

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Viktorie Psutková**

Embryonální vývoj primárních úst obratlovců

The embryonic formation of the primary mouth in vertebrates

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Robert Černý, Ph.D.

Praha, 2017

**Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 15.5.2017

Podpis

## **Poděkování**

Na tomto místě bych ráda poděkovala mému školiteli, Mgr. Robertovi Černému, Ph.D., za užitečné rady, čas a trpělivost, které mi věnoval během psaní mé bakalářské práce. Děkuji také mému blízkému okolí, kamarádům, kolegům a hlavně rodině, za jejich podporu.

## Abstrakt

Primární ústa vznikají na anteriorním konci hlavy a jsou tvořena proti sobě ležícím ektodermem a endodermem. Ústa jsou prvním spojením trávicí soustavy s vnějším okolím, což je důležité pro další vývoj a život organismu. K otevření úst dochází u většiny obratlovců protržením tenké přepážky, orální membrány, která vzniká mezi vchlípaným ektodermem stomodea a proti němu se tlačícím endodermem přední části hltanu. Poměrně překvapivě však embryonální vývoj úst není jednotný pro celou skupinu obratlovců. Primární ústa většiny obratlovců se vyvíjejí přes tzv. stomodeální invaginaci, a tento vývoj je typický také pro žábu drápatku (*Xenopus leavis*). Kromě stomodeální invaginace jsou popsány další dva hlavní typy vývoje primárních úst. Zatímco primární ústa ocasečných obojživelníků a bahníků se vyvíjejí přes tzv. stomodeální límec, pro kostnaté ryby je typický vývoj primárních úst přes stomodeální klín. Mimo toto základní členění jsou řazeny sliznatky, jejichž vývoj primárních úst je podobný stomodeální invaginaci, ale dochází u nich k sekundárnímu uzavření vchlípeného stomodea. Vývoj primárních úst obratlovců je pravděpodobně přizpůsobený vývoji a prostorovým možnostem embrya. Původní typ vývoje primárních úst obratlovců byl nejspíše vývoj přes stomodeální invaginaci, na základě podobného vývoje primárních úst pláštěnců a většiny obratlovců.

**Klíčová slova:** primární ústa, stomodeum, orální membrána, invaginace, límec, klín, embryogeneze

## Abstract

The primary mouth develops during early embryogenesis at the anterior end of the forming head and it is created from the ectoderm and the endoderm that directly juxtapose. The primary mouth is the first connection of the digestive system with the outside, which is undoubtedly a crucial step for further development of an organism. In most vertebrates, the primary mouth is getting opened by perforation of a thin septum, the oral membrane. The oral membrane is formed from the ectoderm and the endoderm, when the ectoderm pushes against endoderm. Surprisingly, developmental formation of the primary mouth is not identical in all vertebrates and we can commonly recognize three main developmental modes. In the most vertebrates clades, the primary mouth forms via the so called stomodeal invagination, which is often exemplified in the frog *Xenopus leavis*. The primary mouth of salamanders and lungfishes forms via the so called stomodeal collar and the primary mouth of teleost fishes forms via the so called stomodeal wedge. Moreover, in the hagfishes, the development of the primary mouth seems similar to the stomodeal invagination, but with some substantial differences in later formation. The particular mode of the primary mouth formation probably depends on the course of embryonic development and spatial possibilities of the embryo. The ancient type of the primary mouth formation in vertebrates is probably the stomodeal invagination.

**Key words:** primary mouth, stomodeum, oral membrane, invagination, collar, wedge, embryogenesis

## Obsah

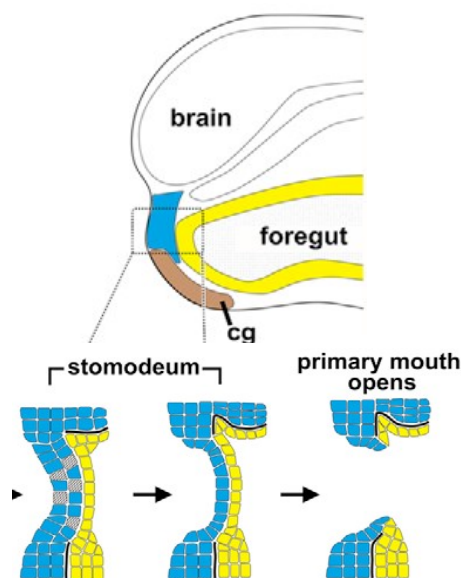
Úvod.....	1
Stomodeální vývoj primárních úst .....	3
Primární ústa drápatky.....	3
Primární ústa savců .....	6
Primární ústa kuřete.....	6
Primární ústa paryb .....	7
Primární ústa mihule .....	8
Sliznatky.....	9
Stomodeální límeč.....	11
Stomodeální klín .....	13
Vývoj primárních úst pohledem evoluce a embryogeneze.....	14
Závěr.....	18
Zdroje .....	20

## Úvod

Ústa jsou životně důležitou spojkou s vnějším prostředím, umožňují příjem potravy, dýchání a komunikaci. Ústa můžeme rozlišit na primární a sekundární (Dickinson and Sive, 2006). Tzv. sekundární ústa jsou to, co si jako ústa většinou představíme, tedy na první pohled viditelný útvar patrný u všech živočichů včetně člověka. Tato ústa disponují obrovským množstvím tvarů a modifikací, které souvisejí se způsobem života daného organismu. Sekundární ústa, neboli také ústa dospělá, jsou tvořena strukturami a tkáněmi ektodermálního, endodermálního, i mezodermálního původu, která ústům dávají charakteristický vzhled. Mezi tyto tkáně a struktury patří např. zuby, jazyk, či čelisti. Tzv. primární ústa vznikají dříve, v rané embryogenezi, a to pouze ze dvou zárodečných vrstev, ektodermu a endodermu, jejichž společná morfogeneze následně umožní vývoj a otevření primárních úst. Vývoj primárních úst může probíhat překvapivě různými způsoby (Soukup et al., 2013). Před seznámením a rozebráním jednotlivých typů vývoje primárních úst mi přijde vhodné popsat struktury důležité pro vznik úst.

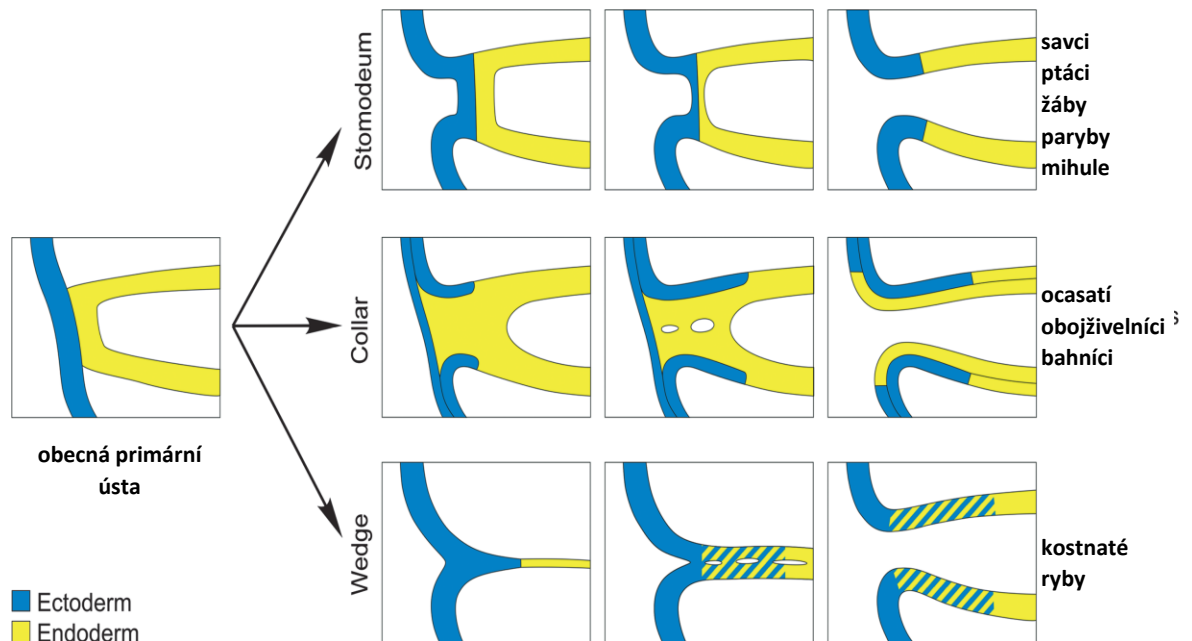
Ve vývoji primárních úst hrají hlavní roli dvě vrstvy: ektodermální a endodermální zárodečná vrstva (Obr. 1). Ektoderm anteriorní strany hlavy je s endodermem přední části hltanu v přímém kontaktu (Obr. 1). Během vývoje úst mají ektoderm a endoderm tendenci tlačít proti sobě, kdy ektoderm se vchlipuje, zatímco endoderm se vychlipuje ven (Obr. 1). V literatuře jsou používány pro endodermální část podílející se na vývoji úst termíny přední střevo (foregut), nebo jen hltan (pharynx). V této práci bude pro lepší názornost používáno označení přední část hltanu. V učebnicích (např. Gilbert, 2014) se většinou uvádí v souvislosti s vývojem úst kromě přední části hltanu další dvě struktury, ektodermální stomodeum a orální membrána. Stomodeum je termín označující vchlípený orální ektoderm (Obr. 1). Orální membrána, stejně také ústní, či oropharyngeální membrána, je přepážka tvořená v oblasti úst z ektodermu a endodermu. Nicméně dle nedávno publikované práce (Soukup et al., 2013) se stomodeum a orální membrána nedají považovat za obecné vlastnosti primárních úst společné pro všechny skupiny obratlovců.

Na základě rozdílné morfogeneze primárních úst obratlovců můžeme jejich vznik rozdělit do 3 zatím popsaných typů: stomodeální invaginace, stomodeální límec a stomodeální klín (Obr.2) (Soukup et al., 2013). Většina úst obratlovců se vyvíjí přes stomodeální invaginaci, kdy se ektoderm vchlipuje a utváří stomodeum (Obr. 1) a následně se ústa otvírají proděravěním orální membrány. Nejlépe je vývoj úst přes stomodeální invaginaci popsán na žábě drápatce (*Xenopus leavis*) (Dickinson and Sive, 2006; Jacox et al., 2016; Dickinson and Sive, 2007;



Obr. 1. Schéma vývoje primárních úst. Zleva vchlipování stomodea (modrá) proti entodermu přední části hltanu (žlutá), následuje ztenčení přepážky vzniklé z ektodermu a entodermu a končí rozpadem přepážky a otevřením primárních úst. Ektoderm značen modře, entoderm žlutě. brain= mozek; foregut=přední část hltanu; cg=cementová žláza. Upraveno podle Dickinson and Sive (2009).

Dickinson and Sive, 2009). Odlišným způsobem se utváří a otvírají primární ústa přes tzv. stomodeální límeček (stomodeal collar) a stomodeální klín (stomodeal wedge). U obou těchto typů stomodeum jako takové nevzniká a ústa se otvírají horizontálně (Obr. 2) (Soukup et al., 2013). Vývoj primárních úst přes stomodeální límeček (de Beer, 1947; Soukup et al., 2008) je typický pro ocasaté obojživelníky (Johnston, 1910) a bahníky (Kerr, 1909). V případě stomodeálního klínu je vznik úst tímto způsobem popsán na dániu (*Danio rerio*) (Waterman and Kao, 1982) a je pravděpodobně typický pro všechny kostnaté ryby (Soukup et al., 2013). Zvláštním případem jsou sliznatky, bezčelistnatí obratlovci, jejichž vývoj úst nebyl dlouhou



Obr. 2. Vývoj primárních úst obratlovců znázorněný schematicky. Zhora stomodeální invaginace: Vchlípnutí ektodermu (modrá) a vychlípnutí entodermu (žlutá) vytvoří tenkou přepážku, která se rozpadne a ústa se otevřou. Ústa vznikající přes stomodeální límeček (collar) jsou tvořena ektodermem (modrá) a velkým množstvím entodermu (žlutá). Postupně se vytvoří jednotlivé mezery, které splynou, a to způsobí otevření úst dorso-ventrálním směrem. Ústa vznikající přes stomodeální klín (wedge) mají oblast ektodermu (modrá) a entodermu (žlutá) stlačenou. Ektoderm s entodermem jsou od sebe špatně rozlišitelné. Ústa se otvírají splynutím malých mezer vytvořených v oblasti ekto-entodermu. Wedge=stomodeální klín; collar= stomodeální límeček; stomodeum =stomodeální invaginace. Upraveno podle Soukup et al. (2013).

dobu zcela jasný (Ota and Kuratani, 2008). Nedávná práce však ukázala, že vývoj sliznatčích primárních úst se jen nepatrně liší od stomodeální invaginace (Oisi et al., 2013). Každý typ vývoje primárních úst bude podrobně diskutován v následujících kapitolách. Jednou velkou neznámou ve vývoji primárních úst tvoří zbylé skupiny paprskoploutvých ryb bichři, chrupavčité ryby, kostlíní a kaprouní, o jejichž vývoji úst se toho obecně moc neví (Soukup et al., 2013), a proto bych se jim chtěla věnovat v další práci.

