých proteinů extracelulární matrix, např. vimentinu, FN a TNC, převažující kolagen III a naopak nízká hladina kolagenu I. Jsou také aktivovány Wnt a BMP signální dráhy (Seifert et al., 2012b; Gawriluk et al., 2016; Yoon et al., 2020). U *Acomys* je detekovaná také vysoká hladina enzymů podílejících se na remodelaci extracelulární matrix MMP9 a MMP13, které dále zabraňují agregaci kolagenu. Naproti tomu u *Mus* je pozorována vysoká hladina např. IL6, TIMP1 a naopak nízká hladina FN1, MMP9, MMP13 a je zde vysoký podíl kolagen typu I (Brant et al., 2016; Jiang et al., 2019). U *Acomys* je také pozorováno několik enzymů spojených s ubkvitinem, např. UBA a UBC, které jsou vysoce aktivovány a to má mj. za následek směrování cílového proteinu do proteazomů, kde je degradován. Tyto degradované proteiny aktivují další proteiny, které přispívají k buněčnému cyklu (Yoon et al., 2020). Imunitní reakce obou druhů jsou také poměrně odlišné. Oproti imunitní reakci u *Mus* je u *Acomys* imunitní odpověď oslabena a chybí M1 makrofágy (Yoon et al., 2020). *Mus* exprimuje vysoké hladiny IL, CXCL, MCP a CSF, zatímco cytokinové reakce u *Acomys* jsou obecně nízké, jedinou výjimkou jsou IL1 a MIP1 (Jiang et al. 2019).

To, že u *Acomys* mnoho prozánětlivých cytokinů buď chybí, nebo jsou ve velmi nízkých hladinách, může být alespoň částečně zodpovědné za jejich vynikající regenerační vlastnosti kůže. Tyto výsledky naznačují, že v ráně *Acomys* je nepřítomnost mnoha cytokinů vedoucí k nedostatku makrofágů zodpovědná za selhání zvýšené regulace fibrotických kolagenů, což je situace, která upřednostňuje spíše regenerační reakci v kůži než tvorbu jizev (Brant et al., 2016). V regenerující ušní tkáni byla však zjištěna vyšší koncentrace T- buněk a také lokální zvýšení cytokinů asociovaných s T-buňkami během proliferační fáze regenerace. Zdá se tedy, že silná adaptivní imunitní reakce není antagonistická vůči regeneraci (Gawriluk et al., 2020) a že zánětlivé buňky hrají zásadní roli při regulaci regenerační reakce (Simkin et al., 2017).

5 Regenerace ocasu

Ocas hraje u živočichů důležitou roli v pohybu, rovnováze, sociálních a sexuálních interakcích, termoregulaci a také ve skladování energie (Clause & Capaldi, 2006; Ferretti, 2011). Stává se však částí těla, na kterou predátoři útočí a také působí jako rozptýlení, např. při autotomii, která u plazů často regeneraci předchází (Gilbert et al., 2016).

Regenerace ocasu byla pozorována pouze u živočichů, u kterých je mícha součástí ocasu (Ferretti, 2011), tedy u obojživelníků (zkoumáno např. u axolotla mexického (Schnapp et al., 2005), larválních stádií žab (zkoumáno u drápatky vodní) (Mochii et al., 2007), plazů, (zkoumáno například u gekončíka nočního) (McLean & Vickaryous, 2011), ale i kostnatých ryb (zkoumáno u dánia) (Uemoto et al., 2020) či dvojdyšných (Conant, 1973). U žabích pulců je vyžadována i přítomnost notochordu (Ferretti, 2011). Mechanismus regenerace ocasu je u těchto skupin velice podobný, ale najde se několik rozdílů. Jedním z nich je doba trvání procesu hojení ran, která u ocasatých obojživelníků trvá jen několik hodin, u plazů však až několik dní. Dalšími rozdíly jsou například, že ocasatí obojživelníci jsou oproti plazům schopni obnovit i míchu a kostní tkáň (tedy obratle) a pulci jsou jako jediní schopni zregenerovat i notochord (Gargioli & Slack, 2004; Mochi et al., 2007; McLean, & Vickaryous, 2011).

Stejně jako u regenerace jiných struktur se jedná o vysoce organizovaný proces využívající počáteční vývojové programy, ale také mechanismy specifické pro regeneraci, které produkují správné typy a vzorce buněk potřebné k dostatečné obnově struktury a funkce obětovaného ocasu (Clause & Capaldi, 2006). Podobně jako u končetiny, se jedná o

regeneraci komplexní struktury, složené z několika typů tkání, včetně míchy, chrupavky a svalů (Schnapp et al., 2005). Regenerace vyžaduje koordinovaný růst a patterning regenerujících tkání (Schnapp et al., 2005). Součástí regenerace ocasu je i poškození a následná regenerace kůže, která bývá ve spojitosti s regenerací ocasu téměř dokonalá a bez jizev (zkoumáno např. u gekončíka nočního) (Peacock et al., 2015).

5.1 Mechanismus regenerace ocasu u plazů

Ocas je složený z různých typů tkání, včetně kůže, kosterního svalu, cévního zásobení, tukové tkáně, pojivové tkáně, páteře a míchy. U gekonů je navíc zajímavé, že si po celý život udržují také notochord, který prochází meziobratlovými ploténkami celé páteře (McLean, & Vickaryous, 2011; Gilbert et al., 2013).

Regenerace ocasu u plazů následuje běžnou sekvenci morfologických a histologických regeneračních procesů, včetně hojení ran, tvorby blastému, epitelu rány, apikální epiteliální čepičky a diferenciací, které jsou srovnatelné s jevy pozorovanými v jiných modelech regenerace obratlovců (McLean, & Vickaryous, 2011). Celý proces regenerace ocasu lze rozdělit do 7 fází, kdy v první fázi (ihned po amputaci) začíná proces hojení rány. Po autotomii/ amputaci ocasu dojde k obnažení několika tkání, včetně kosterního svalstva, tukové tkáně, části obratle a míchy. Díky rychlé kontrakci arteriálního svěrače kaudální tepny (jedna z adaptací pro autotomii) a také díky kontrakci okolní epidermis dojde jen k malé ztrátě krve. Objevuje se malý únik krve z míšní cévy, ze které se začne tvořit sraženina. Po vytvoření sraženiny se mícha stáhne z povrchu rány zpět do nervového kanálku a tato sraženina poté uzavře prasklý konec míchy. V této fázi se zmenšuje plocha otevřené rány, pomalu se uzavírá, čemuž mj. pomáhá vzniklá sraženina složená z tkáňové tekutiny, krve a tkáňových zbytků. Ve druhé fázi se zatáhnou měkké tkáně a část obratle vyčnívá ještě výrazněji. Sraženina pokrývá celý povrch rány a dochází k tvorbě epitelu rány. V následující fázi je typická degradace této sraženiny a také vyčnívajících zbytků obratle, čemuž napomáhají osteoklasty a chondroklasty, které spustí resorpci kostí a chrupavek spojených s tímto obratlem. Dále dochází k dokončení epitelu rány, kdy buňky tohoto epitelu proliferují a vzniká apikální epiteliální čepička. Ve čtvrté fázi, která nastává přibližně mezi 10.-15. dnem po odvrhnutí ocasu, začíná epitel keratinizovat a stává se silnějším. Buňky výrazně proliferují a dochází k růstu blastému. Začíná být patrný proces myogeneze, kdy je nejprve pozorována agregace monobuněčných buněk myoblastů. Fúze těchto myoblastů vede ke vzniku myotubů a je spojena s vývojem myosept. Jak regenerace

