



UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
DIPARTIMENTO SCIENZE DELLA VITA E DELL'AMBIENTE

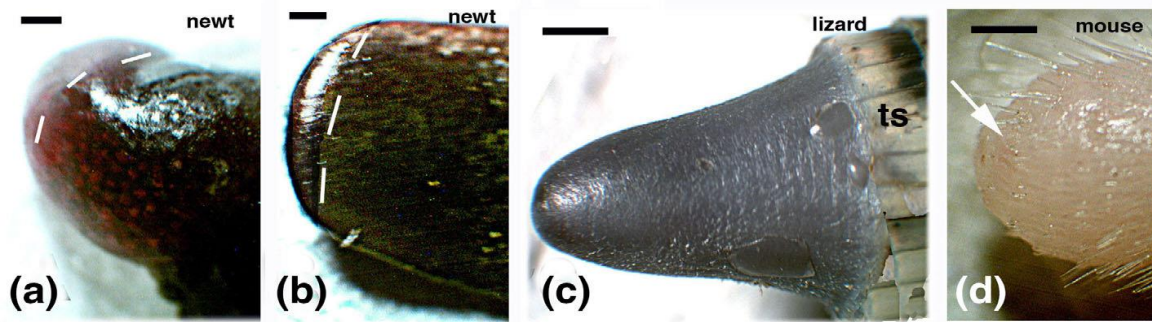
Corso di laurea
SCIENZE BIOLOGICHE

LA RIGENERAZIONE NEI VERTEBRATI
REGENERATION IN VERTEBRATES

Tesi di laurea di:
Giulietta Santini

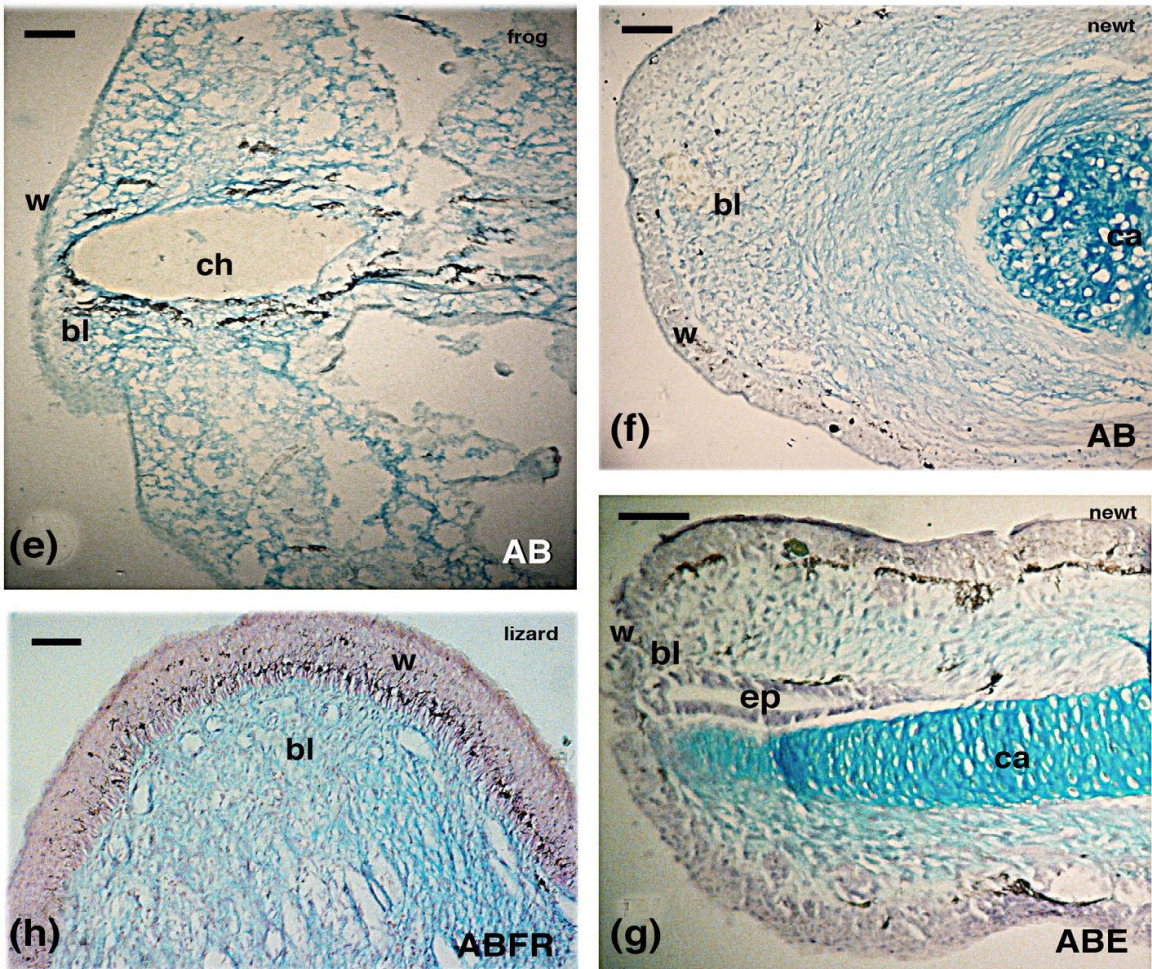
Docente referente:
Chiar.mo Prof.
Vincenzo Caputo Barucchi