Hlavním cílem mé bakalářské práce je shrnout poznatky o vývoji primárních úst obratlovců. První část se zabývá nejrozšířenějším typem primárních úst stomodeální invaginací. Dále jsou probrány další typy vývoje primárních úst, stomodeální límeček a stomodeální klín, se zaměřením na to, čím se liší a jaký je možný důvod této odlišnosti. Na závěr je nastíněn vývoj primárních úst v rámci skupiny strunatců.



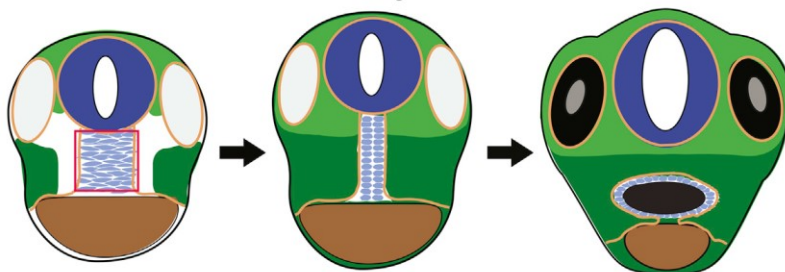
## Stomodeální vývoj primárních úst

Nejčastějším typem vzniku primárních úst většiny obratlovců je stomodeální vchlipování (invaginace) následovaná perforací orální membrány (Dickinson and Sive, 2006). Dlouho dobu byl tento vývoj primárních úst považován za jediný způsob, jakým se utvoří propojení trávicí soustavy s vnějším prostředím (Soukup et al., 2013).

Vznik úst stomodeální invaginací a prolomením orální membrány je nejlépe morfologicky a molekulárně prostudován na drápatce (*Xenopus leavis*), což bude detailně probráno v této kapitole. Dalšími skupinami patřícími společně s drápatkou pod tento typ tvorby primárních úst jsou savci, ptáci, paryby a mihule (Soukup et al., 2013). U těchto skupin obratlovců bude tvorba primárních úst probírána již jen z morfologického hlediska. Ze savců bude vývoj primárních úst rozebrán na myši (*Mus musculus*) (Waterman, 1977) a křečkovci (*Mesocricetus auratus*) (Poelmann et al., 1985), jelikož práce zabývající se vývojem úst savců jsou zpracovány na jejich příkladech (Poelmann et al., 1985; Waterman, 1977). Práce zabývající se ptačími primárními ústy sledují morfologii kuřecích úst (*Gallus gallus*) (Waterman and Schoenwolf, 1980). Z paryb je vývoj primárních úst studován např. na máčce skvrnitě (*Scyliorhinus canicula*) (Ballard et al., 1993).

### Primární ústa drápatky

Primární ústa drápatky se prolamují mezi ventrálně ležící cementovou žlázou a dorsálně ležící nervovou tkání, která později tvoří mozek (Dickinson and Sive, 2006). Primární ústa vznikají z oblasti zvané extrémní anteriorní doména (*extreme anterior domain*) (Dickinson and Sive, 2007). Tato doména se nachází v přední části hlavy a je tvořena ektodermem a endodermem, které jsou v přímém kontaktu, nezasahuje sem žádný mezoderm (Dickinson and Sive, 2007). Z domény nejsou odvozeny jen primární ústa, ale i další struktury hlavy: adenohipofýza a cementové žlázy. Postupně dochází k rozlišení jednotlivých tkání, kdy první se oddělí cementové žlázy a později adenohipofýza s oblastí budoucích primárních úst (Dickinson and Sive, 2007). V doméně je exprimována řada genů, z nichž nejdůležitější pro vývoj a otevření primárních úst jsou geny *pitx* (Dickinson and Sive, 2007). Vypnutí genu *pitx* způsobí, že se ústa buď vůbec nevyvinou, nebo se neotevřou (Jacox et al., 2014). Vývoj úst drápatky se odehrává v období mezi stádiem pozdní neuruly až

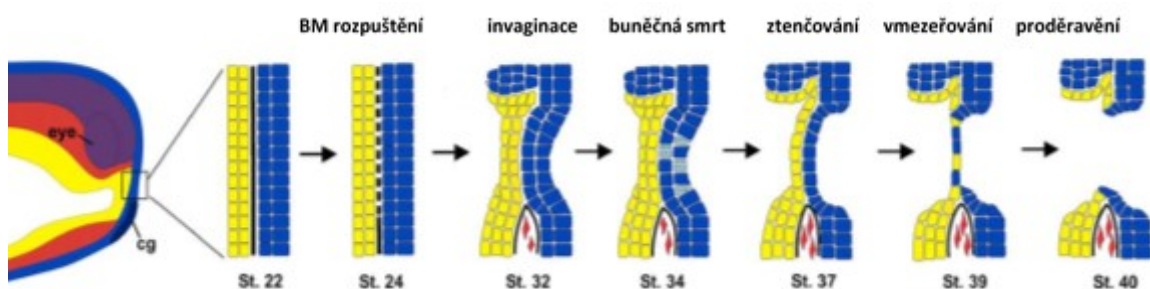


Obr. 3. Schématický nákres hlavy drápatky (*Xenopus leavis*), frontální pohled. Vývoj úst z extrémní anteriorní domény (červený rámeček) přes „pre-mouth array“ (sloupec buněk) po otevření úst. Modrá= mozek; hnědá=cementová žláza; zelená=neurální lišta; oranžová=bazální membrána. Upraveno podle Jacox et al.(2016).

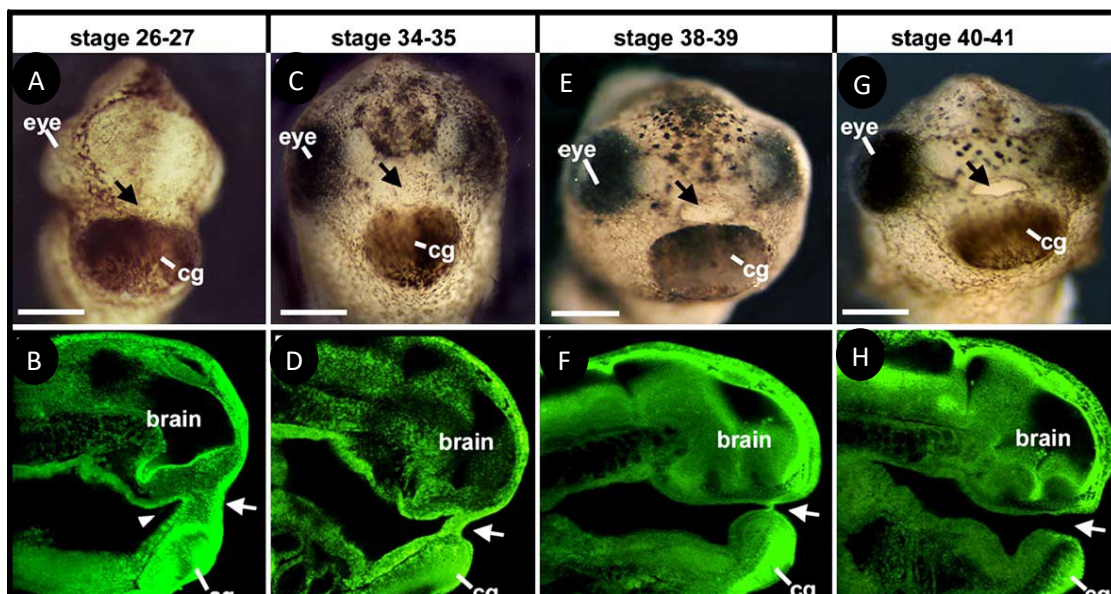
po stadium pulce, celý proces trvá 3 dny (Dickinson and Sive, 2006; Jacox et al., 2016). Oblast budoucích primárních úst vznikajících z extrémní anteriorní domény (Dickinson and Sive, 2007) připomíná z frontálního pohledu čtverec ohraničený bazální membránou (Obr. 3) (Jacox et al., 2016). Před začátkem invaginace

stomodea se tento čtverec v oblasti extrémní anteriorní domény zúží do podlouhlého sloupce o šířce dvou buněk, které vytvoří tzv. „pre-mouth array“ (Obr. 3) (Jacox et al., 2016). Ke vzniku tohoto útvaru dochází konvergentní extensí, tedy prolínáním buněk, které změni svůj tvar v podlouhlý a úzký, aby se mohly prolínat a tím vznikne z původního čtverce podlouhlý sloupec (Jacox et al., 2016). Signál pro přeskupení buněk přichází ze sousední tkáně nacházející se po obou bočních stranách domény, s největší pravděpodobností od buněk neurální lišty (Jacox et al., 2016). Klíčovými strukturami pro další vývoj primárních úst jsou včetně buněk neurální lišty i neurální tkáň, tedy mozek, a endoderm, jejichž odstraněním se ústa vůbec nevyvinou nebo neotevrou (Dickinson and Sive, 2006).

Po vytvoření „pre-mouth array“ začne docházet k invaginování stomodea dovnitř proti endodermu hltanu (Obr. 4, 5B), to už je společné i pro savce, ptáky, paryby a mihule. Dochází k rozšiřování a



Obr. 5. Schématické znázornění vývoje primárních úst drápatky (*Xenopus laevis*), boční pohled, hlava vpravo. Znázorněny jsou jednotlivé kroky vývoje od stádia 22 po stádium 40, kdy se primární ústa otevírají. eye=oko; cg=cementová žláza; žlutá=endoderm; modrá=ektoderm; červená=mezoderm; fialová=mozek. Upraveno podle Dickinson and Sive (2006).