pokračuje, dochází k diferenciaci na segmentovaná svalová vlákna. Tkáně jsou bez pigmentace, tvoří se bohatá síť kapilár a začíná se regenerovat i nervová tkáň, včetně endymálních buněk a periferních axonů. Tyto axony vstupují do blastému a postupně se spojují s diferencujícími se svaly, pojivovými tkáněmi a kůží. Ependymální buňky aktivně proliferují a vznikající endymální trubice se rozšiřuje směrem k apikální epiteliální čepičce. V následující fázi blastém stále roste, buňky proliferují, epitel je čím dál více keratinizovaný a začínají se vytvářet šupiny. Dochází k regeneraci části kaudální tepny, která je spojená s kaudální tepnou původní části ocasu. Na rozdíl od původní tepny však regenerovaná tepna nevyvíjejí svěrače, což naznačuje, že nový ocas bude hůř přizpůsoben pro následné amputace. V této fázi také dochází k chondrogenezi. V šesté fázi se regeneruje dermis a epitel rány je již k nerozeznání od původní epidermis. V poslední fázi, která nastává přibližně po 3 týdnech od amputace či autotomie, jsou již všechny tkáně diferencované a jsou přítomny i melanocyty, což značí začátek pigmentace tkání. Regenerovaná kostra se skládá z dutého chrupavčitého kužele, který se napojuje přímo na původní obratel. Regenerovaný kosterní systém, respektive chrupavčitý kužel, uzavírá endymální trubici. Po úplné regeneraci mohou vnější a nejnvnitřnější vrstvy chrupavčitého kužele kalcifikovat, ale kost nevzniká (Alibardi, 2010; McLean, & Vickaryous, 2011; Delorme et al., 2012).

Vzniklý regenerát se podobá originálu, není však jeho dokonalou kopií. Může se lišit například v tkáňové organizaci nebo struktuře axiálního skeletu a centrálního nervového systému. Původní kostra ocasu se skládá ze série kostních obratlů a notochordu, zatímco v regenerovaném ocasu jsou tyto struktury nahrazeny dutým chrupavčítým kuželem. Nepochází zde ani k regeneraci hřbetních kořenových ganglií či šedé hmoty míchy. Místo toho je v regenerátu endymální trubicem, která se vyvíjí jako kaudální prodloužení epiteliálních buněk obklopujících centrální kanál míchy (McLean, & Vickaryous, 2011; Higham et al., 2013; Gilbert et al., 2016). Původní ocas a regenerát se také může lišit ve tvaru, délce, pigmentaci či strukturou šupin (Píchová, 2019).

Zjistilo se, že buňky chrupavky přispívají k regeneraci i kosterního svalstva, zatímco zůstávají v subapikálním prostoru jako možný rezervoár pro tyto tkáně při růstu regenerátu a mají schopnost se během regeneračního procesu mobilizovat i mimo blastém. Stejně tak diferencované svalové buňky přispívají jak k regeneraci tkání chrupavky, tak i k regeneraci kosterních svalů (Londono, 2017).

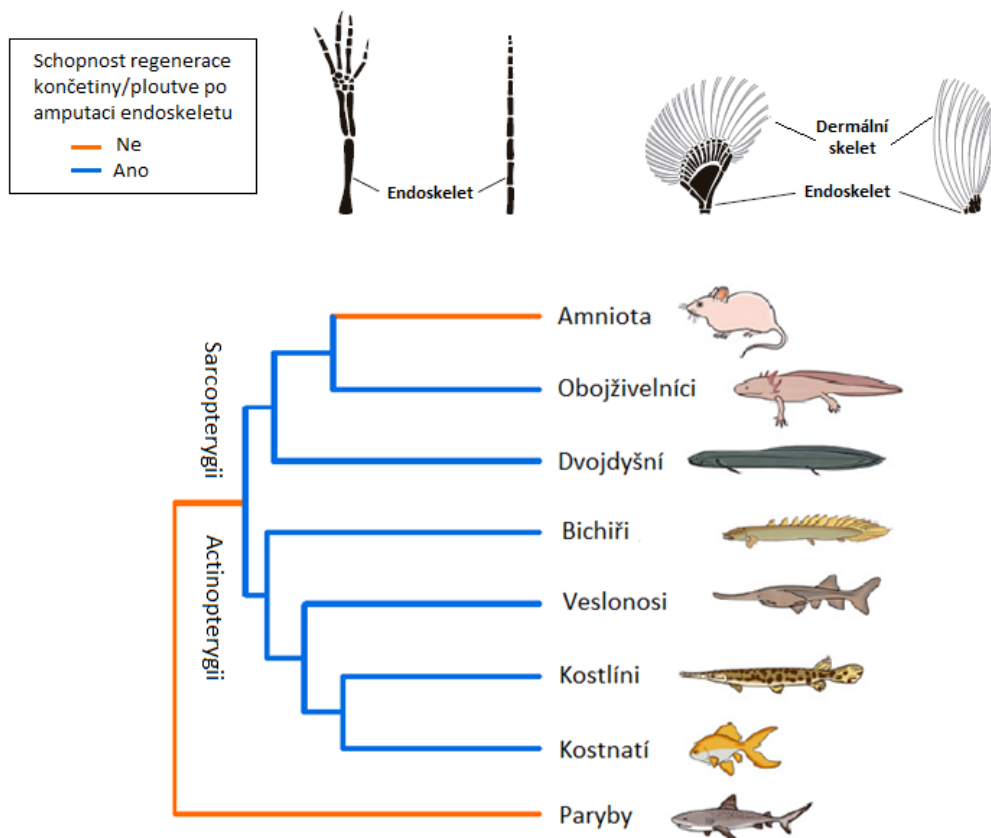
Regenerace ocasu závisí na stimulaci růstových faktorů, včetně fibroblastových růstových faktorů (FGF). Pro úspěšnou regeneraci je nutná přítomnost FGF v epidermis rány, které se pravděpodobně uvolňují do blastému (Alibardi, 2012). Dalšími proteiny, které

jsou spojovány s hojením ran a regenerací, jsou např. PCNA, C3, TGF- β 3, α SMA, WE6, SOX9 a MMP9 (Delorme et al., 2012; Gilbert et al., 2013).

