

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
KATEDRA ZOOLOGIE



Vývoj svalové soustavy zadní končetiny žab a její inervace

Bakalářská práce

Martin Kocourek

Školitel: Prof. Doc. RNDr. Zbyněk Roček, DrSc.

Konzultant: Mgr. Tomáš Přikryl

Praha 2010

Poděkování:

Na tomto místě bych rád poděkoval všem lidem, kteří přispěli ke vzniku této práce. Zvláště pak svému školiteli Prof. Doc. RNDr. Zbyňku Ročkovi, DrSc., jehož obdiv k vědě a touha podělit se o své rozsáhlé znalosti mě k tomuto krásnému tématu přivedly. Za podporu v začátcích práce a neocenitelné rady a opravy při jejím dokončování patří nemalý dík i mému konzultantu Mgr. Tomáši Přikrylovi. V neposlední řadě patří dík i slečně Monice Slašťanové za bezmeznou psychickou podporu, jakožto i za náročné korektury.

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně pod vedením prof. doc. RNDr. Zbyňka Ročka, DrSc. a s použitím citované literatury.

V Praze dne 29. 4. 2010

.....

Obsah

Abstrakt.....	5
1. Úvod.....	6
2. Vizualizace svalů a jejich inervace během ontogenetického vývoje žab.....	7
2.1. Historie zobrazovacích metod.....	7
2.2. Metody vizualizace.....	8
3. Vývoj svalové soustavy pletence pánevního a zadní končetiny u žab, a její inervace.....	10
3.1. Rané základy příčně pruhovaného svalstva a jejich embryonální původ.....	10
3.2. Diferenciace somitů.....	11
3.3. Vznik myotomů.....	12
3.4. Diferenciace na epaxiální a hypaxiální somatické svalstvo.....	14
3.5. Vznik končetinových svalů.....	15
3.6. Inervace končetinových svalů.....	16
4. Závěr.....	18
5. Seznam literatury.....	19

Abstrakt

Svalstvo trupu u žab (*Anura*) se vyvíjí, podobně jako u ostatních obratlovců, během ontogeneze ze somitů, které jsou mesodermálního původu. Linie buněk, jež dají vzniknout těmto svalům, lze rozlišit již ve stadiu pozdní blastuly. Některé z takto vzniklých svalů však během metamorfosis zanikají a jejich místo zaujmou svaly, jejichž původ není zcela jasný. Nejasný je rovněž původ svalstva na současně vznikajících končetinách. Zároveň s probíhající myogenezí dochází v končetině ke vzniku inervace. Cílem této práce je poskytnout přehled současných poznatků, shrnout je a případně nalézt vhodný směr budoucího bádání.

Klíčová slova: Anura, vývoj svalů, somity, zadní končetina, inervace

Abstract

Muscles of the trunk of Frogs evolve during the ontogenesis, same as of other Vertebrates, from somites, that are derived from mesoderm. Line of the cells, that form these muscles, can be distinguished in the stage of the late blastula. However, some of the muscles disappear during the metamorphosis. They are replaced by muscles, that haven't a clear origin. The origin of the limb muscles is also unclear. Together with the myogenesis is evolving also a nerve supply. The aim of this work is to summarize today's knowledge and find some new objectives for future research.

Keywords: Anura, muscle development, somits, hind-limb, innervation

1. Úvod

Žáby (řád *Anura*) zaujímají výjimečné postavení mezi všemi obojživelníky. Morfologicky jsou snad nejodvozenější skupinou tohoto taxonu. Na rozdíl od ostatních vysoce diversifikovaných vývojových linií však uspěly. Přestože první fosilní doklady o jejich existenci sahají už do rané jury, do dnešního dne vyhynulo pouze několik málo rodů. Svou roli zde jistě sehrál i mechanismus metamorfosy. Dochází během ní, mimo jiné, ke kompletní přestavbě svalstva pletence zadní končetiny a s touto přestavbou souvisí i změny ve větvení nervstva. Abychom tyto změny mohli popsat, je třeba všimnout si rozdílů mezi tvorbou somatického svalstva trupu a vznikem svalových skupin v průběhu metamorfosy. Stavba svalové a nervové soustavy u dospělého jedince je tedy výsledkem dvou různých stádií vývoje. Na závěr bych chtěl upozornit, že v celém následujícím textu je používáno rozdělení vývoje na jednotlivá stádia podle přehledu Nieuwkoopa a Fabera (1956) pro druh *Xenopus laevis*. U ostatních druhů, pokud není uvedeno jinak, je stadium označeno stadiem *X. laevis*, jemuž se svým vývojem nejvíce podobá.

2. Vizualizace svalů a jejich inervace během ontogenetického vývoje žab

2.1. Historie zobrazovacích metod

Stejně jako se vyvíjely barvicí a zobrazovací techniky, měnily se i metody užívané k získání relevantních výsledků. Nejprve se užívala běžná barviva, posléze došlo na složitější organické sloučeniny a s rozvojem elektronové mikroskopie se ve vědě hojně začal využívat i tento výtěžek techniky. V současné době se nejčastěji používají metody imunohistochemické.