Sessione Autunnale dicembre 2024
Anno Accademico 2023/2024



La rigenerazione: aspetti generali

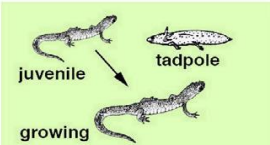
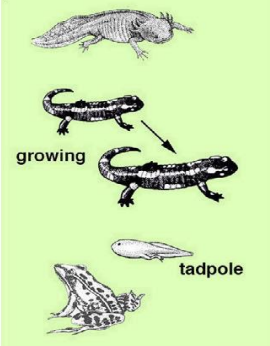
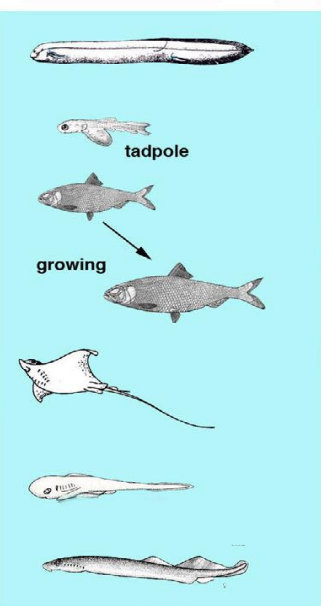
- È un **processo morfogenetico** attraverso il quale un organismo è in grado di ripristinare strutture anatomiche o tessuti danneggiati o perduti riportandoli alla loro forma e funzione originari;
- La maggior parte dei vertebrati è in grado di rigenerare tessuti, come **risposta fisiologica** (epidermide, epitelio intestinale, eritrociti) o come **risposta ad un trauma** (epidermide, fegato);
- La rigenerazione degli organi è una prerogativa degli **anamni**, ad eccezione delle lucertole (coda);
- Prevede la formazione di un **blastema**;
- Negli amnioti, il processo che sostituisce la rigenerazione in seguito a trauma è la **cicatrizzazione**.



ORGAN REGENERATION IN POST-EMBRYONIC (LARVAL-ADULT) ANAMNIOTES
in submerged-wet-humid environment

