

Felipe Matheus Ribeiro de Lima

O Papel Evolutivo dos Fagócitos durante a Regeneração de
Tecidos e Órgãos



**Monografia apresentada ao Instituto de
Microbiologia Paulo de Góes, da
Universidade Federal do Rio de Janeiro,
como pré-requisito para a obtenção do grau
de Bacharel em Ciências Biológicas:
Microbiologia e Imunologia.**

INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
RIO DE JANEIRO
NOVEMBRO / 2020

Trabalho realizado no Programa de Pesquisa em Biologia Celular e do Desenvolvimento, do Instituto de Ciências Biomédicas, UFRJ, sob a orientação da Professora Katia Carneiro de Paula

FICHA CATALOGRÁFICA

Lima, Felipe

O Papel Evolutivo de Fagócitos durante a Regeneração de Tecidos e Órgãos/ Felipe Matheus Ribeiro de Lima. – Rio de Janeiro: UFRJ, 2020.

xi; f. 68: il ; 30cm

Orientador: Katia Carneiro de Paula

Coorientador: -

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Ciências Biológicas: Microbiologia e Imunologia) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Microbiologia Paulo de Góes, 2020.

Bibliografia: f.53-68

1. Derivação de fagócitos 2. Regeneração 3. Inflamação 4. Acetilação I. Carneiro, Katia II. III. UFRJ. Instituto de Microbiologia Paulo de Góes. IV. Título

**INSTITUTO DE MICROBIOLOGIA PAULO DE GÓES / UFRJ
COORDENAÇÃO DE ENSINO DE GRADUAÇÃO**

**ATA DA APRESENTAÇÃO DE MONOGRAFIA PARA APROVAÇÃO
NO RCS DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO,
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: MICROBIOLOGIA E
IMUNOLOGIA**

ALUNO: Felipe Matheus Ribeiro de Lima

DRE: 117049383

BANCA EXAMINADORA: Profa. Renata de Meirelles Santos Pereira (Presidente)
Prof. Fabio de Almeida Mendes
Profa. Fernanda Martins de Almeida Maia
Profa. Alessandra D'Almeida Filardy (Suplente)

Título da Monografia: **“O papel evolutivo dos fagócitos durante a regeneração de tecidos e órgãos”**

Local: Sala virtual <https://meet.google.com/kxv-shvg-bmq>.

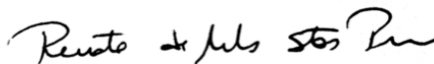
Data e hora de início: **13 de novembro de 2020 às 13:00h**

Em sessão pública, após exposição de cerca de 50 minutos, o aluno foi argüido pelos membros da Banca Examinadora, demonstrando suficiência de conhecimentos e capacidade de sistematização no tema de sua Monografia, tendo, então, obtido nota **10** neste requisito do RCS de **TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**. Na forma regulamentar, foi lavrada a presente ata que é assinada pelo presidente da banca examinadora, aluno, orientador (ou coorientador) e pelo coordenador do RCS.

Rio de Janeiro, 13 de Novembro de 2020.

NOTA	Banca Examinadora:
10	Profa. Renata Meirelles Santos Pereira
10	Prof. Fabio de Almeida Mendes
10	Profa. Fernanda Martins de Almeida Maia
_____	Profa. Alessandra D'Almeida Filardy

Presidente da banca



Profa. Renata Meirelles Santos Pereira

Aluno:



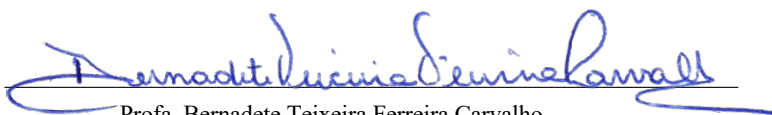
Felipe Matheus Ribeiro de Lima

Orientador:



Profa. Katia Carneiro de Paula

Coordenador
de TCC



Profa. Bernadete Teixeira Ferreira Carvalho

Dedicatória

Dedicado ao meu falecido pai, Sebastião Antonio Lima. Meu eterno “amigão” e um homem fenomenal que faz muita falta. Mesmo que na imperfeição da memória, seu amor ainda reverbera e me dá conforto em meio às intempéries da vida. Obrigado por tudo; eu te amo muito.

Agradecimentos

Agradecimentos gerais vão a todos que cruzaram seus caminhos com o meu durante esses anos inusitados de graduação. Não fosse o acaso de cada dia, hoje eu não poderia estar compartilhando com o mundo essa enorme felicidade que tenho em poder ter trabalhado em algo que tem me cativado desde o ensino médio. Então, à vida eu agradeço pelas surpresas e oportunidades.

Contudo, obviamente que seria leviano desconsiderar aqueles que estão do meu lado todo dia, compartilhando das mesmas lamúrias e alegrias da vida, então, aqui, eu agradeço primeiramente a minha mãe, Ana Celia, pelo seu amor imensurável e seus esforços hercúleos que só podem ser explicados pela força do instinto materno. Aos meus amigos de graduação, Rafaela, Julia, Gabriel e Talita por terem tornado os dias mais leves durante esses anos todos me aturando nessa nossa tortuosa graduação. Aos meus amigos de ensino médio, Giovanna, Bernardo, Renan, Felipe, Bia e José por fazerem a vida valer a pena. Ao meu primo, Victor, por ter iniciado a fagulha do meu despertar artístico e cognitivo; palavras são insuficientes para descrever o tamanho da honra que tenho em te ter na minha vida. Ao meu tio Alan e minha tia Cláudia por serem praticamente segundos pai e mãe pra mim e terem sempre sido um poço de compaixão. Por fim, embora não menos importante, aos meus bichinhos, Napoleão e Nanquim, que, mesmo sendo de uma chatice ímpar, eu não sei o que faria sem a companhia deles durante esses anos todos.

Devo agradecer, ainda, a todos os professores que me auxiliaram a plantar essa sementinha acadêmica. O magistério, aos trancos e barrancos, continua sendo um ofício de nobreza indescritível que só me inspira cada vez mais, dia após dia. Sendo assim, foi uma honra ter compartilhado meus dias com todos os incríveis professores da graduação do IMPG, esses faróis que, por muitas vezes, nos nortearam e acalentaram em meio às escuridões da vida.

Agradecimentos especiais à professora Katia que, embora não seja do IMPG, foi a professora que, como orientadora, teve a paciência máxima de me acompanhar mais de perto durante esses anos de graduação. Sou extremamente grato aos incontáveis puxões de orelha e, mais ainda, pela insistência após os tantos momentos de crise que surgiram ao longo de minha caminhada como um jovem cientista. É um dos meus maiores prazeres poder dizer com todas as palavras que eu trabalho com aquilo que é minha menina dos olhos desde o ensino médio e, por

isso, eu serei, sempre, infinitamente grato! Aos professores Felipe, Marcia e José Brito, também companheiros de laboratório, nosso contato não é frequente mas sou feliz por ter vocês no meu cotidiano e devo dizer que é sempre um momento prazeroso quando eu consigo fisgar dos seminários do laboratório um pouquinho de conhecimento sobre as áreas que vocês investigam.

À equipe geral do LPDC (ou aos LPDCentes como diria Aline), eu devo bastante pela companhia e paciência ao longo dos anos. Agradecimentos especiais à Nathalia e Isabella que, juntamente comigo e com a Katia, compõe o time dos entusiastas da causa anfíbia onde a gente pode sempre reclamar das inúmeras dificuldades que surgem quando você tenta trabalhar com um animal modelo pouco convencional. Contudo, gosto de pensar que as excentricidades do *Xenopus* são justamente aquilo que torna a nossa pesquisa mais divertida e gratificante. Ademais, gostaria também de agradecer à Gláucia por ter estado ao meu lado durante momentos de fragilidade. Você é uma pessoa de uma alma muito doce.

Devo direcionar meus agradecimentos, também, à professora Fernanda Almeida, ao professor Marcos Farina e à Técnica Mair que, certamente, foram fundamentais para o meu crescimento como cientista. Agradeço, ainda, ao professor Garcia e à equipe do LEV pela colaboração que nos possibilita ter acessibilidade aos embriões. Ademais, agradeço à professora Fernanda Reinert e à equipe do Laboratório de Anatomia e Fisiologia Vegetal juntamente com o professor Caio Rachid e à equipe do LABEM. Nosso contato foi breve, mas os aprendizados eu levarei para a vida toda.

Agradecimentos finais à Capes, CNPq e demais agências de fomento que foram imprescindíveis para assistência estudantil e compra de material experimental ao longo desses anos.

“Cada pedra e cada flor contam uma história [...] Olhe ao seu redor, tudo isso existe porque deve existir [...] um resultado de ação e consequência.”

(Sotha Sil; Elder Scrolls Online: Clockwork City - ZeniMax Online Studios)

RESUMO

Felipe Matheus Ribeiro de Lima

Mecanismos Epigenéticos e Controle da Inflamação durante a Regeneração de Tecidos e Órgãos

Orientador: Katia Carneiro de Paula

Esse estudo tem como objetivo discutir a origem e ontogenia das células fagocíticas, ou fagócitos, com ênfase no papel que essas células desempenham durante o retorno à homeostase tecidual após eventos de injúria, com foco na regeneração de tecidos e órgãos. Especificamente, é observado que fagócitos participam de diversos programas homeostáticos ao longo da derivação filogenética dos metazoários, desempenhando papéis relevantes tanto durante a organogênese embrionária quanto durante a regeneração de tecidos e órgãos na vida adulta. Embora os fagócitos tenham recebido notoriedade como elementos indispensáveis da resposta imunológica inata, seu papel como moduladores centrais da regeneração ganhou destaque na literatura apenas recentemente. Dentro dessa noção, também é constatado que os metazoários apresentam estratégias regenerativas bem diversas, nas quais animais menos derivados costumam possuir programas regenerativos bastante poderosos que conseguem promover a reconstituição de tecidos, órgãos e apêndices perdidos. Sendo assim, observando que fagócitos são centrais para a modulação de programas de retorno à homeostase extremamente distintos, como a regeneração epimórfica de alguns anfíbios e a cicatrização dos mamíferos, se torna interessante investigar o papel dessa linhagem celular ao longo da derivação dos metazoários. Deste modo, na busca pelos mecanismos que sustentam tal capacidade típica dos fagócitos, esse cenário nos convida a olhar para a maquinaria epigenética, uma vez que é bastante conservada ao longo da evolução dos metazoários ao mesmo tempo que é a responsável por orquestrar as diferentes respostas de regeneração encontradas dentre os diferentes filos. Sendo assim, faz-se necessária a melhor compreensão dos mecanismos que conferem plasticidade funcional e fenotípica a esses fagócitos ao longo da evolução. Desta forma, a elucidação de quais programas moleculares envolvidos na epimorfose permanecem dormentes em metazoários mais derivados, como os mamíferos, poderá nos auxiliar a recapitular essas vias como estratégias clínicas para a Medicina Regenerativa.

Palavras-chave: regeneração; inflamação; epigenética; fagócitos;

ABSTRACT

Felipe Matheus Ribeiro de Lima

Epigenetic Mechanisms and Inflammation Control during Tissue and Organ Regeneration

Advisor: Katia Carneiro de Paula

This text aims to assemble a systematic literature review about the origins of the immune phagocytes and the role that these cells play during tissue maintenance. Most notably, it is also observed that phagocytes are used in several homeostatic programs along the phylogenetic derivation of metazoans where they are present during embryonic organogenesis and in repair programs. Within this context, it is also found that metazoans have very different regenerative strategies, where less derived animals usually have quite extensive regenerative programs that encompass the reconstitution of lost tissues, organs and appendages. Therefore, observing that phagocytes are central to the promotion of extremely different repair programs such as the epimorphic regeneration in some amphibians and the wound-healing in mammals, the investigation of the different functions performed by this cell lineage along the derivation of metazoans presents itself as something very attractive. Thus, this scenario invites us to look at the epigenetic machinery, since it is very conserved throughout animal evolution at the same time that it is also responsible for the orchestration of the different repair strategies found among the metazoans. Therefore, it is necessary to better our understanding of the phenotypical and functional differences between immunological phagocytes throughout the process of evolution so that we can characterize which programs responsible for promoting epimorphosis remain dormant in more derived metazoans such as mammals. Such a scenario could lead to the development of strategies capable of recapitulating these pathways in a manner that is relevant to the field of Regenerative Medicine.

Key-words: regeneration; inflammation; epigenetics; phagocytes

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- MPT – Modificações pós-traducionais
- PRR – Receptores reconhecedores de padrões moleculares
- TLR – Receptor do tipo Toll
- MOV – Medula óssea vermelha
- PAMP – Padrão molecular associado a patógeno
- DAMP – Padrão molecular associado a dano
- PALM – Placa ântero-lateral mesodérmica
- PPLM – Placa posterior-lateral mesodérmica
- isvA – Ilhota sanguínea ventral anterior
- isvP – Ilhota sanguínea ventral posterior
- CTeEU – Células tronco epiteliais epidérmicas unipotentes
- CTeGU – Células tronco epiteliais gastrodérmicas unipotentes
- CTIM – Células tronco intersticiais multipotentes
- MEC – Matriz extracelular
- ROS – Espécies reativas de oxigênio
- HAT – Histona acetiltransferase
- HDAC – Histona desacetilase
- SAHA – Ácido hidroxâmico suberoilânilida
- TSA – Tricostatina A

ÍNDICE

RESUMO	viii
ABSTRACT	ix
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivos específicos	3
3. DESENVOLVIMENTO	4
3.1 Ontogenia e filogenia da linhagem mielóide.....	4
3.1.1 As primeiras células fagocíticas.....	4
3.1.2 Células fagocíticas e o surgimento da multicelularidade.....	5
3.1.3 Mecanismos de fagocitose e os primórdios da imunidade inata celular.....	6
3.1.4 Estabelecimento e derivação de fagócitos circulantes e intersticiais.....	7
3.1.5 Estabelecimento da linhagem mielóide.....	9
3.1.6 Hematopoese embrionária.....	12
3.2 Ontogenia e filogenia da regeneração de tecidos, órgãos e apêndices.....	15
3.2.1 Estratégias regenerativas.....	15
3.2.2 Regeneração induzida por células tronco constitutivas em metazoários basais.....	16
3.2.3 Regeneração induzida por de miócitos e celomócitos em Echinodermata.....	19
3.2.4 Regeneração induzida por fagócitos mielóides e progenitores de linhagem celular em metazoários mais derivados.....	20
3.3 Células fagocíticas mielóides e plasticidade fenotípica funcional: papel dos mecanismos epigenéticos.....	29
3.4 Recapitulação	34
3.5 Discussão	35
4. CONCLUSÕES	40
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

1. INTRODUÇÃO

A habilidade de retorno à homeostase tecidual após evento de injúria é algo bem difundido entre os organismos. Desde aqueles de organização pseudo-histológica, como as esponjas, até aqueles de organização anátomo-morfofisiológica mais derivada, como os vertebrados, podemos evidenciar o emprego de variadas estratégias regenerativas (Brockes e Kumar, 2008). Ademais, curiosamente, o estudo da evolução da capacidade regenerativa entre os metazoários ilumina o fato de que seres menos derivados possuem estratégias notavelmente mais poderosas quando comparadas àquelas empregadas por organismos mais derivados (Ivankovic *et al.*, 2019; Joven *et al.*, 2019; Maden e Varholick, 2020). Especificamente, podemos constatar que parazoários, como os poríferos, empregam programas regenerativos mais poderosos capazes de originar um indivíduo inteiro a partir de frações mínimas (Funayama, 2013). Estratégias similares também podem ser identificadas, com diferentes potências, a partir dos eumetazoários mais anciões como os cnidários (Vogg *et al.*, 2019). Sobretudo, por possuírem uma organização histológica mais compartimentalizada que os poríferos, os cnidários introduziram devidamente o programa de regeneração epimórfica de tecidos mediado por uma estrutura similar a um blastema, uma organização celular transitória formada por células desdiferenciadas (Kondo e Akasaka, 2010). Também conhecida como epimorfose, essa estratégia determina a retomada não somente de estruturas perdidas a nível tecidual como, também, em escala de órgãos, apêndices anatomicamente complexos e especializados, até sessões corporais extensivas (Maden, 2018).

Filogeneticamente, é evidenciado que o controle da epimorfose é um evento presente nos eumetazoários de modo geral, sendo observada nos protostômios e deuterostômios (Brockes e Kumar, 2008). O clado Protostomia abriga animais de elevado poder regenerativo como os platelmintos da família Planariidae e os cnidários do gênero *Hydra* (Agata *et al.*, 2007b; Hobmayer *et al.*, 2012; Gehrke e Srivastava, 2016). Sendo, potencialmente, mediados por blastema, ambos os casos possuem analogias e homologias mecânicas com programas presentes em deuterostômios (Agata *et al.*, 2007b; Brockes e Kumar, 2008), sobretudo nos cordados (Joven *et al.*, 2019; Maden e Varholick, 2020; Phipps *et al.*, 2020). Contudo, a distância evolutiva entre os deuterostomados e os protostômios evidencia que esses filos utilizam de estratégias regenerativas distintas aonde os Protostomia possuem células multipotentes e pluripotentes intersticiais que não são encontradas nos Deuterostomia. Dentro dessa lógica, se observa que em deuterostômios as estratégias regenerativas dependem de um população

heterogênea de células aonde a atuação dos fagócitos fica ressaltada durante a epimorfose desses animais.

Introduzindo os primeiros fagócitos de defesa, que por sua vez têm origem embrionária na linhagem mielóide dentre os vertebrados, os equinodermas introduzem a noção de células fagocíticas intersticiais e circulantes empregadas em mecanismos de defesa e regeneração (Ben Khadra *et al.*, 2015, 2017). Sendo assim, evolutivamente, a atuação dos fagócitos durante o retorno à homeostase tecidual através da regeneração de tecidos, órgãos e apêndices se tornou algo bem consolidado entre os deuterostomados (Abnave e Ghigo, 2019). Presentes desde ascídias até mamíferos, fagócitos mielóides são centrais para a progressão adequada de mecanismos regenerativos que vão desde a cicatrização mais limitada em mamíferos, até a epimorfose evidenciada em anfíbios como os urodelos (Godwin *et al.*, 2013; Godwin, 2014; Jiménez-Merino *et al.*, 2019).

Dentre as células mielóides fagocíticas, os monócitos se destacam por possuírem uma plasticidade fenotípica e funcional dinâmica que os permite exercer uma atuação enfática durante as etapas inflamatórias e reparadoras da cinética da resposta de inflamação (Murray, 2017). Notavelmente, essas células, independentemente da estratégia de regeneração, são atores imunológicos centrais para a progressão adequada da regeneração entre os vertebrados. Esse dado chama à atenção devido ao fato de que esses fagócitos atuam em programas regenerativos de extensões drasticamente diferentes (Tsai, 2020). Deste modo, a compreensão das divergências evolutivas entre os monócitos dos vertebrados se torna pertinente para a elucidação de vias possivelmente conservadas entre animais que apresentam poderes regenerativos extensivos e aqueles mais limitados. Esse cenário nos faz voltar os olhos para a maquinaria epigenética por ser chave na ativação e inativação dinâmica da expressão gênica por meio de Modificações Pós-taducionais (MPT) em histonas nucleossomais como a acetilação (McIntyre *et al.*, 2013; Hull *et al.*, 2016; Cabanel, 2018; Pentagna *et al.*, 2021). Assim, esse contexto nos permite traçar uma análise filogenética e ontogenética entre os mecanismos de regeneração empregados em diferentes estratégias regenerativas observadas entre os vertebrados (J. Godwin, 2014).

2. OBJETIVOS

Realizar uma revisão sistemática da literatura referente ao papel de fagócitos envolvidos em mecanismos regenerativos em metazoários.

2.1. Objetivos específicos

- Pesquisar sobre a importância dos fagócitos para a constituição de organismos multicelulares;
- Estabelecer uma linha evolutiva dos fagócitos do sistema imunológico inato;
- Correlacionar o papel dos fagócitos do sistema imunológico inato em diferentes programas de regeneração tecidual ao longo da derivação dos metazoários;
- Discutir as semelhanças presentes entre os diferentes programas de reparo encontrados na natureza;
- Debater o possível papel que fagócitos do sistema imunológico inato, da linhagem mieloide, desempenham durante organogênese embrionária e regeneração epimórfica,
- Analisar o papel conservado que a acetilação de histonas desempenha como um mecanismo de regulação de respostas regenerativas.

3. DESENVOLVIMENTO

3.1. Ontogenia e filogenia da linhagem mielóide

3.1.1 As primeiras células fagocíticas

Evolutivamente, é observado que todo sistema orgânico vivo emprega algum tipo de estratégia defensiva responsável pela manutenção da homeostase (Barreda *et al.*, 2017; Bradfield, 2017). Sendo observados com grande grau de complexidade desde procariotos até eucariotos superiores, a presença de mecanismos de renovação celular e interceptação de patógenos são tidos como os alicerces que promoveram a homeostase e emergência da multicelularidade em organismos (Barreda *et al.*, 2017). Ademais, não somente se observa a existência de um grau de similaridade entre estratégias imunológicas empregadas por seres unicelulares e multicelulares como, também, é constatado que a promoção da capacidade fagocítica está correlacionada com o surgimento de organismos multicelulares (Zhang *et al.*, 2016; Barreda *et al.*, 2017; Bradfield, 2017). Assim, além de abrir portas para a elucidação de analogias e homologias mecanísticas entre as respostas imunológicas de seres vivos filogeneticamente distantes, esse cenário também nos impulsiona a pensar sobre a evolução do sistema imune e seu papel durante a derivação de planos anatômicos mais complexos. Sobretudo, observando a importância de fagócitos de defesa para a progressão de programas de regeneração e organogênese (Godwin *et al.*, 2013; Wynn *et al.*, 2013; Mass *et al.*, 2016; Aztekin *et al.*, 2020), o estudo da derivação das células fagocíticas mielóides se torna pertinente para a compreensão do papel dessa linhagem durante a estruturação e manutenção de sistemas multicelulares.

Sendo assim, biofilmes bacterianos demonstram que mecanismos similares à apoptose empregada por eucariotos são utilizados para promoção da renovação celular (Bayles, 2014; Lewis, 2000). Utilizando cascatas contendo etapas e intermediários similares àqueles encontrados em metazoários, bactérias se apropriam dessa estratégia de modo a aumentar a disponibilidade e diversidade de DNA no biofilme, o que potencializa a transferência horizontal de genes e amplia a aquisição de programas de resistência (Bayles, 2007). Assim, a apoptose em biofilmes bacterianos detém um papel fisiológico distinto que independe da necessidade de “clearance” por não ser deletéria à organização da comunidade microbiana. Deste modo, são levantadas as peculiaridades dos programas apoptóticos procarióticos ao mesmo tempo que se estabelece o papel fisiológico desse mecanismo, mesmo antes do surgimento de seres eucarióticos e células especializadas em promover a manutenção da homeostase sistêmica. O primórdio do que se

tornaria a base da eferocitose empregada no processo de “clearance” é evidenciado somente em arqueas, que possuem genes homólogos à actina formadora do citoesqueleto eucariótico (Goley e Welch, 2006; Yutin *et al.*, 2009; Martijn e Ettema, 2013); mobilizada durante a formação de pseudópodes por células ameboides, como macrófagos, por exemplo.

Assim, esse cenário coloca a capacidade fagocítica como tendo sido um possível indutor do surgimento do último ancestral eucariótico por meio da fagocitose de uma eubactéria por parte de uma arquea (Fig. 1).

