

Star Trek: The Next Regeneration – czyli o tym, jak żaby nie są w tych tematach zielone

Wiktoria Zawadzka

Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii

Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego

E-mail: w.zawadzka.733@studms.ug.edu.pl

tutor: dr hab. Katarzyna Węgrzyn

Międzyuczelniany Wydział Biotechnologii

Uniwersytetu Gdańskiego i Gdańskiego Uniwersytetu Medycznego, Zakład Biologii Molekularnej

Słowa kluczowe: regeneracja, Xenopus laevis, terapię komórkami macierzystymi

Streszczenie

Praca wskazuje szlaki sygnałacyjne oraz czynniki transkrypcyjne i białka zaangażowane w regenerację u ludzi, aksolotli i żab *Xenopus*. Omówione jest działanie i wpływ na regenerację m.in. szlaków Hippo oraz Jak/Stat, genów Xetrov oraz Sox2/3, czynników takich jak melanokortyny Mc4r, interleukina 11, klf oraz udział komórek ROC. Opisane zostały drogi regeneracji kończyn, części układu nerwowego takich jak mózg, rdzeń nerwowy i nerw wzrokowy oraz narządów wewnętrznych jak serce czy wątroba u ww. organizmów. Autor wskazuje na ograniczenia regeneracji u żab *Xenopus* oraz porównuje umiejętności regeneracyjne człowieka. Wspomniane są aspekty ewolucyjne zaangażowane w trwanie niektórych cech

przez ssaki oraz rozpatrywana jest możliwość wykorzystania umiejętności regeneracyjnych płazów i zaangażowanych w nie czynników do terapii przyszłości. Poruszona jest również tematyka obecnych nowatorskich terapii komórkowych oraz ich dalszy tor i niebezpieczeństwa z nimi związane.

Wstęp

Z pewnością każdy choć raz marzył, aby świat z ulubionych filmów czy książek stał się rzeczywistością. W niektórych dziełach fantastyki doszukujemy się ziarenka prawdy licząc, że nasza przyszłość będzie wyglądać w taki sposób. Szybko jednak wracamy z powrotem na ziemię i wmawiamy sobie, że to tylko fikcja. Ale czy na pewno? Aby rozpocząć przytoczę scenę z filmu *Star Trek IV: The Voyage Home*, 1986 (*Star Trek IV: Powrót Na Ziemię*, 1986). Widzimy w niej lekarza, jednego z głównych bohaterów, który cofnął się w czasie do USA końca XX wieku i odbył rozmowę

ze starszą panią, którą spotkał w korytarzu szpitala.

„McCoy: Co jest z tobą nie tak?

Pacjentka: Nerki, dializa...

McCoy: Dializa? Mój Boże, co to jest, Ciemne Wieki? Masz, połknij to. Jeśli masz problem, po prostu zadzwoń do mnie.”

Później możemy zauważyć pacjentkę krzyczącą „Lekarz dał mi pigułkę i wyrosła mi nowa nerka. Lekarz dał mi pigułkę i wyrosła mi nowa nerka!”.

Oczywiście taka wizja dokonań przyszłej medycyny wydaje się nieosiągalna, jednak czy rzeczywiście jest ona poza naszym zasięgiem? Obecnie nie posiadamy takich wyjątkowych tabletek, jednak w ciągu ostatnich lat coraz popularniejsze stają się eksperymenty wykorzystujące druk 3D do tworzenia spersonalizowanych organów *in vitro*, pozwalające na dokładne umieszczenie komórek oraz biomateriałów warstwa po warstwie (Zhang i in., 2021). Jest to jednak wciąż eksperymentalna technika, która potrzebuje wiele lat pracy, aby była wykorzystywana w medycynie na co dzień. Można zatem zadać pytanie po co poświęcamy tematyce regeneracji taką ilość czasu i zasobów. Prawdopodobnie dlatego, że powolne postępy w tej trudnej dziedzinie dotyczą coraz większej liczby osób. Według danych przedstawionych przez Poltransplant liczba przeszczepionych nerek w Polsce od dawców martwych w latach 2020–2022 była znacznie niższa w porównaniu do lat 2010–2019. Negatywnie wpływało to na czas oczekiwania pacjentów na przeszczep w trybie zwykłym [1], a wydłużony czas oczekiwania oczywiście narażał ich na większe ryzyko powikłań i nasilenie choroby spowodowane coraz słabszą pracą niewydolnych narządów. Kiedy nadchodził czas przeszczepu nie można również było zapo-

mnąć o możliwych powikłaniach pooperacyjnych oraz silnych reakcjach immunologicznych powodujących odrzucanie organu przez pacjenta. Dlatego tak ważne jest pytanie, czy możliwe jest rozwiązanie problemu tak, jak było to pokazane w filmie? Czy możliwa jest stymulacja organizmu do samodzielnej naprawy na przykład poprzez wykorzystanie umiejętności regeneracji całych, utraconych organów przez niektóre żaby, traszki oraz aksolotle i przeniesienie ich na organizm ludzki? Niniejsza praca poświęcona będzie zgłębieniu fizjologicznych mechanizmów pozwalających płazom na niesamowitą regenerację oraz znalezieniu łącznika między tą umiejętnością a analogicznymi procesami u ludzi, których potencjał może zostać wykorzystany w przyszłości.

Jak to płazy robią?