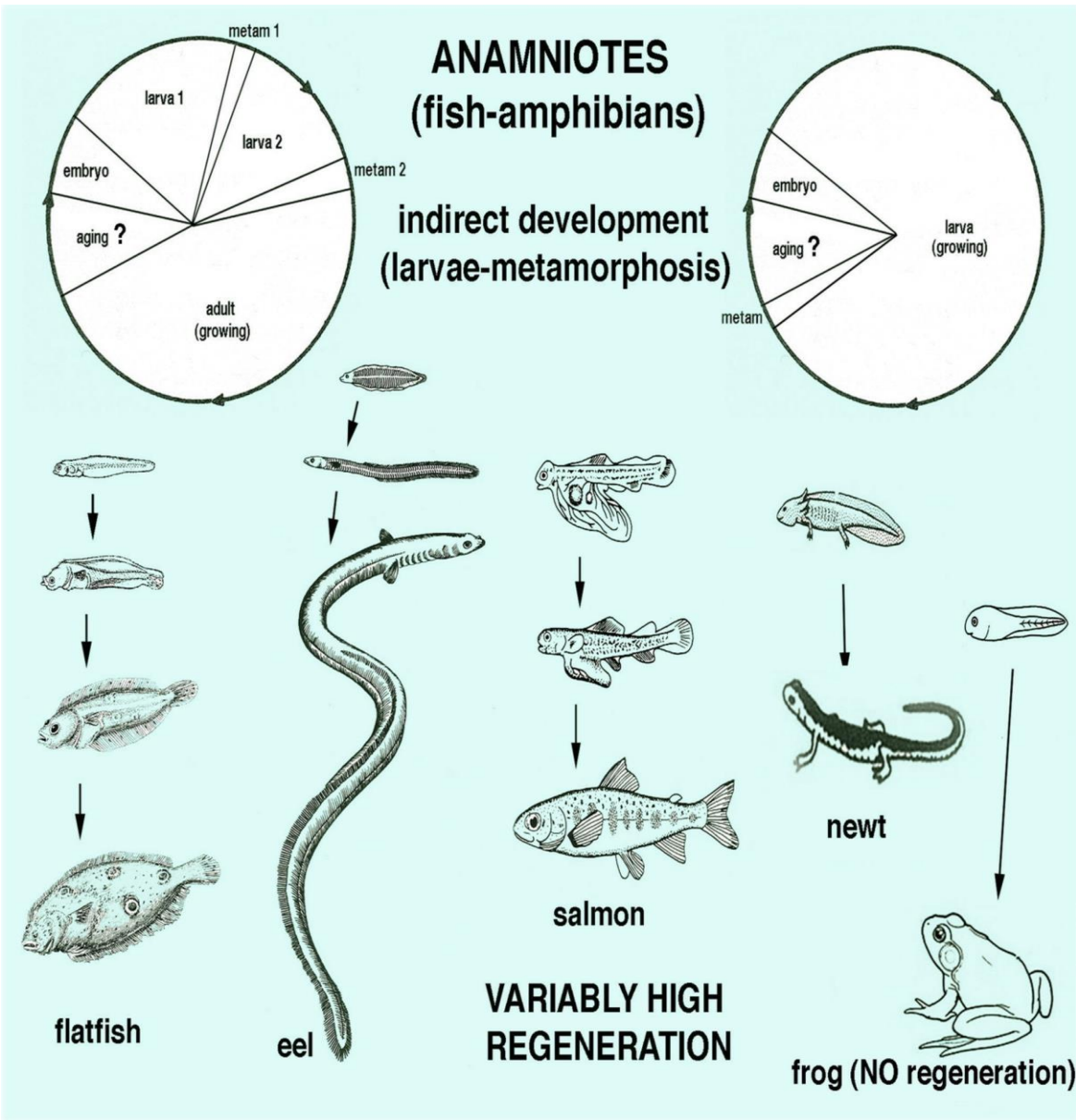
I
N
D
I
R
E
C
T

D
E
V
E
L
O
P
M
E
N
T

CLASS	ANAMNIOTE TYPE	ORGAN	PROCESS
	newts	leg, arm, tail digits, jaws spinal cord brain areas	regeneration (blastema or internal cell proliferation)
	tadpoles	eyes, liver heart areas, intestine, gills others	
	aquatic salamanders (axolotl)		
	terrestrial salamanders	leg, arm	regengrow heteromorphic regeneration scarring outgrowth
	anurans tadpoles		regeneration
	post-metamorphic frogs		regengrow scarring outgrowth regeneration (heteromorphic)
	lungfish	tail, fins others	regeneration
	teleost larvae	fins, barbels, brain areas spinal cord	regeneration
	teleosts	heart areas eye, scales liver, others	
	skate	fin cartilage	regengrow (likely)
	shark (juveniles/adults)	spinal cord fin	regeneration repair
	lamprey (adult and larva)	fin, spinal cord, chord	regeneration