6 Regenerace končetiny a párových ploutví s endoskeletem

Schopnost regenerovat párové tělní výběžky po amputaci (končetiny či ploutve) včetně endoskeletu je mezi živočichy více rozšířena, než se zdálo (viz Obr. 5; Darnet et al., 2019). Se schopností zregenerovat končetinu se můžeme setkat u obojživelníků, zejména u těch ocasatých (nejvíce zkoumáno u čolka zelenavého, čolka ohňobřichého či axolotla mexického) a v omezené míře i u žab (nejvíce zkoumáno u drápatky vodní (Iten & Bryant, 1973; Mescher, 1996; Slack et al., 2004; Kragl et al., 2009; Simon & Tanaka, 2013). Regenerace kompletních párových ploutví včetně endoskeletu jsou schopni například bichiři a bahníci, ale i některé kostnaté ryby (Darnet et al., 2019). Dvojdyšní (bahníci) jsou sesterskou skupinou tetrapodů, což z nich dělá ideální modelové organismy pro výzkum regenerace končetin. Zatímco paprsky (dermální skelet) ploutví nemají přímou homologii v končetině tetrapodů, endoskelet končetiny a endoskeletální prvky párových ploutví u ryb obsahují homologické struktury (Schneider & Shubin, 2013; Darnet et al., 2019).

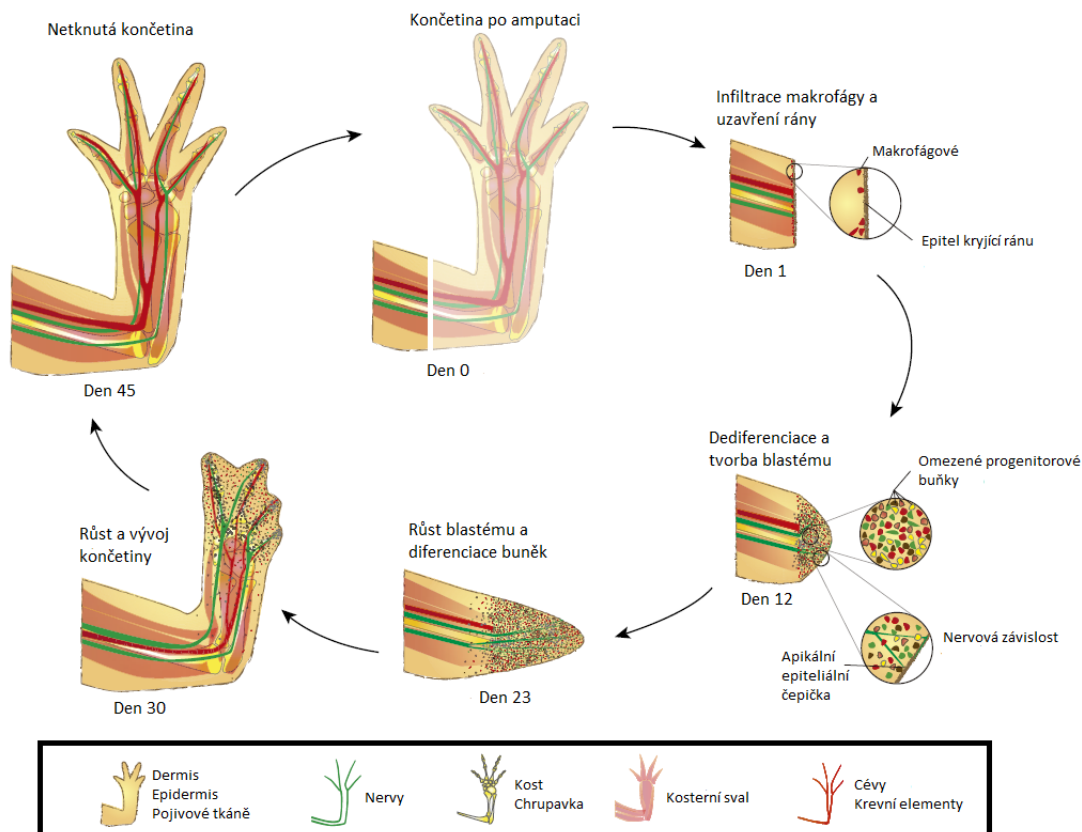
U žab se však můžeme setkat s regenerací končetiny pouze v larválních stádiích, s probíhající metamorfózou se totiž schopnost regenerovat končetinu postupně ztrácí. Po metamorfóze dokáže žába vytvořit pouze jakýsi výrůstek, strukturu podobnou hrotu, bez prstů a patterningu (Endo et al., 2000; Simon & Tanaka, 2013). U metamorfovaných žab je končetina regenerována podél proximodistální osy, ale chybí iniciace tvorby tkání podél osy anteroposteriorní. Toto by mohlo být příčinou snížené regenerační kapacity u dospělců žab. Zdá se však, že epidermis rány spouští tvorbu blastému i po metamorfóze (Endo et al., 2000). Naproti tomu ocasatí obojživelníci mají schopnost plně regenerovat končetiny po amputaci kdykoli během svého životního cyklu (Han et al., 2005; Vinarsky et al., 2005; Simon & Tanaka, 2013).



Obrázek č. 5: Schéma zobrazující rozšíření schopnosti regenerovat končetiny a párové ploutve po amputaci endoskeletu mezi obratlovci. Regeneračně nekompetentní linie jsou zobrazeny oranžově, linie s jedním nebo více regenerace schopnými druhy jsou zobrazeny modře. Převzato a upraveno z Darnet et al., 2019.