3.1.2 Células fagocíticas e o surgimento da multicelularidade

Adentrando o reino Eukarya, já se observa a disseminação de mecanismos de fagocitose entre os diferentes filos uma vez que é uma estratégia fundamental, não somente para aquisição de nutrientes, como, também, para o reconhecimento antigênico e manutenção da homeostase (Barreda *et al.*, 2017). Particularmente, podemos constatar que os protozoários pertencentes à classe Choanoflagellata empregam estratégias de fagocitose associada à filtração de maneira similar ao que é observado em coanócitos presentes nas esponjas (Dayel e King, 2014; Richter e King, 2013). Coanoflagelados são microrganismos que se destacam em especial por serem os seres vivos filogeneticamente mais próximos dos metazoários na atualidade (Carr *et al.*, 2008). Essa característica é especialmente intrigante pois esses protozoários também são capazes de constituir colônias multicelulares nas quais a agregação celular se dá por meio de proteínas também utilizadas por metazoários durante a promoção de adesão histológica (Nichols *et al.*, 2012; Cavalier-Smith, 2017). Interessantemente, também se observa que coanoflagelados codificam fatores de transcrição similares ao NF- κ B encontrado em metazoários (Williams e Gilmore, 2020). Esse dado é especialmente intrigante pois é sabido que esse peptídeo desempenha funções chave durante os eventos de desenvolvimento embrionário e acionamento do sistema imune (Li e Verma, 2002; Hou *et al.*, 2008; Hayden e Ghosh, 2011; Espín-Palazón e Traver, 2016). Ademais, as colônias multicelulares formadas por esses protozoários também necessitam de metabólitos microbianos para seu estabelecimento, o que possivelmente implica o início da noção de holobionte (Alegado *et al.*, 2012). Assim, os coanoflagelados estabelecem um momento de transição interessante entre os protistas e indivíduos pluricelulares.

A distinção entre células próprias, células comensais e células invasoras foi uma capacidade essencial para o estabelecimento apropriado de organismos multicelulares (Srivastava

et al., 2010; Grice *et al.*, 2017;). Particularmente, dentre os metazoários primordiais, como aqueles pertencentes ao filo Porifera, essa habilidade é essencial para a manutenção da homeostase dos tecidos pouco definidos desses animais. Sendo seres filtradores, as esponjas conseguem captar e diferenciar adequadamente entre bactérias comensais e aquelas que serão capturadas como fonte nutricional (Fig.1) (Lurgi *et al.*, 2019; Wilkinson *et al.*, 1984). Essa seleção aparenta ser realizada por meio de receptores reconhecedores de padrões moleculares (PRR) não necessariamente convencionais, como os receptores do tipo Toll (TLR), à medida que podem surgir de conformações específicas de proteínas da matriz extracelular (MEC) (Hildemann *et al.*, 1979; Pita *et al.*, 2018). Ademais, esponjas também são notórias por incorporarem células microbianas a sua constituição corporal de modo a criar uma microbiota diversa, que influencia a organização celular desses animais (Hentschel *et al.*, 2012; Thomas *et al.*, 2016). Além de auxiliarem na proteção das esponjas por meio da produção de compostos antimicrobianos, os microrganismos comensais também propiciam maior rigidez anatômica (Garate *et al.*, 2017). Especificamente, bactérias comensais se encontram em maior densidade no mesoílo, uma sessão corporal onde ocorre a diferenciação celular juntamente com a promoção da digestão e absorção nutricional (Funayama, 2018). O processo digestivo, por sua vez, se destaca por empregar fagócitos ameboides de diferenciação não-terminal, os arqueócitos, que são responsáveis pela distribuição nutricional e promoção de um arcabouço para diferenciação celular uma vez que são fisiologicamente totipotentes (Funayama, 2018). Notoriamente, em espécies carnívoras de esponjas, essas células ainda detém a capacidade de identificar tecidos exógenos, permitindo o reconhecimento e digestão do organismo predado (Godefroy *et al.*, 2019; Vacelet e Dupont, 2004).

Assim, estabelecem-se os primórdios da função fagocítica como um programa digestivo originado a partir de células responsáveis pela manutenção da homeostase tecidual em metazoários basais. Além disso, já se observa o surgimento de mecanismos moleculares refinados capazes de distinguir células próprias, células comensais e células invasoras.

3.1.3 Mecanismos de fagocitose e os primórdios da imunidade celular inata

Cnidários, os próximos organismos dentro da árvore filogenética, são interessantes de um ponto de vista evolutivo de mecanismos de manutenção homeostática por já possuírem uma organização histológica clara (Vogg *et al.*, 2019). Sendo assim, esses animais empregam estratégias basais de defesa similares ao que é evidenciado em outros eumetazoários mais

derivados (Reiter et al., 2012; Schröder e Bosch, 2016; Wenger et al., 2014). Dentro da ótica da derivação da fagocitose, é visto que as células gastroepiteliais e epidérmicas, em específico, desempenham papel fagocítico que auxilia na captação nutricional e contenção de infecções em animais do gênero *Hydra* (Fig.1) (Chera et al., 2009; Schröder e Bosch, 2016; Buzgariu et al., 2018). Esses dois eventos de reconhecimento antigênico, por sua vez, são mediados, em parte, por receptores TLR's primordiais dependentes de Myd88 e NF-κB, que também são encontrados em metazoários mais derivados (Franzenburg et al., 2012). Esse dado recebendo destaque especial uma vez que essa via retém relevância em eventos embrionários dentre os metazoários (Brennan e Gilmore, 2018). Sendo assim, cnidários estabelecem o uso de TLR's como detectores de distúrbios homeostáticos por meio da identificação de moléculas patogênicas (PAMP's) e dano tecidual (DAMP's) juntamente com o emprego dessas moléculas em cenários embrionários em eumetazoários. Ademais, notavelmente, embora não seja difundido pelo filo como um todo, também é constatado que algumas espécies de cnidários já apresentam células granulocíticas ameboides terminalmente diferenciadas que desempenham função antimicrobiana com o auxílio desses PRR's (Ocampo e Cadavid, 2015). Falhando a intercepção, o evento de infecção intracelular nesses animais ainda prevê o acionamento de mecanismos apoptóticos como forma de contenção de microrganismos infecciosos (Wenger et al., 2014). Ademais, a morte celular não é algo de grande consequência histológica uma vez que cnidários possuem células tronco intersticiais capazes de rapidamente regenerar o tecido perdido (Vogg et al., 2019).

Deste modo, é observado que no filo Cnidaria já podemos evidenciar a base de um programa imune celular inato que trabalha em paralelo com estratégias regenerativas. Contudo, se destaca que esses animais ainda não possuem uma população de fagócitos dedicada a funções defensivas além de terem o evento regenerativo como algo que é desempenhado por linhagens germinativas não necessariamente fagocíticas.

3.1.4 Estabelecimento e derivação de fagócitos circulantes e intersticiais

Cnidários são reconhecidos como eumetazoários basais, algo que os caracteriza como seres pouco derivados filogeneticamente. Sendo assim, apresentam características que já não são encontrados em metazoários superiores como o fato de serem diblásticos e, conseqüentemente, não entrarem na categoria dos seres celomados. Esse dado se torna pertinente uma vez que, a partir do surgimento do mesoderma, protostômios e deuterostômios menos derivados passaram a

exibir uma população de fagócitos móveis e intersticiais de funções diversas, denominados de celomócitos. Essas células podem ser encontrados em invertebrados como anelídeos, artrópodes, moluscos e equinodermas (Tahseen, 2009). Majoritariamente, celomócitos desempenham três funções centrais: digestão de material exógeno, papel como fagócito de defesa e regeneração tecidual. Dentro desse contexto, o filo Echinodermata ganha destaque especial por ser englobado juntamente ao filo Chordata no Super-filo Deuterostomia, o que torna os animais desses dois grupos significativamente mais próximos entre si.

Ilya Ilyich Mechnikov, um zoólogo russo e pioneiro nos estudos de imunologia comparada do século XIX, avaliou que as larvas de equinodermas mobilizavam um infiltrado de populações fagocíticas em evento de injúria. Intrigado com esse fenômeno, após a investigação em outros modelos animais, Mechnikov constatou que vertebrados também empregavam fagócitos frente a um insulto tecidual. Denominados por ele como macrófagos e micrófagos (posteriormente definidos como neutrófilos), essas células fagocíticas foram a base da compreensão da fagocitose e derivação de mecanismos imunológicos entre os animais (Lecture, 1908). Séculos após os trabalhos de Mechnikov, o papel dos celomócitos em equinodermas já é melhor caracterizado (Ben Khadra *et al.*, 2017). Notoriamente, é observado que essas células, além de contribuírem para a imunidade por meio da secreção de peptídeos antimicrobianos e proteínas do sistema complemento, também compõe uma resposta efetora celular complexa visto que se organizam em seis morfologias distintas (Hirano, 2016; Ben Khadra *et al.*, 2017). As células discoides, poligonais e fagócitos pequenos compõe o grupo amebóide que promove a fagocitose e encapsulamento de agentes externos em paralelo à indução de outros eventos como resposta antimicrobiana, citotóxica, rejeição de enxertos e reparo tecidual (Ho e Rast, 2016). Já as células de esférula vermelha, esférula descolorida e vibráteis têm morfologia de granulócito e desempenham funções de fagocitose e encapsulamento (Ho e Rast, 2016). Notavelmente, a ação efetora desses fagócitos é mediada por PRR's, os quais envolvem TLR's capazes de perceber a presença de PAMP's (Buckley e Rast, 2012). Por fim, deve ser mencionado que os celomócitos são melhor caracterizados em animais da classe Echinoidea em estágio adulto, o que deixa portas abertas para a melhor compreensão dessas células nas outras quatro classes de equinodermas, sobretudo, em estágio larval. Contudo, esses deuterostomados basais começam a pintar a complexidade que se daria em fagocíticos imunológicos nos deuterostômios superiores como os cordados. Especificamente, um fato intrigante é que o celomócitos já expressam genes

hematopoiéticos como GATA 1/2/3 e genes de especificação mielóide como PU.1, Spib, Spic, Ets (Rizzo *et al.*, 2006; Solek *et al.*, 2013).

Assim, os equinodermas começam a estabelecer os primórdios de uma população de fagócitos móveis e intersticiais de defesa. Esse conceito, então, é algo que irá se complexar em deuterostomados mais derivados, como os cordados, por meio do estabelecimento dos fagócitos mielóides.

3.1.5 Estabelecimento da linhagem mielóide

O filo Chordata é dividido nos sub-filos Urochordata, Cephalochordata e Vertebrata, aonde, este último, agrupa metazoários mais derivados. Contudo, é constatado que mecanismos de hematopoese presentes em todos os vertebrados já se encontram bem estabelecidos em cordados basais como as ascídias, membros do sub-filo Urochordata (Fig.1) (Rosental *et al.*, 2018). Não somente esses animais altamente regenerativos já exibem um sistema circulatório aberto, como, também, incorporam mecanismos de geração de nicho hematopoiético homólogos ao que é observado em vertebrados (Rosental *et al.*, 2018). Especificamente, esses animais já apresentam mielócitos hematopoiéticos que possuem fenótipos de linhagem monocítica e granulocítica (Fig.1) (Rosental *et al.*, 2018). Ademais, também é caracterizado que as ascídias detêm populações de fagócitos mesenquimais e móveis que são originados a partir de um evento possivelmente análogo à hematopoese primitiva em vertebrados (Jiménez-Merino *et al.*, 2019). Essas observações, assim, fortalecem a ideia de que um ancestral comum entre os urocordados e os outros sub-filos dos cordados tenha estabelecido a linhagem mielóide entre os deuterostomados superiores. Ademais, a hematopoese das ascídias ocorre no endóstilo que possui homologia com a glândula tireoide dos vertebrados onde, recentemente, essa estrutura foi caracterizada como tendo função análoga à medula óssea vermelha (MOV). Além disso, foi constatada a presença de um nicho hematopoiético que se utiliza de indutores de diferenciação mielóide capazes de gerar monócitos e granulócitos a partir de células tronco hematopoiéticas, de maneira similar à MOV (Amano e Hori, 2008; Rosental *et al.*, 2018; Jiménez-Merino *et al.*, 2019). Assim, o surgimento de mielócitos propriamente ditos em cordados basais como as ascídias nos auxilia a delimitar com maior precisão o momento em que essas células se estabeleceram nos eumetazoários. Essa delimitação sendo pertinente uma vez que são células que apresentam poucas modificações ao longo da derivação dos cordados (Barreda *et al.*, 2017).

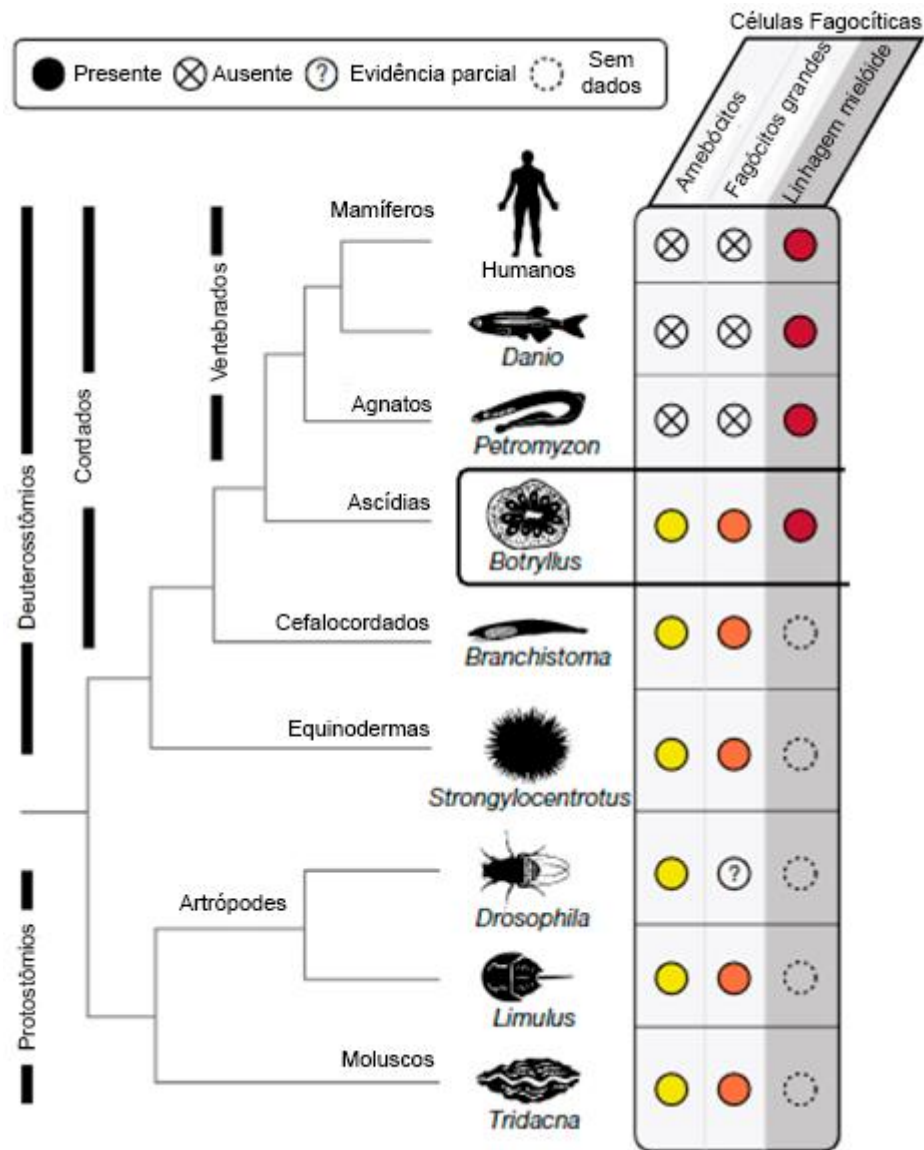


Figura 1: Evolução do sistema imunológico celular. Informações sobre o sistema imunológico celular inato em espécies de invertebrados e vertebrados. A tabela à direita descreve o tipo de células imunes associadas encontradas em cada animal. As ascídias coloniais contêm células do sistema imunológico encontradas em espécies de invertebrados e vertebrados. Enquanto amebócitos e fagócitos grandes são encontrados em *B. schlosseri* e outras espécies de invertebrados (amarelo e laranja), as células fagocíticas de linhagem mielóide foram encontradas até agora apenas em *B. schlosseri* e vertebrados (vermelho). Fonte: Adaptado de Rosental, Benyamin et al. "Complex mammalian-like haematopoietic system found in a colonial chordate." *Nature* vol. 564,7736 (2018): 425-429. doi:10.1038/s41586-018-0783-x

Os membros do sub-filo Vertebrata constituem os animais filogeneticamente mais derivados entre os cordados. Dentre as diferentes classes que compõe esse grupo, podemos enxergar uma evolução gradativa da regulação e divisão de funções entre os fagócitos do sistema imune inato, responsáveis pela indução de resposta inflamatória nesses animais (Riera Romo *et*

al., 2016; Barreda *et al.*, 2017). A inflamação é uma resposta imune protetora que surge como uma forma de retorno à homeostase após eventos mais dramáticos de insulto como aqueles que surgem durante infecção e dano tecidual. Dentro desse contexto, monócitos, macrófagos e neutrófilos são os fagócitos profissionais centrais para a progressão inflamatória frente a estímulos de injúria tecidual e/ou infecção microbiana (Iqbal *et al.*, 2016). Essas células empregam um repertório de PRR's como TLR's, lectinas do tipo-C, RIG-I e NLR's para o reconhecimento de PAMP's de modo a promover atividade efetora (Buchmann, 2014). Ademais, a função dessas células é extremamente conservada entre os vertebrados uma vez que representantes basais da classe Vertebrata, como os peixes ágnatos, apresentam uma resposta inflamatória celular similar àquela empregada por vertebrados superiores como os mamíferos (Buchmann, 2014; Havixbeck *et al.*, 2014). Contudo, estudos comparativos demonstram que o papel original de fagócitos mielóides seria voltado para um programa mais homeostático induzido pela eferocitose de corpos apoptóticos, o que caracteriza a ação pro-inflamatória antimicrobiana como algo que gradativamente foi se tornando mais presente (Havixbeck *et al.*, 2014). Corroborando essa hipótese, peixes primitivos da classe Agnatha (sem mandíbula) apresentam fagócitos menos inflamatórios na presença de PAMP's que aqueles de peixes mais derivados, como os Teleostei (mandibulados), durante um evento de inflamação (Havixbeck *et al.*, 2014). Em contrapartida, as células fagocíticas de Teleostei respondem menos a sinais homeostáticos vindos da eferocitose à medida que desempenham função pro-inflamatória mais poderosa que os fagócitos dos ágnatos (Havixbeck *et al.*, 2014). Evolutivamente, observa-se que a classe Mammalia ressignificou esse evento de eferocitose de corpos apoptóticos em um mecanismo indutor de transição para um ambiente pro-resolutivo como forma de frear o estímulo pro-inflamatório deletério (Rieger *et al.*, 2012). Notoriamente, essa é uma qualidade apenas descrita em neutrófilos de mamíferos, o que chama a atenção, uma vez que a eferocitose dessas células por macrófagos também sinaliza uma transição para um perfil resolutivo no ambiente de injúria (Silva, 2011).

Assim, esses dados sugerem que, possivelmente, o ganho gradativo de características pró-inflamatórias do sistema imune inato surgiu em paralelo à compartimentalização do trabalho dos mielócitos em ambiente de injúria (Fig.2). Algo que se destaca por ocorrer em paralelo à diversificação da função inflamatória de citocinas em metazoários (Roca *et al.*, 2008; Zou e Secombes, 2016). Ademais, além dos fagócitos hematopoiéticos, os vertebrados ainda exibem

uma população mielóide de origem embrionária que se torna intrínseca em diferentes tecidos a partir da onda migratória primitiva (Mass *et al.*, 2016).

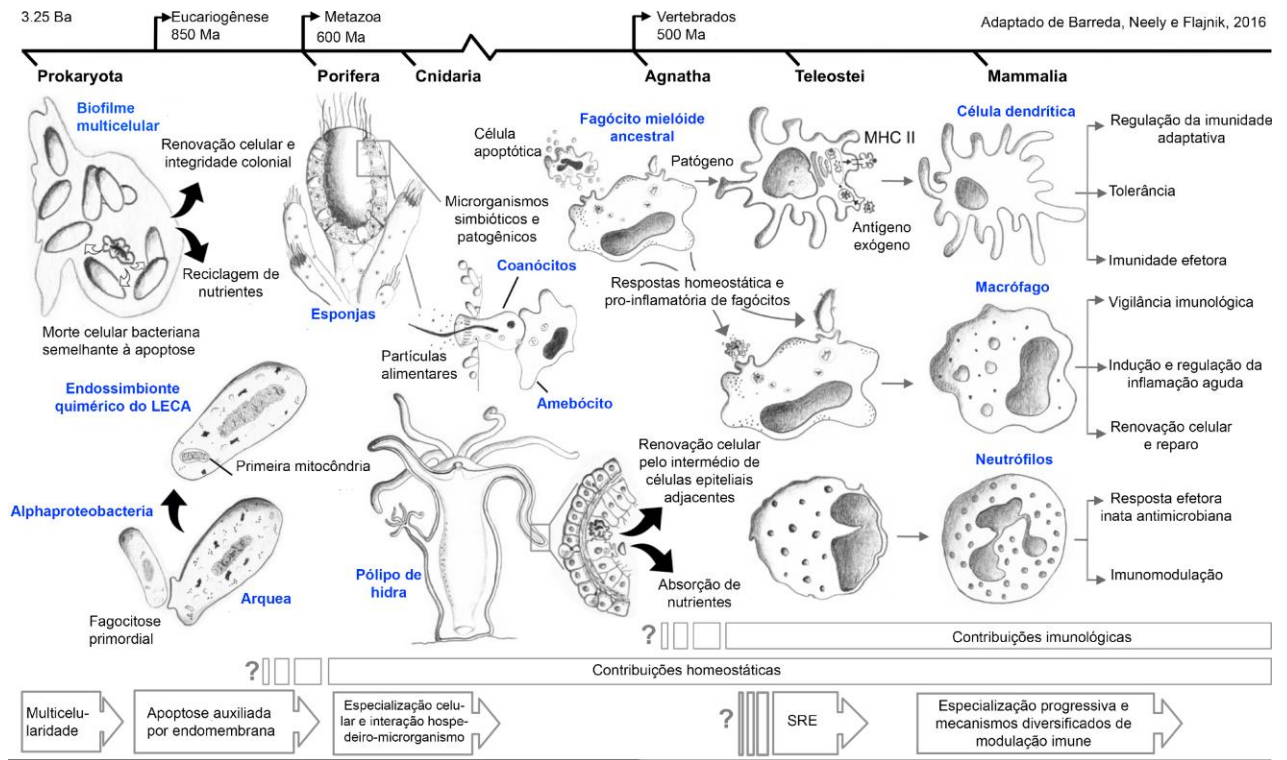


Figura 2 - Contribuições da fagocitose como mecanismo de digestão e defesa durante a evolução dos metazoários. Principais eventos e características-chave identificados em modelos comparativos estão destacados em azul. Metazoa se refere a animais multicelulares; invertebrados protostômios surgiram há 600 Ma e deuterostômios ~500 Ma. Ágnatos são peixes sem mandíbula, todos os outros vertebrados têm mandíbulas (gnatostomados). A imunidade adaptativa é encontrada apenas nos vertebrados, bem como a divisão de trabalho com células mielóides, estas, bem estabelecidas em mamíferos. LECA - Último ancestral eucarioto comum; SER - Sistema Reticuloendotelial. Fonte: Adaptado de Barreda DR, Neely HR, Flajnik MF. 2016. Evolution of myeloid cells. *Microbiol Spectrum* 4(3): MCHD-0007-2015. doi: 10.1128/microbiolspec.MCHD-0007-2015

3.1.6 Hematopoese embrionária

Os vertebrados como um todo apresentam duas ondas hematopoiéticas embrionárias (Fig.3). A primeira dessas ondas, também conhecida como primitiva, se caracteriza por incitar a geração de alguns eritrócitos e macrófagos em uma janela de tempo mais inicial da embriogênese (Hoeffel e Ginhoux, 2015). Sobretudo, os mielócitos vindos dessa onda primitiva serão responsáveis por originar células constitutivas de alguns órgãos como a micróglia presente no encéfalo, células de Kupfer no fígado, osteoclastos do tecido ósseo, células de Langerhans na pele e macrófagos peritoneais, por exemplo. Em mamíferos e aves, essas células surgem da especificação mielóide primitiva que ocorre no saco vitelínico por meio da expressão de genes como PU.1, Spic e Spi1 (Hoeffel e Ginhoux, 2015, 2018). Contudo, em vertebrados não amniotas,

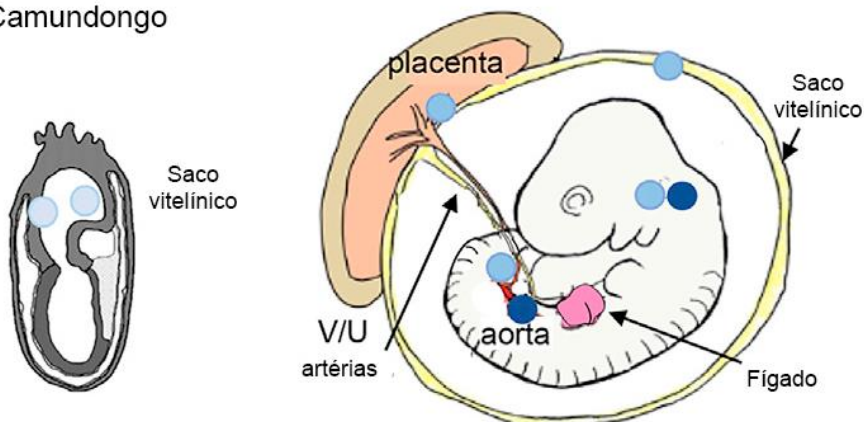
como peixes teleostei e anfíbios anuros, onde o anexo vitelínico está ausente, as ondas primitivas de hematopoese são promovidas por pequenas ilhas que surgem durante a padronização embrionária. Peixes teleostei, por exemplo, formam dois compartimentos embrionários, anatomicamente separados no tempo e no espaço, onde a placa ântero-lateral mesodérmica (PALM) será responsável pela mielopoese primitiva nesses animais e a placa posterior-lateral mesodérmica (PPLM) será responsável pela eritropoese primitiva (De Jong e Zon, 2005; Su *et al.*, 2007). Anfíbios, como o anuro *Xenopus laevis*, originam duas sessões embrionários justapostas que serão responsáveis por orquestrar esse evento de hematopoese primitiva onde a ilhota sanguínea ventral anterior (isvA) tem função análoga à PALM, enquanto que a ilhota sanguínea ventral posterior (isvP) é análoga à PPLM (Costa *et al.*, 2008). Destacando a mielopoese primitiva, imagina-se que esses macrófagos residentes possuam uma ênfase homeostática uma vez que não aparentam ocasionar uma resposta inflamatória tão vigorosa quanto à de seus equivalentes medulares em animais adultos (Levy *et al.*, 2004; Epelman *et al.*, 2014). Particularmente, dentro de um cenário embrionário, essas células primitivas apresentam importante função durante a padronização axial e organogênese, o que recapitula o possível papel evolutivo que os fagócitos tiveram durante o estabelecimento da multicelularidade (Hoeffel e Ginhoux, 2018).