La rigenerazione negli anamni

- Pesci e anfibi sono in grado di rigenerare **organi complessi** come arti, pinne, coda, parti di cuore e midollo spinale.
- La rigenerazione prevede la formazione di un **blastema**, un aggregato di cellule indifferenziate o de-differenziate con la capacità di proliferare, migrare e differenziarsi per ricostruire le strutture mancanti.
- Il blastema è un tessuto altamente **idratato** e ricco di **acido ialuronico**.
- Questo suggerisce l'importanza di un **ambiente acquatico o umido** nel favorire i processi rigenerativi.



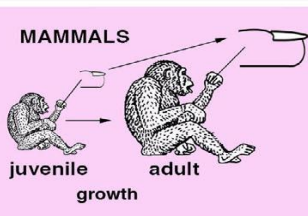

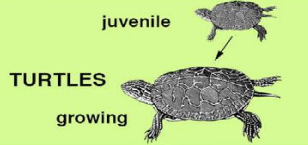
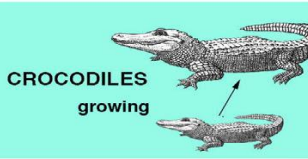
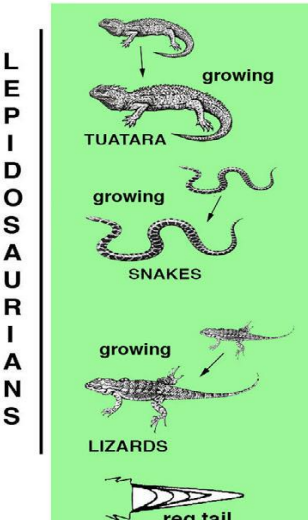
La rigenerazione negli anamni

- Pesci e anfibi sono animali a **sviluppo indiretto**: il loro ciclo vitale prevede una fase larvale, una fase di metamorfosi e una fase adulta.
- Durante la **metamorfosi** avviene una più o meno estesa riorganizzazione corporea.
- La metamorfosi è regolata dagli **ormoni tiroidei** che attivano l'espressione di una serie di **reti genetiche**.
- Gli stessi geni possono essere riutilizzati (con variazioni) durante la fase adulta per la rigenerazione degli organi.

**ORGAN REGENERATION IN POST-EMBRYONIC (JUVENILE-ADULT) AMNIOTES
in terrestrial environment (ectotherms and endotherms)**

DIRECT

DEVELOPMENT

CLASS	AMNIOTE TYPE	ORGAN	PROCESS
 <p>MAMMALS</p>	juvenile primates (children)	fingertips	regengrow (nail bed)
	juvenile rodents	fingertips	
	spiny/mutant mice juvenile rabbit	ear holes	regeneration (regengrow) ?
	juvenile bats	wing holes liver	inner proliferation regeneration (osteogenic blastema)
 <p>BIRDS</p>	chicken fowls	liver feathers (plucking)	inner proliferation regeneration
	 <p>TURTLES</p>	turtles tortoises	areas of the carapace tail repair spinal cord liver ?
 <p>CROCODILES</p>		crocodile alligator	maxilla areas tail repair (juveniles) liver ?
	 <p>LEPIDOSAURIANS</p>	tuatara	tail liver ?
snakes		scales skull bones liver ?	regengrow
lizards		scales articular cartilage (knee epiphyses) areas of maxilla and mandible lens, optic nerve part of cerebral cortex optic tectum	regeneration regeneration regengrow regeneration (heteromorphic)
		bones (vertebrae and skull) liver, par of kidney spinal cord, limb(occasionally) tail (extensively)	cartilaginous (osteogenic) inner proliferation regeneration (heteromorphic) regengrow (scarring outgrowth) regeneration