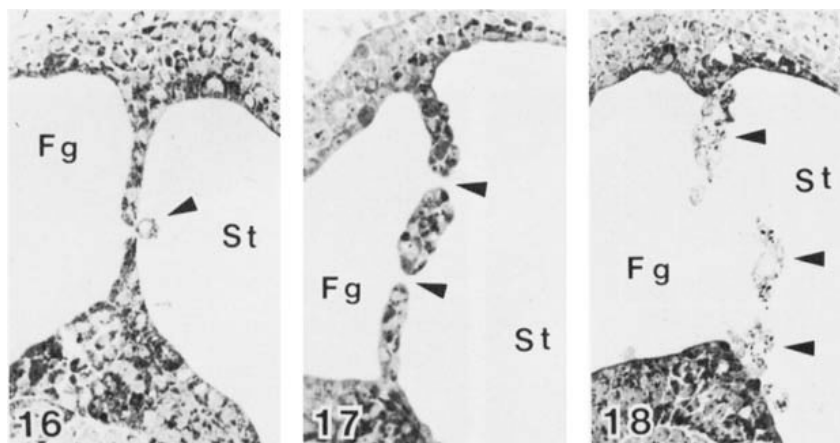


Obr. 4. Vývoj primárních úst drápatky (*Xenopus laevis*), frontální pohled (horní řada) a parasagitální řezy (dolní řada)-hlava vpravo. Zachycený vývoj od stádia 26-27 po stádium 40-41, kdy jsou primární ústa otevřená. A, B-začíná se vchlipovat stomodeum (bílá šipka) a proti vychlipovat přední část hltanu (hlava bílé šipky), tvoří mezi sebou zatím silnou přepážku; C, D-přepážka, orální membrána, se ztenčuje, stomodeum je vchlipené (bílá šipka); E, F-orální membrána je velmi tenká; G, H-orální membrána je již rozpadlá a ústa jsou otevřená. eye=oko; cg=cementová žláza; brain=mozek; černá šipka značí pozici primárních úst. Upraveno dle Dickinson and Sive (2006).

prohlubování stomodeální oblasti (Obr. 5D), ztenčování ekto-endodermální vrstvy (Obr. 4, 5D), s výsledným vznikem orální membrány (Obr. 4, 5F). Během tohoto procesu některé buňky ektodermu

umírají buněčnou smrtí (Obr. 4), na rozdíl od buněk endodermu (Dickinson and Sive, 2006). Aby se mohla orální membrána dále ztenčovat a buňky ektodermu a endodermu se mohly mísit (Obr. 4), musí se rozpustit bazální lamina oddělující obě vrstvy od sebe (Obr. 4) (Dickinson and Sive, 2006). Přerušení bazální laminy nastává vypnutím Wnt/ $\beta$ -catenin cesty. Wnt signalizaci přerušují Frzb-1 a Crescent proteiny z rodiny sFRP exprimované buď přímo v oblasti extrémní anteriorní domény, nebo v jejím blízkém okolí, které se váží na Wnt ligand a tím inhibují další signalizaci. K celému procesu dochází brzy ve vývoji embrya, jelikož Frzb-1 a Crescent jsou přítomny jen v rané fázi neuruly, poté už jejich geny nejsou exprimovány, aby mohl pokračovat vývoj úst a došlo k perforaci membrány (Dickinson and Sive, 2009). Dalšími proteiny hrajícími důležitou roli ve vývoji úst jsou Hedgehog proteiny. Hedgehog proteiny jsou zodpovědné za vznik orální membrány a její protržení, a také ovlivňují finální velikost úst (Tabler et al., 2014).

Po rozpuštění bazální laminy se začnou buňky prolínat tzv. interkalací a výsledkem je 1-2 buněčné vrstvy silná orální membrána (Obr. 4). Membrána se později protrhne (Obr. 4, 5H), ale přesný mechanismus rozpadu není zcela jasný (Dickinson and Sive, 2006). Většina autorů zabývajících se touto problematikou popisuje jednotlivé děje, které mohou být zodpovědné za rozpad orální membrány. Mezi možné děje zodpovědné za finální otevření úst může patřit přeskupení tkání sousedící s membránou (Miller and Olcott, 1989), přeorganizování (Waterman and Schoenwolf, 1980) nebo degenerace buněk membrány (Poelmann et al., 1985; Watanabe et al., 1984). Detailněji je ukázána struktura orální membrány na jiném žabím zástupci. Watanabe a spol. (Watanabe et al., 1984) ukázali ultrastrukturu orální membrány skokana japonského (*Rana japonica*). Orální membrána obecně vzniká stejným způsobem jako u drápatky. Postupně dochází k mísení buněk obou vrstev a ztenčování membrány, vymizí mezibuněčné prostory oddělující ektodermální buňky od endodermálních (Obr. 6). Buňky obou vrstev nejsou ani navzájem propojené



Obr. 6. Perforace orální membrány, parasagitální řez. Postupná tvorba děr (šipky) končící úplným vymizením orální membrány. Fg=hltan; st=stomodeum. Upraveno podle Watanabe et al. (1984).

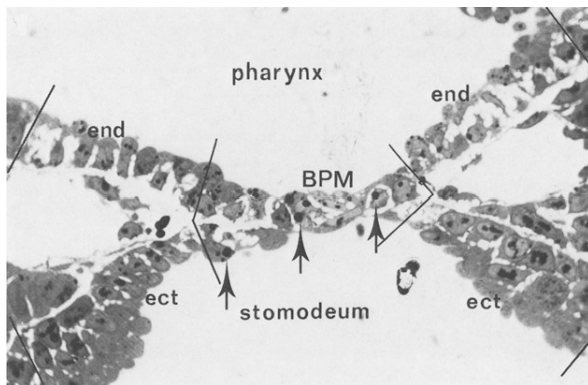
mezibuněčnými spoji, desmozomy, což podporuje křehkost a náchylnost k rozpadu orální membrány. Jakmile se membrána ztenčí na 1-2 buněčnou, začnou se objevovat na více místech trhliny (Obr. 6). V tuto dobu jsou v perforující membráně patrné degenerující buňky s viditelnou lysosomální aktivitou, která naznačuje, že dochází k buněčné smrti (Watanabe et al., 1984). Přesný mechanismus perforace orální membrány není tedy dosud znám, možné je, že všechny děje, konkrétně změna tvaru okolních tkání

s postupným vývojem embrya, přeorganizování a degenerace buněk, se odehrávají společně a jejich kombinace má za výsledek rozpad orální membrány. Bylo by zajímavé prokázat, zda vliv na rozpad orální membrány je spíše výsledkem mechanických sil, kdy se orální membrána rozpadne díky pnutí způsobenému změnou tkání, nebo hlavní roli hrají biologické děje jako přeorganizování buněk a jejich degenerace.

### Primární ústa savců

Vývoj savčích primárních úst je nejlépe popsán na dvou zástupcích této ohromné skupiny obratlovců myši (*Mus musculus*) a křečkovi (*Mesocricetus auratus*). U obou druhů, jakožto i u dalších savců dochází k invaginaci stomodea v rané fázi embryogeneze (Poelmann et al., 1985; Waterman, 1977). Autoři u těchto zvířat se zaměřují hlavně na mechanismus protržení orální membrány.

Tenká orální membrána je tvořena tedy ektodermálním stomodeem a endodermálním hltanem (Obr. 7). Tyto dvě vrstvy jsou ze začátku odděleny bazální laminou a mezibuněčnými prostory. Postupně



Obr. 7. Orální membrána myši (*Mus musculus*) se známkami buněčné smrti (šipky), frontální řez. BPM=orální membrána; end=endoderm; ect=ektoderm; pharynx=hltan. Upraveno podle Poelmann et al. (1985).

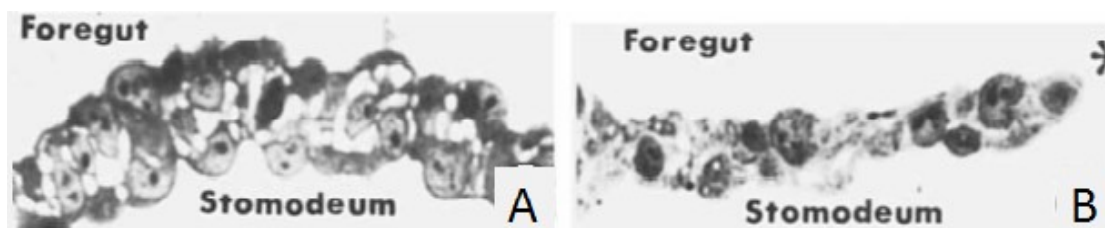
dochází k fagocytóze bazální laminy buňkami orální membrány a přímému kontaktu ektodermu s endodermem (Waterman, 1977). Možným mechanismem způsobujícím proděravění membrány může být degenerace buněk orální membrány (Obr. 7) a zastavení dělení buněk tvořící orální membránu. Dle autorů tohoto sdělení (Poelmann et al., 1985) může u myši degenerace buněk a žádné dělení buněk vést k snadnému narušení tenké přepážky (Poelmann et al., 1985).

Oproti popisu vývoje primárních úst drápatky není vývoj primárních úst savců tolik detailně prostudován, jelikož vývoj savčích embryí probíhá celou dobu v těle matky, a to znesnadňuje pozorování a analyzování embryí. Nicméně na obou zástupcích savců, myši a křečkovi, je ukázán jeden z možných dějů způsobující rozpad orální membrány, a to degenerace buněk. Buněčná smrt, jak je již ukázáno v předchozí podkapitole na skokanovi japonském (*Rana japonica*) a v této podkapitole na myši a křečkovi, se zdá být nezbytnou součástí proděravění orální membrány (Poelmann et al., 1985; Watanabe et al., 1984; Waterman, 1977).

### Primární ústa kuřete

Primární ústa jsou dobře prostudovaná i na kuřeti (*Gallus gallus*). Kuřecí primární ústa vznikají také stomodeální invaginací s následnou rupturou orální membrány. Práce zabývající se primárními ústy kuřete jsou převážně zaměřeny na způsob rozpadu této membrány, se snahou odhalit správný mechanismus tohoto děje (Miller and Olcott, 1989; Waterman and Balian, 1980; Waterman and Schoenwolf, 1980). Vznik orální membrány začíná postupným rozpuštěním bazální laminy ektodermu a endodermu, tím se odstraní bariéra bránící prolínání buněk ektodermu a endodermu a může se utvořit finální ztenčenina. Původ buněk orální

membrány je v této fázi už těžko rozlišitelný (Obr. 8) (Waterman and Balian, 1980; Waterman and Schoenwolf, 1980). Tenká přepážka je náchylná k protržení. K rozpadu orální membrány dochází



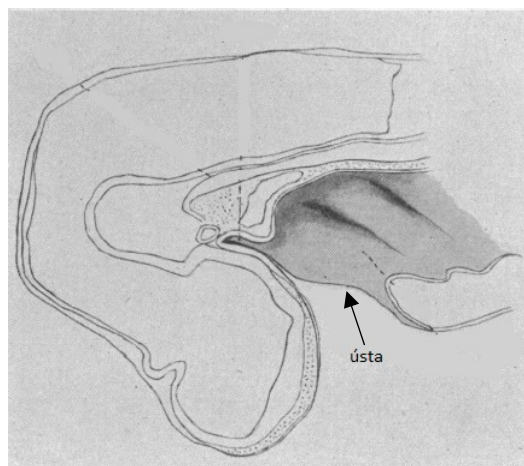
Obr. 8. Detail části orální membrány kuřete (*Gallus gallus*). A-orální membrána stádia 15, B-rozpadající se orální membrána stádia 17, hvězdička značí protržení v orální membráně. Foregut=přední část hltanu. Upraveno podle Waterman and Schoenwolf (1980).

postupným protrháváním, které může způsobovat ztráta mezibuněčných kontaktů buněk membrány, měnící se organizace buněk nebo buněčná smrt (Waterman and Schoenwolf, 1980). Další možnosti způsobující protržení orální membrány diskutoval Miller a Olcott (Miller and Olcott, 1989). S postupným vývojem embrya a změnou morfologie sousedních orgánů úst jako např. předstřeva, budoucího hltanu, může dojít k roztržení membrány. V tkáních obklopujících ústní dutinu dochází k přeskupování buněk, to může mít za následek postupné rozpadání (Obr. 8B) orální membrány a otevření úst (Miller and Olcott, 1989).

Rozpad orální membrány studovaný na kuřeti se zdá být velmi podobný rozpadu orální membrány myši a křečka popsané v předchozí podkapitole. V případě kuřete navíc autoři navrhují další možnosti, jako např. rozpad úst způsobený změnou morfologie okolních tkání úst (Miller and Olcott, 1989). Oproti drápatce se toho u myši, křečka a kuřete ví mnohem víc o protržení orální membrány.

### Primární ústa paryb

Vývoj úst paryb byl popsán již Balfourem (Balfour, 1878) a z novodobějších prací pak např. Ballardem (Ballard et al., 1993). Oba popsali invaginaci stomodea a otevření úst protržením orální membrány na máčce skvrnitě (*Scyliorhinus canicula*). Allis (Allis, 1931) psal o vývoji úst dalších zástupců paryb jako žralok ostroun (*Acanthias*), rejnok ostnatý (*Raja clavata*). U obou, u žraloka i rejnoka popsal vývoj úst shodný se stomodeální invaginací a vznikem orální membrány. Embryonální vývoj úst paryb se odehrává mezi mozkem na anteriorní straně a přední částí hltanu na posteriorní straně (Obr. 9) (Balfour, 1878). Primární ústa jsou posunuta více ventrálně (Obr. 9) (Balfour, 1878; Allis, 1931) než např. u embrya drápatky, tento posun je způsobený vyvíjejícím se mozkem. Během vývoje se primární ústa zužují směrem anteriorně-posteriorním (Balfour, 1878). Ústa se otvírají rozpadem orální membrány (Allis, 1931).