Surgimento

Primitiva

Definitiva

i Camundongo



ii Xenopus

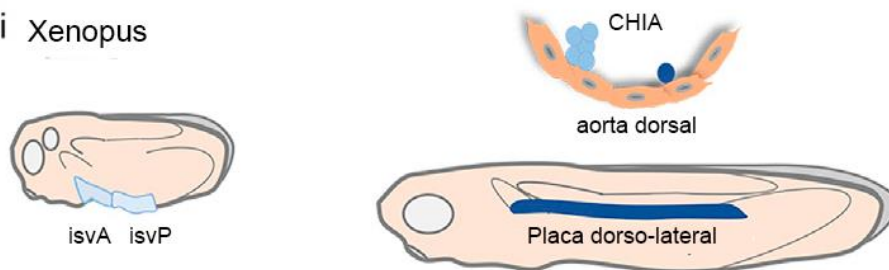


Figura 3 - (A) Ondas de geração de células hematopoiéticas primitivas e definitivas embrionárias (indicado pelo aumento da intensidade azul das barras). (i) No embrião de camundongo, as células hematopoiéticas da onda primitiva são geradas no saco vitelínico e as da onda definitiva surgem do endotélio hemogênico. Embrião no estágio E7 de placa neural primitiva (esquerda) e embrião no estágio E10.5 onde surgem os brotos de membro (direita) são mostrados com tecidos hematopoiéticos e células hematopoiéticas onde o estágio é indicado pela intensidade de azul. Artérias V / U, vitelino/umbilical; CHIA, cluster hematopoiético intra-aórtico. (ii) Embrião de *Xenopus* nos estágios 13-26 (esquerda) com isvA e isvP (ilhas sanguíneas ventrais anterior e posterior) e no estágio 42 com a placa dorso-lateral e aorta com CHIA emergindo. Fonte: Adaptado de Dzierzak, E., & Bigas, A. (2018). *Blood Development: Hematopoietic Stem Cell Dependence and Independence*. *Cell Stem Cell*, 22(5), 639–651. doi:10.1016/j.stem.2018.04.015

3.2 Ontogenia e Filogenia da regeneração de tecidos, órgãos e apêndices

3.2.1 Estratégias regenerativas

Renovação e reparo tecidual são duas capacidades de extrema importância para a manutenção da homeostase de sistemas multicelulares de modo geral. Com foco nos metazoários, o poder de reparo da constituição anatômica é fundamental para todos os filos animais conhecidos (Brockes e Kumar, 2008). A diversidade de planos anatômicos, e graus de derivação entre os membros do reino Animalia, nos faz constatar a enorme variedade entre os programas regenerativos presentes no grupo. Ainda assim, podemos observar a presença de duas grandes estratégias de reparo tecidual, estas, sendo a cicatrização e a regeneração (Godwin, 2014).

A regeneração é um programa extremamente poderoso de retorno à homeostase que é capaz de gerar estruturas que vão do nível histológico ao anatômico (Maden, 2018). Como mencionado anteriormente, a regeneração pode ocorrer através da geração de um blastema, que se caracteriza como uma massa transiente de células proliferativas desdiferenciadas que são capazes de reconstituir tecidos perdidos (Joven *et al.*, 2019). Contudo, os mecanismos regenerativos também podem ser orquestrados por um broto regenerativo, que se diferencia do blastema por ser povoado, principalmente, por células progenitoras de linhagem celular (Phipps *et al.*, 2020). Ademais, as estratégias de regeneração ainda podem ser agrupadas em dois grupos não excludentes: epimorfose e morfolaxia (Fig.4) (Agata *et al.*, 2007b).

A morfolaxia é uma estratégia que prevê o remodelamento dos tecidos remanescentes de modo a restabelecer a homeostase após eventos de amputação/secção. Em contrapartida, a epimorfose é um programa regenerativo que tem a proposta de restaurar o tecido perdido distalmente ao plano de amputação. Ambos os eventos de regeneração costumam ser mediados por um blastema ou um broto regenerativo (Agata *et al.*, 2007b; Satoh *et al.*, 2010; Ivankovic *et al.*, 2019). Além disso, esses programas são bem diversificados ao longo da árvore filogenética à medida que podem ser evidenciados de cnidários até mamíferos (Vogg *et al.*, 2019; Maden e Varholick, 2020). Contudo, é observado que, ao longo da derivação das espécies, a capacidade de promoção da regeneração, sobretudo a epimórfica, foi se restringindo por motivos ainda pouco claros (Godwin, 2014). Imagina-se que a aquisição de um programa de imunidade adaptativa mais sofisticado em metazoários tenha surgido como uma alternativa à regeneração, e, de fato, são estratégias presentes de modo inversamente proporcional ao longo da derivação dos animais.

Particularmente, observa-se que as estratégias de epimorfose e morfólaxia são mais prevalentes e poderosas entre os metazoários mais basais (Bryant *et al.*, 2017; Godwin, 2014; Maden, 2018).

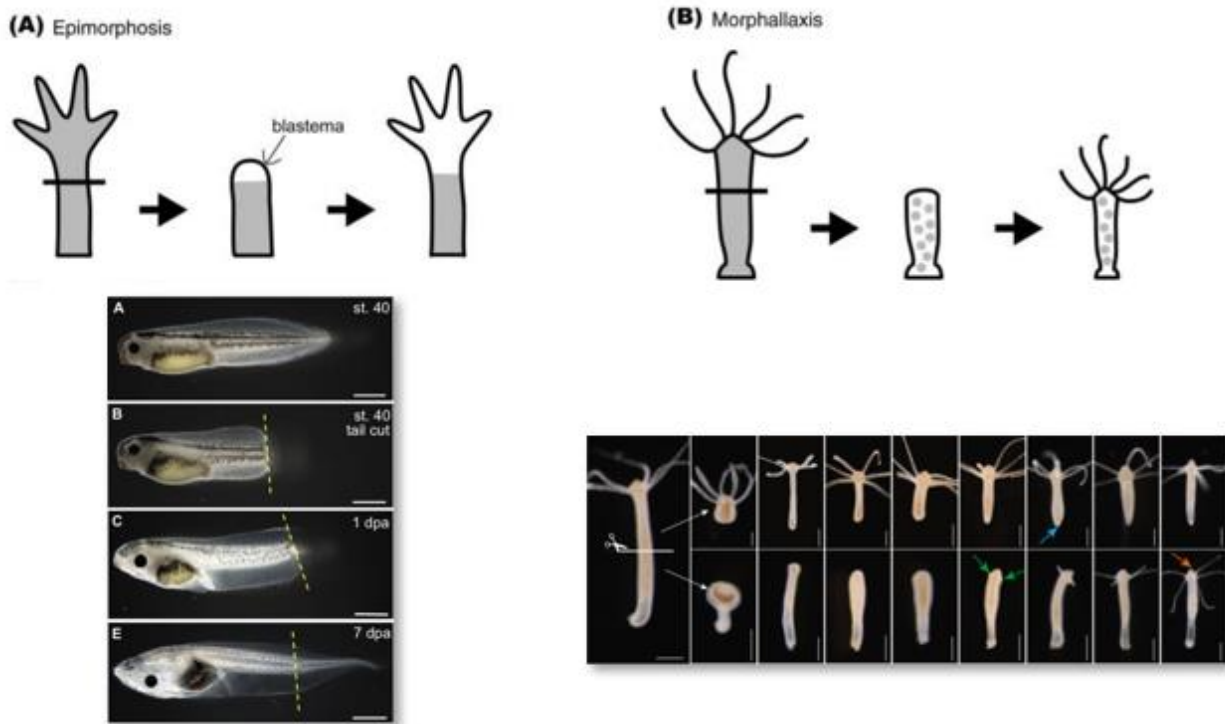


Figura 4 – Representação da epimorfose e morfólaxia. A) A epimorfose prevê o reestabelecimento de estruturas perdidas distalmente ao plano de amputação pelo o intermédio de um blastema ou broto regenerativo. B) A morfólaxia é uma estratégia que prevê o remodelamento dos tecidos remanescentes após evento de amputação de modo a criar um novo indivíduo diminuído que, gradativamente, retoma o tamanho original. Fontes: Adaptado de Santos, N.D., Azmat, S., Cuenca, Y., Drenth, J., Lauper, J., & Tseng, A. (2016). Effects of the biocide methylisothiazolinone on *Xenopus laevis* wound healing and tail regeneration. *Aquatic toxicology*, 181, 37-45 .; Agata K, Saito Y, Nakajima E. Unifying principles of regeneration I: Epimorphosis versus morphallaxis. *Dev Growth Differ.* 2007 Feb;49(2):73-8. doi: 10.1111/j.1440-169X.2007.00919.x. PMID: 17335428.; Model systems for regeneration: *Hydra* Matthias C. Vogg, Brigitte Galliot, Charisios D. Tsiairis *Development* 2019 146: dev177212 doi: 10.1242/dev.177212 Published 1 November 2019

3.2.2 Regeneração induzida por células tronco constitutivas em metazoários basais

Inicialmente, podemos constatar que animais basais, como os poríferos, são capazes de reconstituir porções inteiras do corpo pelo intermédio de células tronco, denominadas de arqueócitos, que são capazes de se diferenciar em outras linhagens celulares formadoras das esponjas (Funayama, 2013). Contudo, esse evento não poder ser considerado devidamente como um processo de regeneração epimórfica ou morfólaxica por não envolver um blastema ou broto regenerativo. Ademais, a regeneração nesses animais também coloca grande ênfase no evento de transdiferenciação, caracterizado pela capacidade de uma célula dar origem a uma outra linhagem

celular sem desdiferenciação prévia (Adamska, 2018). Sendo assim, mecanismos regenerativos propriamente ditos serão consolidados apenas em cnidários

Os cnidários do gênero *Hydra* costumam se utilizar de ambas as estratégias regenerativas, recebendo, a morfolaxia, mais destaque nesses animais (Agata *et al.*, 2007b; Vogg *et al.*, 2019). Esse programa é sustentado por células tronco epiteliais epidérmicas unipotentes (CTeEU), células tronco epiteliais gastrodérmicas unipotentes (CTeGU) e células tronco intersticiais multipotentes (CTIM) (Hobmayer *et al.*, 2012). Anatomicamente, é constatado que as CTIM estão localizadas junto com as CTeGU na região central do corpo, onde dão origem a diferentes tipos celulares. Nesse contexto, as células CTIM ganham relevância por apresentarem ciclagem rápida, o que dá maior protagonismo a essa linhagem em evento de reparo tecidual. Ademais, todas as células tronco citadas são sujeitas a mobilização condicionada por evento de injúria tecidual (Chera *et al.*, 2009; Boehm e Bosch, 2012;). Particularmente, observou-se que CTeGU's realizam eferocitose em paralelo à mobilização das CTIM's em *Hydra* durante o processo de reconstituição da cabeça. Esse evento parece ser induzido por espécies reativas de oxigênio (ROS) e Wnt3/ β -catenina de origem de células apoptóticas geradas durante injúria, algo que, possivelmente, pode ser influenciado por alterações no potencial bioelétrico da membrana citoplasmática (Chera *et al.*, 2009; Buzgariu *et al.*, 2018; McLaughlin e Levin, 2018). Wnt3 também aparenta ser necessário durante o evento de reorganização anatômica desses animais após sofrerem dissociação celular (Technau *et al.*, 2000). Ademais, em *Hydractinia echinata*, já podemos observar que CTIM's migram em direção ao plano de amputação onde formam uma estrutura similar a um blastema durante a regeneração (Bradshaw *et al.*, 2015).

Destacadamente, se observa que a mobilização de células tronco indutoras de um blastema no sítio de injúria é uma estratégia regenerativa consolidada em metazoários mais derivados como os protostômios Platyhelminthes da família Planariidae. Esses animais que se destacam por serem amplamente utilizados para o estudo da regeneração a partir de células tronco multipotentes adultas (Ivankovic *et al.*, 2019).

A regeneração em planárias se inicia com a mobilização de uma população celular que fica difusa pelo mesênquima, denominada de neoblastos (Gehrke e Srivastava, 2016). Essas células têm a importante função de manter a homeostase tecidual, sendo as únicas células com poder mitótico (Baguñà e Riutort, 2004). Após uma injúria ou amputação, mudanças no potencial bioelétrico na membrana dos clones de neoblastos incitam a proliferação e migração em direção

ao local de injúria (McLaughlin e Levin, 2018). Uma vez nesse sítio, essas células vão constituir um blastema por meio de um segundo evento de mitose (Wenemoser e Reddien, 2010). O neoblastos são capazes de reconstituir tecidos perdidos pela expressão de genes do *Germline Multipotency Program*, que são comumente associados no desenvolvimento embrionário de modo geral (Solana, 2013). Todavia, o papel dos neoblastos parece ser algo restrito aos vermes aquáticos uma vez que só é visto em planárias e acoelos (Baguña e Riutort, 2004; Gehrke e Srivastava, 2016). Contudo, esses animais ainda trazem observações pertinentes para a compreensão da padronização axial durante a regeneração em outros filões de metazoários. Por exemplo, as vias de Wnt e BMP nesses animais são fundamentais para a formação dos eixos ântero-posterior e dorso-ventral respectivamente (Fig.5) (Gurley *et al.*, 2010; Wurtzel *et al.*, 2017). Imagina-se que os gradientes morfogenéticos tenham um papel central na axialidade durante a epimorfose por meio de um evento denominado de intercalação (Fig.5). Por esse mecanismo, essas moléculas ficam concentradas na porção mais distal do blastema de modo a coordenar a diferenciação e organização celular por meio da criação de informações posicionais durante a regeneração (Agata *et al.*, 2007b). Paralelamente, imagina-se, também, que a profusão celular que ocorre durante o estabelecimento do blastema seja fundamental para o encontro de células normalmente distantes entre si. A interação entre linhagens anatomicamente separadas cria, assim, outra maneira de detecção da incongruência axial gerada pela amputação.

Esse cenário, como um todo, chama a atenção uma vez que essas moléculas morfogenéticas também são empregadas durante a intercalação realizada pelos deuterostomados durante eventos regenerativos (Agata *et al.*, 2007a; Satoh *et al.*, 2010).

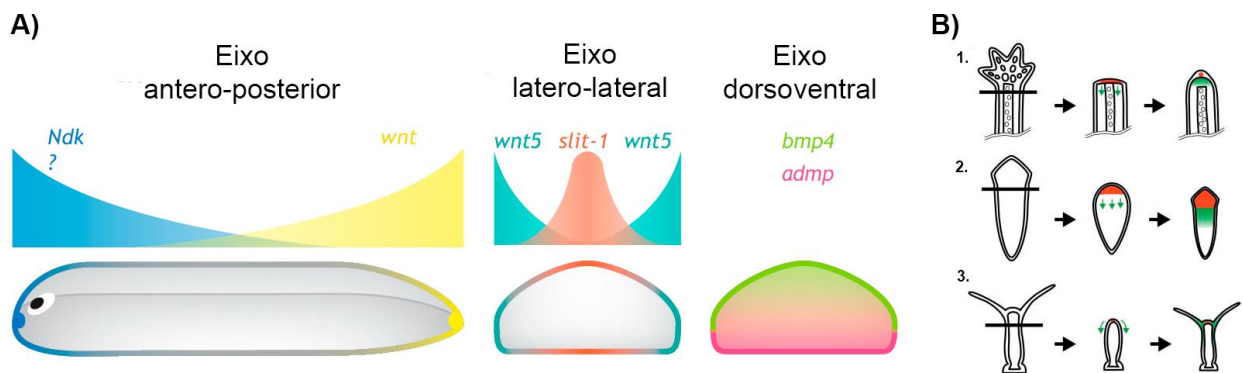


Figura 5 – Sistemas de padronização axial nas planárias e processo de intercalação interespecíes. A) Esquema representando sinais de padrões primários atualmente conhecidos e sua implantação ao longo da axialidade do animal. Deve ser destacado que das vias representadas apenas a de Wnt é estabelecida canonicamente como sendo

uma das regentes principais do eixo AP. Os demais intermediários esquematizados apresentam envolvimento hipotético e empírico com seus respectivos eixos de padronização, mas ainda precisam ter suas vias de sinalização bem estabelecidas para que também possam ser canonizados. B) Processo de intercalação em salamandra (1.) planária (2.) hydra (3.) Em todos os casos, a porção mais distal é formada imediatamente após a amputação (indicada em vermelho) e então eventos intercalares induzem a formação de uma região intermediária entre a porção distal recém-formada e o antigo porção proximal (setas verdes). No entanto, os tipos de células ou camadas de tecido que participam da intercalação variam entre os diferentes casos. Fonte: Adaptado de Ivankovic, M., Haneckova, R., Thommen, A., Grohme, M. A., Vila-Farré, M., Werner, S., e Rink, J. C. (2019). Model systems for regeneration: Planarians. *Development (Cambridge)*, 146(17), 0–1. <https://doi.org/10.1242/dev.167684>; Agata K, Saito Y, Nakajima E. Unifying principles of regeneration I: Epimorphosis versus morphallaxis. *Dev Growth Differ.* 2007 Feb;49(2):73-8. doi: 10.1111/j.1440-169X.2007.00919.x. PMID: 17335428.

3.2.3 Regeneração induzida por de miócitos e celomócitos em Echinodermata

Adentrando o super-filo Deuterostomia, identificamos que os membros mais ancestrais desse grupo, como os Echinodermata, também são animais capazes de empregar programas regenerativos (Ben Khadra *et al.*, 2015, 2017). Especificamente, é visto que os equinodermas pertencentes à classe Holothuroidea, os pepinos-do-mar, são capazes de eviscerar e regenerar seus sistemas digestivos de maneira dependente da via de Wnt (Yuan *et al.*, 2019). Ademais, outras classes de equinoderma como os Echinoidea, os ouriços-do-mar, também são bastante regenerativos onde é caracterizado que mecanismos bioelétricos são acionados durante a padronização axial (McLaughlin e Levin, 2018). Ademais, também se observa que ouriços-do-mar favorecem programas de regeneração morfológica por meio de diferenciação e transdiferenciação somática (Candia Cavernali, 2006). Por fim, embora não menos importante, a classe Asteroidea, as estrelas-do-mar, também ganha grande proeminência dentro dos mecanismos regenerativos, recebendo os miócitos e celomócitos grande destaque (Ben Khadra *et al.*, 2017). Os equinodermas ainda apresentam um sistema ambulacrário, que pode apresentar analogia a uma vasculatura já que uma de suas funções é de atuar como uma rede de distribuição de nutrientes por esses animais (Kondo e Akasaka, 2010). Notoriamente, é reconhecido que celomócitos também se apropriam desse sistema de modo a potencializar a atuação efetora frente a evento de injúria em estrela-do-mar (Ben Khadra *et al.*, 2017).

A função exata dos miócitos é pouco compreendida. Até o momento, sabe-se que células dessa linhagem, que estejam adjacentes ao plano de amputação, passam por um processo de desdiferenciação e depois migram em direção à área afetada (Ben Khadra *et al.*, 2015). Em contrapartida, o papel dos celomócitos é mais conhecido uma vez que são células similares aos monócitos dos cordados, tendo função fagocítica imunológica no sítio da injúria (Ho e Rast, 2016). Ademais, essa linhagem é de extrema importância durante a fase de reparo uma vez que

auxilia na formação do epitélio de injúria além de serem fundamentais para a progressão da regeneração como um todo (Ben Khadra *et al.*, 2015). Notoriamente, como foi discutido no capítulo anterior, essa linhagem celular é capaz de se diferenciar em seis subtipos celulares que se organizam, grosseiramente, em fagócitos e granulócitos. Curiosamente, é evidenciado que a diferenciação de celomócitos em um desses subtipos é algo que pode ser induzido pelo próprio ambiente de injúria. Algo que se assemelha ao que é evidenciado durante a diferenciação de monócitos em macrófagos em cenário inflamatório nos cordados (Pinsino *et al.*, 2007; Holm *et al.*, 2008). De maneira mais extraordinária, é visto que esse evento emprega vias de Wnt por parte dos celomócitos, algo que chama a atenção pois são vias centrais para eventos do desenvolvimento e da regeneração de modo geral (Franco *et al.*, 2011). A regeneração nesses animais é particularmente interessante uma vez que os celomócitos conseguem dar origem a linhagens celulares diversificadas, implicando o possível primórdio de fagócitos de defesa como mecanismos de organogênese em deuterostomados basais (Sharlaimova e Petukhova, 2012; Ben Khadra *et al.*, 2015). Essa observação se torna relevante a medida que os fagócitos mielóides da imunidade inata vão ganhando importância gradativa durante os eventos regenerativos dos deuterostomados ao longo da derivação desse super-filo (Barreda *et al.*, 2017). Dentro desse cenário, deuterostômios mais derivados, como os vertebrados, obtêm notoriedade pois embora apresentem programas de reparo drasticamente diferentes, eles conservam o papel de fagócitos mielóides como uma estratégia central da regeneração (Godwin, 2014).

3.2.4 Regeneração induzida por fagócitos mielóides e progenitores de linhagem celular em metazoários mais derivados

De modo geral, observa-se no subfilo Vertebrata que estratégias regenerativas poderosas estão mais presentes em vertebrados menos derivados (Darnet *et al.*, 2019). Utilizando o peixe Actinopterygii, *Danio reio*, ou peixe-zebra, como base comparativa já podemos evidenciar uma enorme capacidade de restauração de tecidos como o cardíaco e o nervoso, que apresentam baixo poder regenerativo em mamíferos (Marques *et al.*, 2019). Essa habilidade ainda pode ser expandida para nível de órgão, tendo sido documentado que esses animais possuem eximia capacidade de regeneração desses dois tecidos (Poss *et al.*, 2002; Raya *et al.*, 2003; Kroehne *et al.*, 2011).