La rigenerazione negli amnioti

- Negli amnioti, fenomeni di rigenerazione vera e propria sono molto rari.
- Alcuni esempi includono la rigenerazione delle penne negli uccelli e del fegato.
- La rigenerazione della coda nelle lucertole costituisce un caso eccezionale.
- Gli amnioti infatti sono animali a **sviluppo diretto** che hanno perso i geni responsabili della metamorfosi, gli stessi che inducono la rigenerazione negli anamni. Inoltre, la vita in **ambiente terrestre** non permette la formazione del blastema.
- Negli amnioti sono stati osservati casi di presunta rigenerazione ma in realtà si trattava di **regengrow**.

Rigenerazione vs. regengrow

La **rigenerazione**:

- È un processo che dura tra l'1% e il 3% della vita di un vertebrato;
- Non si sovrappone alla crescita naturale dell'organismo;
- Può avvenire più volte nel corso della vita;
- È indipendente dall'età;
- È il caso di numerosi pesci, anfibi urodela e della coda delle lucertole.

La **regengrow**:

- È un processo che dura dal 4% al 5% o più della vita di un organismo;
- Si sovrappone al normale processo di crescita;
- È il caso della formazione di arti eteromorfi post amputazione negli anuri, della rigenerazione della coda nei coccodrilli, della guarigione della punta delle dita nei primati e negli umani.

Il ruolo del sistema nervoso

- Un sistema nervoso complesso rappresenta una **barriera** alla rigenerazione.
- Negli **anamni**, i circuiti cerebrali sono semplici e presiedono ad attività comportamentali fisse essenziali per la sopravvivenza. Se questi circuiti vengono danneggiati, possono essere efficacemente riparati con conseguente ripristino dei comportamenti stereotipati (alimentazione, movimento, riproduzione, fuga e difesa).
- Negli **amnioti**, i circuiti nervosi permettono la memorizzazione di esperienze acquisite e sono associati a comportamenti complessi e vari gradi di intelligenza. Se anche venissero rigenerati, le informazioni apprese andrebbero perse. È necessario quindi mantenere invariati questi circuiti.
- Si sono quindi evoluti specifici **inibitori neurali**, molecole come **NOGO**, **MAG** e **OMgp**, che limitano la crescita degli assoni e ne impediscono la rigenerazione in caso di danneggiamento.

Il ruolo del sistema immunitario

- L'evoluzione di un sistema immunitario adattativo più potente rappresenta un **ostacolo** alla rigenerazione.
- Negli **anamni**, è stata dimostrata l'esistenza di **popolazioni progressive di linfociti**, che si susseguono nel passaggio tra le varie fasi del ciclo vitale. Il sistema immunitario svolge quindi un ruolo importante nella metamorfosi, essendo responsabile della distruzione degli organi presenti allo stadio larvale, che vengono poi sostituiti da nuovi organi le cui cellule esprimono nuovi antigeni.
- Negli **amnioti**, alla nascita si stabilisce una **popolazione immunitaria definitiva** che riconosce come «self» solo gli antigeni dell'adulto.
- Un passaggio obbligatorio nella rigenerazione è che le cellule nella zona della lesione tornino ad essere indifferenziate e quindi ad esprimere **antigeni embrionali**. Questi non vengono però riconosciuti dal sistema immunitario, il quale distrugge queste cellule e impedisce la rigenerazione.

