

Mechanismy vývoje krevních cév v žaberní oblasti

Dizertační práce: Mgr. Hana Kolesová

Vedoucí dizertační práce: Prof. MUDr. Miloš Grim, DrSc.

Anatomický ústav, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova v Praze

Abstrakt

Vývoj aortálních oblouků u *Pelobates fuscus*

I když je larvální vývoj *Pelobates fuscus* (Amphibia, Anura) modifikován oproti situaci rybích předků tetrapod, je možné studiem její metamorfózy studovat změny, které se odehrály při přechodu obratlovců na souš. Přestavbu aortálních oblouků v průběhu metamorfózy *Pelobates fuscus* jsme studovali pomocí metody korozivního nástřiku cévního systému Mercoxem a jeho pozorováním elektronovým rastrovacím mikroskopem. Porovnáním výsledků s nálezy u dalších druhů, jsme přispěli k souboru poznatků o přestavbě aortálních oblouků při přechodu obratlovců na souš.

Aortální oblouky, které v larválních stádiích zásobují žábry krví, se spolu se zánikem žaber radikálně transformují. Samotná transformace aortálních oblouků spojená s přechodem na dýchání vzdušného kyslíku je u *Pelobates* velmi rychlá a předchází jí dlouhá doba postupné přípravy a pozvolné redukce žaberních cév. Transformace aortálních oblouků zahrnuje zánik *ductus Botalli*, který umožní přímé vedení krve do plic a kůže. Dále zániku *ductus caroticus* a tím přímého zásobování hlavy a krku. V průběhu metamorfózy také zaniká V. aortální oblouk, který ztratil svoji původní funkci a ustupuje vznikajícímu dýchacímu svalu dospělých žab. Hlavním kmenem pro rozvod krve do těla se tak stává IV. aortální oblouk, který jako jediný neztrácí napojení na *aorta dorsalis*. Zajímavým faktem je, že u *Pelobates* se vyvíjí plíce a jejich cévy ještě ve stádiích, kdy plíce neslouží k dýchání vzdušného kyslíku.

Je pravděpodobné, že obratlovci při přechodu na souš již byly na změnu dýchání připraveni (měli např. vytvořené plíce) a vlastní změna dýchání tak proběhla poměrně rychle jako při metamorfóze *Pelobates*. Způsob větvení aortálních oblouků u vodních rybích předků tetrapod, jejich přechodných forem, které občas vodu opouštěly a původních tetrapod, kteří mohli žít delší dobu na souši byl pravděpodobně podobný jako u larev *Pelobates* v průběhu metamorfózy. *Ductus Botalli*, *ductus caroticus* a V. aortální oblouk byly u nich pravděpodobně vytvořeny a k jejich redukci došlo až při dlouhodobějšímu pobytu na souši.

Vliv Shh na vývoj cév žaberní oblasti

Žaberní oblast a její cévy prochází v embryonálním vývoji rozsáhlou přestavbou, která odráží také její fylogenetický vývoj. Studovali jsme mechanismy vývoje žaberní oblasti a zjistili jsme, že známý morfogen Shh se výrazně podílí na formování této oblasti a jejích cév.

Funkci Shh jsme u ptačích embryí krátkodobě inhibovali pomocí anti-Shh protilátky produkované do embrya *in vivo* hybridomovými buňkami 5E1; dále jsme Shh signální kaskádu inhibovali pomocí cyclopaminu.

Výsledky ukazují, že Shh je nutný pro tvorbu *de novo* vznikajících cév v oblasti žaberní oblouků; dále pro stabilitu cévní stěny, hlavně u *vena cardinalis anterior*. Shh ovlivňuje i další vývoj a přestavbu cév, jakou je například fúze *aorta dorsalis*, větvení *arteria carotis interna* a vývoj výtokového traktu srdečního.

Shh nemá při krátkodobé inhibici vliv na proliferační aktivitu a apoptózu v mesenchymu žaberní oblasti. Domníváme se, že Shh ovlivňuje endotel krevních cév přímo, protože jeho receptor Ptc1 je exprimován v endotelových buňkách a při inhibici Shh exprese Ptc1 klesá. Zjistili jsme, že Shh neovlivňuje distribuci hladkých svalových buněk ve stěně cév a neovlivňuje ani expresi receptoru růstového faktoru krevních cév (VEGFR2).

Morfogen Shh je tedy jedním z faktorů, který ovlivňuje nejen vznik nových cév v žaberní oblasti, ale i jejich stabilitu a následný vývoj.