Obr. 9. Parasagitální řez anteriorním koncem embrya rejnoka ostnatého (*Raja clavata*), hlava vlevo. Poměrně široká ústa embrya (tmavá oblast značena šipkou) jsou posunuta ventrálně vyvíjejícím se mozkem Upraveno podle Hallera a Moriho (Haller and Mori, 1925; podle Allis, 1938).

Vývoj primárních ústa paryb je zajímavý svým ventrálním posunutím ve srovnání s ústy drápatky, kuřete a myši a také postupným zužováním široké oblasti primárních úst (Obr. 9).

### Primární ústa mihule

Vznik primárních úst mihule je popsán na larvě mihule mořské (*Petromyzon marinus*) (Richardson and Wright, 2003) i mihule říční (*Lamperta reissneri*) (Tahara, 1988). Obě mihule formují primární ústa stejně, liší se

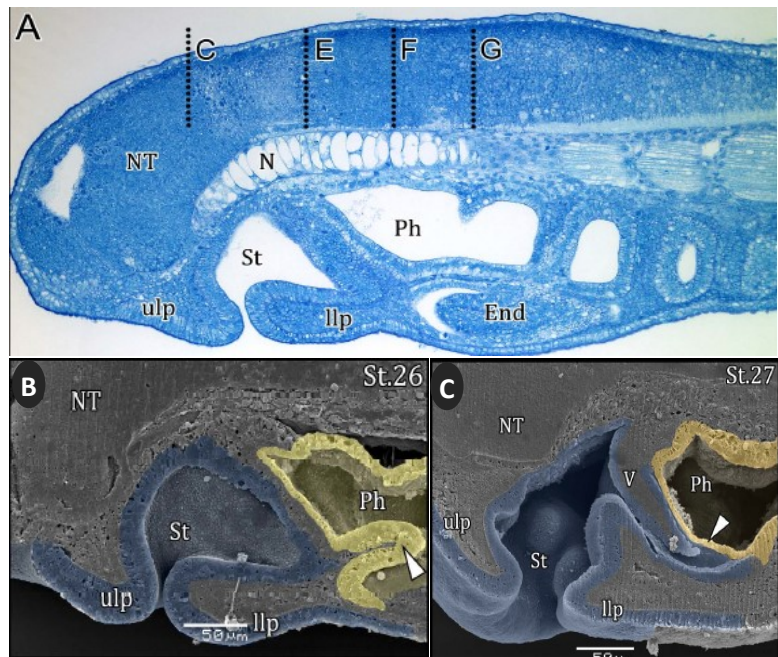
Vývoj primárních úst mihule je situován na anteriorní ventrální straně hlavy pod nasohypofyzální destičkou (Kuratani et al., 2001) (Obr. 10). Od raného stádia začíná být v této oblasti patrné vchlipování stomodea (Obr. 10). Z počátku vzniká stomodeum jako úzká štěrbina (Obr. 10B, C) směřující k přední části



Obr. 10. Frontální pohled na vývoj anteriorní části hlavy larvy mihule japonské (*Lamperta japonica*). Od 23 (A) stádia dochází k invaginaci stomodea; od stádia 24 (C) se utváří horní a dolní ret, které štěrbinovitá oválná ústa modifikují na příčná (D). Cp= lícní proces; st=stomodeum; nhp=nasohypofyzální destička; upl=zárodek horního rtu; llp=zárodek spodního rtu. Upraveno podle Kuratani et al. (2001).

hltanu, který v rané fázi vývoje tvoří boční výchlipky (Romášek, 2012). Tyto endodermální výchlipky přední části hltanu se ale s pokračujícím vývojem ztratí. Postupně stomodeum obklopí z dorsální strany horní ret a z ventrální strany dolní ret (Obr. 10D), a to způsobí změnu tvaru primárních úst z oválné (Obr. 10C) na příčnou (Obr. 10D) (Romášek, 2012). Z horního rtu se začne utvářet tzv. „oral hood“, struktura připomínající kapuci, která z anteriorní-dorsální strany překryje ústa. Zároveň dojde ke změně tvaru stomodea z úzké štěrbiny na širokou dutinu vystlanou ektodermem (Obr. 11), která sahá hluboko dovnitř hlavy (Kuratani et al., 2001; Romášek, 2012) a na posteriorním konci je oddělená od přední části hltanu orální membránou (Obr. 11B, C) (Richardson and Wright, 2003) .jen délkou embryonálního vývoje, kdy u mořské mihule je delší. Stomodeum tvoří boční výchlipky směřující posteriorně a oklopující přední část hltanu laterálně (Obr. 11C), proto je budoucí ústní dutina tak hluboká a široká. Orální membrána je zpočátku silná přepážka skládající se z ektodermální a endodermální vrstvy (Obr. 11A ,B) (Tahara, 1988; Romášek, 2012), která se postupně ztenčuje. Zároveň se začíná vytvářet na místě orální membrány velum, filtrační struktura (Obr. 11C) (Richardson and Wright, 2003; Tahara, 1988) , s jejímž vývojem se orální membrána roztrhne (Romášek, 2012).

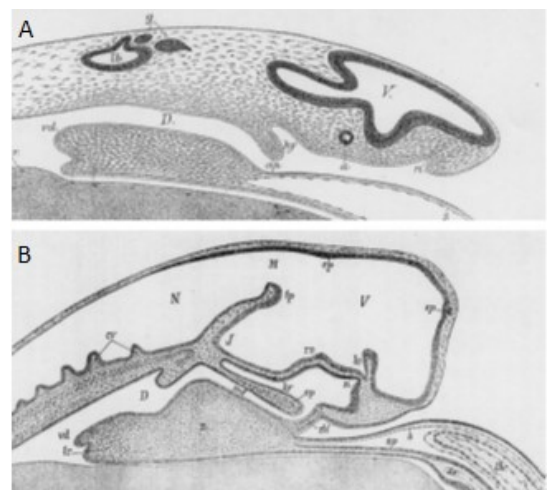
Vývoj primárních úst mihulí, jakožto bazálních obratlovců, je podobný jako u většiny zástupců obratlovců. Primární ústa mihule jsou specifická svojí hloubkou a širokou dutinou tvořenou ektodermem (Obr. 11). Zajímavé je i samotné ventrální posunutí a modifikace ústní dutiny, které je způsobené horním, dolním rtem a orální kapucí (*oral hood*) (Romášek, 2012). Myslím, že vývoj primárních úst mihulí má ještě, co nabídnout. Vývoj primárních úst přes stomodeální invaginaci by mohl být původním typem formování úst obratlovců (Soukup et al., 2013).



Obr. 11. Parasagitální řez hlavy mihule mořské (*Petromyzon marinus*), hlava vlevo. A-histologický řez hlavy stádia 26, stomodeum je hluboce vchlípené a od přední části hltanu oddělené zatím silnou orální membránou; B, C-oblast úst mihule znázorněná pomocí skenovací elektronové mikroskopie; B-zobrazení stádia 26 s vyznačenou hranicí ektodermu stomodea (modrá) a entodermu přední části hltanu (žlutá); C-u stádia 27 je skoro už vytvořené velum na místě orální membrány, orální membrána je zde ještě patrná jako tenká přepážka (bílá šipka). ulp= horní ret; llp=dolní ret; st=stomodeum; NT=neurální trubice; N=struna hřbetní; Ph=hltan; V=velum; End=endostyl. Upraveno podle Romášek (2012).

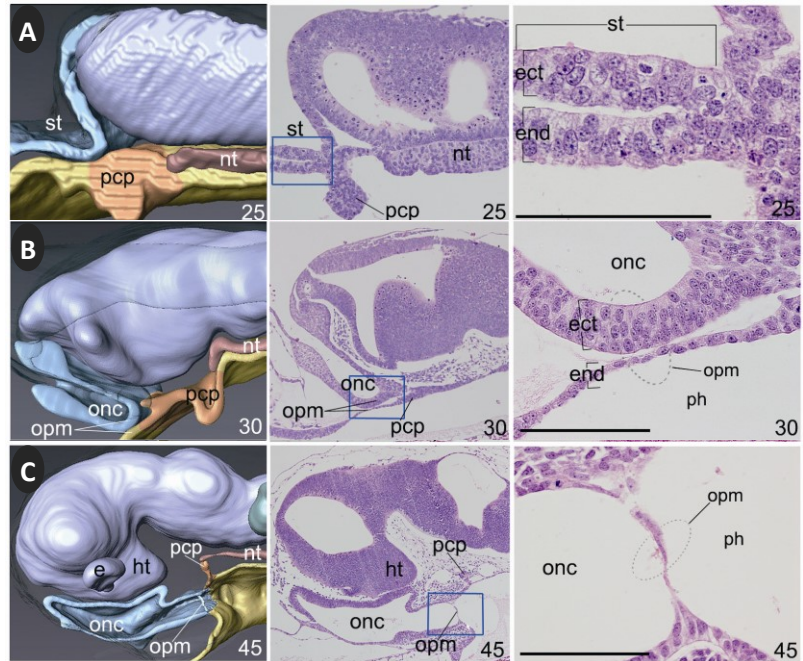
## Sliznatky

Sliznatky se svým vývojem primárních úst odchylují od stomodeální invaginace popsané v předchozí kapitole. Dlouho dobu nebyl znám přesný způsob otevírání primárních úst sliznatek. Na konci 19. století von Kupffer (von Kupffer, 1900; podle Ota and Kuratani, 2008) a Dean (Dean, 1899) popsali dva rozdílné vývoje úst sliznatek. Podle von Kupffera (von Kupffer, 1900; podle Ota and Kuratani, 2008) nedochází u sliznatek k invaginaci stomodea, primárně vzniklá ústa (Obr. 12A) se na anteriorní straně sekundárně uzavírají (Obr. 12B) a „pravá“ ústa se otevírají více ventrálně, pod nasopharyngeální dutinou. Dean (Dean, 1899) naopak tvrdil, že dochází k invaginaci stomodea a vzniku orální dutiny, která už se sekundárně neuzavírá. Až nedávná



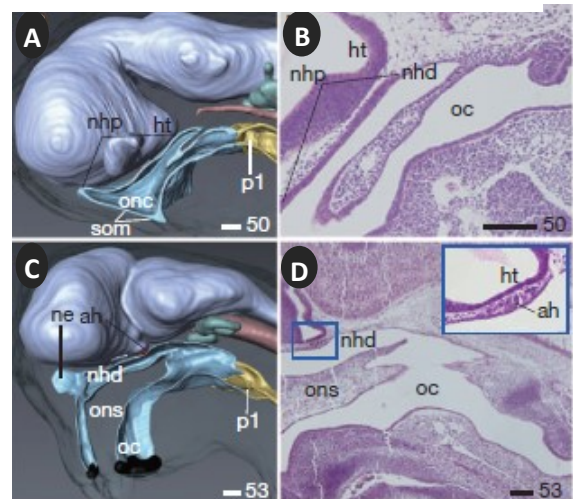
Obr. 12. Parasagitální řez embryonálního vývoje hlavy pasliznatky Stoutovy (*Eptatretus stouti*), hlava vpravo. A-primární ústa, B-sekundárně uzavřená primární ústa. D=nasopharyngeální dutina. Upraveno podle von Kupffera (von Kupffer, 1900; podle Ota and Kuratani, 2008).

práce objasnila embryonální vývoj primárních úst. Vznik sliznatých úst je popsán většinou a dvou druhů, pasliznatka Stoutova (*Bdellostoma* (*syn. Eptatretus*) *stouti*) a pasliznatka Burgerova (*Eptatretus burgeri*). Začátek vývoje primárních úst těchto pasliznatek začíná invaginací stomodea (Obr. 13A) (Oisi et al., 2013). Z invaginovaného stomodea vzniká oronasohypofyzální dutina (Obr. 13B), která se sekundární orální membránou (Obr. 14) na anteriorním konci (Oisi et al., 2013). Od hltanu je tato dutina oddělena orální membránou (Obr. 13). uzavírá Ektoderm a endoderm tvořící orální membrány jsou od sebe