Komplexním sledováním tkání označených GFP proteinem u axolotla se ukázalo, že buňky se během regenerace končetiny nestávají pluripotentní a zachovávají si silnou paměť své tkáně, svou polohovou identitu nebo embryonální původ (Kragl et al., 2009). Ukázalo se také, že blastémové buňky končetin se nepřeměňují mezi jednotlivými embryonálními zárodečnými vrstvami a většina typů buněk je při regeneraci končetin do značné míry omezena na svou vlastní tkáňovou identitu. Dermis se jeví jako nejflexibilnější tkáň, tvoří i chrupavky a šlachy. To může být pravděpodobně vysvětleno společným původem dermis a chrupavky z laterálního plátu mezodermu. Tímto experimentem se dále zjistilo, že sval zůstává omezený primárně nebo výhradně na svalovou linii; Schwannovy buňky jsou jasně omezeny na nervové ústrojí a chrupavka pravděpodobně pochází z fibroblastů pojivové tkáně. Všechny tyto tkáně společně přispívají k tvorbě blastému (Kragl et al., 2009). V prvotní fázi je blastém bez inervace a bez cévního zastoupení, později začne docházet k diferenciaci buněk, morfogenezi, kontrolovanému růstu tkáně a k revaskularizaci a

opětovné inervaci. Rediferenciace bývá iniciována od proximálního k distálnímu a od anteriorního k posteriornímu konci (Stocum, 2017). Blastemové buňky mají dva typy buněčné paměti. První z nich je paměť specifická pro fenotyp končetin a rodičovských buněk, tzn. ze svalů vznikají svaly, ze Schwanových buněk Schwannovy buňky apod. (Kragl et al., 2009). Druhým typem paměti je poziční identita, paměť polohy původu blastemových buněk ve vztahu k buňkám sousedním (Stocum, 2017).



Obrázek č. 6: Schéma zobrazující průběh regenerace končetiny u ocasatých obojživelníků. Převzato a upraveno z Joven et al., 2019.

6.1 Mechanismus regenerace končetiny u ocasatých obojživelníků

Tento typ regenerace je zajímavý svou komplexitou. Jedná se o složitou strukturu s různými typy tkání, kdy se regeneruje hned několik tkání, od chrupavky, přes sval, dermální a svalové fibroblasty až po Schwannovy buňky (Nye et al., 2013). Regenerace končetiny je definována jako jev, při kterém amputace končetiny (kdekoli podél proximální až distální osy) vede k vytvoření nové funkční končetiny. Tento proces zahrnuje mj. začlenění příslušných segmentů končetiny podél proximální - distální, anteriorní - posteriorní a dorzální - ventrální osy (Simon & Tanaka, 2013).

Regenerace končetiny u obojživelníků se děje mechanismem epimorfózy za tvorby blastému (McCusker et al., 2015). Tento proces začíná v momentě, kdy dojde k rozpoznání tkáňového poranění. Všechno začíná tvorbou sraženiny, aktivuje se imunitní systém a dochází k buněčné apoptóze (Tanaka, 2016). Regeneraci končetiny lze rozdělit do tří hlavních fází a to 1) fáze hojení ran a dediferenciace tkání pahýlu, 2) akumulace a růst blastému a 3) diferenciaci a morfogeneze regenerátu (viz Obr. 6). První fáze začíná ihned po amputaci a trvá přibližně 11 dní. Již během prvních 24 hodin dochází k migraci keratinocytů a k pokryvu rány tenkou průhlednou vrstvou epidermis (Iten & Bryant, 1973). Prvotní reakce organismu na poranění odlišuje mechanismy vedoucí k regeneraci u obojživelníku od mechanismů vedoucích k hojení ran a tvorbě jizev u savců. Mezi prvotní reakce patří právě tvorba epidermis, která je schopna uzavřít amputační ránu během několika hodin. To se dramaticky liší ve srovnání s ranami savců, jejichž uzavření trvá několik dní (Han et al., 2005).

Tento epitel pokrývající ránu postupně díky migraci a proliferaci keratinocytů a také díky působení neurotrofních faktorů na epitel rány na svém vrcholu houstne a tvoří apikální epiteliální čepičku (Mescher, 1996; Monaghan et al., 2012). Tato čepička hraje stěžejní roli v regeneraci končetiny, mj. je distálním signalizačním centrem pro podporu mitózy blastémových buněk (Stocum, 2017; Makanae & Satoh, 2012). Čepička a nervy vytvářejí specifické prostředí, které inhibuje hojení ran a indukuje regeneraci prostřednictvím tvorby blastému. Předpokládá se, že signalizace FGF (fibroblastových růstových faktorů) a aktivita matrixových metaloproteináz se podílí na vytváření regenerativního prostředí. Uvádí se, že fokální adhezní kináza řídí migraci fibroblastů v regeneraci končetiny axolotla (Makanae & Satoh, 2012).

Po 6-8 dnech po amputaci začíná být patrná dediferenciace tkání, zejména kostí a svalů a pod apikální epidermis se začínají objevovat první buňky blastému. V epidermis, která pokrývá ránu, jsou v této fázi vidět občasné melanocyty. Ve druhé fázi, ke které dochází mezi 10.-20. dnem po amputaci, stále dochází k rozsáhle dediferenciaci tkání a buněk v blastému přibývá. Mezi regenerovanou pokožkou a buňkami blastému je často přítomen malý puchýřkovitý prostor s tkáňovým odpadem, postupně se zmenšuje a tkáňového odpadu ubývá. Mezi 14.-20. dnem jsou při podsvícení poprvé vidět malé cévní kanálky s proudící krví a v blastému lze vidět mnoho kapilár. Třetí fáze nastupuje přibližně po 18 dnech od amputace a trvá do 40. dne. V této fázi je patrná síť kapilár skrz celý regenerát a již nedochází k dediferenciaci tkání. Kromě melanocytů v regenerované pokožce jsou v blastému patrné i rozptýlené dermální melanofory. V této fázi je poprvé pozorována

chondrogeneze a kolem 22. dne po amputaci lze pozorovat i první známky myogeneze. Většina regenerátu se jeví jako chrupavka, sval nebo pojivová tkáň. Mezi 24.-30. dnem po amputaci se začínají vytvářet prsty, které jsou oddělovány čím dál ostřeji (Iten & Bryant, 1973). Vzniklá chrupavka postupně prochází procesem osifikace, kdy se tímto způsobem objevuje v regenerátu kost (Mescher, 1996).

Během raných fází regenerace lze místo amputace snadno rozeznat kvůli rozdílům v pigmentaci mezi pahýlem a regenerátem, ale tato hranice se stane nerozeznatelnou třetím nebo čtvrtým týdnem regenerace (Iten & Bryant, 1973).

6.2 Regenerace párových ploutví s endoskeletem

Regenerace ploutví probíhá stejně jako v případě končetin u ocasatých obojživelníků za tvorby blastému (Nikiforova & Golichenkov, 2011; Nogueira et al., 2016). Na morfologické, molekulární a buněčné úrovni je regenerace ploutví u bahníků velmi podobná regeneraci končetin u ocasatých obojživelníků, i v genové expresi byla nalezena vysoká podobnost, např. silně snížená regulace genů kódujících svalové proteiny nebo naopak zvýšená regulace genů kódující matrixové metaloproteinázy, dále zvýšená regulace onkogenů, vývojových genů, TGFB1 a FN1 (Nogueira et al., 2016; Darnet et al., 2019). Morfologické kroky vedoucí k tvorbě blastému jsou nápadně podobné a zahrnují rozsáhlou histolýzu, tvorbu apikální čepičky a blastém bez bazální membrány (Nogueira et al., 2016).