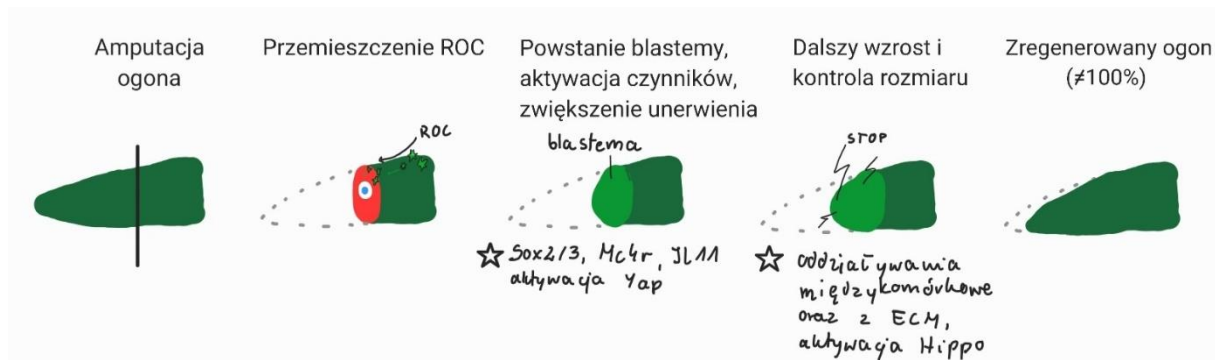
Szlak by to wszystko... kierował

Dla każdej akcji można znaleźć reakcję. Regeneracja nie jest procesem samorzutnym i niekontrolowanym. Do jej rozpoczęcia potrzebne są duże ilości czynników produkowanych przez komórkę oraz precyzyjne „ustawienie” miejsca, czasu oraz kolejności ich działania w szlakach sygnalizacyjnych. Łączą one wszystkie zachodzące w ciele procesy w działającą całość i dostosowują siłę sygnałów w zależności od stanu i potrzeb organizmu. Skupienie całej wiedzy na temat tych zjawisk zachodzących u ludzi i płazów wymagałoby współpracy wielu specjalistów oraz zapisania setek stron, dlatego w niniejszej pracy opowiem tylko o czynnikach najczęściej badanych przez zespoły na całym świecie. Na początek skupię się na żabach z gatunku *Xenopus*, których polska nazwa to Płatany (wspominana często w wielu artykułach *Xenopus laevis* to inaczej Płatana szponiasta). Wraz z wiekiem tracą one niektóre umiejętności regeneracyjne- tak samo jak ludzie, jednak my wychodzimy na tym procesie znacznie gorzej.

Ważne podstawy (ogona)

Wiele badań nad *Xenopus* (i nie tylko) wykazało, że na to, czy komórka zdecyduje się na podział i regenerację narządu wielki wpływ ma jej otoczenie, tworzone przez inne komórki czy macierz międzykomórkową. Samo tworzenie nowej kończyny czy ogona po amputacji możemy podzielić na 3 etapy: wytworzenie wyspecjalizowanego naskórka na ranie, stworzenie blastemy/pączka regeneracyjnego (skupiska komórek zdolnych do wzrostu i regeneracji) oraz wzrost poprzez proliferację (Tanaka, 2016). W wypadku regeneracji kończyn (w zdecydowanej większości badań nad *Xenopus* usuwany jest jej ogon) – zaraz po amputacji ogona u kijanek z obecną umiejętnością regeneracji, na końcu kikuta pojawiają się komórki zwane komórkami organizującymi regenerację (ROC). Przemiesz-

czają się one z obszaru tylnego tułowia tworząc wyspecjalizowany naskórek (Ryc. 1) (Aztekin i in., 2019). Jest on niedawno zidentyfikowanym typem tkanki, który znajduje się zarówno w nienaruszonych oraz regenerujących się ogonach. Taki naskórek jest jednym z pierwszych etapów naprawy również np. u popularnej rybki akwariowej danio pręgowanego (*Danio rerio*.) oraz aksolotli- płazów z rodzaju *Ambystoma*. ROC odpowiadają za proliferację komórek przez wydzielanie czynników wzrostu i sygnałów instryktarzowych rozdzielających komórki prekursorowe do odpowiednich miejsc w ogonie (Aztekin i in., 2019). Możemy je nazwać matczynymi komórkami, które potrafią przemieniać się w potrzebny typ komórek, których grupy tworzą później określone tkanki i narządy.



Ryc. 1. Schematyczne przedstawienie regeneracji ogona kijanki. Rozwinięcie użytych skrótów: ECM- macierz pozakomórkowa, ROC- komórki organizujące regenerację

W kontekście zwierzęcego ogona wiemy, że posiada mięśnie, nerwy i kręgi oraz pokryty jest skórą. Podczas regeneracji ogona rdzeń kręgowy i struna grzbietowa powstają z tego samego typu komórek, natomiast włókna mięśniowe powstają z komórek satelitarnych, czyli typu komórek obecnego w bliskim otoczeniu mięśni, który zachował umiejętności dzielenia się- nie natomiast z istniejących wcześniej włókien mięśniowych (Suzuki i in., 2022). Powstanie kilku nerwów

wygląda na prosty proces, jednak dowiemy się, jak skomplikowanym on rzeczywiście jest. Wiemy, że zwiększenie unerwienia w regenerującym się kikucie żaby *Xenopus laevis* wspomaga ekspresję genów, które z kolei pozytywnie wpływają na odrastającą kończynę i przyspieszają ten proces (Mitogawa i in., 2018). Dodatkowo neuronalne komórki progenitorowe, czyli matczyne komórki mogące zmieniać się w niektóre komórki układu nerwowego, posiadające gen *Sox2* i/lub

Sox3 generują neurony w odpowiedzi na uraz. Umożliwia to całkowitą regenerację rdzenia kręgowego i powrót umiejętności pływania u kijanek nawet po przerwaniu jego ciągłości (Muñoz i in., 2015). Wszystkie wcześniej wymienione procesy muszą zachodzić płynnie oraz w tym samym czasie. Kluczowa więc jest ich dobra koordynacja oraz umiejętność opanowania. Za koordynację odpowiedzialny jest m.in. mózg płatany. Biorą w niej duży udział białka- melanokortyny podwzgórza, takie jak np. Mc4r. Uszkodzenie tej części mózgu u naszej żaby upośledza regenerację oraz produkcję ROC w okolicach rany. Dowiedziono również, że Mc4r mogą pełnić funkcje zastępujące działanie nerwów

np. stymulując komórki w blastemie. Szlaki sygnałowe Mc4r biorą udział w wielu innych szlakach czy samej kontroli metabolizmu energetycznego nie tylko u żab, ale również u ryb oraz ssaków. Ten wspólny łącznik u ssaków oraz płazów pozytywnie wpływa na regenerację kończyn u obu grup, co udowodniły doświadczenia pokazujące, że szlak Mc4r jest wymagany do odrastania palców myszy- jest to przykład regeneracji nieopartej o ROC (Zhang i in., 2018). Niestety w przypadku ROC wykazano, że struktura naskórka przez nie tworzonego nie występuje u zwierząt nieregenerujących się, takich jak ptaki czy myszy- prawdopodobnie więc też ludzi (Tab. 1).