Obr. 13. Vývoj primárních úst pasliznatky Burgerovy (*Eptatretus burgeri*), hlava vlevo. A-C boční pohled na vývoj oronasohypofyzální dutiny ukázaný 3D rekonstrukcí a k ní příslušnými parasagitální řezy. Modrý rámeček ohraničuje oblast detailně ukázanou v pravém sloupci. A-stomodeální invaginace ve 25 stádiu, detailně ukázané počáteční oddělení ektodermu a entodermu orální membrány; B-vznik oronasopharyngeální dutiny ve 30 stádiu s patrným ztenčováním entodermální vrstvy orální membrány; C-uzavřená oronasopharyngeální dutina ve 45 stádiu a postupný rozpad tenké orální membrány. Levý sloupec: ektoderm=modrá; entoderm=žlutá; prechordální destička=oranžová; struna hřbetní=fialová. st=stomodeum; pcp=prechordální destička; nt=struna hřbetní; ect=ektoderm; end=endoderm; onc=oronasopharyngeální dutina; oph=orální membrána; e=oko, ph=hltan; ht=hypotalamus. Upraveno podle Oisi et al. (2013).

zpočátku odděleny velkým mezibuněčným prostorem (Obr. 13A, B). Postupně je patrné ztenčování endodermální vrstvy (Obr. 13B) oproti ektodermální, není tedy zcela jasné, zda dochází k promísení buněk ektodermu a endodermu jako u drápatky nebo jen vymizí endodermální vrstva. Nicméně výsledkem je tenká přepážka, která se postupně proděraví (Obr. 13C) (Oisi et al., 2013). Ústní dutina ale stále není rozlišena jako samostatná. Postupně se začíná vyvíjet a z dorsální strany směrem k anteriorně-ventrální rozšiřovat nasopharyngeální septum (Obr. 14) (Ota and Kuratani, 2008; Oisi et al., 2013). Nasopharyngeální septum rozdělí oronasohypofyzální dutinu na nasopharyngeální dutinu a ústní dutinu (Obr. 14) (Gorbman, 1983; Oisi et al., 2013).



Obr. 14. Vznik orální dutiny pasliznatky Burgerovy (*Eptatretus burgeri*), hlava vlevo. A, C-3D model hlavy embrya pasliznatky z bočního pohledu; B, D-parasagitální řez orální a nasopharyngeální dutinou. som=sekundární orální membrána; onc=oronasohypofyzální dutina; nhp=nasohypofyzální destička; ht=hypotalamus; p1=pharyngeální výchlípek 1; nhd=nasopharyngeální dutina; oc=ústní dutina; ons=nasopharyngeální septum; ne=nosní epitel; ah=adenohypofýza. Upraveno podle Oisi et al. (2013).



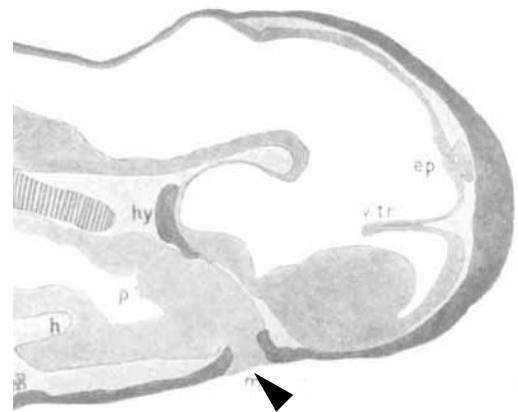
Vývoj primárních úst sliznatek se tedy svým sekundárním uzavřením odlišuje od stomodeální invaginace diskutované v předchozí kapitole. Zajímavé je, že u sesterské skupiny sliznatek, mihulí, se sekundární uzavření dutiny vzniklé z vchlípeného stomodea nevyvinulo. Nicméně společně sliznatkám a mihulím zůstává počátek vývoje primárních úst, stomodeální invaginace, a otevření úst proděravěním orální membrány.

## Stomodeální límec

Stomodeální límec je dalším typem vývoje primárních úst (Obr. 2) (Soukup et al., 2013). Termín stomodeální límec (*stomodeal collar*) poprvé použil de Beer (de Beer, 1947) pro buňky ektodermu obklopující endoderm v oblasti budoucích úst ocasatých obojživelníků. Stomodeální límec byl ale pozorován i dříve autory, kteří tuto strukturu pojmenovali ektodermální límec (*ectodermal collar*) (Johnston, 1910; Adams, 1924). Protože však současná literatura spíše používá termín stomodeální límec, bude v této kapitole používán ten.

Primární ústa přes stomodeální límec vznikají u ocasatých obojživelníků, z nichž je tento vývoj úst diskutován na axolotlovi (Obr. 15) (*Ambystoma sp.*)

(Adams, 1924; de Beer, 1947; Johnston, 1910; Soukup et al., 2008) a na pamlokovi tokijském (*Hynobius tokyoensis*) (Takahama et al., 1988), ale také je typický pro bahníky (Adams, 1924; Kerr, 1902, 1909). Během embryonálního vývoje primárních úst axolotla, pamloka i bahníka je oblast budoucích úst vyplněná velkým množstvím endodermu předního střeva (Obr. 2, 16), které připomíná zátku (Soukup et al., 2013). Endoderm je na anteriorní straně kryt dvouvrstevným ektodermem (Obr. 2) (Soukup et al., 2008). Během embryogeneze ocasatých obojživelníků a bahníků nepozorujeme významné vchlípnutí ektodermu, to znamená, že během popisu vývoje úst většina autorů (Johnston, 1910; Soukup et al., 2008) nepoužívá označení stomodeum. Nepatrné vchlípnutí ektodermu někteří autoři přesto popsali a také ve své práci používají termín stomodeum při popisu vývoje primárních úst pamloka (Takahama et al., 1988). Ektodermu k vchlípnutí brání velká masa endodermu nacházející se hned pod ní, ektoderm proto tuto masu obtéká ze stran (de Beer, 1947; Soukup et al., 2008). Spodní vrstva ektodermu se začne sunout po endodermální zátce dovnitř budoucích úst, utvoří strukturu připomínající límec obklopující zátku endodermu (Obr. 16) (Adams, 1924; de Beer, 1947; Johnston, 1910; Soukup et al., 2008). Endoderm je nyní obklopen ze všech stran ektodermem a na anteriorní straně kryt jednou (vnější) vrstvou ektodermu (16D). Vnitřní vrstva ektodermu utvoří stomodeální límec a endoderm přední části střeva jsou dohromady ohraničené bazální membránou, která oblast primárních úst odděluje od hlavového mezodermu (Obr. 16 C,D) (Soukup et al., 2013). Vnější



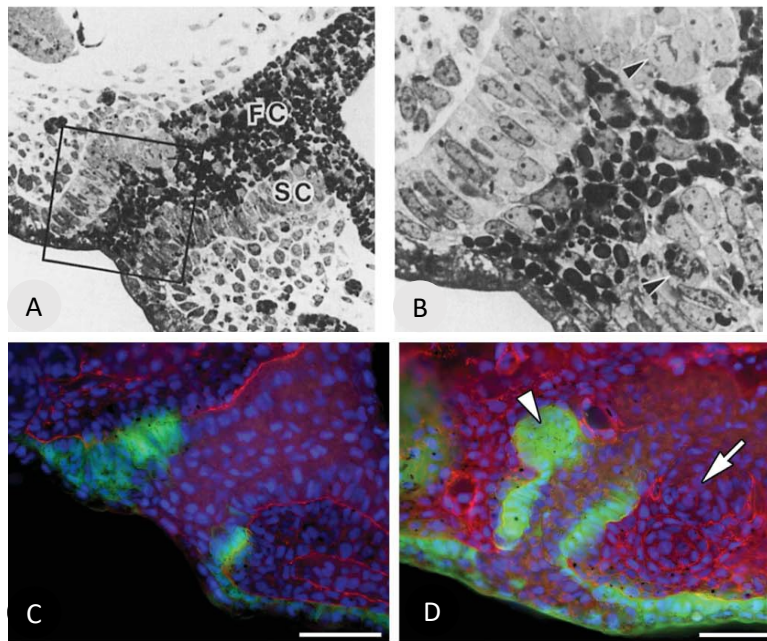
Obr. 15. Schématický náčrt hlavy axolotla z bočního pohledu, hlava vpravo. Na ventrální straně patrná ústa (černá šipka) se stomodeálním límcem (tmavě značený v oblasti úst). Tmavě značený ektoderm, světle šedá endoderm. m=ústa; ep=epifýza; hy=hypofýza; h=hyoidní oblouk; p=hltan; v.tr=velum transversum. Upraveno podle Johnston (1910).

vrstva ektodermu se postupně protrhne (Johnston, 1910), což umožní endodermu dostat se na povrch ústní dutiny (Obr. 16) (Soukup et al., 2008). Stomodeální límec je od přední části hltanu dobře rozpoznatelný, jelikož endodermální buňky jsou plné žlutkových granul na rozdíl od těch ektodermálních (Obr. 16B) (de Beer, 1947).

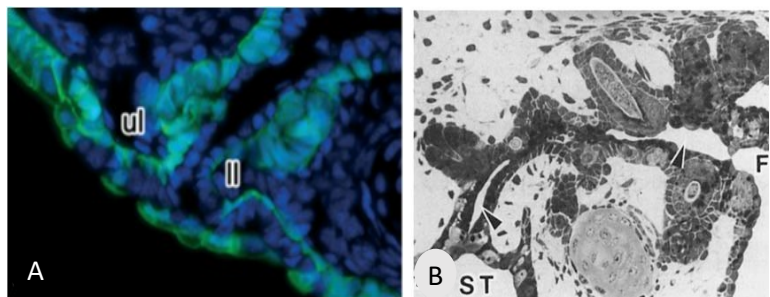
Je otázkou, zda i u tohoto vývoje primárních úst můžeme mluvit o orální membráně, pakliže je vznik orální membrány definován jako přepážka vznikající z vchlipovaného ektodermu a vychlipovaného endodermu popsaného v kap. 1. Například Takahama a spol. (Takahama et al., 1988) celou oblast endodermu obaleného stomodeálním límcem také nazývají orální membrána.

Nicméně toto označení jiní autoři (de Beer, 1947; Johnston, 1910; Soukup et al., 2008) nepoužívají, proto tedy se spíše nejedná o protržení orální membrány. V endodermální vrstvě se začnou postupně objevovat jednotlivé mezery (Obr. 2, 17B), které postupně splynou v podélnou štěrbinu (Obr. 17A), a tím se ústa otevřou (Soukup et al., 2013; Takahama et al., 1988).

Vývoj úst přes stomodeální límec se zdá být modifikací vývoje stomodeální invaginace, kdy vchlipování stomodea je znemožněno endodermální zátkou nacházející se těsně pod jeho povrchem. Ektoderm proto tuto blokádu obtéká ze stran, což utvoří charakteristický límec (Soukup et al., 2013).



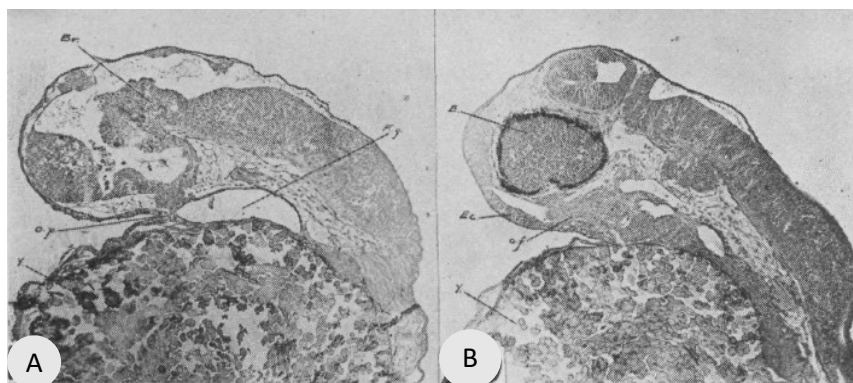
Obr. 16. Sagitální řez stomodeálním límcem embrya pamloka (*Hynobius tokyoensis*) (A, B) a axolotla (*Ambystoma mexicanum*) (C, D), hlava vlevo. A-zachycený stomodeální límec pamloka světelnou mikroskopií; B-detailní zobrazení černého rámečku (A), kde buňky tvořící stomodeální límec jsou odlišné (světlé) od buněk přední části hltanu plných žlutkových granul (tmavé); C, D-stomodeální límec axolotla zobrazený fluorescenční mikroskopií, zelená značí ektoderm, modrá jádra a červená bazální laminy; C-bazální lamina (červená) odděluje stomodeální límec (zelená) s přední částí hltanu od hlavového mezodermu; D-plně vyvinutý stomodeální límec (zelená) a dobře patrný entoderm obklopující povrch budoucích primárních úst FC=buňky přední části hltanu; SC=buňky stomodeálního límce. Upraveno A, B podle Takahama (1988) a C, D Soukup et al. (2008).