U juvenilních bichirovitých (konkrétně u bichirka úhořovitého (*Erpetoichthys calabaricus*) a bichira senegalského (*Polypterus Senegalus*)) se zkoumaly prsní, břišní a ocasní ploutve. Zkoumaly se všechny tyto typy za účelem, aby se zjistily obecnější regenerační schopnosti u těchto tělních výběžků. Ploutev se regeneruje za tvorby blastému, ze kterého ploutev vzniká de novo. Po třech týdnech od amputace se mezi oběma částmi ploutve objeví výrazná hranice a v distálním laloku se vytvoří kostní paprsky. Úplná regenerace prsních ploutví trvá v průměru 2,5 měsíce. Analýza regenerovaných párových ploutví ukazuje, že strukturální složitost a charakteristické anatomické rysy endoskeletu jsou v regenerovaných ploutvích zachovány, avšak ploutve se mohou více či méně od původních lišit. Lišit se mohou například počtem konkrétních kosterních částí v regenerovaných prsních a pánevních ploutvích, kterých je častokrát méně než v původní ploutvi a při opakovaných regeneracích se zvyšují redukční trendy (Nikiforova & Golichenkov, 2011).

Navíc se ukázalo, že kromě těchto zmíněných se po amputaci párové ploutve objevila regenerace i u dalších dvou zástupců bazálních skupiny paprskoploutvých ryb a to u

veslonosa amerického (*Polyodon spathula*) a kostlína skvrnitého (*Lepisosteus oculatus*) (Darnet et al., 2019). Překvapivě se zjistilo, že i mezi kostnatými rybami jsou druhy, které jsou schopny zregenerovat párovou ploutev i po amputaci včetně endoskeletu. Byly zkoumány 4 druhy, z toho u 3 se regenerace objevila, jedná se o kančíka příčnopruhého (*Amatitlania nigrofasciata*), vrubozubce pavího (*Astronotus ocellatus*) a karase zlatého (*Carassius auratus*) (Darnet et al., 2019). Druh, u kterého se regenerace neobjevila ani po 90 dnech byl čichavec šedý (*Trichopodus trichopterus*). Nedostatek regenerační kapacity může být mezi kostnatými rybami rozšířen. Regenerace ploutví po amputaci endoskeletu se dá vnímat jako složitá vlastnost předků, která byla následně zachována u některých druhů, jako jsou ty, u kterých se prokázala schopnost regenerace. Nabízejí se dvě možnosti: 1) Jedná se o sekundární ztrátu regenerační kapacity u určitých druhů kostnatých ryb, kterým tato regenerační kapacita ploutví chybí, 2) Přítomnost regenerace u některých druhů kostnatých ryb může vyplývat z opětovného získání této regenerační kapacity (Darnet et al., 2019).

7 Závěr

Regenerace je chápána jako obnova poškozených či úplně ztracených tkání, kdy proces zahrnuje obnovu tkáňové struktury i funkce. Ve většině případů regenerace se na tvorbě nové tkáně podílejí zejména již diferencované buňky, které znovu vstupují do buněčného cyklu, prolifерují a dávají vznik nové tkáni. Tento proces provází ve většině případů zánět a imunitní reakce, jejichž intenzita se u různých skupin živočichů liší a hraje zřejmě důležitou roli v iniciaci regenerace. Dalšími klíčovými kroky během rané regenerace je reepitelizace a histolýza, které jsou vyžadované pro úspěšný průběh regenerace složitějších tkání. Tento proces také zahrnuje aktivaci různých signálních drah, z nichž některé bývají aktivované již během embryogeneze a znovu se aktivují během regenerace, zatímco některé jsou specifické pro regeneraci a aktivují se specificky během ní. Dochází ke zvýšené či naopak snížené regulaci genů kódující proteiny, které mají různé funkce. Regenerace obratlovců často probíhá mechanismem epimorfni regenerace za tvorby blastému. Během epimorfni regenerace zprostředkované blastémem se dediferenciací získávané progenitorové buňky množí a vytvářejí heterogenní uskupení buněk. Ty následně podléhají diferenciaci, aby regenerovaly chybějící struktury. Za přeborníky v regeneraci jsou považováni zejména ocasatí obojživelníci, kteří jsou schopni rozsáhlé regenerace po celý život. Naopak schopnost

obnovy tkání a struktur u ptáků či savců je relativně omezena. Avšak regenerační kapacita savců může být vyšší, než se dlouhou dobu zdálo.

Otázka, proč mají savci oproti většině živočichů nižší regenerační schopnosti, zůstává stále nezodpovězena. Nabízí se však několik možných příčin. Omezená schopnost regenerace by mohla například plynout z neschopnosti některých buněk opětovně vstoupit do buněčného cyklu nebo také z nedostatečné proliferace. Dále se zdá, že by mohla být překážkou zvýšená exprese prozánětlivých cytokinů, silná imunitní odpověď a rozsáhlá zánětlivá reakce. V neposlední řadě zřejmě hraje roli nedostatečná/chybějící aktivace některých signálních drah či naopak aktivace drah, které nejsou pro regeneraci žádoucí.