Tabela 1. Porównanie obecnych szlaków sygnalizacyjnych oraz czynników zaangażowanych w regenerację u żab *Xenopus* oraz ludzi

Czynnik/ szlak sygnalizacyjny	Żaby <i>Xenopus</i>	Człowiek
Naskórek zawierający komórki organizujące regenerację ROC	+ podstawa regeneracji kończyn, udział w wielu procesach, np. organizacji nowych komórek (Aztekin i in., 2019)	- brak
Neuronowe komórki progenitorowe prowadzące ekspresję genów Sox2/3	+ udział w całkowitej regeneracji rdzenia kręgowego (Muñoz i in., 2015)	- brak
Melanokortyny Mc4r	+ kontrola metabolizmu i regeneracji kończyn (Zhang i in., 2018)	+ kontrola metabolizmu i regeneracji (Zhang i in., 2018)
Interleukina 11	+ pośrednio zachęca do różnicowania przez geny Xetrov (Suzuki i in., 2022)	+ indukują różnicowanie miofibroblastów (rozregulowanie prowadzi do choroby) (Suzuki i in., 2022)
Geny Xetrov	+ występują (Suzuki i in., 2022)	- brak
Szlak Hippo	+ regeneracja nóg i ogona (Halder i Johnson 2011; Hayashi i in., 2014)	+ kontrola regeneracji (Fu i in., 2022)
Czynnik klf	+ regeneracja siatkówki, jako 2 regulatory dodatnie wzrostu (Moore i in., 2009)	+ jako 2 regulatory ujemne wzrostu (Moore i in., 2009)
Częsteczki szlaku Jak/Stat	+ udział w regeneracji (Elsaeidi i in., 2014)	+ hamowany przez Socs3 co zmniejsza regenerację (Elsaeidi i in., 2014)

Kochaj, ale kontroluj...

Jak jednak odrastający ogon naszej żaby nie staje się 2 razy większy w porównaniu do tego przed amputacją? Gatunki regenerujące, do których należy omawiane *Xenopus* kiedy jest w stadium kijanki, regulują wielkość powstającej po odcięciu kończyny przez oddziaływanie z tkankami kikuta. Ta kontrola wzrostu obejmuje wykrywanie gęstości komórek, komunikacji między nimi, kontakt komórek z macierzą pozakomórkową (ECM) oraz wspomaganie ekspresji genów w komórkach w zależności od ich położenia (Hayashi i in., 2015). Trzeba jednak zaznaczyć, że umiejętności omawianych płazów mają swoje ograniczenia. Odrastająca po amputacji kończyna płaty nie jest w 100% taka sama jak przed amputacją- jest ona mniejsza (Ryc. 1). Warto też zaznaczyć, że odrośnięcie uciętego ogona, w porównaniu do jego rozwoju podczas życia embrionalnego, dodatkowo utrudnia dostosowywanie wielkości pojawiających się tkanek (Hayashi i in., 2015). Proces ten nie działa więc jak cofnięcie czasu do momentu sprzed urazu.

Mózg tej operacji

A co stanie się z mózgiem kiedy to on będzie uszkodzony? Wiemy, że żaby *Xenopus* w stadium larwy mogą zregenerować nawet części swojego mózgu dzięki m.in. zaangażowaniu komórek ependymalnych. Jest to typ komórek tworzący cienką warstwę (wyściółkę) w mózgu. W odpowiedzi na uszkodzenia komórki te rosną, namnażają się, różnicują w neurony i glej oraz co najważniejsze migrują w otoczenie ubytku. Dowiedziono, że u dorosłych żab również istnieją komórki zdolne do regeneracji, jednak głównie ich bezruch jest powodem niepowodzenia (Endo i in., 2007). W pewnym doświadczeniu badającym tą sprawę usunięty został kawałek śródmózgowia larwy *Xenopus*, który jest ośrodkiem przetwarzania informacji węchowych (Scalia, 1976). Kijanki po operacji miały czas na metamorfozę do stadium dorosłej

żaby, po czym zostały poddane badaniom. Zbadanie całkowitego powrotu funkcji mózgu było trudne ze względu na jego złożoność. Dlatego kiedy badacze sprawdzali umiejętności regeneracji śródmózgowia (z niewielkiego fragmentu który pozostał) opracowali prostą i logiczną metodę- mianowicie sprawdzali czy żaby po operacji reagowały na jedzenie w taki sam sposób jak te niepoddane modyfikacjom. Okazało się, że tak- okazy poddane za młodu operacji pozytywnie reagowały na zapach jedzenia, co wskazuje na odbudowę uszkodzonej części mózgu (Yoshino i Tochinali, 2006).

Gama czynników

Jakie inne czynniki wpływają na powrót żab do zdrowia i wcześniejszego stanu? Istnieje niezliczona liczba szczególnych białek i enzymów zaangażowanych w regenerację, dlatego najważniejsze z nich zostały przedstawione w Tabeli 1. Jednym z wielu czynników, do aktywacji których dochodzi po amputacji jest interleukina 11 (Il11), która jest zaliczana do rodziny cytokin, szeroko znanej i opisywanej jako białka wpływające na wzrost i różnicowanie. Il11 zachęca komórki do różnicowania pośrednio, przez wpływ na leukocyty (jeden z wielu typów komórek krwi), w których zachodzi ekspresja 2 niezbędnych genów- *Xetrov90002578m.L* oraz *Xetrov90002579m.S* (Suzuki i in., 2022). Kolejnym ważnym fragmentem układanki jest szlak Hippo. Jest on jednym z podstawowych i najważniejszych szlaków kontrolujących życie i śmierć komórek oraz zapobiegających powstawaniu nowotworów (Chen i in., 2010). Jego znaczenie potwierdza jego wysoka konserwatywność ewolucyjna- czyli fakt, że mimo różnorodności i dalekiego pokrewieństwa wielu organizmów na Ziemi, akurat Hippo jest w nich zachowywane (z niewielkimi modyfikacjami oczywiście). Szlak sygnałowy Hippo hamuje działanie regulatorów transkrypcji Yap/Taz, które z kolei akty-

wowane promują proliferację komórek (Halder i Johnson, 2011). Yap jest wymagany do regeneracji nóg i ogona u kijanek *Xenopus*. Co ciekawe wykazano, że przy niskiej gęstości komórek regulator transkrypcji Yap przemieszcza się do jądra komórek i powoduje zwiększoną ich proliferację. Pozwala to na zachodzenie podziałów komórkowych wyłącznie tam, gdzie są one potrzebne oraz ma to wielki wkład w tworzenie blastemy na kikucie (Hayashi i in., 2014). Co ważne dla nas ścieżka Hippo jest obecna też u ludzi. Niestety wysoki poziom skomplikowania utrudnia całkowite jej poznanie. Dowiedzione jest jednak, że polaryzacja komórek, a więc ich kształt i kierunek ułożenia w przestrzeni,