Ademais, o peixe-zebra também consegue promover a regeneração de apêndices como pode ser evidenciado durante a reconstituição do dermoesqueleto das barbatanas (Pfefferli e Jazwińska, 2015). Sabendo disso, observa-se que o evento de regeneração epimórfica nesses animais é induzido por um broto regenerativo que surge a partir da desdiferenciação limitada de linhagens celulares próximas ao plano de amputação (Stewart e Stankunas, 2012; Marques *et al.*, 2019). O processo de indução dessa estrutura não é tão bem conhecido, mas se sabe que a produção de ROS no sítio de injúria, juntamente com o estabelecimento de um infiltrado de fagócitos mielóides, como neutrófilos e macrófagos, são fundamentais (Romero *et al.*, 2018; Morales e Allende, 2019). Ademais, sinais bioelétricos, eventos de crescimento axonal, deposição de MEC, angiogênese e produção de morfógenos como FGF, Wnt e BMP também são essenciais para a epimorfose nesses animais (Kan *et al.*, 2009; Blum e Begemann, 2012; McLaughlin e Levin, 2018). Sendo assim, mesmo possuindo barbatanas anatomicamente mais simples, a regeneração epimórfica de apêndices e órgãos nesses animais cimeta mecanismos observados em filos anteriores. Contudo, a epimorfose de barbatanas nos peixes Actinopterygii é um fenômeno que aparenta possuir restrições anatômicas visto que amputações realizadas na região abaixo do dermoesqueleto - o endoesqueleto - são incapazes de induzir a regeneração plena nesses animais (Fig.6) (Darnet *et al.*, 2019). Em peixe-zebra, amputações no endoesqueleto caracterizam a perda total de poder regenerativo e em Actinopterygii, *A. nigrofasciata*, acarreta o surgimento de membros truncados (Akimenko *et al.*, 2003; Darnet *et al.*, 2019). Porém, curiosamente, Actinopterygii basais, como os do gênero *Polypteros*, ainda retém a capacidade de epimorfose após amputação do endoesqueleto, o que acarreta em implicações evolutivas pertinentes. Isso sendo pois a epimorfose é um mecanismo constitutivo em grande parte dos membros da classe irmã aos Actinopterygii, os Sarcopterygii (Nogueira *et al.*, 2016; Darnet *et al.*, 2019).

Os Sarcopterygii são peixes que se destacam dentro dos estudos evolutivos pois postula-se que tenham tido um papel central durante a conquista do ambiente terrestre à medida que possuem nadadeiras de anatomia mais robusta (Fig.6) (Daeschler *et al.*, 2006). Denominadas de nadadeira-lobadas, a maior rigidez presente nessas estruturas é creditada como tendo sido um dos principais catalisadores da transição da vida aquática para ambientes terrestres por parte dos vertebrados. Deste modo, a colonização desse novo ambiente exigiu a concepção, embora gradativa, de membros locomotores mais complexos como aqueles evidenciados inicialmente em

tetrápodes basais como nos anfíbios (Fröbisch *et al.*, 2014). A proximidade filogenética entre peixes Sarcopterygii e os membros do filo Amphibia é pertinente para os estudos regenerativos pois esses dois grupos de animais contêm os únicos vertebrados capazes de promover epimorfose, sem restrição anatômica e de modo constitutivo, ao longo da vida do indivíduo (Nogueira *et al.*, 2016). Especificamente, dentro do estudo da regeneração epimórfica, os anfíbios da classe Urodela, salamandras e tritões, recebem destaque especial (Joven *et al.*, 2019).

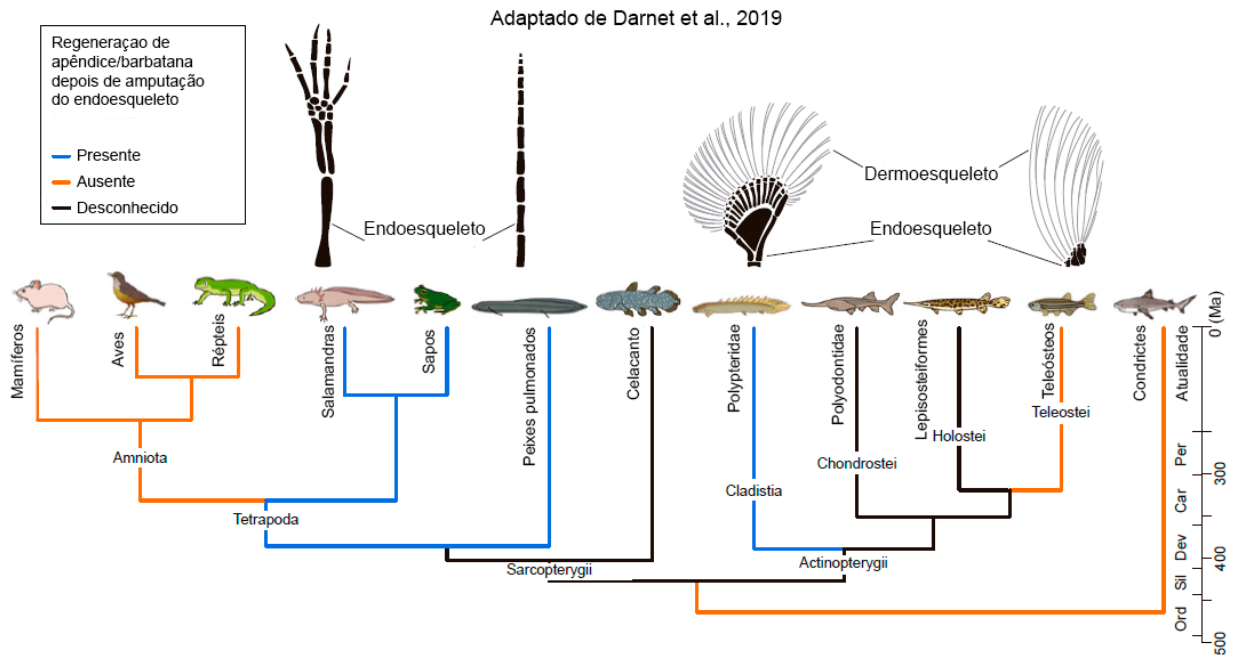


Figura 6 - Distribuição filogenética da regeneração de apêndices após amputação endosquelética entre os vertebrados e da regeneração da barbatana dos Actinopterygii. A parte superior caracteriza representação esquemática do endoesqueleto e dermosqueleto dos apêndices dos vertebrados. A parte inferior descreve em milhões de anos (Ma) a derivação da regeneração epimórfica de apêndices e barbatanas pelos vertebrados. Grupos capazes de reconstituir apêndices e barbatanas após amputação do endoesqueleto estão em azul; grupos incapazes estão em laranja; grupos que ainda não existe informação documentada estão em preto. Fonte: Adaptado de 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., e 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. <https://doi.org/10.1073/pnas.1900475116>.

A salamandra *Ambystoma mexicanum*, ou axolote, é um anfíbio urodelo é um modelo amplamente utilizado devido à capacidade regenerativa observada nos tecidos cardíaco e nervoso que, em vertebrados mais derivados, apresentam baixa capacidade regenerativa. (Maden *et al.*, 2013; Godwin *et al.*, 2017; Vieira *et al.*, 2020). Além disso, esse animal apresenta capacidade regenerativa exacerbada de outras estruturas de maior complexidade anatômica, como os

apêndices locomotores, constituídos por tecidos oriundos dos três folhetos germinativos (Godwin *et al.*, 2013).

Notoriamente, a regeneração epimórfica nesse animal é mediada por um blastema, que se forma após a detecção inicial do rompimento de nervos ao longo da circunferência do apêndice, algo que auxilia na diferenciação entre os ferimentos superficiais e os mais drásticos, como uma amputação (Satoh *et al.*, 2007). Após a injúria, ocorre a reepitelização (McCusker *et al.*, 2015) em paralelo ao crescimento axonal dos nervos remanescentes no coto em direção ao plano de amputação. A interação entre epitélio de injúria e nervos irá formar um complexo secretório necessário para a organização do blastema, o *Apical Epithelial Complex* (Satoh *et al.*, 2007; Joven *et al.*, 2019). Essa estrutura, então, coordena a desdiferenciação das células adjacentes ao plano de amputação em paralelo ao estabelecimento de um infiltrado inflamatório no sítio de injúria (Thornton, 1968; Godwin *et al.*, 2013). Ambos os fenômenos trabalham em conjunto de modo a promover a instauração de uma massa de células desdiferenciadas que irão se consolidar, propriamente, como um blastema. Uma vez formado, o blastema apresenta um perfil transcricional heterogêneo. É visto que ele incorpora sinais inflamatórios, como ROS e citocinas produzidas pelo infiltrado ali gerado, além de fatores comuns aos outros eventos regenerativos citados anteriormente, como sinais bioelétricos, ácido retinóico, a via de Wnt, BMP e FGF (McCusker *et al.*, 2015; Nacu *et al.*, 2016; ; McLaughlin e Levin, 2018; Joven *et al.*, 2019). Por fim, vale ressaltar que em salamandras a epimorfose perdura da embriogênese até o final da vida adulta, o que implica que a metamorfose nesses animais não é deletéria para essa capacidade (Fig. 7) (Godwin, 2014). Essa característica é exclusiva aos urodelos, uma vez que após a metamorfose a habilidade regenerativa em anfíbios anuros é drasticamente diminuída (Godwin e Rosenthal, 2014).

Anfíbios da classe Anura agrupam animais como sapos e rãs, que se destacam dentro dos estudos da epimorfose por apresentarem capacidade regenerativa de maneira transitória (Fig.8) (Phipps *et al.*, 2020). Os anuros, assim como os urodelos, são altamente regenerativos durante estágios mais tardios da embriogênese assim como também na fase larval (Godwin, 2014). Contudo, o que diferencia a regeneração da classe Anura é que esse evento se torna gradativamente mais limitado de acordo com a progressão da metamorfose do animal (Marshall *et al.*, 2019). Após a embriogênese, observa-se que as larvas de anfíbios do gênero *Xenopus* são altamente regenerativas para estruturas como córneas, miocárdio e apêndice caudal (Phipps *et al.*,

2020). Contudo, a progressão do desenvolvimento desse animal ocorre em paralelo com um aumento gradativo de fibrose tecidual após evento de injúria (Godwin e Rosenthal, 2014). Esse fenômeno atinge seu ápice durante uma etapa da metamorfose, denominada de clímax metamórfico, na qual o animal tem um aumento global de produção de hormônio da tireoide (TH) e passa a se assemelhar mais a um sapo jovem do que com uma larva propriamente dita (Fig.7) (Godwin e Rosenthal, 2014; Marshall *et al.*, 2019). Curiosamente, essa situação é similar ao que é evidenciado durante a perda gradativa de poder regenerativo em mamíferos (Easterling *et al.*, 2019). Sendo assim, por estarem evolutivamente entre os urodelos e animais amniotos, como os mamíferos e aves, os anuros são valiosos para a compreensão da derivação da capacidade regenerativa entre os tetrápodes.

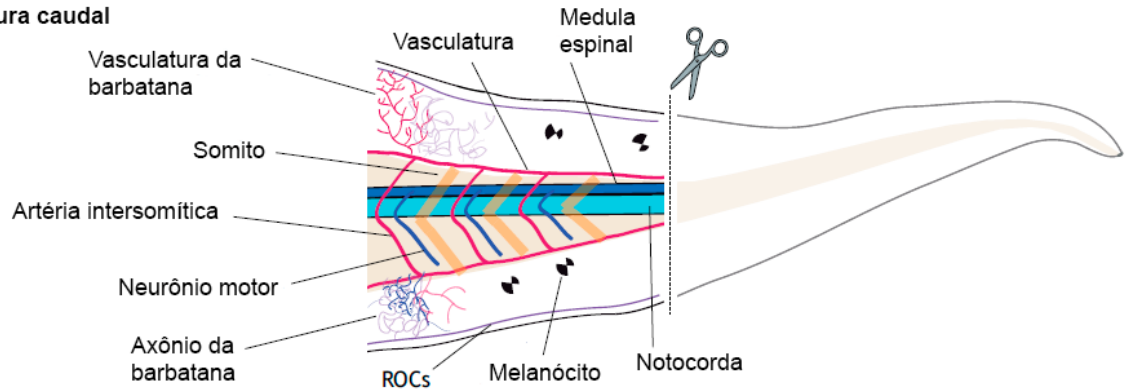
Os anuros se destacam imediatamente dos urodelos dentro da ótica regenerativa por empregarem um broto regenerativo durante o evento de epimorfose em detrimento de um blastema (Gargiolo e Slack, 2004). Histologicamente, o broto regenerativo difere de um blastema, principalmente, pelo fato de ser constituído por progenitores de linhagem específica ao invés das células multipotentes encontrados no blastema – embora, recentemente, tenha sido reconhecido que o blastema talvez não contenha células com características multipotentes como antes era concebido (Stocum, 2017). Contudo, morfológicamente, essas estruturas são parecidas e o broto regenerativo também conta com a formação de um epitélio de injúria especializado além de elementos regenerativos vindos da medula espinhal e notocorda (Mochii *et al.*, 2007; Phipps *et al.*, 2020). Ademais, recentemente, foram reconhecidas duas populações celulares específicas da regeneração de *Xenopus*, até então, denominadas de *Regeneration Organization Cells* e *Apical-ectodermal-ridge cells*, que auxiliam durante o estabelecimento do epitélio de injúria e progressão inicial da regeneração caudal (Aztekin *et al.*, 2019, 2020).

Paralelamente, sinais inflamatórios ganham enorme destaque durante a regeneração epimórfica em anfíbios, como, por exemplo, a produção de ROS gerada após a injúria e quebra de homeostase, assim como a presença de um infiltrado de monócitos (Ferreira *et al.*, 2018; Aztekin *et al.*, 2020; Pentagna *et al.*, 2021). Ademais, observa-se que o programa regenerativo apresenta elementos bem conservados entre essas duas classes de anfíbios uma vez que sinais bioelétricos e a recapitulação de vias de desenvolvimento embrionário também são relevantes para a regeneração em *Xenopus*, como BMP, Wnt, SHH, NOTCH, TGF β e FGF (Fig.7) Godwin e Rosenthal, 2014; McLaughlin e Levin, 2018; Joven *et al.*, 2019; Phipps *et al.*, 2020).

Notoriamente, é observado que a expressão ectópica desses fatores embrionários é capaz de induzir um aumento da capacidade regenerativa transitória em animais adultos, possibilitando a regeneração de estruturas, como dígitos, e regeneração de membros truncados (Yokoyama et al., 2001).

Sendo assim, os anuros introduzem um cenário mais restritivo para a epimorfose em vertebrados, característica que se acentuou entre os mamíferos.

A Estrutura caudal



B Estágios da regeneração caudal

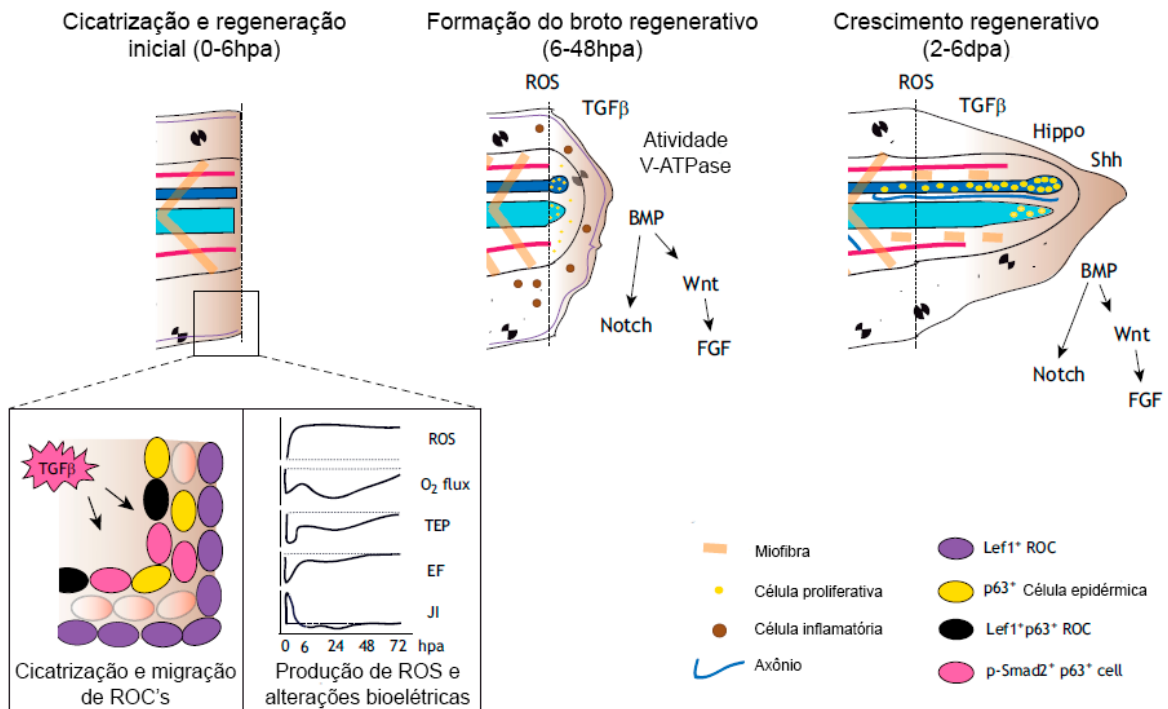


Figura 7 – Processo de regeneração da cauda de Xenopus. A) A cauda do girino intacta contém músculo somítico (laranja), uma notocorda (azul claro), vasculatura (vermelho) e células epidérmicas, incluindo as células de

reorganização (ROCs, roxo) e melanócitos (preto). A cauda também contém uma medula espinhal (azul escuro), de onde saem os axônios através gânglios espinhais para enervar a nadadeira. Os neurônios motores estendem os axônios ao longo das fronteiras intersomáticas. B) A lesão induz a cicatrização da ferida e o início da regeneração (0-6 h pós-amputação, hpa), o que requer mudanças bioelétricas e a regulação positiva de moléculas de sinalização (mostradas na legenda), incluindo ROS e TGF β . Sinalização por TGF β é necessária para a cicatrização de feridas pelas células epidérmicas p63 +. Lef1 + ROCs, que também podem expressar p63, contribuindo para o epitélio da ferida e para o início de regeneração. A partir de 6-48 hpa, o broto se forma, contendo células em proliferação e estruturas regenerativas da medula espinhal e notocorda. De 2 dpa, o crescimento regenerativo começa coincidindo com o crescimento axonal, da medula espinhal, notocorda e vasculatura no regenerado. As miofibras degeneram e são substituídas por novas miofibras, que se originam das células satélites Pax7 + (não mostradas). Melanócitos surgem dentro do regenerado a partir de precursores de melanócitos. Algumas das principais vias de sinalização implicadas na regeneração são mostradas ao lado da regeneração da cauda. EF, campo elétrico; JI, densidade de corrente elétrica; TEP, potencial transepitelial. Fonte: Adaptado de Model systems for regeneration: *Xenopus* Lauren S. Phipps, Lindsey Marshall, Karel Dorey, Enrique Amaya Development 2020 147: dev180844 doi: 10.1242/dev.180844 Published 19 March 2020

Filogeneticamente, a classe Mammalia abriga os vertebrados mais derivados. Dentro desse contexto evolutivo, podemos constatar que o estabelecimento de programas imunitários antimicrobianos mais robustos nesse grupo parece ter ocorrido em detrimento de estratégias poderosas de regeneração (Barreda *et al.*, 2017; Flajnik, 2018; Seifert e Muneoka, 2018a). Realisticamente, observa-se que a epimorfose em mamíferos ocorre de forma robusta entre o desenvolvimento embrionário e as duas primeiras semanas pós-nascimento (Fig.8) (Porrello *et al.*, 2011; Godwin, 2014). Durante esse intervalo de tempo é constatado que tecidos de baixa capacidade regenerativa entre mamíferos adultos, como miocárdio, conseguem se reconstituir de maneira perfeita (Lam e Sadek, 2018). Contudo, no período pós-natal ocorre uma perda gradativa da capacidade regenerativa que, aparentemente, surge em paralelo ao aumento da complexidade dos órgãos linfóides e um aumento global da disponibilidade TH (Hirose *et al.*, 2020). Contudo, notoriamente, alguns mamíferos ainda são capazes de promover constitutivamente uma epimorfose anatomicamente restrita, algo que nos auxilia a compreender o funcionamento desse programa em vertebrados superiores (Simkin *et al.*, 2015; Maden e Varholick, 2020). Sendo assim, roedores, sobretudo o camundongo *Mus musculus*, são amplamente utilizados como modelo regenerativo em mamíferos (Seifert e Muneoka, 2018b). Porém, outros roedores, como o *Acomys cahirinus*, têm surgido como modelos mais poderosos e menos restritivos para esses estudos por empregarem epimorfose de modo constitutivo em diferentes órgãos e apêndices (Maden e Varholick, 2020).

Notoriamente, a regeneração epimórfica do camundongo ocorre pelo intermédio de um broto regenerativo que possui células multipotentes de linhagem restrita como progenitores

endoteliais e osteoprogenitores (Lehoczky *et al.*, 2011; Dolan *et al.*, 2018). Destacadamente, a formação dessa estrutura se dá com a amputação precisa no plano médio da falange P3 do animal adulto (Neufeld e Zhao, 1995; Takeo *et al.*, 2013). Seguidamente, é constatado que a reepitelização da injúria progride de maneira diferente se comparada aos modelos de peixe e anfíbios por não recobrir completamente o sítio da injúria, revestindo somente as bordas rentes ao osso exposto do dígito presente no coto. Logo após, a epiderme inicia um evento de histólise tecidual, mediada por osteoclastos e monócitos que são mobilizados para o plano de amputação (Simkin *et al.*, 2015; Lampiasi *et al.*, 2016). A degradação do tecido ósseo do coto promove a reorganização do plano que permite o estabelecimento do broto distalmente ao sítio de injúria.

A origem dos progenitores celulares necessários para o estabelecimento do broto não é bem compreendida, com apenas algumas células de linhagem específica sendo bem descritas (Lehoczky *et al.*, 2011). Contudo, o evento de histólise e de crescimento do tecido ósseo é conectado ao surgimento de progenitores de linhagem celular durante a epimorfose de dígitos (Sammarco *et al.*, 2015; Sensiate e Marques-Souza, 2019). Além disso, também é evidenciado que algum grau de conservação de mecanismos fisiológicos e transcricionais existe entre esses roedores e modelos mais regenerativos, como o axolote (Fernando *et al.*, 2011; Rinkevich *et al.*, 2011; McLaughlin e Levin, 2018). Ademais, outros eventos regenerativos no camundongo e em mamíferos, de modo geral, são mediados pelo sistema imune. Isso podendo ser observado a medida que o poder restaurativo da classe Mammalia fica concentrado, principalmente, no reparo de danos superficiais através do programa de cicatrização, em detrimento da regeneração. Algo que ocorre pelo intermédio de mecanismos inflamatórios (Varela *et al.*, 2018).