8 Seznam použité literatury

- Alibardi, L. (2010). Ultrastructural features of the process of wound healing after tail and limb amputation in lizard. *Acta Zoologica*, 91(3), 306–318.
- Alibardi, L. (2012). Observations on FGF Immunoreactivity in the Regenerating Tail Blastema, and in the Limb and Tail Scars of Lizard Suggest That FGFs Are Required for Regeneration. *Belgian Journal of Zoology* 142(1), 23–38.
- Alvarado, A. S., & Tsonis, P. A. (2006). Bridging the regeneration gap: Genetic insights from diverse animal models. *Nature Reviews Genetics*, 7(11), 873–884.
- Beffagna, G. (2019). Zebrafish as a Smart Model to Understand Regeneration After Heart Injury: How Fish Could Help Humans. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 6, 1–8.
- Bely, A. E., & Nyberg, K. G. (2010). Evolution of animal regeneration: re-emergence of a field. *Trends in Ecology and Evolution*, 25(3), 161–170.
- Bertolotti, E., Malagoli, D., & Franchini, A. (2013). Skin Wound Healing in Different Aged *Xenopus laevis*. *Department of Life Sciences*, 964, 956–964.
- Bettencourt-Dias, M., Mitnacht, S., & Brockes, J. P. (2003). Heterogeneous proliferative potential in regenerative adult newt cardiomyocytes. *Journal of Cell Science*, 116(19), 4001–4009.
- Brant, Jason O., Yoon, J. H., Polvadore, T., Barbazuk, W. B., & Maden, M. (2016). Cellular events during scar-free skin regeneration in the spiny mouse, *Acomys*. *Wound Repair and Regeneration*, 24(1), 75–88.
- Brant, Jason Orr, Lopez, M. C., Baker, H. V., Barbazuk, W. B., & Maden, M. (2015). A Comparative Analysis of Gene Expression Profiles during Skin Regeneration in Mus and *Acomys*. *PLoS ONE*, 10(11), 1–19.
- Brockes, J. P., & Kumar, A. (2008). Comparative Aspects of Animal Regeneration. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 24(1), 525–549.
- Call, M. K., Grogg, M. W., & Tsonis, P. A. (2005). Eye on regeneration. *Anatomical Record - Part B New Anatomist*, 287(1), 42–48.
- Cano-Martínez, A., Vargas-González, A., Guarner-Lans, V., Prado-Zayago, E., León-Olea, M., & Nieto-Lima, B. (2010). Functional and structural regeneration in the axolotl heart (*Ambystoma mexicanum*) after partial ventricular amputation. *Archivos de Cardiología de Mexico*, 80(2), 79–86.
- Chablais, F., Veit, J., Rainer, G., & Jawiska, A. (2011). The zebrafish heart regenerates after cryoinjury-induced myocardial infarction. *BMC Developmental Biology*, 11.
- Clause, A. R., & Capaldi, E. A. (2006). Caudal autotomy and Regeneration in lizard. *Journal of Experimental Zoology*, 305A, 965–973.
- Conant, E. B. (1973). Regeneration in the African Lungfish , *Protopterus* . III. Regeneration during Fasting and Estivation. *Biological Bulletin* 144(2), 248–261.

- Cox, P. (1969). Some aspects of tail regeneration in the lizard, *Anolis carolinensis*. *Journal of Experimental Zoology*, 171, 151-160.
- Daponte, V., Tylzanowski, P., & Forlino, A. (2021). Appendage Regeneration in Vertebrates: What Makes This Possible? *Cells*, 10(2).
- Darnet, S., Dragalzew, A. C., Amaral, D. B., Sousa, J. F., Thompson, A. W., Cass, A. N., Lorena, J., Pires, E. S., Costa, C. M., Sousa, M. P., Fröbisch, N. B., Oliveira, G., Schneider, P. N., Davis, M. C., Braasch, I., & Schneider, I. (2019). Deep evolutionary origin of limb and fin regeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(30), 15106–15115.
- De Preux Charles, A. S., Bise, T., Baier, F., Marro, J., & Jaźwińska, A. (2016). Distinct effects of inflammation on preconditioning and regeneration of the adult zebrafish heart. *Open Biology*, 6(7).
- Del Rio-Tsonis, K., & Tsonis, P. A. (2003). Eye regeneration at the molecular age. *Developmental Dynamics*, 226(2), 211–224.
- Delorme, S. L., Lungu, I. M., & Vickaryous, M. K. (2012). Scar-Free Wound Healing and Regeneration Following Tail Loss in the Leopard Gecko, *Eublepharis macularius*. *Anatomical Record*, 295(10), 1575–1595.
- Driskell, R. R., Lichtenberger, B. M., Hoste, E., Kretschmar, K., Simons, B. D., Charalambous, M., Ferron, S. R., Herauld, Y., Pavlovic, G., Ferguson-Smith, A. C., & Watt, F. M. (2013). Distinct fibroblast lineages determine dermal architecture in skin development and repair. *Nature*, 504(7479), 277–281.
- Echeverri, K., & Tanaka, E. M. (2002). Ectoderm to Mesoderm Lineage Switching During Axolotl Tail Regeneration. *Science*, 298, 1993–1997.
- Eguchi, G. (1963). Electron Microscopic Studies on Lens Regeneration: I. Mechanism of Depigmentation of the Iris. *Embryologia*, 8(1), 45–62.
- Eguchi, G. (1964). Electron Microscopic Studies on Lens Regeneration: II. Formation and Growth of Lens Vesicle and Differentiation of Lens Fibers. *Embryologia*, 8(3), 247–287.
- Eguchi, G., Eguchi, Y., Nakamura, K., Yadav, M. C., Millán, J. L., & Tsonis, P. A. (2011). Regenerative capacity in newts is not altered by repeated regeneration and ageing. *Nature Communications*, 2(1).
- Eguchi, G., & Shingai, R. (1971). Cellular Analysis on Localization of Lens Forming Potency in the Newt Iris Epithelium. *Development, Growth & Differentiation*, 13(4), 337–350.
- Emberts, Z., Escalante, I., & Bateman, P. W. (2019). The ecology and evolution of autotomy. *Biological Reviews*, 94(6), 1881–1896.
- Endo, T., Tamura, K., & Ide, H. (2000). Analysis of gene expressions during *Xenopus* forelimb regeneration. *Developmental Biology*, 220(2), 296–306.
- Ferretti, P. (2011). Regeneration of the Vertebrate Tail. *Encyclopedia of Life Sciences*, 1–12.
- Filoni, S., Bernardini, S., Cannata, S. M., & D'Alessio, A. (1997). Lens regeneration in larval