wpływają na regulację szlaku Hippo (Fu i in., 2022). Natomiast złą dla nas informacją jest to, że odpowiedników wcześniej wspomnianych genów Xetrov nie znajdziemy w ludzkim DNA (Tab. 1). Dodatkowo interleukina 11 w naszym organizmie indukuje różnicowanie miofibroblastów (komórek mających właściwości kurczliwe), których jednak zbyt duża stymulacja prowadzi do chorób takich jak idiopatyczne zwłóknienie płuc (Suzuki i in., 2022). Niewiele z opisanych wcześniej czynników powtarza się i u człowieka i u żaby *Xenopus*. Niektóre z nich natomiast mają dwa różne działania. Dla łatwiejszego zobrazowania różnic i podobieństw dane zostały podsumowane w tabeli 1 oraz na rycinie 2.



Ryc. 2. Porównanie umiejętności regeneracyjnych żab *Xenopus* oraz człowieka, (+) oznacza posiadanie danej umiejętności, a (-) jej brak

Mamy na nie oko

Nauka bardzo skupia się też na badaniu narządów wzroku żab *Xenopus*. Dlaczego? Bo akurat nerw wzrokowy płatan ma umiejętność całkowitej regeneracji przez cały okres jej życia (Lee-Liu i in., 2017). Żaby (oraz niektóre ryby z podobnymi umiejętnościami) regenerują wzrok po uszkodzeniu nerwu wzrokowego przez chronienie komórek zwojowych siatkówki przed śmiercią, a następnie naprawienie uszkodzonej błony komórkowej oraz odbudowanie przekazujących impulsy

nerwowe wypustek komórek nerwowych (aksonów) (Whitworth i in., 2017). Dzięki tej drodze obranej przez tutaj omawiane *Xenopus* są one idealnymi organizmami do badania dynamiki regeneracji neuronów. Niedawno odkryto, że u zwierząt udział w regeneracji komórek siatkówki biorą czynniki transkrypcyjne z rodziny klf. Rodzina klf zawiera 17 spokrewnionych czynników transkrypcyjnych, których odczytywanie przez organizm zachodzi podczas „opracowywania” różnych typów komórek siatkówki (Moore i in., 2009). Klf6 i klf7 są regulatorami dodatnimi u danio pręgowanego, a klf4 i klf9 są regulatorami

ujemnymi u ssaków. Badania m.in. na myszach dowiodły, że wyeliminowanie ekspresji genu KLF4 zwiększyło wzrost i regenerację aksonów- co może być kiedyś użyte jako jedna z wielu terapii wspomagających leczenie ludzi z uszkodzeniami nerwu wzrokowego. Innymi częsteczkami odgrywającymi pozytywną rolę w regeneracji nerwu wzrokowego u *Xenopus* są również częsteczki szlaków sygnałowych Jak/Stat. Ograniczoną regenerację u ssaków częściowo powoduje hamowanie tego szlaku przez białko kodowane genem *Socs3* (nie mylić z *Sox3*!), co wskazuje, że w przyszłości osłabienie ekspresji również tego genu mogłoby wspomóc gojenie oraz przywracanie wzroku u ludzkich pacjentów (Elsaedi i in., 2014). Głównym problemem jest to, że komórki zwojowe siatkówki u ludzi zaraz po uszkodzeniu umierają, co wymazuje jakąkolwiek szansę na odbudowę uszkodzenia (Fischer i Leibinger 2012). Dodatkowo jego niepowodzenie może też być dyktowane przez niektóre czynniki hamujące znajdujące się w tkance bliznowatej pojawiającej się w miejscu urazu. Jednym z wielu problemów są też niewystarczające umiejętności aksonów do wzrostu (Fischer i Leibinger 2012). Jednakże w pewnych okolicznościach dorosłe komórki siatkówki mogą być przekształcone do aktywnego stanu regeneracyjnego. Zauważono, że w siatkówce ssaków występuje ograniczona regeneracja komórek nerwowych siatkówki, jednak pozwala ona tylko na stworzenie częściowo zróżnicowanych neuronów (Woodworth i in., 2023).

Nie wszystko zostaje w (płazowej) rodzinie...

Badania wykonywane na żabach *Xenopus* często skupiają się na samej regeneracji ogona, kończyn czy oka. Jeśli jednak chcemy zgłębić regenerację samych organów wewnętrznych dobrym źródłem informacji będą aksolotle, które potrafią (również w dorosłym życiu) odtworzyć części serca czy nawet mózgu (Bolaños-Castro i in., 2021).

Najważniejszą różnicą między regeneracją u *Xenopus*-platan a u *Ambystoma*-akso- lotli jest to, że *Xenopus* opiera swój wzrost bardziej na komórkach prekursorowych określonych tkanek, w porównaniu do *Ambystoma*, u których wykazywana jest obecność komórek multipotencjalnych, czyli takich o szerszym zakresie komórek, w które się mogą przemienić. Dodatkowo *Ambystoma* zachowują swoje umiejętności regeneracji przez całe życie. Po odcięciu kończyny wytwarzają blastemę, wzmagają proliferację i w pełni odbudowują utraconą kończynę razem ze szkieletem. U żab po wejściu w dorosłe życie po amputacji również wytwarzana jest blastema, jednak dalsza regeneracja skutkuje „nieumyślnym” stworzeniem kolca chrząstki co powoduje, że kończyna czy ogon nie są identyczne z tym przed amputacją (bliżej są kikutowi niż funkcjonalnej kończynie) (Bolaños-Castro i in., 2021). Dlaczego więc skupiamy się na ograniczonych umiejętnościach platan, kiedy pod ręką mamy aksolotle które potrafią znacznie więcej? Ponieważ obserwacja tracen- nia umiejętności odrastania kończyn w czasie rzeczywistym u żaby *Xenopus* podczas jej przejścia z kijanki w dorosłą formę daje nam wiele informacji na temat zmian w komórkach, które zachodzą podczas tego procesu. Powodem może być różnica w poziomie metylacji u kijanek oraz dorosłych żab- metylacją nazwiemy jeden z wielu odwracalnych sposobów modyfikacji DNA w komórkach (Lin i in., 2021). Zmiany te powodują, że geny tracą swoją aktywność transkrypcyjną- jednak nadal są obecne w genomie. Niestety przez niedostateczne informacje na temat metylacji DNA aksolotli przyczyna różnicy między dwoma omawianymi płazami nie jest do końca poznana.