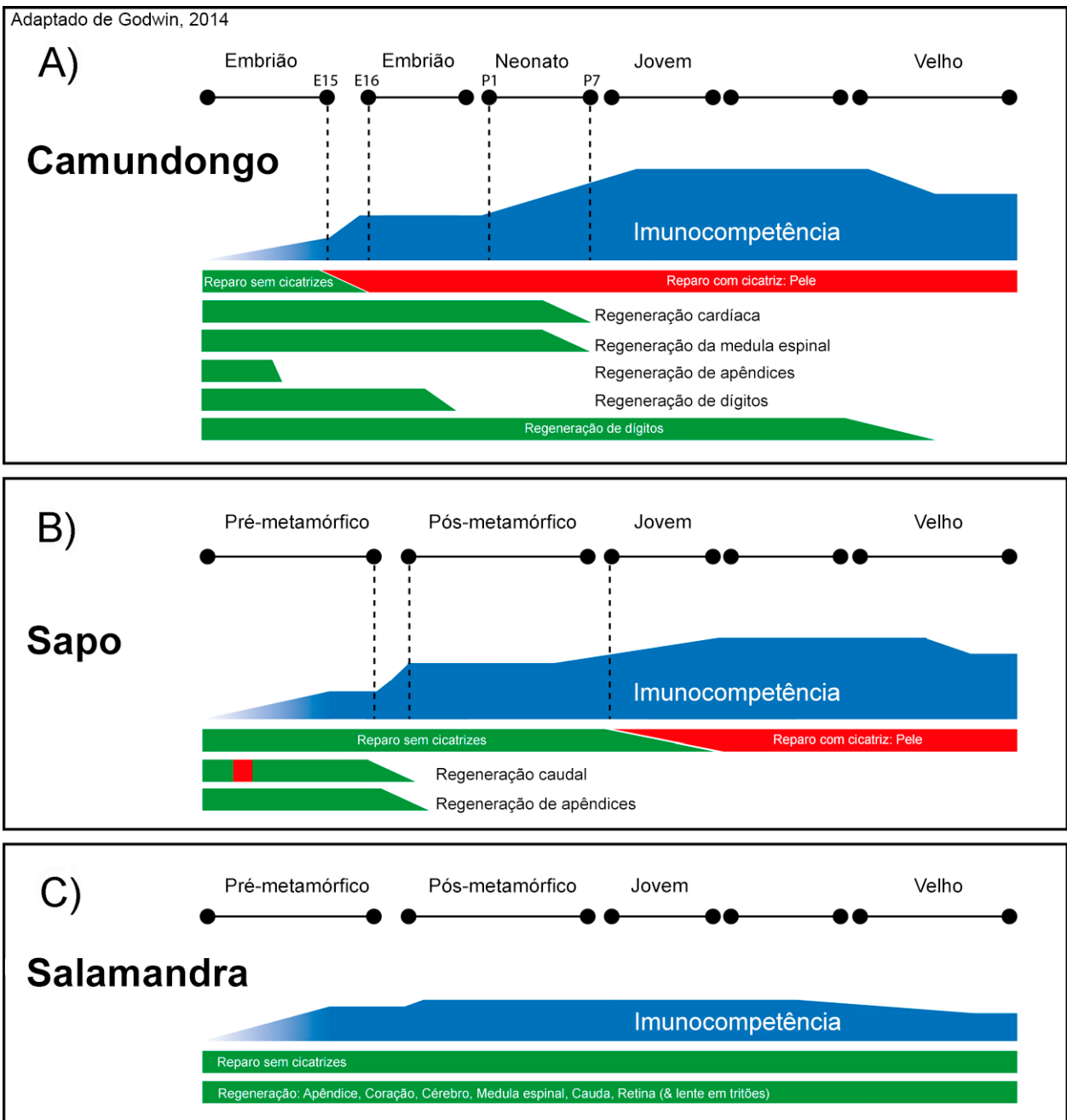


Figura 8 - Restauração tecidual sem cicatrizes e regeneração de apêndices são capacidades progressivamente perdidas com o desenvolvimento em ratos e sapos, mas mantidas em todas as fases da vida em salamandra. A) Perda de cicatrização sem fibrose tecidual em camundongos está associada às mudanças drásticas no sistema imune do embrião no período de transição entre dia embrionário 15 e 16 (E15, E16), indicado com linhas tracejadas. A perda de capacidade regenerativa do coração e medula espinhal ocorre no início da vida pós-natal entre 1 e 7 dias (P1 P7), correlacionando-se às principais alterações no SI. Regeneração completa de apêndices é perdida precocemente durante o desenvolvimento. Regeneração completa de dígitos próximos à articulação interfalangiana proximal e leito ungueal é perdida antes da vida neonatal, enquanto a regeneração distal ao leito ungueal é mantida na idade adulta. **B)** A rã *Xenopus* mostra uma progressiva perda de potencial regenerativo se aproximando do clímax metamórfico, algo que ocorre em paralelo à maturação do sistema imune adaptativo. É observada perda transitória da capacidade regenerativa durante a janela de desenvolvimento na qual células do sistema imunológico de origem mielóide

aparecem na ausência de células T reguladoras. O retorno da capacidade regenerativa durante o desenvolvimento inicial do *Xenopus* se correlaciona com a gênese de células T reguladoras. A restauração sem cicatriz é observada em algum grau em sapos jovens ao final da metamorfose. Porém, ultimamente, capacidade plena de RE é perdida em adultos. C) Salamandras detém capacidade de restauração sem cicatrizes e regeneração de apêndices a vida toda. Fonte: Adaptado de Godwin, J. (2014). The promise of perfect adult tissue repair and regeneration in mammals: Learning from regenerative amphibians and fish. *BioEssays*, 36(9), 861–871. <https://doi.org/10.1002/bies.201300144>

3.3 Células fagocíticas mielóides e plasticidade fenotípica e funcional: papel dos mecanismos epigenéticos

Diante da plasticidade funcional observada em células fagocíticas mielóides, diversos mecanismos têm sido estudados visando uma melhor compreensão dos principais eventos mecanísticos que coordenam de forma dinâmica, no tempo e no espaço, a plasticidade fenotípica dessas células. A literatura ainda debate se existe uma substituição de populações fenotípicas ou se essas células podem alterar seu fenótipo e funcionalidade mesmo na ausência de estímulos oriundo do microambiente.

Dentre os mecanismos mais estudados, destacaremos os de natureza epigenética, com foco nas MPT em histonas nucleossomais e controle da expressão gênica. Os avanços gradativos sobre a compreensão da maquinaria transcricional, mostrando a importância da MPT, têm trazido à cena os mecanismos epigenéticos como uma importante fonte de plasticidade funcional e fenotípica. Assim, em 1942, C. H. Waddington, com a criação do termo Epigenética buscava compreender como o fenótipo pode ser modulado sem a interferência na informação presente na sequência genômica de um ser vivo, o que introduziu a noção de Epigenoma (Waddington, 1942). Desde então, o estudo da epigenética tem se expandido de modo a se estender de eucariotos até procariotos e vírus, nos mostrando o impacto que elementos de controle da expressão gênica desempenham para a funcionalidade de diversos sistemas biológicos.

Fisiologicamente, durante a interfase, o DNA se apresenta sob a forma de cromatina, sendo composto pelo esqueleto helicoidal de nucleotídeos e proteínas histona (Stewart-Morgan *et al.*, 2020). Essa interação promove alterações no perfil topológico da dupla fita, afetando a disponibilidade de sítios transcricionais e propiciando a capacidade de regulação da expressão gênica de acordo com demanda e contexto. Desta maneira, a presença dessas proteínas regula o nível de compactação da cromatina (Wang *et al.*, 2019). Assim, alterações da expressão gênica por meio de mudanças conformacionais dinâmicas envolvem MPT's das histonas distribuídas em subunidades octaméricas da cromatina denominadas de nucleossomos. Dentro desse cenário, existem estratégias de controle epigenético de cunho bioquímico, como metilação e acetilação,

que atuam diretamente nas histonas, alterando a interação eletrostática entre o DNA e a porção N-terminal das histonas, culminando em alterações nos padrões de expressão gênica (Allis e Jenuwein, 2016).

As histonas expõem terminações (cauda N-terminal) de aminoácidos susceptíveis a atuação catalítica de enzimas promotoras da regulação epigenética (Verdin e Ott, 2015). Dentro desse contexto, histonas podem sofrer alterações, denominadas de *cis*, por enzimas “escritoras”, como as histona acetiltransferases (HAT’s), que acoplam grupamentos acetila de carga negativa diretamente à porção N-terminal de histonas nucleossomais (Fig.9) (Allis e Jenuwein, 2016). Esse evento culmina na diminuição da compactação da cromatina promovendo a formação da eucromatina, e favorecendo a transcrição gênica. A presença de grupamentos nos terminais de lisina das histonas ainda permite mais um nível de modificação, denominado *trans*, no qual esses radicais promovem a ancoragem de proteínas que estabilizam as modificações das transferases, atuando como reguladoras epigenéticas da expressão gênica (Fig.9) (Dhalluin *et al.*, 1999). Ademais, a estrutura octamérica do nucleossomo é formada por homodímeros das histonas H2A, H2B, H3 e H4 (Luger *et al.*, 1997). Assim, MPT’s em histonas em um mesmo nucleossomo são altamente moduláveis, permitindo a assinatura de identidades epigenéticas variadas entre subunidades. Essa propriedade torna possível uma regulação fina durante o acionamento de diferentes perfis transcricionais ao longo de eventos dinâmicos, como a inflamação, por exemplo (Busslinger e Tarakhovsky, 2014). Contudo, MPTs em histonas, por sua vez, são modificações reversíveis e dinâmicas durante o controle da expressão gênica (E. Li e Zhang, 2014; Verdin e Ott, 2015). Sendo assim, os grupamentos acoplados nos resíduos de lisina são susceptíveis à ação catalítica de enzimas “apagadoras”, como as histona desacetilase (HDAC) no caso das acetilas, que catalisam a remoção do radical desses terminais. Esse evento de remoção da acetila aumenta a afinidade do octâmero pela fita de DNA, o que promove a compactação da cromatina e consequente repressão transcricional (Fig. 9).

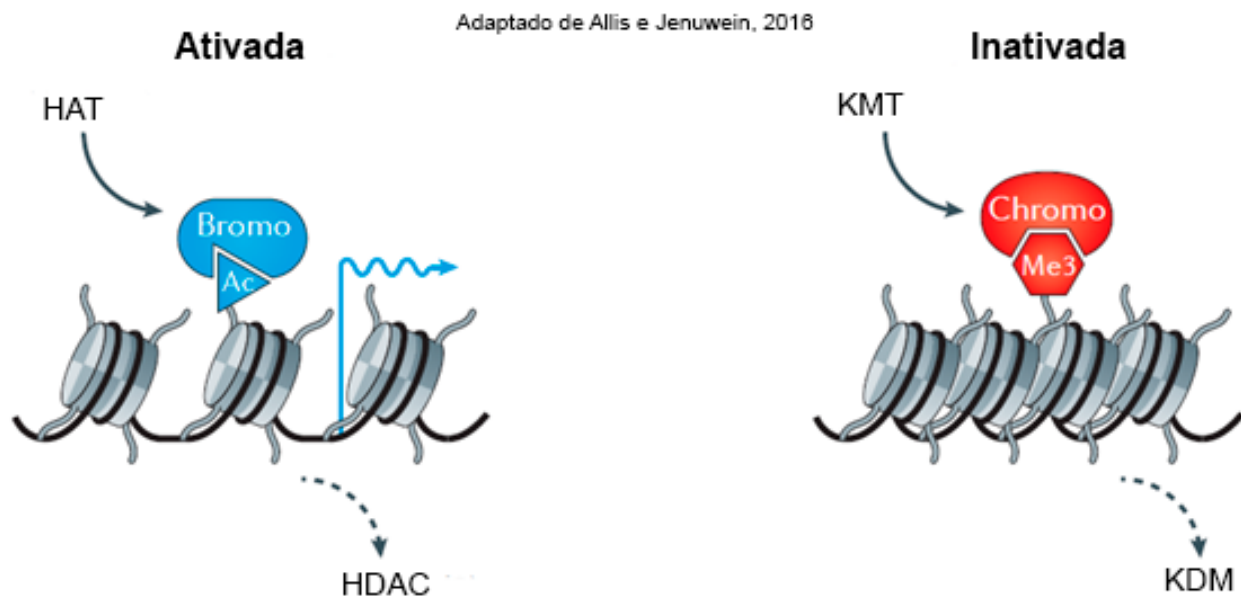


Figura 9 - Representação esquemática de MPT's de histonas indutoras de fenótipos correlacionados à ativação e repressão transcricional. A HAT acetila a lisina terminal da histona H3 (modificação cis), fornecendo um local de ancoragem para proteínas acessórias do bromodomínio (Bromo) que se ligam e estimulam ainda mais o nucleossomo (modificação trans), aumentando a acessibilidade transcricional. A acetilação da histona pode ser revertida por HDACs, que frequentemente causam repressão transcricional. KMT metila a cauda N-terminal da histona H3, fornecendo um local de ancoragem para a proteínas do cromodomínio na cromatina (cromo), que prejudica a acessibilidade aos nucleossomos e induz a repressão gênica. A reversibilidade da metilação da histona lisina podendo ser promovida por histona demetilases (KDM). Fonte: Adaptado de Allis, C. D., e Jenuwein, T. (2016). The molecular hallmarks of epigenetic control. *Nature Reviews Genetics*, 17(8), 487–500. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.59>

Destacadamente, a compreensão aprofundada do funcionamento de mecanismos da maquinaria epigenética, como a acetilação de histonas, por sua vez, nos auxilia a mapear flutuações transcricionais que ocorrem em cenários patológicos, sobretudo, aqueles que têm o evento inflamatório como um relevante componente de doenças crônicas (McIntyre *et al.*, 2013; McClure *et al.*, 2018). Dentro dessa ótica, a inflamação é um evento dinâmico, dividido nas fases inflamatória e resolutive, aonde a dispersão de indutores pelo microambiente de injúria promove uma progressão adequada com retorno à homeostase (McIntyre *et al.*, 2013; Serhan *et al.*, 2017).

Dentro dessa ótica, os monócitos se destacam dentro do cenário de inflamação por apresentarem uma maquinaria enzimática extremamente responsiva a estímulos pro-inflamatórios e pro-resolutivos que permite uma atuação enfática durante a totalidade do processo de reparo (Murray, 2017). Dentro dessa lógica, observa-se que a acetilação de histonas surge como um mecanismo atraente para a melhor compreensão da regulação de processos inflamatórios uma vez que é necessária para a indução de vias clássicas em fagócitos como aquelas mediadas por TLR's

e IFN por meio da regulação de NFκB (Shakespeare *et al.*, 2011; X. Chen *et al.*, 2012;). Ademais, também se observa que em casos patológicos onde a inflamação se cronifica, a atuação contínua desses fagócitos promove fibrose tecidual extensiva, causando perda de função e comorbidades associadas (Iyer *et al.*, 2012). Sendo assim, a investigação da maquinaria dinâmica de acetilação se torna pertinente frente a eventos de regulação de fagócitos mielóides durante a inflamação.

Assim, enzimas HDAC têm importante papel durante a diferenciação mielóide de modo geral. Enquanto que HDAC-V é up-regulada durante a diferenciação de macrófagos em humanos (Shakespeare *et al.*, 2011), HDAC-III é responsável por regular negativamente esse evento reprimindo a expressão gênica do fator de transcrição de diferenciação mielóide, PU.1 (Shakespeare *et al.*, 2011). Ademais, HDAC-III se destaca por ficar ligada ao promotor de PU.1 em monócitos sanguíneos de maneira a ser mobilizada durante a indução de um ambiente pró-inflamatório (Natoli *et al.*, 2011; Ghisletti *et al.*, 2010). Paralelamente, alterações no funcionamento de enzimas HDAC-III têm o potencial de promoção da diferenciação de macrófagos M2 e, conseqüentemente, do estabelecimento de um perfil pró-resolutivo em ambiente de injúria (Chen *et al.*, 2012; Cabanel *et al.*, 2015, 2019). Ademais, é constatado que Sirtuinas, uma classe de desacetilases, têm um importante papel durante a regulação da resposta pró-inflamatória de monócitos pela indução da expressão de *IRF-8* (Jia *et al.*, 2017). Ademais, a interferência nesse evento também desencadeia uma maior expressão de citocinas pró-inflamatórias no ambiente de injúria que está correlacionada a uma extensão da cicatrização (Ka *et al.*, 2015; Jia *et al.*, 2017). Contudo, o papel da acetilação de maneira geral ainda é menos caracterizado do que MPT's como a metilação, o que deixa muitas portas abertas para delimitação de mecanismos epigenéticos de regulação do reparo tecidual (Verdin e Ott, 2015; Huang *et al.*, 2019). Deste modo, são poucos os fármacos de natureza epigenética que exploram o mecanismo de acetilação e que também são aprovados para uso humano. Assim, quatro são as drogas que atuam na maquinaria de acetilação que são aprovados pela *Food and Drug Administration*. Sendo assim, o ácido hidroxâmico de suberoilânilida (SAHA), Belinostat, Panobinostat e Romidepsina são caracterizados como sendo pan-inibidores por atuarem em enzimas HDAC das classes I, II e IV (McIntyre *et al.*, 2019). Por sua vez, a Romidepsina se destaca das demais por ser um peptídeo cíclico cujo a atividade pode ser especificada de modo a interagir exclusivamente com as enzimas HDAC-I (Fr- *et al.*, 2008). Contudo, muitas são as drogas de atuação na maquinaria de acetilação que estão em fases de testes e que demonstram

resultados promissores (McIntyre *et al.*, 2019). Podemos, aqui, destacar a Tricostatina A, um pan-inibidor das enzimas HDAC que atua de modo similar ao SAHA (Fig.10)

Dentro de um cenário de doenças inflamatórias crônicas e autoimunes, é constatado que o TSA tem algum grau de sucesso como um agente indutor de cenário anti-inflamatório. Especificamente, o TSA é observado como sendo capaz de modular, *in vitro*, o perfil da expressão de citocinas de macrófagos para um perfil misto, M1 e M2 (Cabanel *et al.*, 2015). Além disso, após administração tópica, o emprego de TSA também é correlacionado com uma aceleração do reparo tecidual cutâneo em camundongo (Cabanel *et al.*, 2019). Observa-se, ainda, que o TSA também modula a capacidade regenerativa em modelo de *Xenopus laevis* aonde quando larvas no estágio 40, em fases iniciais da inflamação após serem amputadas, são incubadas com TSA, a regeneração da cauda não ocorre (Tseng *et al.*, 2011; Pentagna *et al.*, 2021). Sendo assim, o controle dos mecanismos inflamatórios pela atividade HDAC surge como uma alternativa terapêutica promissora para o desenvolvimento de estratégias de natureza epigenética para doenças inflamatórias.

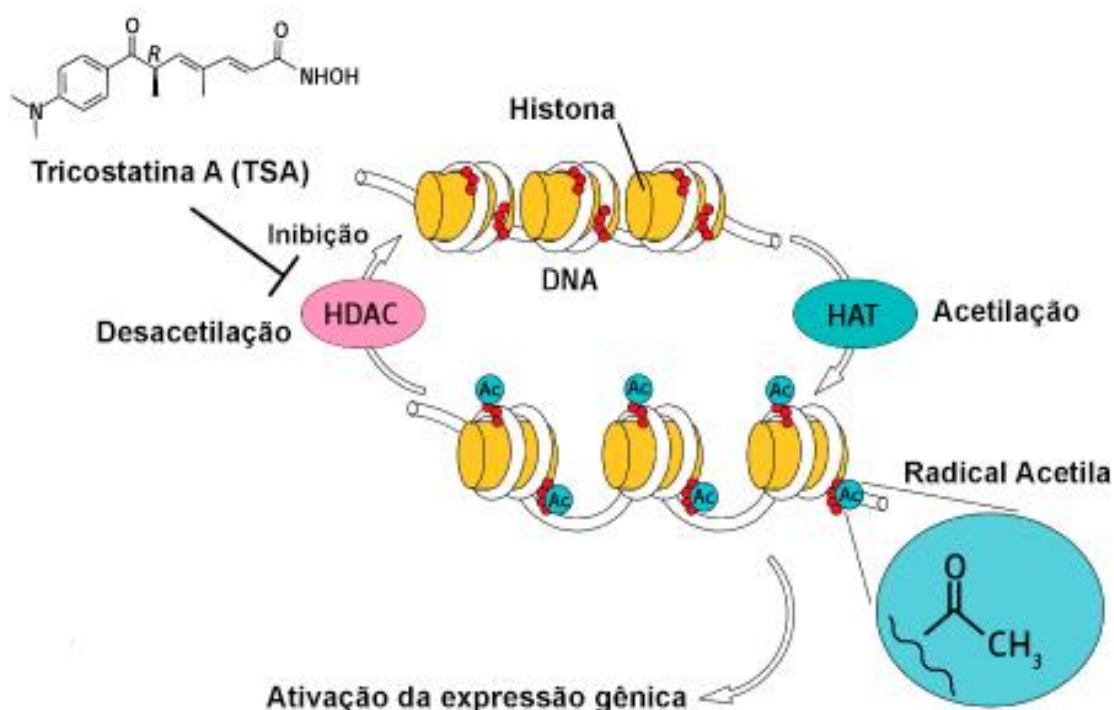


Figura 10 – Representação esquemática de modulação epigenética por meio de fármacos. O TSA atua em mamíferos como inibidor seletivo das enzimas HDAC das classes I e II. O interferência com o processo de desacetilação garante um fenótipo hiperacetilado da cromatina, o que desencadeia uma expressão gênica heterogênea devido ao maior relaxamento entre nucleossomos, aumentando a disponibilidade de sítios transcripcionais. Fonte: Adaptado de <https://wiki.bioguider.com/doc-view-8290.h>

3.4 Recapitulação

Fica constatado, assim, que a presença de células fagocíticas amebóides precede a noção de indivíduos multicelulares. Notoriamente, o estabelecimento de populações dedicadas a essa função específica parece ter sido chave para o surgimento da pluricelularidade uma vez que atuam como mecanismos de digestão e de resposta imune já em metazoários basais, como os poríferos. Gradativamente, essas células fagocíticas vão sendo incumbidas de atributos, como os TLR's dependentes de Myd88 em epitélios de cnidários, até que os equinodermas consolidam a noção de fagócitos imunes circulantes e intersticiais dedicados, com os celomócitos. Além disso, o filo Echinodermata se destaca em especial por ter introduzido os primórdios de um sistema circulatório, através do sistema ambulacrário, o qual também pode ser utilizado pelos celomócitos durante a navegação pelo corpo do animal em evento de epimorfose. Destacadamente, já é evidenciado que essas células possuem genes especificadores de linhagem mielóide, algo que ganhou robustez em cordados basais, como as ascídias, os quais introduziram o conceito de hematopoese e estabeleceram, de fato, uma linhagem mielóide no filo Chordata. Ademais, dentre os vertebrados, evidencia-se que o ganho gradativo de aparatos adaptativos e de poder inflamatório do sistema imune ocorreu em paralelo à perda da capacidade de promoção de programas de reparo poderosos como a epimorfose. Contudo, curiosamente, constata-se que agentes celulares da imunidade inata, como os monócitos, são células fundamentais para a promoção de programas regenerativos como um todo dentre os cordados. Sendo assim, a inflamação regida pelos monócitos é um evento central para programas regenerativos que variam entre os mais poderosos, como a epimorfose, até os mais superficiais, como a cicatrização. Podemos destacar, ainda, que os vertebrados possuem uma linhagem de monócitos embrionários, de perfil mais homeostático que inflamatório, que são fundamentais durante a organogênese e padronização axial desses animais. Sendo assim, observando o papel fundamental que esses mielócitos exercem durante diferentes eventos de organização tecidual e anatômica, se faz pensar que essa linhagem tem um perfil transcricional majoritariamente conservado ao longo da evolução que foi, gradativamente, se tornando mais inflamatório que regenerativo. Assim, a análise da maquinaria epigenética que rege a regulação da expressão gênica dessas células se torna algo pertinente para a elucidação das vias inflamatórias conservadas entre os diferentes modelos investigativos da regeneração.