- Xenopus laevis*: Experimental analysis of the decline in the regenerative capacity during development. *Developmental Biology*, 187(1), 13–24.
- Filoni, S. (2009). Retina and Lens Regeneration in Anuran Amphibians. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 20(5), 528–34.
- Freeman, G. (1963). Lens regeneration from the cornea in *Xenopus laevis*. *Journal of Experimental Zoology* 154, 39–65.
- Gargiolo, C., & Slack, J. M. W. (2004). Cell lineage tracing during *Xenopus* tail regeneration. *Development*, 131(11), 2669–2679.
- Gawriluk, T. R., Simkin, J., Hacker, C. K., Kimani, J. M., Kiama, S. G., Ezenwa, V. O., & Seifert, A. W. (2020). Complex Tissue Regeneration in Mammals Is Associated With Reduced Inflammatory Cytokines and an Influx of T Cells. *Frontiers in Immunology*, 11, 1–19.
- Gawriluk, T. R., Simkin, J., Thompson, K. L., Biswas, S. K., Clare-Salzler, Z., Kimani, J. M., Kiama, S. G., Smith, J. J., Ezenwa, V. O., & Seifert, A. W. (2016). Comparative analysis of ear-hole closure identifies epimorphic regeneration as a discrete trait in mammals. *Nature Communications*, 7.
- Gilbert, R. W. D., Vickaryous, M. K., & Vitoria-Petit, A. M. (2013). Characterization of TGF β signaling during tail regeneration in the leopard Gecko (*Eublepharis macularius*). *Developmental Dynamics*, 242(7), 886–896.
- Gillis, G., & Higham, T. E. (2016). Consequences of lost endings: Caudal autotomy as a lens for focusing attention on tail function during locomotion. *Journal of Experimental Biology*, 219(16), 2416–2422.
- González-Rosa, J. M., Burns, C. E., & Burns, C. G. (2017). Zebrafish heart regeneration: 15 years of discoveries. *Regeneration*, 4(3), 105–123.
- González-Rosa, J. M., Martín, V., Peralta, M., Torres, M., & Mercader, N. (2011). Extensive scar formation and regression during heart regeneration after cryoinjury in zebrafish. *Development*, 138(9), 1663–1674.
- Goss, R. J., & Grimes, L. N. (1972). Tissue interactions in the regeneration of rabbit ear holes. *Integrative and Comparative Biology*, 12(1), 151–157.
- Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., & Longaker, M. T. (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*, 453(7193), 314–321.
- Han, M., Yang, X., Tyalor, G., Burdsal, G. A., Anderson, R. A. & Muneoka, K. (2005). Limb Regeneration in Higher Vertebrates: Developing a Roadmap. *Anatomical Record - Part B New Anatomist*, 287(1), 14–24.
- Higham, T. E., Russell, A. P., & Zani, P. A. (2013). Integrative biology of tail autotomy in lizards. *Physiological and Biochemical Zoology*, 86(6), 603–610.
- Imokawa, Y., Simon, A., & Brookes, J. P. (2004). A critical role for thrombin in vertebrate lens regeneration. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 359(1445), 765–776.
- Iten, L. E., & Bryant, S. V. (1973). Forelimb regeneration from different levels of amputation

- in the newt, *Notophthalmus viridescens*: Length, rate, and stages. *Wilhelm Roux' Archiv Für Entwicklungsmechanik Der Organismen*, 173(4), 263–282.
- Jacyniak, K., McDonald, R. P., & Vickaryous, M. K. (2017). Tail regeneration and other phenomena of wound healing and tissue restoration in lizards. *Journal of Experimental Biology*, 220, 2858–2869.
- Jaźwińska, A., & Blanchoud, S. (2020). Towards deciphering variations of heart regeneration in fish. *Current Opinion in Physiology*, 14, 21–26.
- Jiang, T. X., Harn, H. I. C., Ou, K. L., Lei, M., & Chuong, C. M. (2019). Comparative regenerative biology of spiny (*Acomys cahirinus*) and laboratory (*Mus musculus*) mouse skin. *Experimental Dermatology*, 28(4), 442–449.
- Jopling, C., Sleep, E., Raya, M., Martí, M., Raya, A., & Belmonte, J. C. I. (2010). Zebrafish heart regeneration occurs by cardiomyocyte dedifferentiation and proliferation. *Nature*, 464(7288), 606–609.
- Joven, A., Elewa, A., & Simon, A. (2019). Model systems for regeneration: Salamanders. *Development (Cambridge)*, 146(14), 0–2.
- Kelehear, C., & Webb, J. K. (2006). Effects of tail autotomy on anti-predator behavior and locomotor performance in a nocturnal Gecko. *Copeia*, 2006(4), 803–809.
- Kragl, M., Knapp, D., Nacu, E., Khattak, S., Maden, M., Epperlein, H. H., & Tanaka, E. M. (2009). Cells keep a memory of their tissue origin during axolotl limb regeneration. *Nature*, 460(7251), 60–65.
- Labanick, G. M. (1984). Anti-Predator Effectiveness of Autotomized Tails of the Salamander *Desmognathus ochrophaeus*. *Herpetologica*, 40(2), 110–118.
- Levesque, M., Villiard, É., & Roy, S. (2010). Skin wound healing in axolotls: A scarless process. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 314 B(8), 684–697.
- Lien, C. L., Schebesta, M., Makino, S., Weber, G. J., & Keating, M. T. (2006). Gene expression analysis of zebrafish heart regeneration. *PLoS Biology*, 4(8), 1386–1396.
- Londono, R., Wenzhong, W., Wang, B., Tuan, R. S., & Lozito, T. P. (2017). Cartilage and muscle cell fate and origins during lizard tail regeneration. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 5, 1–9.
- Maginnis, T. L. (2006). The costs of autotomy and regeneration in animals: A review and framework for future research. *Behavioral Ecology*, 17(5), 857–872.
- Maiorana, V. C. (1977.) Tail autotomy, functional conflicts and their resolution by a salamander. *Nature*, 265,533–535.
- Makanae, A., & Satoh, A. (2012). Early Regulation of Axolotl Limb Regeneration. *Anatomical Record*, 295(10), 1566–1574.
- Makarev, E., Call, M. K., Grogg, M. W., Atkinson, D. L., Milash, B., Odelberg, S. J., & Tsonis, P. A. (2007). Gene expression signatures in the newt irises during lens regeneration. *FEBS Letters*, 581(9), 1865–1870.
- Matias Santos, D., Rita, A. M., Casanellas, I., Brito Ova, A., Araújo, I. M., Power, D., & Tiscornia, G. (2016). Ear wound regeneration in the African spiny mouse *Acomys*