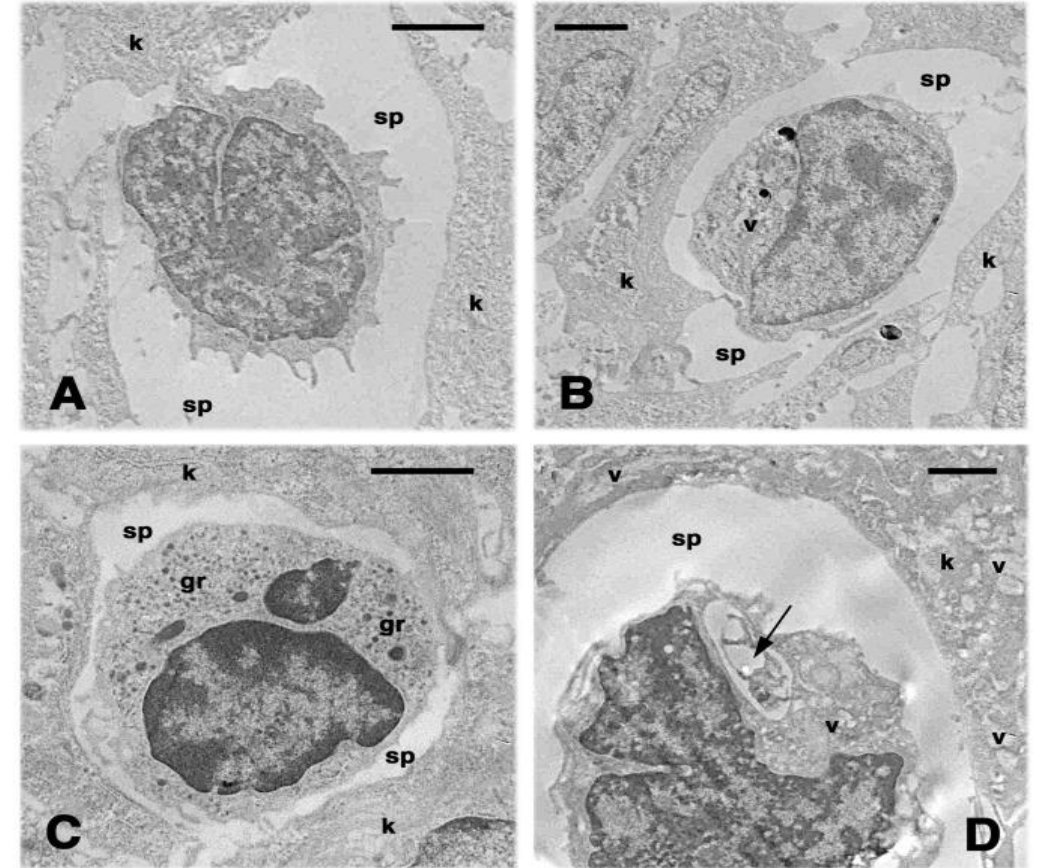