Obserwując w przyszłości wyżej wspomniane zmiany, moglibyśmy natknąć się na wyciszenie pewnych szlaków czy hamowanie pewnych białek, co z kolei może być wskazówką, czy takie same sytuacje mają miejsce

u nas-ludzi (Mochii i in., 2007). Gdyby takie istniały, moglibyśmy spróbować je uruchomić i sprawdzić, czy nabierzemy super mocy.

Poznanie ewolucji (może) pomoże

Kiedy żaby, traszki i aksolotle mogą cieszyć się zdrowiem i kompletem kończyn, my głosimy się kiedy to się stało i czemu nie potrafimy zrobić tak samo. Kiedy natomiast próbujemy określić, czy umiejętności odrastania kończyn i organów są rzeczą nabytą ewolucyjnie przez niektóre gatunki, czy rzeczą straconą przez inne, obranie którejkolwiek hipotezy nadal jest trudne, jako że istnieje niewiele empirycznych dowodów popierających jakąkolwiek z nich (Maden 2018). Określenie w których gałęziach ewolucyjnych nastąpiło utracenie wielu umiejętności regeneracji całego ciała jest pierwszym problemem. Dodatkowo powinniśmy patrzeć na wyniki z lekkim dystansem, bo np. brak regeneracji u danego osobnika może być spowodowany jego wiekiem albo ogólnym złym stanem zdrowia, a nie wrodzonym brakiem tej umiejętności. Problemem może być też stronniczość przeciwko publikowaniu niepowodzeń badań na temat regeneracji (Bely, 2010). Należy również wziąć po uwagę fakt, że w przypadku wielu gatunków zwierząt po prostu nie ma żadnych informacji na temat zdolności regeneracyjnych całego ciała. Nauka skupia się na kilku organizmach modelowych, co czasem może stanowić trudności w dosłownym przełożeniu wyników na organizm ludzki (Bely i Nyberg, 2010). Zdobywanie większej wiedzy na temat spokrewnienia i podobieństw metabolicznych organizmów jest bardzo ważne. Wiedząc, w którym momencie ewolucji natura obrała inny tor możemy wpaść na wiele pomysłów związanych z modyfikacjami metabolizmu czy genomów organizmów w przyszłości (Garza-Garcia i in., 2010).

Jak to wygląda u ludzi?

Nie jest aż tak źle...

Z życia wiemy, że nasze rany się goją, krew w pewnym momencie krzepnie a nieszczęśliwe wypadki przestają po jakimś czasie boleć. Bez tych umiejętności naprawy już dawno by nas tu nie było. Kiedy patrzymy z zazdrością na płazy powinniśmy też pamiętać o naszych własnych ratujących życie mechanizmach.

Dla przykładu nasza wątroba jest jedynym narządem stałym, który wykorzystuje mechanizmy regeneracyjne, aby po urazie/stracie zapewnić, że stosunek wątroby do masy ciała zawsze wynosi 100% tego, co jest wymagane do utrzymania homeostazy organizmu. Pozostałe organy (np. płuca) również potrafią się regenerować, jednak nie potrafią one wrócić do oryginalnego stanu. Wątroba jest w stanie w pełni się zregenerować nawet po silnym chemicznym uszkodzeniu czy wycięciu jej dużej części. Te niesamowite zdolności zawdzięcza budującą ją hepatocytom (komórkom wątroby), które mają nieograniczoną zdolność regeneracyjną i potrafią przejąć rolę komórek macierzystych (Michalopoulos i Bhushan 2021). Całkiem imponujący jest też fakt, że uszkodzone nerwy obwodowe (ale nie nerwy centralne) mają zdolność regeneracji i ponownego unerwienia narządów docelowych. Są w stanie tego dokonać dzięki wspomagającym oraz otaczającym je komórkom Schwanna, które potrafią np. oddawać niezbędne związki organiczne neuronom „w potrzebie” (Gordon, 2020). Jednak odnosi się to do niewielkich uszkodzeń i jak było wspomniane wcześniej, mózg oraz rdzeń kręgowy praktycznie się nie regenerują (Ryc. 2). Takie samo przekonanie istniało na temat mięśni sercowych. Jednak nowe badania wskazują, że ssaki mogą regenerować mięsień sercowy nawet przez pewien czas po urodzeniu. U dorosłej osoby po uszkodzeniu mięśnia sercowego powstają

blizny, które mogą również zmniejszać wydajność jego pracy (Uygur i Lee 2016). Jednak niemożność regeneracji nie oznacza, że jest ona nieobecna. W pewnym badaniu aby dowiedzieć się wieku komórek serca u badanych ochotników, wykorzystano badanie poziomu izotopu węgla C14 w komórkach starszych pacjentów. Dzięki porównaniom poziomu tego izotopu w atmosferze jako pozostałość po wojnie, z poziomem C14 w komórkach można było określić wiek komórek. Działano z zasadą, że ilość C14 pobranego z pokarmu i wbudowanego do ciała badanych pozwoli na określenie, kiedy został włączony. Podjęte badania wskazały, że większość (60%) kardiomiocytów (komórek mięśniowych) w sercu dorosłego człowieka jest pochodzenia okołoporodowego, jednak 40% z nich powstało w życiu dorosłym osobnika. Nie udało się niestety stwierdzić, czy nowe komórki pochodzą z podziału kardiomiocytów, czy z wytworzenia ich przez inne komórki progenitorowe (Bergmann i in., 2009). Jednakże nadal dowiedziona umiejętność regeneracyjna tych komórek wskazuje, że może być ona potencjalnie użyta w przyszłości. Omawiane kardiomyocyty stanowią tylko 20% komórek serca, dlatego większe nadzieje mogłyby być pokładane w ukierunkowaniu komórek progenitorowych do przemiany w komórki mięśnia sercowego (Rubart i Field 2006).