K zvýraznění navázaných protilátek jsou používány různé způsoby. Může se použít koloidní zlato, nebo enzymatická či fluorescenční činidla. Nejlepšího rozlišení lze dosáhnout s použitím elektronového mikroskopu a roztoku koloidního zlata, nevýhodou tohoto postupu je nesnadné rozeznání neobarvených struktur. Fluorescenční činidla by teoreticky, díky faktu, že světlo nepohlcují, ale emitují, měla být nejcitlivější. Nejběžněji jsou užívaná činidla na bázi Fluoresceinu např. Fluorescein isothiocyanate (FITC), rhodaminu (např. Rhodamine 6G and Rhodamine B) nebo na Texas red-based Fluorophoru (známý též jako sulforhodamine 101 acid chloride). Činidla na bázi Fluoresceinu jsou náchylnější na tzv. fotobleaching (vybělení), jev kdy dojde ke ztrátě schopnosti pohlcovat a emitovat přijaté záření (Klymkowsky a Hanken, 1991). Přes všechny přednosti fluorescenční mikroskopie naráží tato metoda na některá technická omezení. Příkladem může být objektiv; nejcitlivější objektivy mají krátkou ohniskovou vzdálenost a neumožňují tak zkoumání větších vzorků. Méně citlivé objektivy pak vyžadují velmi silný signál, což se stává opět problémem, neboť u *X. laevis* se setkáváme s poměrně silnou autofluorescencí.

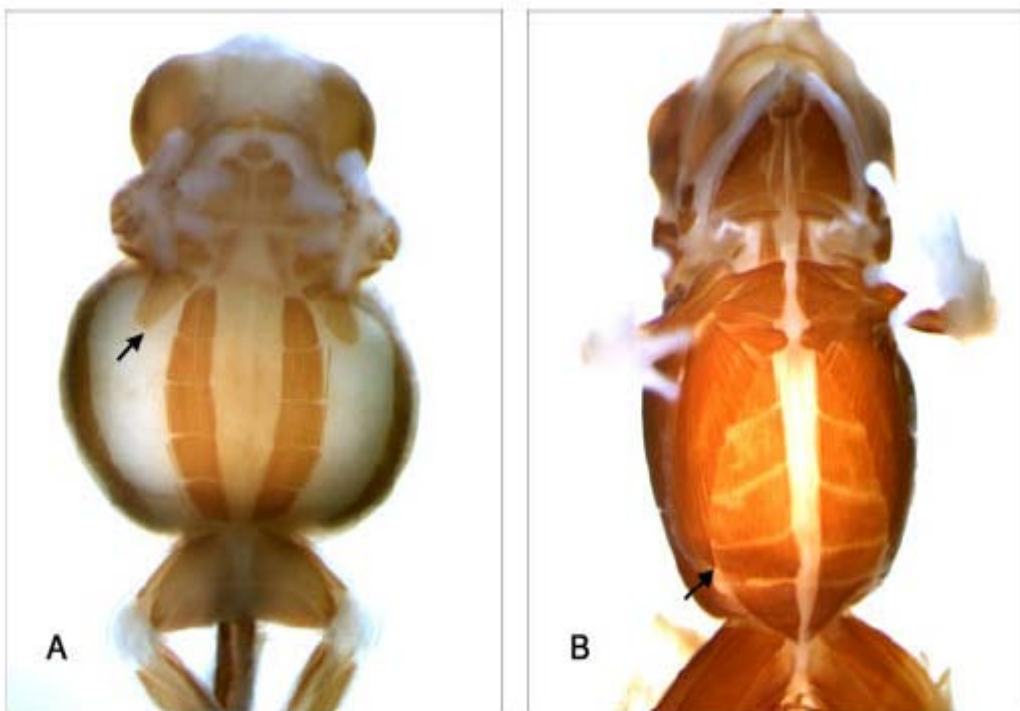
V současné době jsou nejpoužívanější právě fluorescenční metody. Dříve používané postupy byly levnější, ale byly časově náročnější a vyžadovaly pečlivou přípravu.

2.2. Metody vizualizace

Imunohistochemie (Schlosser a Northcutt, 2000)

Užité protilátky:

- **6-11B-1**: váží se na acetylovaný α -tubulin, barví nervy, ale také neuromasty a protonefridické tubuly,
- **MF 20**: váží se na sarkomerický myosin,
- **12-101**: váží se na protilátky asociované s myofibrilami. (Obr. 1)



Obr. 1. Embryo *Eleutherodactylus coqui* ve stadiu TS 11 (vlevo) a TS 15 (vpravo) (Townsend and Stewart, 1985). Použity protilátky 12-101 (podle Elinsona, 2007, upraveno)

Elektronová mikroskopie (Kordylewski, 1978)

Připravené fragmenty jsou fixovány, vysušeny a ve výparníku obaleny uhlíkem a zlatem. (obr. 2)

Běžné metody

- **Bodianova metoda** (Bodian, 1936): používá se Protargol-S (protein s navázaným stříbrem) s přídavkem mědi. Měď nahradí stříbro v pojivových tkáních a umožňuje tak snadno odlišit vlákna nervu.