Obr. 17. Otvírání úst embrya axolotla (*Ambystoma mexicanum*) (A) a pamloka (*Hynobius tokyoensis*), sagitální řez, hlava vlevo (B). A-dorsoventrální oddělování buněk budoucí ústní dutiny stále ještě uzavřené na anteriorním konci zobrazené pomocí fluorescenční mikroskopie; B-tvorba mezer v oblasti budoucích primárních úst (šípky) zobrazená na histologickém řezu. ul=horní ret; ll=spodní ret; ST=stomodeum; F=přední část hltanu. Upraveno podle A Soukup et al. (2013), B Takahama et al. (1988).

## Stomodeální klín

Posledním známým typem vývoje primárních úst je stomodeální klín (*stomodeal wedge*) (Obr. 2). Stomodeální klín je typický pro kostnaté ryby a byl popsán na dániu (*Danio rerio*) (Waterman and Kao, 1982). Podobný způsob vzniku primárních úst popsal již Edwards (Edwards, 1929) na kaprovi obecném

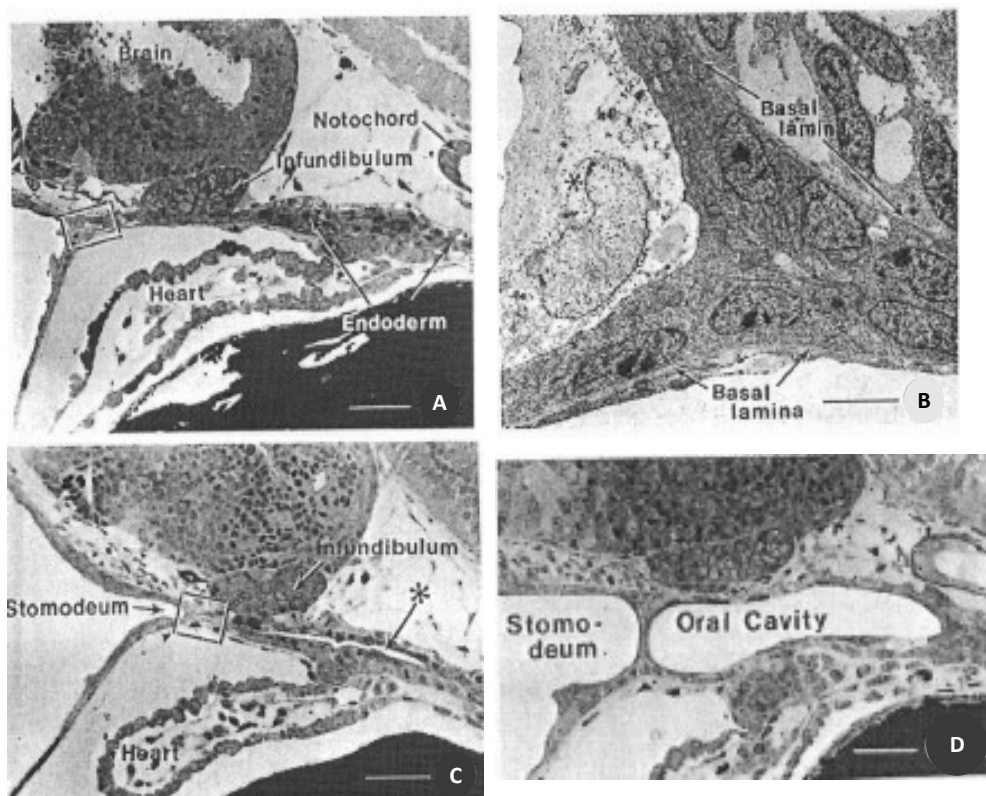


Obr. 18. Parasagitální řez hlavy embrya kapra obecného, hlava vlevo. A a B stejně staré embryo; A-patrná dutina hltanu na anteriorním konci ještě uzavřená; B-více boční řez než u A, ze kterého je dobře patrné těsné spojení embrya a žloutku. Upraveno podle Edwards (1929).

(*Cyprinus carpio*). Oblast vývoje úst kostnatých ryb je na anteriorní straně stlačena mezi mozek a velkou žloutkovou koulí (Obr. 18), obecně je ze začátku embryogeneze stlačené celé prvostřevo takže není patrná žádná dutina (Obr. 18B) (Edwards, 1929; Waterman and Kao, 1982). Absence dutiny znesnadňuje sledování vzniku

primárních úst kostnatých ryb, což velmi pravděpodobně souvisí s množstvím informací o vývoji primárních úst kostnatých ryb potažmo paprskoploutvých, které jsou velmi omezené ve srovnání s vývojem úst skupin obratlovců diskutovaných v předchozích kapitolách. Stomodeální klín bude popsán na dániu a kaprovi obecném, na jejichž ústech byl tento způsob vývoje zachycen.

Oblast budoucích primárních úst je tvořena ektodermem a endodermem (Obr. 2), jejichž hranice je ze začátku embryonálního vývoje špatně odlišitelná (Waterman and Kao, 1982). Postupným oddělováním hlavy od žloutku se oblast ektodermu prohlubuje (Obr. 19C), to může připomínat vchlipování stomodea (Waterman and Kao, 1982). Ektoderm vypadající jako klín buněk, který se posteriorně zužuje, se tlačí proti přední části budoucího hltanu (Edwards, 1929; Waterman and Kao, 1982). Oblast hltanu je tvořená masou endodermálních buněk bez přítomnosti dutiny (Obr. 18B, 19A). V této fázi je obzvláště těžké odlišit, kam až sahají ektodermální buňky a kde začínají buňky endodermální (Waterman and Kao, 1982). V této oblasti se později a postupně začnou utvářet trhlinky (Obr. 2), které splynou a vytvoří jednu horizontální štěrbinu (Obr. 18A, 19C) (Edwards, 1929; Waterman and Kao, 1982). Vzniklá ústní dutina je na anteriorním konci ještě uzavřena přepážkou (Obr. 18A, 19D), a jejím protržením se ústa otevřou. Přesný mechanismus protržení není popsán (Waterman and Kao, 1982). Edwards (Edwards, 1929) předpokládal otevření úst podobným způsobem jako je tvorba dutiny hltanu, tedy dorso-ventrálním oddělením buněk.



Obr. 19. Vývoj primárních úst dánia (*Danio rerio*) přes stomodeální klín, parasagitální řez, hlava vlevo. A-oblast budoucích primárních úst je stlačená, ektoderm a entoderm jsou špatně od sebe rozlišitelné; B-detailní záběr z transmisního elektronového mikroskopu vyznačeného rámečku v A, ektoderm vlevo (světlý) a entoderm vpravo (tmavý); C-vchlípnutí ektodermu a tvorba podélné štěrbiny (šipka s hvězdičkou) v oblasti přední části hltanu; D-vzniklá ústní dutina je ještě uzavřena přepážkou. brain=mozek; notochord=struna hřbetní; heart=srdce; basal lamina=bazální lamina; oral cavity=ústní dutina. Upraveno podle Waterman and Kao (1982).

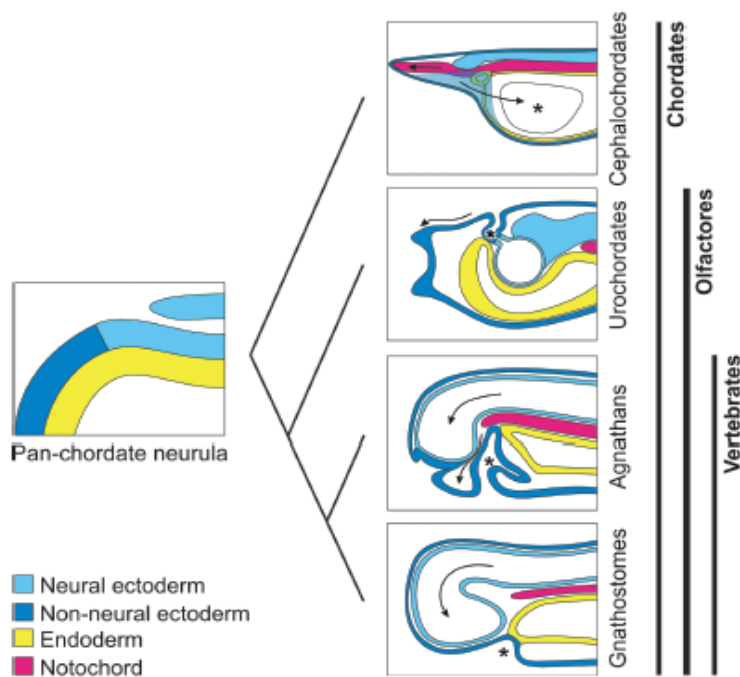
Vývoj úst přes stomodeální klín nepatrně připomíná stomodeální invaginaci, kdy v tomto případě nemá ektoderm prostor pro vchlípnutí a tlačí se proti endodermu přední části hltanu v podobě klínu (Soukup et al., 2013). Předpokládá se, že tento způsob vývoje je typický pro všechny kostnaté ryby i přesto, že data o embryonálním vývoji úst zástupců ryb nejsou známá (Soukup et al., 2013).

## Vývoj primárních úst pohledem evoluce a embryogeneze

Podle dosud publikovaných prací můžeme rozlišit tři základní způsoby vývoje primárních úst (Soukup et al., 2013). Tyto tři typy vývoje primárních úst jsou rozebrány v předchozích kapitolách. Nicméně otázkou tedy je, který ze způsobů vývoje primárních úst je původní, jinak řečeno, který způsob vývoje úst by se dal označit za plesiomorfni znak obratlovců.

Abychom mohli odpovědět na tuto otázku, je potřeba se podívat, jak jsou ústa formována u příbuzných skupin obratlovců v rámci strunatců, jako jsou pláštěnci (*Tunicata*) a bezlebeční (*Cephalochordata*). U obou skupin lze nalézt oblast, ze které vznikají budoucí primární ústa, definovanou ektodermem a endodermem (Obr. 20) (Soukup et al., 2013). V případě kopinatce (bezlebeční), jak ukázala nedávná práce, hraje důležitou roli ve vývoji úst mezodermální váček, přes který se ústa otevírají (Kaji et al., 2016). Ústa kopinatce se vyvíjejí a otevírají na levé boční straně hlavy (Obr. 20). Existuje několik

hypotéz, proč je vývoj úst posunut laterálně, ale žádná nebyla potvrzena, jak ve své práci uvádí Kaji a spol. (Kaji et al., 2016). Tento vývoj úst kopinatce přes mezodermální váček je odlišný od vývoje úst ostatních druhoústých živočichů, polostrunatců a ostnokožců, obratlovců a pláštěnců. Tento vznik úst by se možná dokonce dal považovat za třetí způsob vzniku úst v rámci skupiny druhoústých, jelikož se liší od vzniku úst, který sdílí polostrunatci s ostnokožci nebo obratlovci s pláštěnci (Soukup and Kozmik, 2016). Vývoj primárních úst v rámci skupiny strunatců je naopak podobný u pláštěnců a obratlovců (Soukup et al., 2013; Soukup and Kozmik, 2016). Vývoj primárních úst pláštěnců je situovaný na anteriorní dorsální straně larvy pláštěnce v blízkosti neurální trubice (Obr. 20), se kterou jsou ústa přímo spojená neurohypofyzální trubicí (Manni et al., 2005; Veeman et al., 2010). Vznik úst pláštěnců je dobře popsán na sumce trubičkové (*Ciona intestinalis*), jejíž ústa vznikají