Porównując jednak umiejętności regeneracyjne ludzi z żabami *Xenopus* zauważamy pewne różnice w radzeniu sobie z urazami. U zwierzęcia regenerującego obserwuje się wyspecjalizowany nabłonek na powierzchni rany, jednak u nieregenerującego (np. ludzie) widoczne jest jedynie zwykłe gojenie rany. Dodatkowo rany zasklepiają się z wytworzeniem blizn (Ryc. 2) (Mitogawa i in., 2018). Nawet samo wytworzenie blastemy nie musi być całkowitym wymaganiem podczas regeneracji np. organów wewnętrznych czy zasklepianiu ran skórnych (Maden, 2018)- lecz

nadal wypadamy w tym gorzej od żab. Musimy pamiętać, że możemy korzystać z posiadanych przez nie zasobów, jednak powinniśmy ich użyć bardziej jako inspiracji, a nie odpowiedzi do przekalkowania.

Przyszłość coraz bliżej

W ostatnich dekadach wzrastają nadzieje na wykorzystanie komórek macierzystych w przeróżnych terapiach w celu zastąpienia uszkodzonych komórek oraz regeneracji narządów (np. regeneracja mięśnia sercowego). Terapię komórkową badano w prawie każdym typie schorzenia, a pozytywne wyniki badań przedklinicznych zaobserwowano w przypadku takich chorób jak przewlekła białaczka szpikowa, cukrzyca, marskość wątroby, zwłóknienie płuc niewydolność serca czy zaburzeniach układu nerwowego (Kolios i Moodley 2013). Nadal jednak nasza wiedza na temat wszystkich szlaków i czynników zmieniających komórki macierzyste w (prawie) każdy inny pożądany typ komórek jest ograniczona. Każę nam to zachować ostrożność przy wykorzystywaniu ich w terapii (Burgess i in., 2014). Nie wiemy też w jakim stopniu metabolizm przyczynia się do zmian w translacji genów czy zmian w konformacji chromatyny (ułożonej formy naszego DNA), jednak na pewno możemy stwierdzić, że wiele metabolitów służy w tych procesach jako kofaktory, czyli związki potrzebne enzymom do przeprowadzania reakcji (Gut i Verdin 2013). Największe zmartwienie powoduje jednak fakt, że główne cechy komórek macierzystych takie jak ich plastyczność i samoodnawianie mogą prowadzić do karcenogenezy w organizmie gospodarza (Filip i in., 2008). Co ciekawe regeneracja płazów mimo swojej złożoności i zadziwiających wyników (o których my możemy tylko pomarzyć) cechuje się niską częstotliwością powstawania nowotworów. Jest to intrygujące, bo w tym samym czasie u ludzi z ograniczoną umiejętnością naprawy nowotwory są bardzo częste (Sarig i Tzahor, 2017). Dodatkowo u płazów

miejscowe potraktowanie miejsca naprawy czynnikami rakotwórczymi lub wirusami wywołującymi nowotwory powoduje albo zmianę wzorca regeneracji albo reorganizację komórek nowotworowych w celu odsunięcia ich i wytworzenia normalnej tkanki (Oviedo i Beane, 2009). Dalsze studiowanie kontroli ciał żab nad komórkami rakowymi i wykorzystanie tej wiedzy w terapiach na ludzkich pacjentach może uczynić terapie komórkami macierzystymi bardziej przewidywalnymi oraz bezpieczniejszymi. Do pozyskania komórek macierzystych do doświadczeń używamy metody, która pozwala ze zwykłej komórki generatywnej/dzielącej stworzyć komórkę macierzystą pluripotentną. Udaje się tego dokonać dzięki tzw. Triadzie pluripotencji, do której zaliczają się odpowiednie 3 charakterystyczne związki występujące naturalnie w zarodku i rozpoczynające jego różnicowanie. Nazywane jest to przeprogramowaniem komórki. Zanim jednak nauczymy się kontrolować komórki macierzyste w takim stopniu po wprowadzeniu do ustroju minie jeszcze wiele lat badań metodą prób i błędów. Niemniej jednak cały czas idziemy naprzód, czego dowodem mogą być próby leczenia choroby niedokrwiennej serca przy użyciu przeszczepów komórek macierzystych. Jednak skuteczność i siła tych terapii różnią się w zależności od próby przez co taka terapia nie jest jeszcze dostępna dla pacjentów (Yu i in., 2017). Podobnie są podejmowane próby w leczeniu choroby Alzheimera, która staje się jednym z największych problemów zdrowotnych naszych czasów. Polega ona na postępującej neurodegeneracji, więc nadzieje związane z ponownym zasiedleniem wyniszczonych obwodów neuronalnych komórkami macierzystymi mają rację bytu (Duncan i Valenzuela, 2017). Od maja 2024 roku trwają badania np. nad oceną bezpieczeństwa wstrzykiwania komórek macierzystych pochodzących z tkanki tłuszczowej pacjentom z łagodną oraz umiarkowaną chorobą Alzheimera [2].

Badanie jest nadal w fazie 1 i jest jednym z kilku prowadzonych na całym świecie. Innym przykładem są próby leczenia Stwardnienia zanikowego bocznego (ALS) przy pomocy komórek macierzystych. Choroba ta polega na stopniowej śmierci centralnych i obwodowych neuronów ruchowych. Strategia terapeutyczna, stosowana w ALS, ma na celu ochronę neuronów przed degeneracją i stymulowanie regeneracji komórek. Dowiedziono, że wstrzyknięcie do przedniej kory ruchowej wybranych komórek macierzystych zakończyło się bezpiecznie i przyniosło częściową poprawę funkcji neurologicznych u pacjentów z ciężkim ALS (Wijesekera i Leigh 2009). Dodatkowo rozszerzone zastrzyki do rdzenia u niektórych pacjentów z ciężkim upośledzeniem kończyny dolnej przez ALS, wykazały również poprawę ogólnego stanu związanego z liczbą zdrowych komórek. Przejawiało się to spowolnieniem utraty siły mięśni nóg i wolniejszym pogorszaniem czynności oddechowych. Obecnie w sytuacjach awaryjnych, takich jak uszkodzenie rdzenia kręgowego lub zawał mięśnia sercowego, wykonywane są przeszczepy MSC (jednego z typów dorosłych komórek macierzystych) wykazujące wysokie wskaźniki powodzenia (Lodi i in., 2011). Oprócz używania komórek macierzystych badania wykazały, że duży potencjał może kryć się też we wprowadzaniu zmian w istniejące ludzkie szlaki sygnalizacyjne. Ingerencję w „rozkazy komórkowe” możemy rozpatrzeć na przykładzie szlaku Hippo. Jest on jednym z kluczowych szlaków związanych z przeżyciem i kontrolą wzrostu komórek. Jednak niewielkie zmniejszenie wydajności szlaków lub miejscowe modyfikacje mogą prowadzić do bardzo poważnych zmian nowotworowych (Tapon i in., 2002).