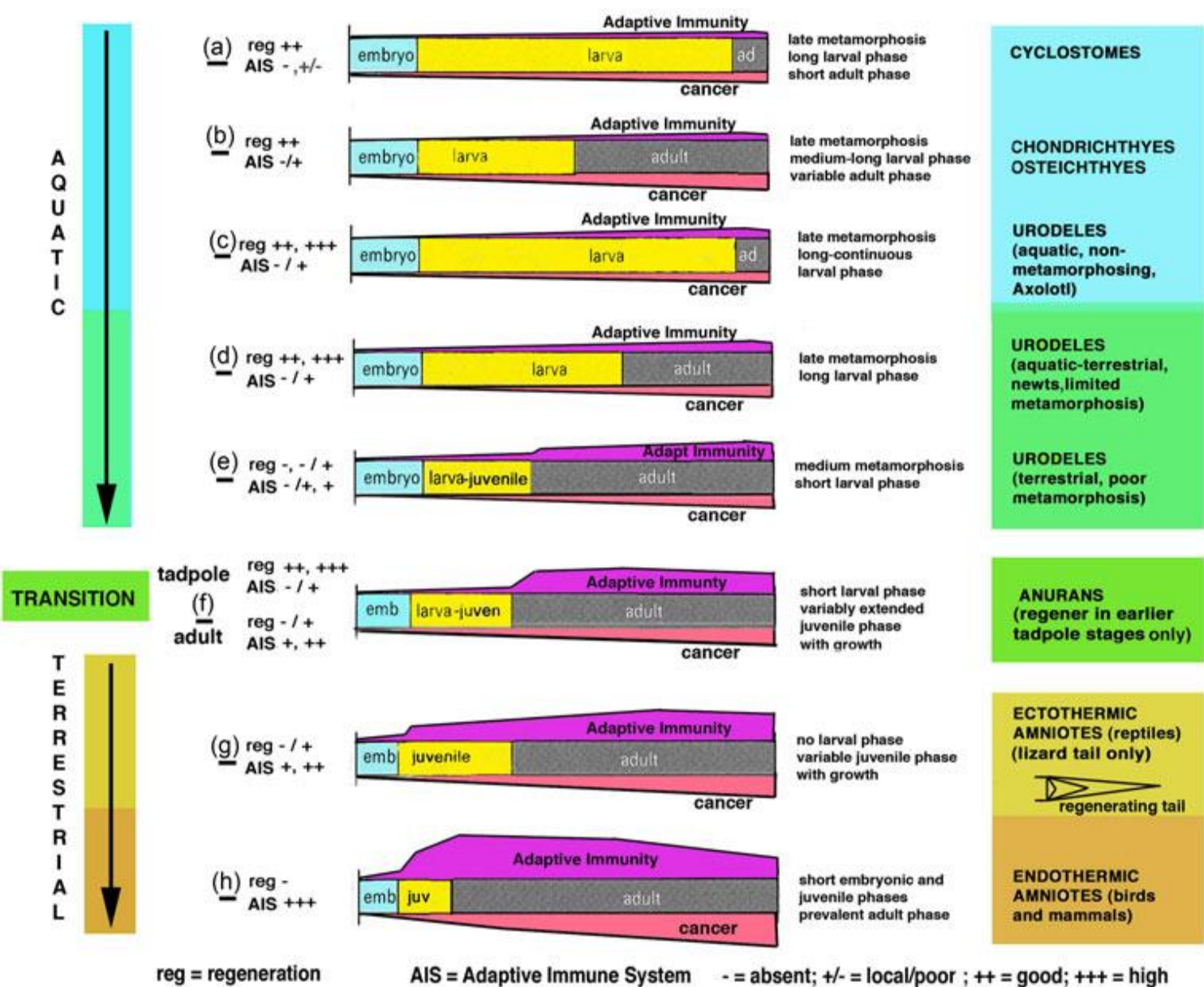