3.5 Discussão

Observamos, então, que células fagocíticas parecem ser indispensáveis para a constituição da pluricelularidade entre os metazoários visto que são muito bem difundidas entre os diferentes filos, atuando como mecanismos de digestão, antimicrobianos e de reparo. Notoriamente, a presença de fagócitos imunes parece ser algo tão fundamental para a constituição da multicelularidade que exemplos de analogia podem ser encontrados em protistas de multicelularidade transitória, como o bolor limoso. Esses microrganismos se destacam por serem amebócitos de vida livre que conseguem dar origem a uma conformação multicelular transitória, denominada de lesma. Essa forma cilíndrica tem função reprodutiva e chama atenção, em específico, por induzir o surgimento de uma população celular especializada (células S) em neutralizar infecções microbianas (Chen *et al.*, 2007). Separadamente, as células do bolor limoso se alimentam de bactérias, mas, nessa conformação reprodutiva, elas empregam uma estratégia fagocítica destinada especificamente à interceptação de patógenos. Notoriamente, as células S apresentam receptores que detém função e estrutura similar ao que é encontrado nos TLR's vistos em metazoários (Chen *et al.*, 2007). Ademais, essas células também se utilizam de redes extracelulares de DNA frente ao estímulo de ROS, similarmente à resposta empregada por neutrófilos em vertebrados (Zhang *et al.*, 2016). Deste modo, embora por analogia, esses protistas estabelecem uma possível conexão entre a presença de uma resposta imune celular comum e os primórdios da multicelularidade eucariótica. Essa observação, por sua vez, abre portas para a investigação do surgimento de fagócitos imunológicos ao longo do estabelecimento anatômico entre os eucariotos.

Assim sendo, é extremamente interessante analisar o papel que os mielócitos desempenham durante a embriogênese dos vertebrados. Sobretudo, a população mielóide primitiva é caracterizada como sendo importante durante organização axial embrionária e manutenção da homeostase tecidual (Wynn *et al.*, 2013). Particularmente, essa população celular aparenta ser fundamental para a organogênese de maneira generalizada uma vez que camundongos *Csf1^{op/op}* (um fator que estimula a diferenciação de colônias de macrófagos) apresentam diversas anomalias anatômicas durante a embriogênese, como a indução de osteopetrose devido à deficiência de osteoclastos (Pollard, 2009). Ademais, também é documentado que a micróglia é fundamental para a padronização adequada do encéfalo de camundongos, mostrando que esses mielócitos primitivos são centrais para a organogênese

embrionária (Erblich *et al.*, 2011). Podemos adicionar, ainda, que esses macrófagos primitivos são fundamentais durante o modelamento de outras regiões anatômicas como o pâncreas, miocárdio, rins e glândulas mamárias onde, nessa última estrutura, eles ganham destaque por trabalharem em harmonia com as células tronco residentes dessas glândulas de modo a promover a homeostase tecidual (Gyorki *et al.*, 2009; Erblich *et al.*, 2011; Stefater *et al.*, 2011).

De modo similar, observa-se que a interação entre macrófagos residentes e células tronco aparenta ser algo relativamente comum e, em outros tecidos de mamíferos adultos, como o epitélio intestinal e medula óssea vermelha, esses mielócitos são fundamentais para a diferenciação celular por meio da interação com linhagens multipotentes (Pull *et al.*, 2005; Chow *et al.*, 2011). Ainda se destaca que macrófagos circulantes, vindos da hematopoese embrionária definitiva, são responsáveis pela eferocitose de corpos apoptóticos durante a padronização de dígitos (Hopkinson-Woolley *et al.*, 1994). Assim, fica evidente o papel dos macrófagos para a organogênese embrionária. Algo que ganha relevância à medida que mielócitos em ambiente embrionário são correlacionados com um maior poder regenerativo em amniotos e anuros (Lam e Sadek, 2018; Aztekin *et al.*, 2020; Pentagna *et al.*, 2021).

Observa-se que macrófagos são fundamentais durante a regeneração do miocárdio em camundongos neonatos assim como durante a epimorfose da barbatana caudal de zebrafish e o estabelecimento do blastema em axolote (Godwin *et al.*, 2013; Simões *et al.*, 2020). Esses três animais em específico se destacam por possuírem um programa inflamatório (mesmo que transitório no caso do neonato) mais brando que é considerado como sendo um dos fatores indutores de um ambiente pro-regeneração (Godwin, 2014).

Como mencionado anteriormente, os peixes ósseos ainda não apresentam uma inflamação danosa o suficiente que demande uma compartimentalização inflamatória no sentido de que a apoptose não incita um “clearance” por parte dos fagócitos imunes (Rieger *et al.*, 2012). Paralelamente, o ganho de poder inflamatório em vertebrados mais derivados, como em mamíferos adultos, parece ter ressignificado esses sinais de estresse e morte celular como forma de transição para um programa de resolução da inflamação e retorno à homeostase (Arienti *et al.*, 2019). Dentro dessa ótica, é evidenciado que, especialmente em animais que tem uma epimorfose apenas em fases e embrionárias/larvais, como mamíferos e anfíbios anuros, o acúmulo de ROS e corpos apoptóticos no local de injúria são indutores da regeneração de órgãos e apêndices (Bergmann e Steller, 2010; Ferreira *et al.*, 2018; Saxena *et al.*, 2019). Esse dado ganha destaque à

medida que, como mencionado previamente, é reconhecido que a emergência da resposta inflamatória nesses animais está envolvida com a perda gradativa da epimorfose (Godwin, 2014; Godwin e Rosenthal, 2014). Contudo, embora as vias moleculares embrionárias acionadas durante a regeneração sejam relativamente bem delimitadas, o papel do sistema imune continua elusivo (Abnave e Ghigo, 2019).

Podemos apontar que, em modelo de larva do anuro *Xenopus laevis*, macrófagos com perfil resolutivo predominam no broto regenerativo durante a epimorfose caudal enquanto que a fase refratária para a regeneração é caracterizada pela prevalência de macrófagos pro-inflamatórios (Aztekin *et al.*, 2020). Esse cenário claramente demonstra a recapitulação da dinâmica entre M1 e M2 que é vista em mamíferos, embora a pouca informação transcripcional referente a essas duas populações imunes do broto de *Xenopus* nos impeça de fazer uma comparação adequada. Ademais, apenas é reconhecido que monócitos são fundamentais para a epimorfose, mas ainda não é caracterizado se são populações circulantes, residentes ou ambas (Godwin *et al.*, 2013; Aztekin *et al.*, 2020; Pentagna *et al.*, 2021). Ademais, em camundongos adultos observamos a participação de osteoclastos e monócitos sanguíneos durante a epimorfose de dígitos e que histólise tecidual promovida por essas células está diretamente correlacionada com o sucesso regenerativo (Sammarco *et al.*, 2015; Simkin *et al.*, 2017).

Monócitos são reconhecidos como células altamente plásticas que tem um papel muito importante durante a modulação de ambientes pro-inflamatórios para pro-resolutivos independente do programa de reparo utilizado (Watanabe *et al.*, 2019; Aztekin *et al.*, 2020). Assim, observando essa característica dos monócitos, a elucidação das diferenças transcripcionais existentes entre as populações residentes e infiltradoras de monócitos em anuros e mamíferos é fundamental para o mapeamento de paralelos que ocorrem durante a promoção e perda de poder regenerativo nesses animais. Dentro dessa ótica, modelos reptilianos de investigação de regeneração têm surgido de modo a ampliar o panorama evolutivo da epimorfose observando que lagartos são filogeneticamente posicionados entre os mamíferos e os anfíbios, além de também possuírem espécies capazes de reconstituir apêndices, como o *Eublepharis macularius* (McLean e Vickaryous, 2011). Ademais, abordagens farmacológicas têm nos demonstrado a importância que a sinalização epigenética tem durante a formação de blastemas e brotos regenerativos durante a epimorfose (Tseng *et al.*, 2011; Voss *et al.*, 2019; Pentagna *et al.*, 2021).

A formação do blastema é um tópico pouco compreendido e ainda não é bem delimitado como que células conseguem se desdiferenciar de modo a ainda reterem informação posicional do tecido ao qual pertenciam (Grice e Degnan, 2017). Dentro dessa lógica, experimentos com animais GFP tem desafiado a noção de pluripotência do blastema a medida que, mesmo após evento de desdiferenciação, as células só são capazes de se rediferenciar em populações de mesma linhagem (Kragl *et al.*, 2009). Sendo assim, além de aproximar o funcionamento do blastema àquele visto no broto regenerativo no sentido de restrição de linhagens celulares durante a regeneração, esses experimentos sinalizam que assinaturas epigenéticas são fundamentais para a reconstituição de estruturas perdidas. Não obstante, quando adicionada a flexibilidade da cromatina dos monócitos ao longo da progressão de um evento regenerativo, a utilização de moduladores epigenéticos se torna algo bastante atraente para a análise mais fina da regulação gênica em meio à regeneração.

Nesse cenário o nosso grupo tem demonstrado que, sobretudo, as enzimas da família HDAC são fundamentais para o fenótipo e função de fagócitos mielóides de modo que a inibição de sua atividade interfere diretamente no o perfil secretório de monócitos, modulando positivamente e negativamente os eventos de reparo e regeneração, dependendo do modelo investigativo (Tseng *et al.*, 2011; M. Cabanel *et al.*, 2015, 2019; Pentagna *et al.*, 2021;).

In vitro, demonstramos que macrófagos originados a partir da diferenciação de células obtidas de medula óssea de camundongo, quando em presença de TSA, apresentam um perfil secretório misto M1/M2 além de uma morfologia mais alongada (Cabanel *et al.*, 2015). Não obstante, experimentos realizados com a aplicação ectópica desse fármaco em lesões cutâneas de camundongo sinalizaram um aumento na velocidade de reparo tecidual além de incitar a formação de um tecido conjuntivo exuberante que possui macrófagos de morfologia alongada (Cabanel *et al.*, 2019).

Contudo, de modo surpreendente, nós também detectamos que a aplicação de TSA, exclusivamente nas primeiras 24h após amputação caudal da larva de *Xenopus laevis*, é algo deletério à epimorfose uma vez que impede a regeneração (Tseng *et al.*, 2011; Pentagna *et al.*, 2021). A cinética de recrutamento de monócitos para o plano de amputação também é afetada na presença de TSA, observando-se a persistência de células neutrofílicas por mais tempo (Pentagna *et al.*, 2021). Paralelamente, também é detectado que a abundância de corpúsculos lipídicos é afetada na presença de TSA em comparação com animais WT. Nesse caso, o número dessas

organelas é diminuído, embora a cinética seja similar entre os grupos (Pentagna *et al.*, 2021). Além disso, também foi detectada a prevalência de estruturas elétrondensas no tecido regenerado em animais tratados com TSA algo que, possivelmente, pode estar correlacionado com um acúmulo nos corpúsculos lipídicos do intermediário da síntese de lipídios pro-resolutivos, o ácido docosa-hexaenóico (Ohsaki *et al.*, 2014). Por fim, ainda foi caracterizado que o *knockdown* para o gene especificador mielóide, *Spib*, em fases anteriores à formação das *isvA* e *isvP* é deletério para a regeneração caudal desses embriões em estágios mais avançados do desenvolvimento, o que implica uma relação direta entre a população primitiva e a capacidade de epimorfose nesses animais (Pentagna *et al.*, 2021).

Assim, esse cenário, como um todo, ilustra o fato de que macrófagos são imprescindíveis para a promoção de programas resolutivos em vertebrados por mecanismos epigenéticos dependentes da atividade HDAC- embora exista uma diferença transcricional fundamental entre as vias acionadas durante a cicatrização e aquelas da regeneração. Contudo, não é caracterizado o tipo de população mielóide que prevalece em brotos regenerativos no sentido de que não se sabe se são monócitos sanguíneos polarizados para um perfil pro-resolução ou se são macrófagos residentes que atuam durante a promoção desse evento – embora os resultados do nosso grupo fortaleçam a ideia de que a população primitiva é central para a epimorfose. Dado que os macrófagos de origem hematopoiética apresentam maior poder pro-inflamatório em animais adultos, se faz pensar que macrófagos residentes de origem embrionária sejam importantes para a padronização axial da epimorfose uma vez que realizam função parecida na embriogênese. Contudo, ainda deve ser feito um trabalho de análise fenotípica de modo que possamos caracterizar melhor os mielócitos mobilizados durante a epimorfose de anfíbios e mamíferos. Dentro desse cenário, a melhor compreensão do ganho e perda de poder regenerativo, possivelmente, nos permitirá desenhar terapias que devolvam aos mamíferos essa capacidade dormente.

4. CONCLUSÕES

- Observa-se que fagócitos imune são fundamentais para a promoção da manutenção da homeostase tecidual dos seres multicelulares e podem ser evidenciados em programas antimicrobianos em metazoários como um todo.
- Equinodermas introduzem, dentro dos deuterostomados, os primórdios da linhagem mielóide e utilizam essas células não somente como fagócitos de defesa como, também, um possível arcabouço de células multipotentes durante evento de epimorfose.
- A hematopoese surge em cordados basais, como as ascídias, e ganha complexidade de acordo com a derivação dos vertebrados. Dentro dessa ótica, é observado que existem paralelos embrionários de migração de células mielóides primitivas entre os animais da classe Vertebrata.
- Macrófagos primitivos são fundamentais para a promoção da homeostase tecidual, epimorfose e embriogênese em vertebrados.
- Programa pro-inflamatório de monócitos aumenta sua intensidade de acordo com a derivação de vertebrados
- Vertebrados mais derivados como os mamíferos apresentam programas de reparo menos poderosos que vertebrados basais.
- Não é caracterizada a população de monócitos prevalentes no broto/blastema em evento de regeneração no sentido de que não é sabido se são originados da medula óssea, se constituem os macrófagos residentes ou se existe um nível equivalente de função.
- Interferência com as enzimas HDAC favorece a cicatrização em mamíferos à medida que impede a epimorfose em anfíbios anuros.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Periódicos disponíveis apenas on line

- Aztekin, C., Hiscock, T. W., Gurdon, J. B., Jullien, J., Marioni, J. C., e Simons, D. (2020). Secreted inhibitors drive the loss of regeneration competence in *Xenopus* limbs. *bioRxiv*.
- Cabanel, M., Brand, C., Oliveira-Nunes, M. C., Cabral-Piccin, M. P., Lopes, M. F., Brito, J. M., De Oliveira, F. L., El-Cheikh, M. C., e Carneiro, K. (2015). Epigenetic control of macrophage shape transition towards an atypical elongated phenotype by histone deacetylase activity. *PLoS ONE*, *10*(7), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132984>
- Cabanel, M., Da Costa, T. P., El-Cheikh, M. C., e Carneiro, K. (2019). The epigenome as a putative target for skin repair: The HDAC inhibitor Trichostatin A modulates myeloid progenitor plasticity and behavior and improves wound healing. *Journal of Translational Medicine*, *17*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12967-019-1998-9>
- Candia Cavernali, M. D. (2006). Regeneration in Echinoderms: repair, regrowth, cloning. *Invertebrate Survival Journal*, *3*, 64–76.
- Cavalier-Smith, T. (2017). Origin of animal multicellularity: Precursors, causes, consequences—the choanoflagellate/sponge transition, neurogenesis and the Cambrian explosion. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *372*(1713). <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0476>
- Dayel, M. J., e King, N. (2014). Prey capture and phagocytosis in the choanoflagellate *Salpingoeca rosetta*. *PLoS ONE*, *9*(5), 1–6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095577>
- Erblich, B., Zhu, L., Etgen, A. M., Dobrenis, K., e Pollard, J. W. (2011). Absence of colony stimulation factor-1 receptor results in loss of microglia, disrupted brain development and olfactory deficits. *PLoS ONE*, *6*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026317>
- Gyorki, D. E., Asselin-Labat, M. L., van Rooijen, N., Lindeman, G. J., e Visvader, J. E. (2009). Resident macrophages influence stem cell activity in the mammary gland. *Breast Cancer Research*, *11*(4), 1–6. <https://doi.org/10.1186/bcr2353>
- Havixbeck, J. J., Rieger, A. M., Wong, M. E., Wilkie, M. P., e Barreda, D. R. (2014). Evolutionary conservation of divergent pro-inflammatory and homeostatic responses in lamprey phagocytes. *PLoS ONE*, *9*(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086255>
- Jiménez-Merino, J., Santos De Abreu, I., Hiebert, L. S., Allodi, S., Tiozzo, S., De Barros, C. M., e Brown, F. D. (2019). Putative stem cells in the hemolymph and in the intestinal submucosa of the solitary ascidian *Styela plicata*. *EvoDevo*, *10*(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s13227-019-0144-3>
- Maden, M., Manwell, L. A., e Ormerod, B. K. (2013). Proliferation zones in the axolotl brain and regeneration of the telencephalon. *Neural Development*, *8*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/1749-8104-8-1>
- Rieger, A. M., Konowalchuk, J. D., Grayfer, L., Katzenback, B. A., Havixbeck, J. J., Kiemele, M. D., Belosevic, M., e Barreda, D. R. (2012). Fish and Mammalian Phagocytes Differentially Regulate Pro-Inflammatory and Homeostatic Responses In Vivo. *PLoS ONE*, *7*(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047070>
- Sammarco, M. C., Simkin, J., Cammack, A. J., e Fassler, D. (2015). *Hyperbaric Oxygen Promotes Proximal Bone Regeneration and Organized Collagen Composition during Digit Regeneration*. 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140156>

- Solana, J. (2013). Closing the circle of germline and stem cells: The Primordial Stem Cell hypothesis. *EvoDevo*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/2041-9139-4-2>
- Tseng, A. S., Carneiro, K., Lemire, J. M., e Levin, M. (2011). HDAC activity is required during *Xenopus* tail regeneration. *PLoS ONE*, 6(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026382>
- Yutin, N., Wolf, M. Y., Wolf, Y. I., e Koonin, E. V. (2009). The origins of phagocytosis and eukaryogenesis. *Biology Direct*, 4. <https://doi.org/10.1186/1745-6150-4-9>

Periódicos impressos

- Abnave, P., e Ghigo, E. (2019). Role of the immune system in regeneration and its dynamic interplay with adult stem cells. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 87, 160–168. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2018.04.002>
- Adamska, M. (2018). Differentiation and Transdifferentiation of Sponge Cells. *Results and Problems in Cell Differentiation*, 65, 229–253. https://doi.org/10.1007/978-3-319-92486-1_12
- Agata, K., Saito, Y., e Nakajima, E. (2007a). *Unifying principles of regeneration I : Epimorphosis versus morphallaxis Introduction : Epimorphosis versus*. 73–78. <https://doi.org/10.1111/j.1440-169x.2007.00919.x>
- Agata, K., Saito, Y., e Nakajima, E. (2007b). Unifying principles of regeneration I: Epimorphosis versus morphallaxis. *Development Growth and Differentiation*, 49(2), 73–78. <https://doi.org/10.1111/j.1440-169X.2007.00919.x>
- Akimenko, M. A., Mari-Beffa, M., Becerra, J., e Géraudie, J. (2003). Old questions, new tools, and some answers to the mystery of fin regeneration. *Developmental Dynamics*, 226(2), 190–201. <https://doi.org/10.1002/dvdy.10248>
- Alegado, R. A., Brown, L. W., Cao, S., Dermenjian, R. K., Zuzow, R., Fairclough, S. R., Clardy, J., e King, N. (2012). A bacterial sulfonolipid triggers multicellular development in the closest living relatives of animals. *eLife*, 2012(1), 1–16. <https://doi.org/10.7554/eLife.00013>
- Allis, C. D., e Jenuwein, T. (2016). The molecular hallmarks of epigenetic control. *Nature Reviews Genetics*, 17(8), 487–500. <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.59>
- Amano, S., e Hori, I. (2008). Hemocyte differentiation in the juveniles of the ascidian *halocynthia roretzi*. *Invertebrate Reproduction and Development*, 51(1), 11–18. <https://doi.org/10.1080/07924259.2008.9652252>
- Arienti, S., Barth, N. D., Dorward, D. A., Rossi, A. G., e Dransfield, I. (2019). Regulation of apoptotic cell clearance during resolution of inflammation. *Frontiers in Pharmacology*, 10(JULY), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00891>
- Aztekin, C., Hiscock, T. W., Gurdon, J. B., Jullien, J., Marioni, J. C., e Simons, D. (2020). Secreted inhibitors drive the loss of regeneration competence in *Xenopus* limbs. *bioRxiv*.
- Aztekin, C., Hiscock, T. W., Marioni, J. C., Gurdon, J. B., Simons, B. D., e Jullien, J. (2019). Identification of a regeneration-organizing cell in the *Xenopus* tail. *Science*, 364(6441), 653–658. <https://doi.org/10.1126/science.aav9996>
- Aztekin, Can, Hiscock, T. W., Butler, R., De Jesús Andino, F., Robert, J., Gurdon, J. B., e Jullien, J. (2020). The myeloid lineage is required for the emergence of a regeneration-permissive environment following *Xenopus* tail amputation. *Development (Cambridge)*, 147(3). <https://doi.org/10.1242/dev.185496>

- Baguñà, J., e Riutort, M. (2004). Molecular phylogeny of the Platyhelminthes. *Canadian Journal of Zoology*, 82(2), 168–193. <https://doi.org/10.1139/z03-214>
- Barreda, D. R., Neely, H. R., e Flajnik, M. F. (2017). Evolution of Myeloid Cells. *Myeloid Cells in Health and Disease*, 43–58. <https://doi.org/10.1128/9781555819194.ch4>
- Bayles, K. W. (2007). The biological role of death and lysis in biofilm development. *Nature Reviews Microbiology*, 5(9), 721–726. <https://doi.org/10.1038/nrmicro1743>
- Bayles, K. W. (2014). Bacterial programmed cell death: Making sense of a paradox. *Nature Reviews Microbiology*, 12(1), 63–69. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3136>
- Ben Khadra, Y., Ferrario, C., Di Benedetto, C., Said, K., Bonasoro, F., Candia Carnevali, M. D., e Sugni, M. (2015). Wound repair during arm regeneration in the red starfish *Echinaster sepositus*. *Wound Repair and Regeneration*, 23(4), 611–622. <https://doi.org/10.1111/wrr.12333>
- Ben Khadra, Y., Sugni, M., Ferrario, C., Bonasoro, F., Varela Coelho, A., Martinez, P., e Candia Carnevali, M. D. (2017). An integrated view of asteroid regeneration: tissues, cells and molecules. *Cell and Tissue Research*, 370(1), 13–28. <https://doi.org/10.1007/s00441-017-2589-9>
- Bergmann, A., e Steller, H. (2010). Apoptosis, stem cells, and tissue regeneration. *Science Signaling*, 3(145), 1–16. <https://doi.org/10.1126/scisignal.3145re8>
- Blum, N., e Begemann, G. (2012). Retinoic acid signaling controls the formation, proliferation and survival of the blastema during adult zebrafish fin regeneration. *Development*, 139(1), 107–116. <https://doi.org/10.1242/dev.065391>
- Boehm, A. M., e Bosch, T. C. G. (2012). Migration of multipotent interstitial stem cells in Hydra. *Zoology*, 115(5), 275–282. <https://doi.org/10.1016/j.zool.2012.03.004>
- Bradfield, C. J. (2017). Evolution of Cell-Autonomous Effector Mechanisms in Macrophages versus Non-Immune Cells. *Myeloid Cells in Health and Disease*, 5, 615–635. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.mchd-0050-2016>
- Bradshaw, B., Thompson, K., e Frank, U. (2015). Distinct mechanisms underlie oral vs aboral regeneration in the cnidarian hydractinia *echinata*. *eLife*, 2015(4), 1–19. <https://doi.org/10.7554/eLife.05506>
- Brennan, J. J., e Gilmore, T. D. (2018). Evolutionary origins of toll-like receptor signaling. *Molecular Biology and Evolution*, 35(7), 1576–1587. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy050>
- Brockes, J. P., e Kumar, A. (2008). Comparative Aspects of Animal Regeneration. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 24(1), 525–549. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.24.110707.175336>
- Bryant, D. M., Sousounis, K., Payzin-Dogru, D., Bryant, S., Sandoval, A. G. W., Martinez Fernandez, J., Mariano, R., Oshiro, R., Wong, A. Y., Leigh, N. D., Johnson, K., e Whited, J. L. (2017). Identification of regenerative roadblocks via repeat deployment of limb regeneration in axolotls. *npj Regenerative Medicine*, 2(1), 1–14. <https://doi.org/10.1038/s41536-017-0034-z>
- Buchmann, K. (2014). Evolution of innate immunity: Clues from invertebrates via fish to mammals. *Frontiers in Immunology*, 5(SEP), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2014.00459>
- Buckley, K. M., e Rast, J. P. (2012). Dynamic evolution of toll-like receptor multigene families in echinoderms. *Frontiers in Immunology*, 3(JUN). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00136>
- Busslinger, M., e Tarakhovsky, A. (2014). Epigenetic control of immunity. *Cold Spring Harbor Perspectives in*