Powinniśmy pamiętać, że aby zwiększyć np. regenerację naszych narządów nie wystarczy zwykłe wyłączenie szlaku tą regenerację zatrzymującego. Granica między zdrową proliferacją a nowotworzeniem jest

bardzo cienka i do tej pory jest wiele niewiadomych jeśli chodzi o czynniki powodujące jej przekroczenie. Właśnie dlatego przed nami jeszcze wiele lat pracy oraz nauki, w których nawet najmniejsza pomoc ze strony płazów może okazać się kluczowa.

Literatura:

- Agathocleous M., Iordanova I., Willardsen M. I., Xue X. Y., Vetter M. L., Harris W. A., Moore K. B. (2009). A directional Wnt/beta-catenin-Sox2-proneural pathway regulates the transition from proliferation to differentiation in the *Xenopus* retina. *Development*, 136(19), 3289-3299, doi: 10.1242/dev.040451.
- Aztekin C., Hiscock T. W., Marioni J. C., Gurdon J. B., Simons B. D., Jullien J. (2019). Identification of a regeneration-organizing cell in the *Xenopus* tail. *Science*, 364(6441), 653-658, doi: 10.1126/science.aav9996.
- Bely A. E. (2010). Evolutionary loss of animal regeneration: pattern and process. *Integrative and comparative biology*, 50(4), 515-527, doi: 10.1093/icb/icq118.
- Bely A. E., Nyberg K. G. (2010). Evolution of animal regeneration: re-emergence of a field. *Trends in ecology & evolution*, 25(3), 161-170, doi: 10.1016/j.tree.2009.08.005.
- Bergmann O., Bhardwaj R. D., Bernard S., Zdunek S., Barnabé-Heider F., Walsh S., Zupicich J., Alkass K., Buchholz B. A., Druid H., Jovinge S., Frisén J. (2009). Evidence for cardiomyocyte renewal in humans. *Science*, 324(5923), 98-102, doi: 10.1126/science.1164680.
- Bolaños-Castro L. A., Walters H. E., García Vázquez R. O., Hee Yun M. (2021). Immunity in salamander regeneration: Where are we standing and where are we headed? *Developmental dynamics: an official publication of the American Association of Anatomists*, 250(6), 753-767, doi: 10.1002/dvdy.251.
- Burgess R. J., Agathocleous M., Morrison S. J. (2014). Metabolic regulation of stem cell function. *Journal of internal medicine*, 276(1), 12-24, doi: 10.1111/joim.12247.
- Chen L., Chan S. W., Zhang X., Walsh M., Lim C. J., Hong W., Song H. (2010). Structural basis of YAP recognition by TEAD4 in the hippo pathway. *Genes & development*, 24(3), 290-300, doi: 10.1101/gad.1865310.
- Duncan T., Valenzuela M. (2017). Alzheimer's disease, dementia, and stem cell therapy. *Stem cell research & therapy*, 8(1), 111, doi: 10.1186/s13287-017-0567-5.
- Endo T., Yoshino J., Kado K., Tochikai S. (2007). Brain regeneration in anuran amphibians. *Development, growth & differentiation*, 49(2), 121-129, doi: 10.1111/j.1440-169X.2007.00914.x.
- Elasaeidi F., Bembem M. A., Zhao X.-F., Goldman D. (2014). Jak/Stat signaling stimulates zebrafish optic nerve regeneration and overcomes the inhibitory actions of Socs3 and Sfpq. *The Journal of Neuroscience*, 34(7), 2632-2644, doi: 10.1523/JNEUROSCI.3898-13.2014.
- Filip S., Mokry J., Horacek J., English D. (2008). Stem cells and the phenomena of plasticity and diversity: a limiting property of carcinogenesis. *Stem cells and development*, 17(6), 1031-1038, doi: 10.1089/scd.2007.0234.
- Fischer D., Leibinger M. (2012). Promoting optic nerve regeneration. *Progress in retinal and eye research*, 31(6), 688-701, doi: 10.1016/j.preteyeres.2012.06.005.
- Fu M., Hu Y., Lan T., Guan K.-L., Luo T., Luo M. (2022). The Hippo signalling pathway and its implications in human health and diseases. *Signal transduction and targeted therapy*, 7(1), 376, doi: 10.1038/s41392-022-01191-9.
- Garza-Garcia A. A., Driscoll P. C., Brockes J. P. (2010). Evidence for the local evolution of mechanisms underlying limb regeneration in salamanders. *Integrative and comparative biology*, 50(4), 528-535, doi: 10.1093/icb/icq022.