Immagine al microscopio elettronico che mostra la presenza di linfociti (A), macrofagi (B,D) e granulociti (C) all'interno di un blastema di arto anteriore di *Rana dalmatina* (stadio di metamorfosi).



Gli stadi adulti dei diversi vertebrati rappresentano condizioni biologiche diverse (eterocronia)

- Nei **vertebrati acquatici** la fase larvale-giovanile è relativamente lunga, il loro sistema immunitario è debole e possiedono numerose cellule staminali.
- Nei **vertebrati terrestri** la maggior parte del ciclo vitale è occupata dalla fase adulta, durante la quale sviluppano un forte sistema immunitario.
- La permanenza di caratteri larvali (**neotenia**) in numerosi **anfibi urodeli**, insieme alla presenza di geni «rigenerativi» unici, potrebbe spiegare il loro grande successo rigenerativo.
- Negli **anfibi anuri**, la metamorfosi è drastica e la loro capacità rigenerativa è elevata durante la fase larvale mentre decresce significativamente dopo la metamorfosi.

Il caso unico della rigenerazione della coda nelle lucertole



- L'ipotesi più accreditata è che la rigenerazione della coda nelle lucertole si sia evoluta contestualmente all'**autotomia** come adattamento alla predazione.
- Costituisce un caso di rigenerazione vera e propria in quanto avviene in **tempo breve** e può avvenire più volte nel corso della vita dell'animale.
- La coda rigenerata rappresenta da 1/6 a 1/4 della lunghezza totale del corpo. Ha una struttura più **semplice** ma è ugualmente in grado di assolvere alle sue **funzioni principali** come il bilanciamento, la locomozione e la riserva di grasso.
- La coda rigenerata presenta un **tubo cartilagineo** al posto delle vertebre, un midollo spinale sottile e costituito prevalentemente da **cellule ependimali** (poche cellule gliali e neuroni), dei **muscoli semplici** segmentati.
- Inizialmente si forma un **blastema idratato** e ricco di **acido ialuronico** in cui avvengono dei meccanismi di **soppressione** del sistema immunitario.
- Alcuni **oncogeni** (proliferazione) formano un gradiente che decresce in senso distale-proximale mentre degli **oncosoppressori** (differenziamento) formano un gradiente opposto.

Riassunto esteso

La rigenerazione è un processo morfogenetico che è in grado di ricostituire dal punto di vista anatomico e funzionale organi danneggiati o persi. Questo processo avviene in molte specie di pesci e anfibi, ma non negli amnioti, in cui i danni vengono riparati dalla cicatrizzazione o, se ancora in fase di crescita, da un processo di regengrow (con l'unica eccezione della rigenerazione della coda nelle lucertole).

Un'ipotesi evoluzionistica spiega il perché di queste differenze.

La rigenerazione richiede che siano soddisfatte una serie di condizioni: un ambiente acquatico o umido che favorisca la formazione di un blastema idratato, la presenza di specifici pattern genetici, la presenza di un sistema immunitario compatibile. In particolare, gli organismi in grado di rigenerare presentano un ciclo vitale che prevede una fase larvale seguita da una metamorfosi, che segna il passaggio alla fase adulta. La metamorfosi e la rigenerazione sono strettamente correlate, infatti la metamorfosi prevede un'estesa riorganizzazione corporea in cui le strutture larvali vengono distrutte mentre delle nuove strutture adulte vengono ricostruite. Gli stessi programmi genetici di sviluppo vengono riutilizzati con variazioni anche nella rigenerazione.

Il passaggio dalla vita acquatica alla vita terrestre è segnato da importanti cambiamenti tra cui l'evoluzione dell'uovo amniotico (quindi dello sviluppo diretto) e il potenziamento del sistema immunitario e del sistema nervoso (quest'ultimo soprattutto nei mammiferi). La conquista della terraferma ha portato alla perdita dei geni della metamorfosi e all'evoluzione di nuovi geni, tra cui quelli che codificano per gli inibitori neurali. Allo stesso tempo, l'evoluzione di un sistema immunitario definitivo rappresenta un ulteriore ostacolo alla rigenerazione in quanto non più in grado di riconoscere gli antigeni embrionali.

In conclusione, si può dire che la pressione selettiva dell'ambiente ha portato all'evoluzione di organismi complessi ma non più in grado di rigenerare.

Bibliografia

- Alibardi L. Regeneration in anamniotes was replaced by regrowth and scarring in amniotes after land colonization and the evolution of terrestrial biological cycles. *Developmental Dynamics*. 2022;251:1404-1413.
- Alibardi L. Perspective: appendages regeneration in amphibians and some reptiles derived from specific evolutionary histories. *J Exp Zool*. 2018b;330B:396-405.
- Alibardi L. Organ regeneration evolved in fish and amphibians in relation to metamorphosis: speculations on a post-embryonic developmental process lost in amniotes after the water to land transition. *Ann Anat*. 2019a;22:114-119.
- Alibardi L. Appendage regeneration in anamniotes utilizes genes active during larval-metamorphic stages that have been lost or altered in amniotes: the case for studying lizard tail regeneration. *J Morphol*. 2020b.
- Alibardi L. Microscopic observations show invasion of inflammatory cells in the limb blastema and epidermis in pre-metamorphic frog tadpoles which destroy the apical epidermal cap and impede regeneration. *Ann Anat*. 2016;210:94-102.
- Alibardi L. Tail regeneration in lepidosauria as an exception to the generalized lack of organ regeneration in amniotes. *J Exp Zool B*. 2020a.