Biology, 6(6). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019307>

- Buzgariu, W., Wenger, Y., Tcaciuc, N., Catunda-Lemos, A. P., e Galliot, B. (2018). Impact of cycling cells and cell cycle regulation on Hydra regeneration. *Developmental Biology*, 433(2), 240–253. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.11.003>
- Cabanel, M., Brand, C., Oliveira-Nunes, M. C., Cabral-Piccin, M. P., Lopes, M. F., Brito, J. M., De Oliveira, F. L., El-Cheikh, M. C., e Carneiro, K. (2015). Epigenetic control of macrophage shape transition towards an atypical elongated phenotype by histone deacetylase activity. *PLoS ONE*, 10(7), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0132984>
- Cabanel, M., Da Costa, T. P., El-Cheikh, M. C., e Carneiro, K. (2019). The epigenome as a putative target for skin repair: The HDAC inhibitor Trichostatin A modulates myeloid progenitor plasticity and behavior and improves wound healing. *Journal of Translational Medicine*, 17(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12967-019-1998-9>
- Cabanel, M. P. (2018). *O papel da histona desacetilase na plasticidade fenotípica de macrófagos*.
- Candia Cavernali, M. D. (2006). Regeneration in Echinoderms: repair, regrowth, cloning. *Invertebrate Survival Journal*, 3, 64–76.
- Carr, M., Leadbeater, B. S. C., Hassan, R., Nelson, M., e Baldauf, S. L. (2008). Molecular phylogeny of choanoflagellates, the sister group to Metazoa. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(43), 16641–16646. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801667105>
- Cavalier-Smith, T. (2017). Origin of animal multicellularity: Precursors, causes, consequences—the choanoflagellate/sponge transition, neurogenesis and the Cambrian explosion. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 372(1713). <https://doi.org/10.1098/rstb.2015.0476>
- Chen, G., Zhuchenko, O., e Kuspa, A. (2007). Immune-like phagocyte activity in the social amoeba. *Science*, 317(5838), 678–681. <https://doi.org/10.1126/science.1143991>
- Chen, X., Barozzi, I., Termanini, A., Prosperini, E., Recchiuti, A., Dalli, J., Mietton, F., Matteoli, G., Hiebert, S., e Natoli, G. (2012). Requirement for the histone deacetylase Hdac3 for the inflammatory gene expression program in macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(42), 16768–16769. <https://doi.org/10.1073/pnas.1121131109>
- Chera, S., Ghila, L., Dobretz, K., Wenger, Y., Bauer, C., Buzgariu, W., Martinou, J. C., e Galliot, B. (2009). Apoptotic Cells Provide an Unexpected Source of Wnt3 Signaling to Drive Hydra Head Regeneration. *Developmental Cell*, 17(2), 279–289. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2009.07.014>
- Chow, A., Lucas, D., Hidalgo, A., Méndez-Ferrer, S., Hashimoto, D., Scheiermann, C., Battista, M., Leboeuf, M., Prophete, C., Van Rooijen, N., Tanaka, M., Merad, M., e Frenette, P. S. (2011). Bone marrow CD169+ macrophages promote the retention of hematopoietic stem and progenitor cells in the mesenchymal stem cell niche. *Journal of Experimental Medicine*, 208(2), 761–771. <https://doi.org/10.1084/jem.20101688>
- Costa, R. M. B., Soto, X., Chen, Y., Zorn, A. M., e Amaya, E. (2008). Spib is required for primitive myeloid development in *Xenopus*. *Blood*, 112(6), 2287–2296. <https://doi.org/10.1182/blood-2008-04-150268>
- Daeschler, E. B., Shubin, N. H., e Jenkins, F. A. (2006). A Devonian tetrapod-like fish and the evolution of the tetrapod body plan. *Nature*, 440(7085), 757–763. <https://doi.org/10.1038/nature04639>
- 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., e 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.

<https://doi.org/10.1073/pnas.1900475116>

- Dayel, M. J., e King, N. (2014). Prey capture and phagocytosis in the choanoflagellate *Salpingoeca rosetta*. *PLoS ONE*, 9(5), 1–6. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0095577>
- De Jong, J. L. O., e Zon, L. I. (2005). Use of the zebrafish system to study primitive and definitive hematopoiesis. *Annual Review of Genetics*, 39, 481–501. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.39.073003.095931>
- Dhalluin, C., Carlson, J. E., Zeng, L., He, C., Aggarwal, A. K., e Zhou, M. M. (1999). Structure and ligand of a histone acetyltransferase bromodomain. *Nature*, 399(6735), 491–496. <https://doi.org/10.1038/20974>
- Dolan, C. P., Dawson, L. A., e Muneoka, K. (2018). Digit Tip Regeneration: Merging Regeneration Biology with Regenerative Medicine. *Stem Cells Translational Medicine*, 7(3), 262–270. <https://doi.org/10.1002/sctm.17-0236>
- Easterling, M. R., Engbrecht, K. M., e Crespi, E. J. (2019). Endocrine Regulation of Epimorphic Regeneration. *Endocrinology*, 160(12), 2969–2980. <https://doi.org/10.1210/en.2019-00321>
- Epelman, S., Lavine, K. J., e Randolph, G. J. (2014). Origin and Functions of Tissue Macrophages. *Immunity*, 41(1), 21–35. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2014.06.013>
- Erblich, B., Zhu, L., Etgen, A. M., Dobrenis, K., e Pollard, J. W. (2011). Absence of colony stimulation factor-1 receptor results in loss of microglia, disrupted brain development and olfactory deficits. *PLoS ONE*, 6(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026317>
- Espín-Palazón, R., e Traver, D. (2016). The NF-κB family: Key players during embryonic development and HSC emergence. *Experimental Hematology*, 44(7), 519–527. <https://doi.org/10.1016/j.exphem.2016.03.010>
- Fernando, W. A., Leininger, E., Simkin, J., Li, N., Malcom, C. A., Sathyamoorthi, S., Han, M., e Muneoka, K. (2011). Wound healing and blastema formation in regenerating digit tips of adult mice. *Developmental Biology*, 350(2), 301–310. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2010.11.035>
- Ferreira, F., Raghunathan, V. K., Luxardi, G., Zhu, K., e Zhao, M. (2018). Early redox activities modulate *Xenopus* tail regeneration. *Nature Communications*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06614-2>
- Flajnik, M. F. (2018). A cold-blooded view of adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology*, 18(7), 438–453. <https://doi.org/10.1038/s41577-018-0003-9>
- Fr-, H. I. F. K., Greshock, T. J., Johns, D. M., Noguchi, Y., e Williams, R. M. (2008). *Improved Total Synthesis of the Potent*. 228, 1–4.
- Franco, C. F., Santos, R., e Coelho, A. V. (2011). Proteome characterization of sea star coelomocytes - The innate immune effector cells of echinoderms. *Proteomics*, 11(17), 3587–3592. <https://doi.org/10.1002/pmic.201000745>
- Franzenburg, S., Fraune, S., Künzel, S., Baines, J. F., Domazet-Lošo, T., e Bosch, T. C. G. (2012). MyD88-deficient Hydra reveal an ancient function of TLR signaling in sensing bacterial colonizers. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(47), 19374–19379. <https://doi.org/10.1073/pnas.1213110109>
- Fröbisch, N. B., Bickelmann, C., e Witzmann, F. (2014). Early evolution of limb regeneration in tetrapods: Evidence from a 300-million-year-old amphibian. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1794). <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.1550>
- Funayama, N. (2013). The stem cell system in demosponges: Suggested involvement of two types of cells:

- Archeocytes (active stem cells) and choanocytes (food-trapping flagellated cells). *Development Genes and Evolution*, 223(1–2), 23–38. <https://doi.org/10.1007/s00427-012-0417-5>
- Funayama, N. (2018). The cellular and molecular bases of the sponge stem cell systems underlying reproduction, homeostasis and regeneration. *International Journal of Developmental Biology*, 62(6–8), 513–525. <https://doi.org/10.1387/ijdb.180016nf>
- Garate, L., Sureda, J., Agell, G., e Uriz, M. J. (2017). Endosymbiotic calcifying bacteria across sponge species and oceans. *Scientific Reports*, 7(November 2016). <https://doi.org/10.1038/srep43674>
- Gargiolo, C., e Slack, J. M. W. (2004). Cell lineage tracing during *Xenopus* tail regeneration. *Development*, 131(11), 2669–2679. <https://doi.org/10.1242/dev.01155>
- Gehrke, A. R., e Srivastava, M. (2016). Neoblasts and the evolution of whole-body regeneration. *Current Opinion in Genetics and Development*, 40(Figure 2), 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2016.07.009>
- Ghisletti, S., Barozzi, I., Mietton, F., Polletti, S., De Santa, F., Venturini, E., Gregory, L., Lonie, L., Chew, A., Wei, C. L., Ragoussis, J., e Natoli, G. (2010). Identification and Characterization of Enhancers Controlling the Inflammatory Gene Expression Program in Macrophages. *Immunity*, 32(3), 317–328. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2010.02.008>
- Godefroy, N., Le Goff, E., Martinand-Mari, C., Belkhir, K., Vacelet, J., e Baghdiguian, S. (2019). Sponge digestive system diversity and evolution: filter feeding to carnivory. *Cell and Tissue Research*, 377(3), 341–351. <https://doi.org/10.1007/s00441-019-03032-8>
- Godwin, J. (2014). The promise of perfect adult tissue repair and regeneration in mammals: Learning from regenerative amphibians and fish. *BioEssays*, 36(9), 861–871. <https://doi.org/10.1002/bies.201300144>
- Godwin, J. W., Debuque, R., Salimova, E., e Rosenthal, N. A. (2017). Heart regeneration in the salamander relies on macrophage-mediated control of fibroblast activation and the extracellular landscape. *npj Regenerative Medicine*, 2(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41536-017-0027-y>
- Godwin, James W., Pinto, A. R., e Rosenthal, N. A. (2013). Macrophages are required for adult salamander limb regeneration. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(23), 9415–9420. <https://doi.org/10.1073/pnas.1300290110>
- Godwin, James W., e Rosenthal, N. (2014). Scar-free wound healing and regeneration in amphibians: Immunological influences on regenerative success. *Differentiation*, 87(1), 66–75. <https://doi.org/10.1016/j.diff.2014.02.002>
- Goley, E. D., e Welch, M. D. (2006). The ARP2/3 complex: An actin nucleator comes of age. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 7(10), 713–726. <https://doi.org/10.1038/nrm2026>
- Grice, L. F., e Degnan, B. M. (2017). Transcriptomic profiling of the allorecognition response to grafting in the demosponge *Amphimedon queenslandica*. *Marine Drugs*, 15(5). <https://doi.org/10.3390/md15050136>
- Grice, L. F., Gauthier, M. E. A., Roper, K. E., Fernández-Busquets, X., Degnan, S. M., e Degnan, B. M. (2017). Origin and Evolution of the Sponge Aggregation Factor Gene Family. *Molecular Biology and Evolution*, 34(5), 1083–1099. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx058>
- Gurley, K. A., Elliott, S. A., Simakov, O., Schmidt, H. A., Holstein, T. W., e Alvarado, A. S. (2010). Expression of secreted Wnt pathway components reveals unexpected complexity of the planarian amputation response. *Developmental Biology*, 347(1), 24–39. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2010.08.007>
- Gyorki, D. E., Asselin-Labat, M. L., van Rooijen, N., Lindeman, G. J., e Visvader, J. E. (2009). Resident macrophages influence stem cell activity in the mammary gland. *Breast Cancer Research*, 11(4), 1–6.

<https://doi.org/10.1186/bcr2353>

- Havixbeck, J. J., Rieger, A. M., Wong, M. E., Wilkie, M. P., e Barreda, D. R. (2014). Evolutionary conservation of divergent pro- inflammatory and homeostatic responses in lamprey phagocytes. *PLoS ONE*, 9(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0086255>
- Hayden, M. S., e Ghosh, S. (2011). NF- κ B in immunobiology. *Cell Research*, 21(2), 223–244. <https://doi.org/10.1038/cr.2011.13>
- Hentschel, U., Piel, J., Degnan, S. M., e Taylor, M. W. (2012). Genomic insights into the marine sponge microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 10(9), 641–654. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2839>
- Hildemann, W. H., Johnson, I. S., e Jokiel, P. L. (1979). Immunocompetence in the lowest metazoan phylum: Transplantation immunity in sponges. *Science*, 204(4391), 420–422. <https://doi.org/10.1126/science.441730>
- Hirano, M. (2016). Echinoderm immunity: Is the larval immune system immature?. *Immunology and Cell Biology*, 94(9), 809–811. <https://doi.org/10.1038/icb.2016.67>
- Hirose, K., Payumo, A. Y., Cutie, S., Hoang, A., Guyot, R., Lunn, D., Bigley, R. B., Yu, H., Wang, J., Smith, M., Gillett, E., Muroy, S. E., Schmid, T., Wilson, E., Kenneth, A., Reeder, D. M., Maden, M., Yartsev, M. M., e Michael, J. (2020). *HHS Public Access*. 364(6436), 184–188. <https://doi.org/10.1126/science.aar2038.Evidence>
- Ho, E. C. H., e Rast, J. P. (2016). The Immune System of Echinoderms. In *Encyclopedia of Immunobiology* (Vol. 1). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374279-7.12007-7>
- Hobmayer, B., Jenewein, M., Eder, D., Eder, M. K., Glasauer, S., Gufler, S., Hartl, M., e Salvenmoser, A. W. (2012). Stemness in Hydra - A current perspective. *International Journal of Developmental Biology*, 56(6–8), 509–517. <https://doi.org/10.1387/ijdb.113426bh>
- Hoeffel, G., e Ginhoux, F. (2015). Ontogeny of tissue-resident macrophages. *Frontiers in Immunology*, 6(SEP). <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00486>
- Hoeffel, G., e Ginhoux, F. (2018). Fetal monocytes and the origins of tissue-resident macrophages. *Cellular Immunology*, 330(January), 5–15. <https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2018.01.001>
- Holm, K., Hernroth, B., e Thorndyke, M. (2008). Coelomocyte numbers and expression of HSP70 in wounded sea stars during hypoxia. *Cell and Tissue Research*, 334(2), 319–325. <https://doi.org/10.1007/s00441-008-0674-9>
- Hopkinson-Woolley, J., Hughes, D., Gordon, S., e Martin, P. (1994). Macrophage recruitment during limb development and wound healing in the embryonic and foetal mouse. *Journal of Cell Science*, 107(5), 1159–1167.
- Hou, Y., Li, F., Karin, M., e Ostrowski, M. C. (2008). Analysis of the IKK β /NF- κ B signaling pathway during embryonic angiogenesis. *Developmental Dynamics*, 237(10), 2926–2935. <https://doi.org/10.1002/dvdy.21723>
- Huang, M., Huang, J., Zheng, Y., e Sun, Q. (2019). Histone acetyltransferase inhibitors: An overview in synthesis, structure-activity relationship and molecular mechanism. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 178, 259–286. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.05.078>
- Hull, E. E., Montgomery, M. R., e Leyva, K. J. (2016). HDAC Inhibitors as Epigenetic Regulators of the Immune System: Impacts on Cancer Therapy and Inflammatory Diseases. *BioMed Research International*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/8797206>
- Iqbal, A. J., Fisher, E. A., e Greaves, D. R. (2016). *Inflammation — a Critical Appreciation of the Role of Myeloid Cells*. 1–17. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.MCHD-0027>

- Ivankovic, M., Haneckova, R., Thommen, A., Grohme, M. A., Vila-Farré, M., Werner, S., e Rink, J. C. (2019). Model systems for regeneration: Planarians. *Development (Cambridge)*, *146*(17), 0–1. <https://doi.org/10.1242/dev.167684>
- Iyer, A., Fairlie, D. P., e Brown, L. (2012). Lysine acetylation in obesity, diabetes and metabolic disease. *Immunology and Cell Biology*, *90*(1), 39–46. <https://doi.org/10.1038/icb.2011.99>
- Jia, Y., Han, S., Li, J., Wang, H., Liu, J., Li, N., Yang, X., Shi, J., Han, J., Li, Y., Bai, X., Su, L., e Hu, D. (2017). IRF8 is the target of SIRT1 for the inflammation response in macrophages. *Innate Immunity*, *23*(2), 188–195. <https://doi.org/10.1177/1753425916683751>
- Jiménez-Merino, J., Santos De Abreu, I., Hiebert, L. S., Allodi, S., Tiozzo, S., De Barros, C. M., e Brown, F. D. (2019). Putative stem cells in the hemolymph and in the intestinal submucosa of the solitary ascidian *Styela plicata*. *EvoDevo*, *10*(1), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s13227-019-0144-3>
- Joven, A., Elewa, A., e Simon, A. (2019). Model systems for regeneration: Salamanders. *Development (Cambridge)*, *146*(14), 0–2. <https://doi.org/10.1242/dev.167700>
- Ka, S. O., Song, M. Y., Bae, E. J., e Park, B. H. (2015). Myeloid SIRT1 regulates macrophage infiltration and insulin sensitivity in mice fed a high-fat diet. *Journal of Endocrinology*, *224*(2), 109–118. <https://doi.org/10.1530/JOE-14-0527>
- Kan, N. G., Junghans, D., e Belmonte, J. C. I. (2009). Compensatory growth mechanisms regulated by BMP and FGF signaling mediate liver regeneration in zebrafish after partial hepatectomy. *The FASEB Journal*, *23*(10), 3516–3525. <https://doi.org/10.1096/fj.09-131730>
- Kondo, M., e Akasaka, K. (2010). Regeneration in crinoids. *Development Growth and Differentiation*, *52*(1), 57–68. <https://doi.org/10.1111/j.1440-169X.2009.01159.x>
- Kragl, M., Knapp, D., Nacu, E., Khattak, S., Maden, M., Epperlein, H. H., e Tanaka, E. M. (2009). Cells keep a memory of their tissue origin during axolotl limb regeneration. *Nature*, *460*(7251), 60–65. <https://doi.org/10.1038/nature08152>
- Kroehne, V., Freudenreich, D., Hans, S., Kaslin, J., e Brand, M. (2011). Regeneration of the adult zebrafish brain from neurogenic radial glia-type progenitors. *Development*, *138*(22), 4831–4841. <https://doi.org/10.1242/dev.072587>
- Lam, N. T., e Sadek, H. A. (2018). Neonatal heart regeneration comprehensive literature review. *Circulation*, *138*(4), 421–423. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.118.033648>
- Lampiasi, N., Russo, R., e Zito, F. (2016). The Alternative Faces of Macrophage Generate Osteoclasts. *BioMed Research International*, *2016*(Figure 2). <https://doi.org/10.1155/2016/9089610>
- Lecture, N. (1908). On the Present State of the Question of Immunity in Infectious Diseases Ilya Mechnikov. *Medicine*.
- Lehoczky, J. A., Robert, B., e Tabin, C. J. (2011). Mouse digit tip regeneration is mediated by fate-restricted progenitor cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *108*(51), 20609–20614. <https://doi.org/10.1073/pnas.1118017108>
- Levy, O., Zarembek, K. A., Roy, R. M., Cywes, C., Godowski, P. J., e Wessels, M. R. (2004). Selective Impairment of TLR-Mediated Innate Immunity in Human Newborns: Neonatal Blood Plasma Reduces Monocyte TNF- α Induction by Bacterial Lipopeptides, Lipopolysaccharide, and Imiquimod, but Preserves the Response to R-848. *The Journal of Immunology*, *173*(7), 4627–4634. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.173.7.4627>

- Lewis, K. (2000). Programmed Death in Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 64(3), 503–514. <https://doi.org/10.1128/membr.64.3.503-514.2000>
- Li, E., e Zhang, Y. (2014). DNA methylation in mammals. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 6(5). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019133>
- Li, Q., e Verma, I. M. (2002). NF- κ B regulation in the immune system. *Nature Reviews Immunology*, 2(10), 725–734. <https://doi.org/10.1038/nri910>
- Luger, K., Mäder, A. W., Richmond, R. K., Sargent, D. F., e Richmond, T. J. (1997). Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature*, 389(6648), 251–260. <https://doi.org/10.1038/38444>
- Lurgi, M., Thomas, T., Wemheuer, B., Webster, N. S., e Montoya, J. M. (2019). Modularity and predicted functions of the global sponge-microbiome network. *Nature Communications*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-08925-4>
- Maden, M. (2018). The evolution of regeneration – Where does that leave mammals? *International Journal of Developmental Biology*, 62(6–8), 369–372. <https://doi.org/10.1387/ijdb.180031mm>
- Maden, M., Manwell, L. A., e Ormerod, B. K. (2013). Proliferation zones in the axolotl brain and regeneration of the telencephalon. *Neural Development*, 8(1), 1–15. <https://doi.org/10.1186/1749-8104-8-1>
- Maden, M., e Varholick, J. A. (2020). Model systems for regeneration: The spiny mouse, *Acomys cahirinus*. *Development (Cambridge)*, 147(4). <https://doi.org/10.1242/dev.167718>
- Marques, I. J., Lupi, E., e Mercader, N. (2019). Model systems for regeneration: Zebrafish. *Development (Cambridge)*, 146(18). <https://doi.org/10.1242/dev.167692>
- Marshall, L. N., Vivien, C. J., Girardot, F., Péricard, L., Scerbo, P., Palmier, K., Demeneix, B. A., e Coen, L. (2019). Stage-dependent cardiac regeneration in *Xenopus* is regulated by thyroid hormone availability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(9), 3614–3623. <https://doi.org/10.1073/pnas.1803794116>
- Martijn, J., e Ettema, T. J. G. (2013). From archaeon to eukaryote: The evolutionary dark ages of the eukaryotic cell. *Biochemical Society Transactions*, 41(1), 451–457. <https://doi.org/10.1042/BST20120292>
- Mass, E., Ballesteros, I., Farlik, M., Halbritter, F., Günther, P., Crozet, L., Jacome-Galarza, C. E., Händler, K., Klughammer, J., Kobayashi, Y., Gomez-Perdiguero, E., Schultze, J. L., Beyer, M., Bock, C., e Geissmann, F. (2016). Specification of tissue-resident macrophages during organogenesis. *Science*, 353(6304). <https://doi.org/10.1126/science.aaf4238>
- McClure, J. J., Li, X., e Chou, C. J. (2018). Advances and Challenges of HDAC Inhibitors in Cancer Therapeutics. In *Advances in Cancer Research* (1° ed, Vol. 138). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2018.02.006>
- McCusker, C., Bryant, S. V., e 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. <https://doi.org/10.1002/reg2.32>
- McIntyre, R. L., Daniels, E. G., Molenaars, M., Houtkooper, R. H., e Janssens, G. E. (2019). From molecular promise to preclinical results: HDAC inhibitors in the race for healthy aging drugs. *EMBO Molecular Medicine*, 11(9), 1–11. <https://doi.org/10.15252/emmm.201809854>
- McIntyre, R. L., Daniels, E. G., Molenaars, M., Houtkooper, R. H., Janssens, G. E., Ivashkiv, L. B., Van Den Bossche, J., Neele, A. E., Hoeksema, M. A., De Winther, M. P. J., Boniakowski, A. E., Kimball, A. S., Jacobs, B. N., Kunkel, S. L., Gallagher, K. A., Baltzis, D., Eleftheriadou, I., Veves, A., Spallotta, F., ... Dekker, F. J.