Obr. 20. Pozice primárních úst strunatců. Schematické znázornění sagitálních řezů anteriorních částí (vlevo). Primární ústa jsou značená hvězdičkou, šipka znázorňuje posun z původní anteriorní dorsální strany. Nahoře larva bezlebečných (Cephalochordates), jejichž ústa jsou posunuta ventrálně a na levou stranu zvířete. Ústa pláštěnců (Urochordates) se nachází v původní pozici a jsou přímo spojena s neurální trubicí. Ústa bezčelistnatců (Agnathans) a čelistnatců (Gnathostomes) jsou vyvíjejícím se mozkiem posunuta na ventrální stranu hlavy. V případě bezčelistnatců je pozice úst ovlivněna ústním horním a spodním rtem. Upraveno podle Soukup et al. (2013).

v rámci skupiny strunatců původní (Christiaen et al., 2007), jelikož oblast vývoje primárních úst se nachází anteriorně k centrální nervové soustavě, což je podloženo expresí genů *pitx*, a vývoj primárních úst a centrální nervové soustavy spolu pravděpodobně souvisí. Postupně se však pozice úst posunula díky vývoji centrální nervové soustavy v případě obratlovců, v případě kopinatce zůstává posunutí úst neobjasněno (Christiaen et al., 2007). Primární ústa strunatců jsou během embryogeneze úzce spjata s neurální trubicí, konkrétně jsou nejspíš odvozená od přední hranice neurální trubice (Veeman et al., 2010). Autoři se se snažili prokázat, že vývoj primárních úst strunatců je odvozen od neurálního póru, jelikož primární ústa sumky jsou od neurálního póru odvozena (Veeman et al., 2010). Nicméně, nic podobného

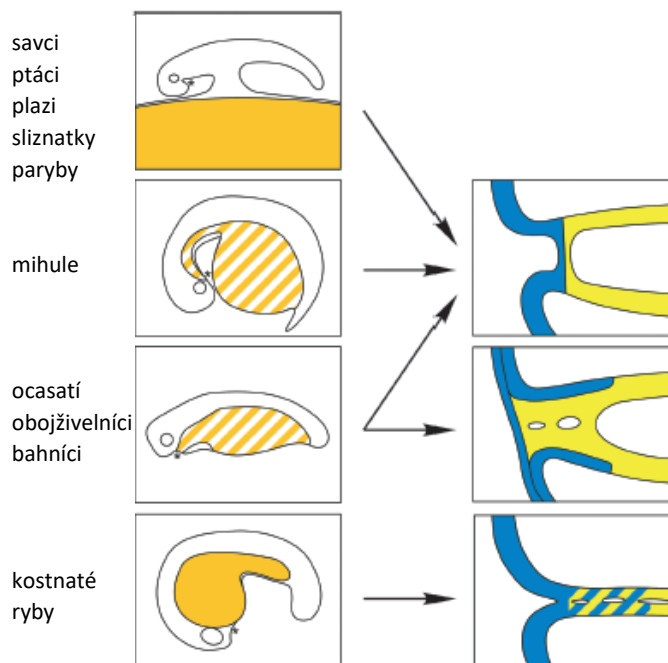
invaginací stomodea proti přední části hltanu. Vchlípené stomodeum je vyplněno rosolovitým polysacharidem tunicinem a odděleno od hltanu orální membránou. Postupně se orální membrána protrhne a utvoří se orální sifon, ze začátku plný rosolovitého tunicinu, který se později vstřebá (Manni et al., 2005). Vývoj úst pláštěnců je morfologicky podobný se stomodeální invaginací obratlovců (Soukup et al., 2013). Podobnost vývoje úst pláštěnců a obratlovců je doložena i molekulárně na základě genů *pitx* (Christiaen et al., 2005), které jsou charakteristické pro oblast orálního ektodermu druhoústých (Christiaen et al., 2007). Pozice úst na dorsální straně anteriorní části těla (Obr. 20) může být

nepozorovali na drápatce. Vývoj primárních úst drápatky sice není přímo spojen s neurální trubicí, ale vývoj primárních úst je i přesto neurální trubicí ovlivněn. V případě sumky jsou primární ústa od začátku jejich vývoje spojena s neurální trubicí neurohypofyzální dutinou (Veeman et al., 2010).

Z informací o vývoji primárních úst pláštěnců a obratlovců (předchozí kapitoly) lze odpovědět na otázku, který způsob vývoje primárních úst je původním typem v rámci skupiny obratlovců, jelikož vývoj primárních úst pláštěnců probíhá přes stomodeální invaginaci stejně jako vývoj úst bazálních obratlovců, mihulí a sliznatek a většiny skupin obratlovců. Pravděpodobně tedy může být původním typem vývoje primárních úst stomodeální invaginace a stomodeální límec a stomodeální klín jsou odvozené typy (Soukup et al., 2013), s tím může souviset morfologie embrya a vývoj embrya, které budou popsány v následujícím odstavci.

Autoři se také zajímali, zda vývoj primárních úst je ovlivněný množstvím žloutku vajíčka a spojením embrya se žloutkem (Obr. 21) (Soukup et al., 2013). Z jejich analýzy vyplývají následující informace (Soukup et al., 2013). Embrya,

která jsou od žloutku oddělena žloutkovou stopkou, formují ústa přes stomodeální invaginaci (Obr. 21). V případě takto oddělených embryí množství žloutku neovlivní vývoj primárních úst. Mezi obratlovce, kteří mají embrya připojená ke žloutku stopkou, patří paryby, sliznatky, ptáci, savci. Další možností je, že žloutek je přímo součástí embrya, konkrétně buňky endodermu jsou plné žloutkových granul. Takto vyvíjející se embrya mohou stále tvořit ústa přes stomodeální invaginaci, pokud se hlava během vývoje oddálí od žloutku, to platí pro mihule (Obr. 21) (Soukup et al., 2013). Embrya s endodermem plným žloutkových granul,



Obr. 21. Schématické znázornění závislosti vývoje primárních úst (hvězdička) na vztahu mezi embryem a žloutkem. Nahoře embryo oddělené od žloutku žloutkovou stopkou, pod ním embrya s endodermem bohatým na žloutková granula, poslední těsně ležící embryo na žloutkové kouli. Upraveno podle Soukup et al. (2013).

která mají hlavu po celou dobu vývoje na žloutku, musí řešit vznik úst jinak. Mohutná žloutková zátka ležící těsně pod ektodermem totiž zabraňuje invaginaci ektodermu, který si musí hledat jinou cestu dovnitř, a tak se tvoří ústa přes stomodeální klín (Obr. 21) (Soukup et al., 2013). Tato embrya jsou typická pro ocasaté obojživelníky a bahňáky. Posledním příkladem jsou embrya ležící těsně na žloutku po celou dobu vývoje, jejich oblast budoucích úst je stlačena velkou žloutkovou koulí a vyvíjejícím se mozkem. Ektoderm a endoderm jsou v oblasti budoucích primárních úst od sebe špatně odlišitelné, ale je patrné, že zastoupení ektodermálních buněk se posteriorním směrem zmenšuje. Takto vznikají ústa přes stomodeální klín (Obr. 21), charakteristická pro kostnaté ryby (Soukup et al., 2013). Zbývá už jen zařadit bazální skupiny

paprskoploutvých ryb chrupavčité, bichiry, kostlíny a kaprouny, o jejichž vývoji úst se nic neví. Jejich embrya a obecně průběh gastrulace je odlišný od kostnatých ryb (Cooper and Virta, 2007). Gastrulace je proces, kdy vznikají a rozlišují se endoderm, mezoderm a ektoderm (Gilbert, 2014). Bichiři a chrupavčítí rýhují vajíčka a mají podobný způsob gastrulace jako obojživelníci (Cooper and Virta, 2007). Kostlíni a kaprouni představují přechod v rýhování a gastrulaci mezi bichiry a chrupavčitými a kostnatými rybami (Collazo et al., 1994; Cooper and Virta, 2007). Tyto skutečnosti by minimálně mohly nasvědčovat, že vývoj primárních úst těchto ryb bude odlišný u bichirů, chrupavčitých a kostlínů, kaprounů, u kterých se o vývoji primárních úst nic neví.

## Závěr

V předchozích kapitolách byly shrnuty a rozebrány poznatky o vývoji primárních úst obratlovců. Poslední kapitola navíc rozebírá vývoj úst ostatních skupin strunatců, pláštěnců a bezlebečných (kopinatce). Z výše uvedených informací vyplývá, že vývoj primárních úst prodělal během evoluce změny a také se přizpůsobil vývoji embrya. Zcela odlišný vývoj úst můžeme pozorovat u kopinatce, a naopak podobný vývoj úst sdílí pláštěnci s obratlovcem (Soukup and Kozmik, 2016). Vývoj primárních úst pláštěnců a obratlovců je situován anteriorně k centrální nervové soustavě (Christiaen et al., 2007) a pravděpodobně je odvozen od neurální trubice (Veeman et al., 2010).

Stomodeální invaginace je tedy typická pro obratlovce s embryi oddělenými od žloutku žloutkovou stopkou (Soukup et al., 2013), to je většina skupin obratlovců. Primární ústa mihule a sliznatky jsou si ve vývoji velmi podobná, i když u sliznatky dochází k sekundárnímu uzavření primárních úst. Toto uzavření bych nepovažovala za kritické pro odlišení vývoje úst sliznatek a mihulí. Ústa mihule a sliznatky jsou poměrně hluboká, což se považuje za znak starších skupin obratlovců, kdy s postupným vývojem obratlovců se u mladších skupin začala objevovat ústa mělčí (Liem, 2001). V případě vývoje úst přes stomodeální invaginaci bych vyzdvihla primární ústa drápatky, která jsou v této práci nejdetailněji rozebrána. Na drápatce jsou dobře popsány další struktury např. extrémní anteriorní doména (Dickinson and Sive, 2007), ze které primární ústa vznikají. Otázkou je, jestli je tato doména specialitou drápatky nebo je typická pro všechny obratlovce, případně jen více skupin tvořících primární ústa přes stomodeální invaginaci. Další velký přínos drápatky spočívá v částečném genovém zmapování oblasti primárních úst (Dickinson and Sive, 2009; Jacox et al., 2014; Jacox et al., 2016; Tabler et al., 2014).

Stomodeální límeček a klín považuji za odvozené typy vývoje, které vznikly jako odpověď na mechanickou překážku v oblasti budoucích úst. Myslím tím přítomnost velké masy endodermu, která vyplňuje budoucí primární ústa ocasatých obojživelníků a bahníků, a stlačení dutiny prvostřeva u embryí kostnatých ryb. Ektoderm si v těchto dvou případech přesto našel cestu dovnitř budoucích primárních úst. Je paradoxní, že u tak velké skupiny jako jsou kostnaté ryby se o vývoji primárních úst ví tak málo. Obecně je skupina paprskoploutvých ryb, kam kostnaté ryby patří, málo prostudovaná z hlediska vývoje primárních úst. Něco málo se ví o vývoji úst bichirů (Diedhiou and Bartsch, 2009; Kralovic et al., 2010). Nicméně vývoj úst jeseterů, kostlínů a kaprounů žádné novější práce neuvádějí. Jediným zdrojem informací o ústech těchto ryb jsou starší práce, které vývoj úst okrajově popisují (Allis, 1931; Allis, 1938).

Bichirí ústa se podle některých autorů (Diedhiou and Bartsch, 2009) vyvíjí přes stomodeální invaginaci. Zajímavější je pak samotné otvírání úst, které nastává dorso-ventrálním oddělením místo perforace orální membrány (Diedhiou and Bartsch, 2009; Kralovic et al., 2010). Vývoj úst jesetera (*Acipenser sturio*) probíhá přes vchlipování stomodea, které s proti ležící přední částí hltanu vytváří orální membránu (Allis, 1938). Vývoj úst kaprounů (*Amia calva*) popisuje Allis (Allis, 1931) jako stomodeální vchlipování a formování orální membrány. Vše naznačuje, že u ostatních paprskoploutvých ryb dochází k invaginaci stomodea, která je typická pro většinu skupin obratlovců, i když u bichirů nevzniká orální



membrána a ústa se otevírají horizontálně. Nově se ale ukazuje, že jeseter má ústa spíše endodermálního původu (zatím nepublikováno) než tvořená ektodermem i endodermem jako je typické pro většinu primárních úst. Velkou zajímavostí je, že v anteriorní oblasti hlavy se u všech těchto skupin vyskytuje tzv. „*pre-oral gut*“. Před-ústní střevo (*pre-oral gut*) je struktura endodermálního původu navazující na přední část hltanu, která během vývoje embrya postupně vymizí (Allis, 1931). Přítomnost před-ústního střeva u ostatních paprskoploutvých ryb by mohla vysvětlit endodermální ústa jesetera. Této problematice mám v plánu se věnovat ve své diplomové práci.