- Gordon T. (2020). Peripheral Nerve Regeneration and Muscle Reinnervation. *International journal of molecular sciences*, 21(22), 8652, doi: 10.3390/ijms21228652.
- Gut P., Verdin E. (2013). The nexus of chromatin regulation and intermediary metabolism. *Nature*, 502(7472), 489-498, doi: 10.1038/nature12752.
- Halder G., Johnson R. L. (2011). Hippo signaling: growth control and beyond. *Development*, 138(1), 9-22, doi: 10.1242/dev.045500.
- Hayashi S., Ochi H., Ogino H., Kawasumi A., Kamei Y., Tamura K., Yokoyama H. (2014). Transcriptional regulators in the Hippo signaling pathway control organ growth in *Xenopus* tadpole tail regeneration. *Developmental biology*, 396(1), 31-41, doi: 10.1016/j.ydbio.2014.09.018.
- Hayashi S., Yokoyama H., Tamura K. (2015). Roles of Hippo signaling pathway in size control of organ regeneration. *Development, growth & differentiation*, 57(4), 341-351, doi: 10.1111/dgd.12212.
- Kolios G., Moodley Y. (2013). Introduction to stem cells and regenerative medicine. *Respiration*, 85(1), 3-10, doi: 10.1159/000345615.
- Lee-Liu D., Méndez-Olivos E. E., Muñoz R., Larraín J. (2017). The African clawed frog *Xenopus laevis*: A model organism to study regeneration of the central nervous system. *Neuroscience letters*, 652, 82-93, doi: 10.1016/j.neulet.2016.09.054.
- Lin T.-Y., Gerber T., Taniguchi-Sugiura Y., Murawala P., Hermann S., Grosser L., Shibata E., Treutlein B., Tanaka E. M. (2021). Fibroblast dedifferentiation as a determinant of successful regeneration. *Developmental cell*, 56(10), 1541-1551.e6, doi: 10.1016/j.devcel.2021.04.016.
- Lodi D., Iannitti T., Palmieri B. (2011). Stem cells in clinical practice: applications and warnings. *Journal of experimental & clinical cancer research*, 30(1), 9, doi: 10.1186/1756-9966-30-9.
- Maden M. (2018). The evolution of regeneration - where does that leave mammals? *The international journal of developmental biology*, 62(6-7-8), 369-372, doi: 10.1387/ijdb.180031mm.
- Mitogawa K., Makanae A., Satoh A. (2018). Hyperinnervation improves *Xenopus laevis* limb regeneration. *Developmental biology*, 433(2), 276-286, doi: 10.1016/j.ydbio.2017.10.007.
- Michalopoulos G. K., Bhushan B. (2021). Liver regeneration: biological and pathological mechanisms and implications. *Nature reviews. Gastroenterology & hepatology*, 18(1), 40-55, doi: 10.1038/s41575-020-0342-4.
- Mochii M., Taniguchi Y., Shikata I. (2007). Tail regeneration in the *Xenopus* tadpole. *Development, growth & differentiation*, 49(2), 155-161, doi: 10.1111/j.1440-169X.2007.00912.x.
- Muñoz R., Edwards-Faret G., Moreno M., Zuñiga N., Cline H., Larraín J. (2015). Regeneration of *Xenopus laevis* spinal cord requires Sox2/3 expressing cells. *Developmental biology*, 408(2), 229-243, doi: 10.1016/j.ydbio.2015.03.009.
- Oviedo N. J., Beane W. (2009). Regeneration: The origin of cancer or a possible cure? *Seminars in cell & developmental biology*, 20(5), 557-564, doi: 10.1016/j.semcdb.2009.04.005.
- Rubart M., Field L. J. (2006). Cardiac regeneration: repopulating the heart. *Annual review of physiology*, 68, 29-49, doi: 10.1146/annurev.physiol.68.040104.124530.
- Sarig R., Tzahor E. (2017). The cancer paradigms of mammalian regeneration: can mammals regenerate as amphibians? *Carcinogenesis*, 38(4), 359-366, doi: 10.1093/carcin/bgw103.
- Scalia F. (1976). The Optic Pathway of the Frog: Nuclear Organization and Connections. W: Kerkut G. A. (red.). *Frog Neurobiology*, Berlin i Heidelberg: Springer.
- Suzuki S., Sasaki K., Fukazawa T., Kubo T. (2022). *Xenopus laevis* il11ra.L is an experimentally proven interleukin-11 receptor component that is required for tadpole tail

- regeneration. *Scientific reports*, 12(1), 1903, doi: 10.1038/s41598-022-05954-w.
- Tanaka M., Kuriyama S., Itoh G., Kohyama A., Iwabuchi Y., Shibata H., Yashiro M., Aiba N. (2016). Identification of anti-cancer chemical compounds using *Xenopus* embryos. *Cancer science*, 107(6), 803-811, doi: 10.1111/cas.12940.
- Tapon N., Harvey K. F., Bell D. W., Wahrer D. C. R., Schiripo T. A., Haber D. A., Hariharan I. K. (2002). Salvador Promotes both cell cycle exit and apoptosis in *Drosophila* and is mutated in human cancer cell lines. *Cell*, 110(4), 467-478, doi: 10.1016/s0092-8674(02)00824-3.
- Uygur A., Lee R. T. (2016). Mechanisms of Cardiac Regeneration. *Developmental cell*, 36(4), 362-374, doi: 10.1016/j.devcel.2016.01.018.
- Whitworth G. B., Misaghi B. C., Rosenthal D. M., Mills E. A., Heinen D. J., Watson A. H., Ives C. W., Ali S. H., Bezold K., Marsh-Armstrong N., Watson F. L. (2017). Translational profiling of retinal ganglion cell optic nerve regeneration in *Xenopus laevis*. *Developmental biology*, 426(2), 360-373, doi: 10.1016/j.ydbio.2016.06.003.
- Wijesekera L. C., Leigh P. N. (2009). Amyotrophic lateral sclerosis. *Orphanet journal of rare diseases*, 4, 3, doi: 10.1186/1750-1172-4-3.
- Woodworth M. B., Greig L. C., Goldberg J. L. (2023). Intrinsic and Induced Neuronal Regeneration in the Mammalian Retina. *Antioxidants & redox signaling*, 39(16-18), 1039-1052, doi: 10.1089/ars.2023.0309.
- Yoshino J., Tochinal S. (2006). Functional regeneration of the olfactory bulb requires reconnection to the olfactory nerve in *Xenopus* larvae. *Development, growth & differentiation*, 48(1), 15-24, doi: 10.1111/j.1440-169X.2006.00840.x.
- Yu H., Lu K., Zhu J., Wang J. (2017). Stem cell therapy for ischemic heart diseases. *British medical bulletin*, 121(1), 135-154, doi: 10.1093/bmb/ldw059.
- Zhang D., Bauer A. S., Blazar P., Earp B. E. (2021). Three-Dimensional Printing in Hand Surgery. *The journal of hand surgery*, 46(11), 1016-1022, doi: 10.1016/j.jhssa.2021.05.028.
- Zhang M., Chen Y., Xu H., Yang L., Yuan F., Li L., Xu Y., Chen Y., Zhang C., Lin G. (2018). Melanocortin Receptor 4 Signaling Regulates Vertebrate Limb Regeneration. *Developmental cell*, 46(4), 397-409.e5, doi: 10.1016/j.devcel.2018.07.021.

Źródła internetowe:

- [1]- https://files.poltransplant.org.pl/Biuletyn_2023_www.pdf [dostęp: październik 2024]
- [2]- <https://clinicaltrials.gov/> [dostęp: październik.2024]

Notka o autorce: *Studentka III roku Biotechnologii na MBW UG i GUMed. Wielka fanką gier i filmów Sci-Fi, lubiąca łączyć naukę z fikcją. W obszar jej zainteresowań wchodzić terapie przeciwnowotworowe i nowinki technologiczne, o których lubi czytać na świeżym powietrzu.*