- (2013). Macrophage polarization: the epigenetic point of view. *EMBO Molecular Medicine*, 25(1), 39–46. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2015.181>
- McLaughlin, K. A., e Levin, M. (2018). Bioelectric signaling in regeneration: Mechanisms of ionic controls of growth and form. *Developmental Biology*, 433(2), 177–189. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.08.032>
- McLean, K. E., e Vickaryous, M. K. (2011). A novel amniote model of epimorphic regeneration: The leopard gecko, *Eublepharis macularius*. *BMC Developmental Biology*, 11(August). <https://doi.org/10.1186/1471-213X-11-50>
- Mochii, M., Taniguchi, Y., e Shikata, I. (2007). Tail regeneration in the *Xenopus* tadpole. *Development Growth and Differentiation*, 49(2), 155–161. <https://doi.org/10.1111/j.1440-169X.2007.00912.x>
- Morales, R. A., e Allende, M. L. (2019). Peripheral macrophages promote tissue regeneration in zebrafish by fine-tuning the inflammatory response. *Frontiers in Immunology*, 10(FEB), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00253>
- Murray, P. J. (2017). Macrophage Polarization. *Annual Review of Physiology*, 79(1), 541–566. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-022516-034339>
- Nacu, E., Gromberg, E., Oliveira, C. R., Drechsel, D., e Tanaka, E. M. (2016). FGF8 and SHH substitute for anterior-posterior tissue interactions to induce limb regeneration. *Nature*, 533, 407–410. <https://doi.org/10.1038/nature17972>
- Natoli, G., Ghisletti, S., e Barozzi, I. (2011). The genomic landscapes of inflammation. *Genes and Development*, 25(2), 101–106. <https://doi.org/10.1101/gad.2018811>
- Neufeld, D. A., e Zhao, W. (1995). Bone regrowth after digit tip amputation in mice is equivalent in adults and neonates. *Wound Repair and Regeneration*, 3(4), 461–466. <https://doi.org/10.1046/j.1524-475X.1995.30410.x>
- Nicholas Dias, Yung Peng, R. K. (2017). 小鼠心肌提取 HHS Public Access. *Physiology & behavior*, 176(3), 139–148. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.03.040>
- Nichols, S. A., Roberts, B. W., Richter, D. J., Fairclough, S. R., e King, N. (2012). Origin of metazoan cadherin diversity and the antiquity of the classical cadherin/β-catenin complex. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(32), 13046–13051. <https://doi.org/10.1073/pnas.1120685109>
- Nogueira, A. F., Costa, C. M., Lorena, J., Moreira, R. N., Frota-Lima, G. N., Furtado, C., Robinson, M., Amemiya, C. T., Darnet, S., e Schneider, I. (2016). Tetrapod limb and sarcopterygian fin regeneration share a core genetic programme. *Nature Communications*, 7, 1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms13364>
- Ocampo, I. D., e Cadavid, L. F. (2015). MECHANISMS OF IMMUNE RESPONSES IN CNIDARIANS
Mecanismos de respuesta inmune en cnidarios. *Acta biol. Colomb*, 20(2), 5–11. <https://doi.org/10.15446/abc.v20n2.46728>
- Ohsaki, Y., Suzuki, M., e Fujimoto, T. (2014). Open questions in lipid droplet biology. *Chemistry and Biology*, 21(1), 86–96. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2013.08.009>
- Pentagna, N., Pinheiro da Costa, T., Soares dos Santos Cardoso, F., Martins de Almeida, F., Blanco Martinez, A. M., Abreu, J. G., Levin, M., e Carneiro, K. (2021). Epigenetic control of myeloid cells behavior by Histone Deacetylase activity (HDAC) during tissue and organ regeneration in *Xenopus laevis*. *Developmental and Comparative Immunology*, 114(May 2020). <https://doi.org/10.1016/j.dci.2020.103840>
- Pfefferli, C., e Jazwińska, A. (2015). The art of fin regeneration in zebrafish. *Regeneration*, 2(2), 72–83. <https://doi.org/10.1002/reg2.33>

- Phipps, L. S., Marshall, L., Dorey, K., e Amaya, E. (2020). Model systems for regeneration: *Xenopus*. *Development (Cambridge)*, 147(6), 0–3. <https://doi.org/10.1242/dev.180844>
- Pinsino, A., Thorndyke, M. C., e Matrangola, V. (2007). Coelomocytes and post-traumatic response in the common sea star *Asterias rubens*. *Cell Stress and Chaperones*, 12(4), 331–341. <https://doi.org/10.1379/CSC-288.1>
- Pita, L., Hoepfner, M. P., Ribes, M., e Hentschel, U. (2018). Differential expression of immune receptors in two marine sponges upon exposure to microbial-associated molecular patterns. *Scientific Reports*, 8(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-34330-w>
- Pollard, J. W. (2009). Trophic macrophages in development and disease. *Nature Reviews Immunology*, 9(4), 259–270. <https://doi.org/10.1038/nri2528>
- Porrello, E. R., Mahmoud, A. I., Simpson, E., Hill, J. A., Richardson, J. A., Olson, E. N., e Sadek, H. A. (2011). Transient regenerative potential of the neonatal mouse heart. *Science*, 331(6020), 1078–1080. <https://doi.org/10.1126/science.1200708>
- Poss, K. D., Wilson, L. G., e Keating, M. T. (2002). Heart regeneration in zebrafish. *Science*, 298(5601), 2188–2190. <https://doi.org/10.1126/science.1077857>
- Pull, S. L., Doherty, J. M., Mills, J. C., Gordon, J. I., e Stappenbeck, T. S. (2005). Activated macrophages are an adaptive element of the colonic epithelial progenitor niche necessary for regenerative responses to injury. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(1), 99–104. <https://doi.org/10.1073/pnas.0405979102>
- Raya, A., Koth, C. M., Büscher, D., Kawakami, Y., Itoh, T., Raya, R. M., Sternik, G., Tsai, H. J., Rodríguez-Esteban, C., e Izpisua-Belmonte, J. C. (2003). Activation of Notch signaling pathway precedes heart regeneration in zebrafish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 100(SUPPL. 1), 11889–11895. <https://doi.org/10.1073/pnas.1834204100>
- Reiter, S., Crescenzi, M., Galliot, B., e Buzgariu, W. (2012). Hydra, a versatile model to study the homeostatic and developmental functions of cell death. *International Journal of Developmental Biology*, 56(6–8), 593–604. <https://doi.org/10.1387/ijdb.123499sr>
- Richter, D. J., e King, N. (2013). The genomic and cellular foundations of animal origins. *Annual Review of Genetics*, 47(September), 509–537. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-111212-133456>
- Rieger, A. M., Konowalchuk, J. D., Grayfer, L., Katzenback, B. A., Havixbeck, J. J., Kiemele, M. D., Belosevic, M., e Barreda, D. R. (2012). Fish and Mammalian Phagocytes Differentially Regulate Pro-Inflammatory and Homeostatic Responses In Vivo. *PLoS ONE*, 7(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047070>
- Riera Romo, M., Pérez-Martínez, D., e Castillo Ferrer, C. (2016). Innate immunity in vertebrates: An overview. *Immunology*, 148(2), 125–139. <https://doi.org/10.1111/imm.12597>
- Rinkevich, Y., Lindau, P., Ueno, H., Longaker, M. T., e Weissman, I. L. (2011). Germ-layer and lineage-restricted stem/progenitors regenerate the mouse digit tip. *Nature*, 476(7361), 409–414. <https://doi.org/10.1038/nature10346>
- Rizzo, F., Fernandez-Serra, M., Squarzone, P., Archimandritis, A., e Arnone, M. I. (2006). Identification and developmental expression of the ets gene family in the sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*). *Developmental Biology*, 300(1), 35–48. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2006.08.012>
- Roca, F. J., Mulero, I., López-Muñoz, A., Sepulcre, M. P., Renshaw, S. A., Meseguer, J., e Mulero, V. (2008). Evolution of the Inflammatory Response in Vertebrates: Fish TNF- α Is a Powerful Activator of Endothelial Cells but Hardly Activates Phagocytes. *The Journal of Immunology*, 181(7), 5071–5081.

<https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.7.5071>

- Romero, M. M. G., McCathie, G., Jankun, P., e Roehl, H. H. (2018). Damage-induced reactive oxygen species enable zebrafish tail regeneration by repositioning of Hedgehog expressing cells. *Nature Communications*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-018-06460-2>
- Rosental, B., Kowarsky, M., Seita, J., Corey, D. M., Ishizuka, K. J., Palmeri, K. J., Chen, S. Y., Sinha, R., Okamoto, J., Mantalas, G., Manni, L., Raveh, T., Clarke, D. N., Tsai, J. M., Newman, A. M., Neff, N. F., Nolan, G. P., Quake, S. R., Weissman, I. L., e Voskoboynik, A. (2018). Complex mammalian-like haematopoietic system found in a colonial chordate. *Nature*, 564(7736), 425–429. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0783-x>
- Sammarco, M. C., Simkin, J., Cammack, A. J., e Fassler, D. (2015). *Hyperbaric Oxygen Promotes Proximal Bone Regeneration and Organized Collagen Composition during Digit Regeneration*. 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0140156>
- Satoh, A., Cummings, G. M. C., Bryant, S. V., e Gardiner, D. M. (2010). Regulation of proximal-distal intercalation during limb regeneration in the axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Development Growth and Differentiation*, 52(9), 785–798. <https://doi.org/10.1111/j.1440-169X.2010.01214.x>
- Satoh, A., Gardiner, D. M., Bryant, S. V., e Endo, T. (2007). Nerve-induced ectopic limb blastemas in the axolotl are equivalent to amputation-induced blastemas. *Developmental Biology*, 312(1), 231–244. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2007.09.021>
- Saxena, S., Vekaria, H., Sullivan, P. G., e Seifert, A. W. (2019). Connective tissue fibroblasts from highly regenerative mammals are refractory to ROS-induced cellular senescence. *Nature Communications*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-019-12398-w>
- Schröder, K., e Bosch, T. C. G. (2016). The origin of mucosal immunity: Lessons from the holobiont Hydra. *mBio*, 7(6), 1–9. <https://doi.org/10.1128/mBio.01184-16>
- Seifert, A. W., e Muneoka, K. (2018a). The blastema and epimorphic regeneration in mammals. *Developmental Biology*, 433(2), 190–199. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.08.007>
- Seifert, A. W., e Muneoka, K. (2018b). The blastema and epimorphic regeneration in mammals. *Developmental Biology*, 433(2), 190–199. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2017.08.007>
- Sensiate, L. A., e Marques-Souza, H. (2019). Bone growth as the main determinant of mouse digit tip regeneration after amputation. *Scientific Reports*, 9(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-45521-4>
- Serhan, C. N., Levy, B. D., Chiang, N., Dalli, J., Levy, B. D., Fullerton, J. N., Gilroy, D. W., Qian, M., Fang, X., Wang, X., Serhan, C. N., Chiang, N., Van Dyke, T. E., Varela, M. L., Mogildea, M., Moreno, I., Lopes, A., Murray, P. J., Li, C., ... Zhou, B. (2017). Lipid mediators in the resolution of inflammation. *Nature Immunology*, 18(8), 349–361. <https://doi.org/10.1038/ni.3798>
- Shakespeare, M. R., Halili, M. A., Irvine, K. M., Fairlie, D. P., e Sweet, M. J. (2011). Histone deacetylases as regulators of inflammation and immunity. *Trends in Immunology*, 32(7), 335–343. <https://doi.org/10.1016/j.it.2011.04.001>
- Sharlaimova, N. S., e Petukhova, O. A. (2012). Characteristics of populations of the coelomic fluid and coelomic epithelium cells from the starfish *Asterias rubens* L. able attach to and spread on various substrates. *Cell and Tissue Biology*, 6(2), 176–188. <https://doi.org/10.1134/S1990519X12020113>
- Silva, M. T. (2011). Macrophage phagocytosis of neutrophils at inflammatory/infectious foci: a cooperative mechanism in the control of infection and infectious inflammation. *Journal of Leukocyte Biology*, 89(5), 675–683. <https://doi.org/10.1189/jlb.0910536>

- Simkin, J., Sammarco, M. C., Dawson, L. A., Schanes, P. P., Yu, L., e Muneoka, K. (2015). The mammalian blastema: regeneration at our fingertips. *Regeneration*, 2(3), 93–105. <https://doi.org/10.1002/reg2.36>
- Simkin, J., Sammarco, M. C., Marrero, L., Dawson, L. A., Yan, M., Tucker, C., Cammack, A., e Muneoka, K. (2017). Macrophages are required to coordinate mouse digit tip regeneration. *Development (Cambridge)*, 144(21), 3907–3916. <https://doi.org/10.1242/dev.150086>
- Simões, F. C., Cahill, T. J., Kenyon, A., Gavriouchkina, D., Vieira, J. M., Sun, X., Pezzolla, D., Ravaud, C., Masmanian, E., Weinberger, M., Mayes, S., Lemieux, M. E., Barnette, D. N., Gunadasa-Rohling, M., Williams, R. M., Greaves, D. R., Trinh, L. A., Fraser, S. E., Dallas, S. L., ... Riley, P. R. (2020). Macrophages directly contribute collagen to scar formation during zebrafish heart regeneration and mouse heart repair. *Nature Communications*, 11(1), 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-14263-2>
- Solana, J. (2013). Closing the circle of germline and stem cells: The Primordial Stem Cell hypothesis. *EvoDevo*, 4(1). <https://doi.org/10.1186/2041-9139-4-2>
- Solek, C. M., Oliveri, P., Loza-Coll, M., Schrankel, C. S., Ho, E. C. H., Wang, G., e Rast, J. P. (2013). An ancient role for Gata-1/2/3 and Scl transcription factor homologs in the development of immunocytes. *Developmental Biology*, 382(1), 280–292. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2013.06.019>
- Srivastava, M., Simakov, O., Chapman, J., Fahey, B., Gauthier, M. E. A., Mitros, T., Richards, G. S., Conaco, C., Dacre, M., Hellsten, U., Larroux, C., Putnam, N. H., Stanke, M., Adamska, M., Darling, A., Degnan, S. M., Oakley, T. H., Plachetzki, D. C., Zhai, Y., ... Rokhsar, D. S. (2010). The Amphimedon queenslandica genome and the evolution of animal complexity. *Nature*, 466(7307), 720–726. <https://doi.org/10.1038/nature09201>
- Stefater, J. A., Ren, S., Lang, R. A., e Duffield, J. S. (2011). Metchnikoff's policemen: Macrophages in development, homeostasis and regeneration. *Trends in Molecular Medicine*, 17(12), 743–752. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2011.07.009>
- Stewart-Morgan, K. R., Petryk, N., e Groth, A. (2020). Chromatin replication and epigenetic cell memory. *Nature Cell Biology*, 22(4), 361–371. <https://doi.org/10.1038/s41556-020-0487-y>
- Stewart, S., e Stankunas, K. (2012). Limited dedifferentiation provides replacement tissue during zebrafish fin regeneration. *Developmental Biology*, 365(2), 339–349. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2012.02.031>
- Stocum, D. L. (2017). Mechanisms of urodele limb regeneration. *Regeneration*, 4(4), 159–200. <https://doi.org/10.1002/reg2.92>
- Su, F., Juarez, M. A., Cooke, C. L., LaPointe, L., Shavit, J. A., Yamaoka, J. S., e Lyons, S. E. (2007). Differential regulation of primitive myelopoiesis in the zebrafish by Spi-1/Pu.1 and C/ebp1. *Zebrafish*, 4(3), 187–199. <https://doi.org/10.1089/zeb.2007.0505>
- Tahseen, Q. (2009). Coelomocytes: Biology and possible immune functions in invertebrates with special remarks on nematodes. *International Journal of Zoology*, 2009. <https://doi.org/10.1155/2009/218197>
- Takeo, M., Chou, W. C., Sun, Q., Lee, W., Rabbani, P., Loomis, C., Mark Taketo, M., e Ito, M. (2013). Wnt activation in nail epithelium couples nail growth to digit regeneration. *Nature*, 499(7457), 228–232. <https://doi.org/10.1038/nature12214>
- Technau, U., Cramer Von Laue, C., Rentzsch, F., Luft, S., Hobmayer, B., Bode, H. R., e Holstein, T. W. (2000). Parameters of self-organization in Hydra aggregates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 97(22), 12127–12131. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.22.12127>
- Thomas, T., Moitinho-Silva, L., Lurgi, M., Björk, J. R., Easson, C., Astudillo-García, C., Olson, J. B., Erwin, P. M., López-Legentil, S., Luter, H., Chaves-Fonnegra, A., Costa, R., Schupp, P. J., Steindler, L., Erpenbeck, D.,

- Gilbert, J., Knight, R., Ackermann, G., Victor Lopez, J., ... Webster, N. S. (2016). Diversity, structure and convergent evolution of the global sponge microbiome. *Nature Communications*, 7(May). <https://doi.org/10.1038/ncomms11870>
- Thornton, C. S. (1968). Amphibian limb regeneration. In *Advances in morphogenesis* (Vol. 7). ACADEMIC PRESS, INC. <https://doi.org/10.1016/b978-1-4831-9954-2.50010-0>
- Tsai, S. L. (2020). The molecular interplay between progenitors and immune cells in tissue regeneration and homeostasis. *Journal of Immunology and Regenerative Medicine*, 7, 100024. <https://doi.org/10.1016/j.regen.2019.100024>
- Tseng, A. S., Carneiro, K., Lemire, J. M., e Levin, M. (2011). HDAC activity is required during *Xenopus* tail regeneration. *PLoS ONE*, 6(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026382>
- Vacelet, J., e Dupont, E. (2004). Prey capture and digestion in the carnivorous sponge *Asbestopluma hypogea* (Porifera: Demospongiae). *Zoomorphology*, 123(4), 179–190. <https://doi.org/10.1007/s00435-004-0100-0>
- Varela, M. L., Mogildea, M., Moreno, I., e Lopes, A. (2018). Acute Inflammation and Metabolism. *Inflammation*, 41(4), 1115–1127. <https://doi.org/10.1007/s10753-018-0739-1>
- Verdin, E., e Ott, M. (2015). 50 years of protein acetylation: From gene regulation to epigenetics, metabolism and beyond. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 16(4), 258–264. <https://doi.org/10.1038/nrm3931>
- Vieira, W. A., Wells, K. M., e McCusker, C. D. (2020). Advancements to the Axolotl Model for Regeneration and Aging. *Gerontology*, 66(3), 212–222. <https://doi.org/10.1159/000504294>
- Vogg, M. C., Galliot, B., e Tsiairis, C. D. (2019). Model systems for regeneration: Hydra. *Development (Cambridge)*, 146(21). <https://doi.org/10.1242/dev.177212>
- Voss, S. R., Ponomareva, L. V., Dwaraka, V. B., Pardue, K. E., Baddar, N. W. A. H., Rodgers, A. K., Woodcock, M. R., Qiu, Q., Crowner, A., Blichmann, D., Khatri, S., e Thorson, J. S. (2019). HDAC Regulates Transcription at the Outset of Axolotl Tail Regeneration. *Scientific Reports*, 9(1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43230-6>
- Waddington, C. H. (2012). The epigenotype. 1942. *International journal of epidemiology*, 41(1), 10–13. <https://doi.org/10.1093/ije/dyr184>
- Wang, L., Gao, Y., Zheng, X., Liu, C., Dong, S., Li, R., Zhang, G., Wei, Y., Qu, H., Li, Y., Allis, C. D., Li, G., Li, H., e Li, P. (2019). Histone Modifications Regulate Chromatin Compartmentalization by Contributing to a Phase Separation Mechanism. *Molecular Cell*, 76(4), 646-659.e6. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2019.08.019>
- Watanabe, S., Alexander, M., Misharin, A. V., e Budinger, G. R. S. (2019). The role of macrophages in the resolution of inflammation. *Journal of Clinical Investigation*, 129(7), 2619–2628. <https://doi.org/10.1172/JCI124615>
- Wenemoser, D., e Reddien, P. W. (2010). Planarian regeneration involves distinct stem cell responses to wounds and tissue absence. *Developmental Biology*, 344(2), 979–991. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2010.06.017>
- Wenger, Y., Buzgariu, W., Reiter, S., e Galliot, B. (2014). Injury-induced immune responses in Hydra. *Seminars in Immunology*, 26(4), 277–294. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2014.06.004>
- Wilkinson, C. R., Garrone, R., e Vacelet, J. (1984). Marine sponges discriminate between food bacteria and bacterial symbionts: Electron microscope radioautography and in situ evidence. *Proceedings of the Royal Society of London - Biological Sciences*, 220(1221), 519–528. <https://doi.org/10.1098/rspb.1984.0018>

- Williams, L. M., e Gilmore, D. (2020). *crossm Looking Down on NF- κ B*. 40(15), 1–13.
- Wurtzel, O., Oderberg, I. M., e Reddien, P. W. (2017). Planarian Epidermal Stem Cells Respond to Positional Cues to Promote Cell-Type Diversity. *Developmental Cell*, 40(5), 491–504.e5. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2017.02.008>
- Wynn, T. A., Chawla, A., e Pollard, J. W. (2013). Macrophage biology in development, homeostasis and disease. *Nature*, 496(7446), 445–455. <https://doi.org/10.1038/nature12034>
- Yokoyama, H., Ide, H., e Tamura, K. (2001). FGF-10 stimulates limb regeneration ability in *Xenopus laevis*. *Developmental Biology*, 233(1), 72–79. <https://doi.org/10.1006/dbio.2001.0180>
- Yuan, J., Gao, Y., Sun, L., Jin, S., Zhang, X., Liu, C., Li, F., e Xiang, J. (2019). Wnt signaling pathway linked to intestinal regeneration via evolutionary patterns and gene expression in the sea cucumber *Apostichopus japonicus*. *Frontiers in Genetics*, 10(February), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00112>
- Yutin, N., Wolf, M. Y., Wolf, Y. I., e Koonin, E. V. (2009). The origins of phagocytosis and eukaryogenesis. *Biology Direct*, 4. <https://doi.org/10.1186/1745-6150-4-9>
- Zhang, X., Zhuchenko, O., Kuspa, A., e Soldati, T. (2016). Social amoebae trap and kill bacteria by casting DNA nets. *Nature Communications*, 7, 1–9. <https://doi.org/10.1038/ncomms10938>
- Zou, J., e Secombes, C. J. (2016). The function of fish cytokines. *Biology*, 5(2). <https://doi.org/10.3390/biology5020023>

Livros e capítulos

- Adamska, M. (2018). Differentiation and Transdifferentiation of Sponge Cells. *Results and Problems in Cell Differentiation*, 65, 229–253. https://doi.org/10.1007/978-3-319-92486-1_12
- Barreda, D. R., Neely, H. R., e Flajnik, M. F. (2017). Evolution of Myeloid Cells. *Myeloid Cells in Health and Disease*, 43–58. <https://doi.org/10.1128/9781555819194.ch4>
- Bradfield, C. J. (2017). Evolution of Cell-Autonomous Effector Mechanisms in Macrophages versus Non-Immune Cells. *Myeloid Cells in Health and Disease*, 5, 615–635. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.mchd-0050-2016>
- Ho, E. C. H., e Rast, J. P. (2016). The Immune System of Echinoderms. In *Encyclopedia of Immunobiology* (Vol. 1). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374279-7.12007-7>
- McClure, J. J., Li, X., e Chou, C. J. (2018). Advances and Challenges of HDAC Inhibitors in Cancer Therapeutics. In *Advances in Cancer Research* (1º ed, Vol. 138). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/bs.acr.2018.02.006>
- Thornton, C. S. (1968). Amphibian limb regeneration. In *Advances in morphogenesis* (Vol. 7). ACADEMIC PRESS, INC. <https://doi.org/10.1016/b978-1-4831-9954-2.50010-0>

Monografias, dissertações e teses

- Cabanel, M. P. (2018). *O papel da histona desacetilase na plasticidade fenotípica de macrófagos*.

Carla Barreto. (2014) *A atividade Histona Desacetilase (HDAC) é necessária para a morfogênese epitelial por regular os níveis de acetilação de H4K12 durante o desenvolvimento de Drosophila.*

Mariana Pereira Cabanel. (2012) *Papel da atividade Histona desacetilase durante a diferenciação mielóide.*

Mariana Pereira Cabanel. (2014) *O papel da histona desacetilase na plasticidade fenotípica de macrófagos.*

Nathalia Pentagna Maciello Drummond Pires. *Integração da sinalização de BMPs ao epigenoma.* (2014)

Nathália Pentagna Pires. (2020) *A atividade Histona Desacetilase é necessária para a imuno-modulação da regeneração de tecidos e órgãos em Xenopus laevis.*