- cahirinus. *Regeneration*, 3(1), 52–61.
- McCusker, C., Bryant, S. V., & Gardiner, D. M. (2015). The axolotl limb blastema: cellular and molecular mechanisms driving blastema formation and limb regeneration in tetrapods. *Regeneration*, 2(2), 54–71.
- Mclean, K. E., & Vickaryous, M. K. (2011). A novel amniote model of epimorphic regeneration: the leopard gecko, *Eublepharis macularius*. *BMC Developmental Biology*, 11(1), 50.
- Mescher, A. L. (1996). The cellular basis of limb regeneration in urodeles. *International Journal of Developmental Biology*, 40(4), 785–795.
- Mochii, M., Taniguchi, Y., & Shikata, I. (2007). Tail regeneration in the *Xenopus* tadpole. *Development Growth and Differentiation*, 49(2), 155–161.
- Monaghan, J. R., Athipposhy, A., Seifert, A. W., Putta, S., Stromberg, A. J., Maden, M., Gardiner, D. M., & Voss, S. R. (2012). Gene expression patterns specific to the regenerating limb of the Mexican axolotl. *Biology Open*, 1(10), 937–948.
- Natalia Vergara, M., Tsissios, G., & Del Rio-Tsonis, K. (2018). Lens regeneration: A historical perspective. *International Journal of Developmental Biology*, 62(6–8), 351–361.
- Nikiforova, A. I., & Golichenkov, V. A. (2011). Characteristics of the reparative regeneration of fins in the polypterid fish (Polypteridae, Actinopterygii). *Russian Journal of Developmental Biology*, 43(2), 115–120.
- Nogueira, A. F., Costa, C. M., Lorena, J., Moreira, R. N., Frota-Lima, G. N., Furtado, C., Robinson, M., Amemiya, C. T., Darnet, S., & Schneider, I. (2016). Tetrapod limb and sarcopterygian fin regeneration share a core genetic programme. *Nature Communications*, 7, 1–9.
- Nye, H. L. D., Cameron, J. A., Chernoff, E. A. G., & Stocum, D. L. (2003). Regeneration of the urodele limb: A review. *Developmental Dynamics*, 226(2), 280–294.
- Peacock, H. M., Gilbert, E. A. B., & Vickaryous, M. K. (2015). Scar-free cutaneous wound healing in the leopard gecko, *Eublepharis macularius*. *Journal of Anatomy*, 227(5), 596–610.
- Pellettieri, J. (2019). Regenerative tissue remodeling in planarians – The mysteries of morphallaxis. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 87, 13–21.
- Píchová, V. (2019). Energetické náklady autotomie a regenerace ocasu u plazů. Bakalářská práce. Karlova univerzita, Praha, Česká republika.
- Poss, K. D., Wilson, L. G., & Keating, M. T. (2002). Heart regeneration in zebrafish. *Science*, 298(5601), 2188–2190.
- Price, E. L., Vieira, J. M., & Riley, P. R. (2019). Model organisms at the heart of regeneration. *DMM Disease Models and Mechanisms*, 12(10).
- Reeve, J. G., & Wild, A. E. (1978). Lens regeneration from cornea of larval *Xenopus laevis* in the presence of the lens. *Journal of Embryology and Experimental Morphology*, Vol. 48, 205–214.
- Richardson, R., Slanchev, K., Kraus, C., Knyphausen, P., Eming, S., & Hammerschmidt, M.

- (2013). Adult zebrafish as a model system for cutaneous wound-healing research. *Journal of Investigative Dermatology*, 133(6), 1655–1665.
- Russell, A. P., Lynn, S. E., Powell, G. L., & Cottle, A. (2015). The regenerated tail of juvenile leopard geckos (Gekkota: Eublepharidae: Eublepharis macularius) preferentially stores more fat than the original. *Zoology*, 118(3), 183–191.
- Sánchez Alvarado, A. (2000). Regeneration in the metazoans: Why does it happen? *BioEssays*, 22(6), 578–590.
- Schnapp, E., Kragl, M., Rubin, L., & Tanaka, E. M. (2005). Hedgehog signaling controls dorsoventral patterning, blastema cell proliferation and cartilage induction during axolotl tail regeneration. *Development*, 132(14), 3243–3253.
- Schaefer, J. J., Oliver G. & Henry, J. J. (1999). Conservation of Gene Expression during Embryonic Lens Formation and Cornea-Lens Transdifferentiation in *Xenopus Laevis*. *Developmental Dynamics*, 215(4): 308–18.
- Schneider, I., & Shubin, N. H. (2013). The origin of the tetrapod limb: From expeditions to enhancers. *Trends in Genetics*, 29(7), 419–426.
- Seifert, A., Monaghan, J., Voss, R., & Maden, M. (2012)a. Skin regeneration in adult axolotls: A blueprint for scar-free healing in vertebrates. *PLoS ONE*, 7(4). -
- Seifert, A. W., Kiama, S. G., Seifert, M. G., Goheen, J. R., Palmer, T. M., & Maden, M. (2012)b. Skin shedding and tissue regeneration in African spiny mice (*Acomys*). *Nature*, 489(7417), 561–565.
- Seifert, A. W., & Muneoka, K. (2018). The blastema and epimorphic regeneration in mammals. *Developmental Biology*, 433(2), 190–199.
- Simkin, J., Gawriluk, T. R., Gensel, J. C., & Seifert, A. W. (2017). Macrophages are necessary for epimorphic regeneration in African spiny mice. *ELife*, 6, 1–26.
- Simkin, J., Sammarco, M. C., Dawson, L. A., Tucker, C., Taylor, L. J., Meter, K. Van, & Muneoka, K. (2015). Epidermal closure regulates histolysis during mammalian (*Mus*) digit regeneration. 106-119.
- Simon, A., & Tanaka, E. M. (2013). Limb regeneration. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*, 2(2), 291–300.
- Slack, J. M.W., C. W. Beck, C. Gargioli, and B. Christen. 2004. “Cellular and Molecular Mechanisms of Regeneration in *Xenopus*.” *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 359(1445): 745–751.
- Smits, A. W., & Brodie, E. D. (1995). Lack of respiratory “cost” of tail autotomy in the lungless salamander, *Oedipina uniformis*. *Comparative Biochemistry and Physiology - Part A: Physiology*, 111(1), 155–161.
- Stanger, B. Z. (2015). Cellular homeostasis and repair in the mammalian liver. *Annual Review of Physiology*, 77, 179–200.
- Stocum, D. L. (2017). Mechanisms of urodele limb regeneration. *Regeneration*, 4(4), 159–200.
- Tanaka, E. M. (2016). The Molecular and Cellular Choreography of Appendage

- Regeneration. *Cell*, 165(7), 1598–1608.
- Tsonis, P. A. (2000). Regeneration in vertebrates. *Developmental Biology*, 221(2), 273–284.
- Uemoto, T., Abe, G., & Tamura, K. (2020). Regrowth of zebrafish caudal fin regeneration is determined by the amputated length. *Scientific Reports*, 10, 649-665.
- Unguez, G. A. (2013). Electric fish : new insights into conserved processes of adult tissue regeneration. *The Journal of Experimental Biology*, 216, 2478–2486.
- Vinarsky, V., Atkinson, D. L., Stevenson, T. J., Keating, M. T., & Odelberg, S. J. (2005). Normal newt limb regeneration requires matrix metalloproteinase function. *Developmental Biology*, 279(1), 86–98.
- Vitt, L. J., Congdon, J. D., & Dickson, N. A. (1977). Adaptive Strategies and Energetics of Tail Autonomy in Lizards. *Ecology*, 58(2), 326–337.
- Williams-Boyce, P. K., & Daniel, J. C. (1986). Comparison of ear tissue regeneration in mammals. *Journal of Anatomy*, 149, 55–63.
- Yoon, J. H., Cho, K., Garrett, T. J., Finch, P., & Maden, M. (2020). Comparative Proteomic Analysis in Scar-Free Skin Regeneration in *Acomys cahirinus* and Scarring *Mus musculus*. *Scientific Reports*, 10(1), 1–16.