Ještě bych se pozastavila nad označením stomodeum, které, jak v úvodu uvádím, není považováno za strukturu přítomnou v každém vývoji primárních úst. Přesto všechny tři typy vývoje primárních úst obratlovců rozebraných v předchozích kapitolách nesou v názvu právě stomodeum. Stomodeum vzniká z vchlípeného ektodermu na předním konci hlavy. Nicméně není už řečeno, kam až tento vchlípený ektoderm má zasahovat, proto aby se mohlo použít označení stomodeum. A co když vchlípení brání nějaká překážka nacházející se pod ektodermem v oblasti budoucích primárních úst viz endodermální zátka (Soukup et al., 2008) nebo je oblast primárních úst stlačená (Waterman and Kao, 1982), má se pak od označení stomodeum upustit. Někteří autoři dokonce používají označení stomodeum i u vývoje primárních úst přes stomodeální límeček (Takahama et al., 1988) nebo u vývoje primárních úst přes stomodeální klín (Waterman and Kao, 1982). Domnívám se, že u všech případů vývoje primárních úst vzniká stomodeum akorát v případě stomodeálního límečku a stomodeálního klínu je modifikováno dle morfogeneze daného embrya. Pak by ale bylo otázkou, jestliže stomodeum vzniká vždy, protože pokaždé nastává alespoň nepatrné vchlípení ektodermu nebo za stomodeum lze považovat ektoderm, který se nějakým způsobem vtlačil posteriorně do oblasti budoucích primárních úst. Podobně zajímavé je označení orální membrána, které můžeme najít i v pracích pojednávajících o vývoji úst přes stomodeální límeček (Takahama et al., 1988) anebo můžeme pozorovat podobnou přepážku v případě vývoje primárních úst přes stomodeální klín (Obr. 17A, 18D), i když jí sami autoři orální membránou nenazývají (Waterman and Kao, 1982). Orální membrána je přepážka tvořená ektodermem a endodermem, která odděluje ústní dutinu od hltanu a jejím protržením se ústa propojí se zbytkem trávicí soustavy. Oddělení trávicí soustavy od vnějšího prostředí je vždy tvořeno ektodermem a endodermem s tím rozdílem, že v některých případech se ústa otevírají spíše vertikálně (Dickinson and Sive, 2006; Poelmann et al., 1985; Waterman and Schoenwolf, 1980) a v jiných případech horizontálně (Soukup et al., 2008; Waterman and Kao, 1982). Tímto jsem chtěla poukázat na ne vždy jistou terminologii a definici jednotlivých termínů, které mohou zanášet zmatek do výkladu jednotlivých prací.

# Zdroje

## Přímá citace

- Adams, A.E., 1924. An experimental study of the development of the mouth in the amphibian embryo. *Journal of Experimental Zoology*, 40(3), s.311–379.
- Allis, E.P.J., 1938. Concerning the Development of the Prechordal Portion of the Vertebrate Head. *Journal of anatomy*, 72, s.584–607.
- Allis, E.P.J., 1931. Concerning the Homologies of the Hypophysial Pit and the Polar and Trabecular Cartilages of Fishes. *Journal of Anatomy*, 65(Pt 2), s.247–265.
- Balfour, F.M., 1878. *A monograph on the development of elasmobranch fishes*, Macmillan.
- Ballard, W.W., Mellinger, J. and Lechenault, H., 1993. A series of normal stages for development of *Scyliorhinus canicula*, the lesser spotted dogfish(Chondrichthyes: Scyliorhinidae). *Journal of Experimental Zoology*, 267(3), s.318–336.
- de Beer, G., 1947. The Differentiation of Neural Crest Cells into Visceral Cartilages and Odontoblasts in *Amblystoma*, and a Re-Examination of the Germ-Layer Theory. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B - Biological Sciences*, 134(876), s.377 LP-398.
- Collazo, A., Bolker, J.A. and Keller, R., 1994. A Phylogenetic Perspective on Teleost Gastrulation. *The American Naturalist*, 144(1), s.133–152.
- Cooper, M.S. and Virta, V.C., 2007. Evolution of gastrulation in the ray-finned (actinopterygian) fishes. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 308B(5), s.591–608.
- Dean, B., 1899. *On the embryology of Bdellostoma stouti: A general account of myxinoïd development from the egg and segmentation to hatching*, G. Fischer.
- Dickinson, A.J.G. and Sive, H.L., 2006. Development of the primary mouth in *Xenopus laevis*. *Developmental Biology*, 295(2), s.700–713.
- Dickinson, A.J.G. and Sive, H.L., 2007. Positioning the extreme anterior in *Xenopus*: Cement gland, primary mouth and anterior pituitary. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 18(4), s.525–533.
- Dickinson, A.J.G. and Sive, H.L., 2009. The Wnt antagonists Frzb-1 and Crescent locally regulate basement membrane dissolution in the developing primary mouth. *Development (Cambridge, England)*, 136(7), s.1071–81.
- Diedhiou, S. and Bartsch, P., 2009. Staging of the early development of Polypterus (Cladistia: Actinopterygii). *Development of Non-teleost Fishes*, s.104–169.
- Edwards, L.F., 1929. The Origin of the Pharyngeal Teeth of the Carp (*Cyprinus Carpio* Linnaeus). *The Ohio Journal of Science*, 29(3), s.93–130.
- Gilbert, S.F., 2014. *Developmental Biology*, Sinauer Associates.
- Gorbman, A., 1983. Early development of the hagfish pituitary gland: Evidence for the endodermal origin of the adenohypophysis. *Integrative and Comparative Biology*, 23(3), s.639–654.
- Christiaen, L. et al., 2007. Evolutionary modification of mouth position in deuterostomes. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, 18(4), s.502–511.
- Christiaen, L., Bourrat, F. and Joly, J.S., 2005. A modular cis-regulatory system controls isoform-specific pitx expression in ascidian stomodeum. *Developmental Biology*, 277(2), s.557–566.
- Jacox, L. et al., 2016. Formation of a „Pre-mouth Array" from the Extreme Anterior Domain Is Directed by Neural Crest and Wnt/PCP Signaling. *Cell Reports*, 16(5), s.1445–1455.
- Jacox, L. et al., 2014. The Extreme Anterior Domain Is an Essential Craniofacial Organizer Acting through Kinin-Kallikrein Signaling. *Cell Reports*, 8(2), s.596–609.
- Johnston, J.B., 1910. The limit between ectoderm and entoderm in the mouth, and the origin of taste buds. I. Amphibians. *American Journal of Anatomy*, 10(1), s.41–67.
- Kaji, T. et al., 2016. Amphioxus mouth after dorso-ventral inversion. *Zoological letters*, 2, s.2.
- Kerr, J.G., 1909. Normal plates of the development of *Lepidosiren paradoxa* and *Protopterus annectens*. , 10, s.31.
- Kerr, J.G., 1902. The Development of *Lepidosiren paradoxa*. , 45(1), s.1–40.
- Kralovic, M., Horaček, I. and Cerny, R., 2010. Mouth development in the Senegal bichir *Polypterus senegalus* does not involve the oropharyngeal membrane: Possible implications for the ecto-endoderm boundary and tooth initiation. *Journal of Applied Ichthyology*, 26(2), s.179–182.
- Kuratani, S. et al., 2001. Embryology of the lamprey and evolution of the vertebrate jaw: insights from molecular and developmental perspectives. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 356(1414), s.1615–1632.

- Liem, K.F., 2001. *Functional anatomy of the vertebrates: an evolutionary perspective*, Belmont, CA: Thomson Brooks/Cole.
- Manni, L. et al., 2005. Stomodeal and neurohypophysial placodes in *Ciona intestinalis*: Insights into the origin of the pituitary gland. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 304(4), s.324–339.
- Miller, S.A. and Olcott, C.W., 1989. Cell proliferation in chick oral membrane lags behind that of adjacent epithelia at the time of rupture. *The Anatomical Record*, 223(2), s.204–208.
- Oisi, Y. et al., 2013. Craniofacial development of hagfishes and the evolution of vertebrates. *Nature*, 493(7431), s.175–80.
- Ota, K.G. and Kuratani, S., 2008. Developmental biology of hagfishes, with a report on newly obtained embryos of the Japanese inshore hagfish, *Eptatretus burgeri*. *Zoological science*, 25(10), s.999–1011.
- Poelmann, R.E. et al., 1985. Cell degeneration and mitosis in the buccopharyngeal and branchial membranes in the mouse embryo. *Anatomy and Embryology*, 171(2), s.187–192.
- Richardson, M.K. and Wright, G.M., 2003. Developmental transformations in a normal series of embryos of the sea lamprey *Petromyzon marinus* (Linnaeus). *Journal of Morphology*, 257(3), s.348–363.
- Romášek, M., 2012. Morphogenesis of Oral Skeleton in Lamprey With Implications for Jaw Evolution. *M. Sc. Thesis, Fac. of Sci., Charles Univ., Prague.*, s.97pp.
- Soukup, V. et al., 2008. Dual epithelial origin of vertebrate oral teeth. *Nature*, 455(7214), s.795–798.
- Soukup, V., Horáček, I. and Cerny, R., 2013. Development and evolution of the vertebrate primary mouth. *Journal of Anatomy*, 222(1), s.79–99.
- Soukup, V. and Kozmik, Z., 2016. Zoology: A New Mouth for Amphioxus. *Current Biology*, 26(9), s.R367–R368.
- Tabler, J.M. et al., 2014. Hedgehog activity controls opening of the primary mouth. *Developmental Biology*, 396(1), s.1–7.
- Tahara, Y., 1988. Normal stages of development in the lamprey, *Lampetra reissneri* (Dybowski). *Zoological science*, 5(1), s.109–118.
- Takahama, H., Sasaki, F. and Watanabe, K., 1988. Morphological changes in the oral (Buccopharyngeal) membrane in urodelan embryos: Development of the mouth opening. *Journal of Morphology*, 195(1), s.59–69.
- Veeman, M.T. et al., 2010. The ascidian mouth opening is derived from the anterior neuropore: Reassessing the mouth/neural tube relationship in chordate evolution. *Developmental Biology*, 344(1), s.138–149.
- Watanabe, K., Sasaki, F. and Takahama, H., 1984. The ultrastructure of oral (buccopharyngeal) membrane formation and rupture in the anuran embryo. *The Anatomical Record*, 210(3), s.513–524.
- Waterman, R.E., 1977. Ultrastructure of oral (buccopharyngeal) membrane formation and rupture in the hamster embryo. *Developmental Biology*, 58(2), s.219–229.
- Waterman, R.E. and Balian, G., 1980. Indirect immunofluorescent staining of fibronectin associated with the floor of the foregut during formation and rupture of the oral membrane in the chick embryo. *The Anatomical Record*, 198(4), s.619–635.
- Waterman, R.E. and Kao, R., 1982. Formation of the mouth opening in the zebrafish embryo. *Scanning electron microscopy*, (3), s.1249–1257.
- Waterman, R.E. and Schoenwolf, G.C., 1980. The ultrastructure of oral (buccopharyngeal) membrane formation and rupture in the chick embryo. *The Anatomical Record*, 197(4), s.441–470.

## Nepřímá citace

- Haller, Graf, and O Mori. 1925. "Über Die Bildung Der Hypophyse Bei Säugetieren." *Zeitschrift für Anatomie und Entwicklungsgeschichte Anatomie und Entwicklungsgeschichte* 76(1): 159–87. Citováno podle Allis (1938).
- von Kupffer, C. 1900. *Zur Kopfentwicklung von Bdellostoma. Studien Zur Vergleichenden Entwicklungsgeschichte Des Kopfes Der Kranioten*, Heft 4. Lehman, München. Citováno podle Ota and Kuratani (2008).