Podle Muntze (1975) však tato metoda stále částečně barví kolagen a retikulin. Proto není vhodná k použití v pozdějších stádiích. Doporučuje se proto:

- **Palmgrenova metoda** (Palmgren, 1948): k tónování se užívá roztok chloridu zlatitého.
- **Sihlerova technika** (Freihofer, 1966): barvení se provádí Ehrlichovým hematoxylinem. Výhodou je dekalifikace kostí a odbarvení svaloviny během fixace.

3. Vývoj svalové soustavy pletence pánevního a zadní končetiny u žab, a její inervace.

3.1. Rané základy příčně pruhovaného svalstva a jejich embryonální původ

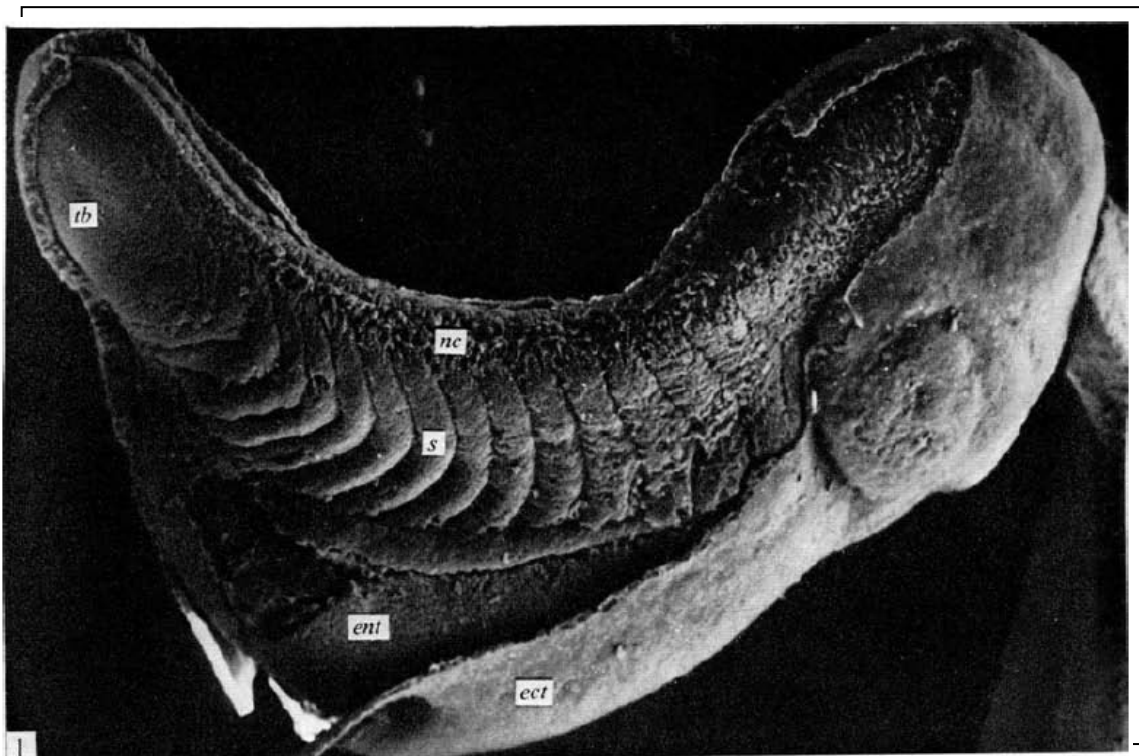
U obojživelníků, stejně jako u ostatních obratlovců, je příčně pruhované svalstvo odvozeno ze somitů. Somity jsou dočasné struktury vznikající v rané fázi ontogeneze. Zakládají se v dorzálním nebo paraxiálním mesodermu. V jednotlivých částech somitu se poté shlukují různé buněčné linie, reagující na signály vysílané okolní tkání. Tyto signály determinují jejich budoucí diferenciaci. Podle Elisona (2007) dochází u rodu *Xenopus laevis* ke vzniku dorsálního mesodermu již ve stádiu pozdní blastuly. Na počátku signalizačních drah vedoucích k vývoji dorsálního mesodermu jsou dvě molekuly. První z nich je transkripční faktor VegT, jehož mRNA můžeme lokalizovat do vegetativní části plně zralého oocyty. Již v průběhu zrání je tato mRNA transportována do cytoplasmy, kde je translatována. Po případném oplodnění a následném rýhování vstupuje VegT do jádra a aktivuje geny, kódující signální molekuly zodpovědné za tvorbu mesodermálních buněk a další transkripci genů typických pro mesoderm.

Druhou molekulou je protein Wnt11, který rovněž najdeme ve vegetativní hemisféře oocyty. Signalizační dráha iniciována tímto proteinem vyvolává vznik dorsálního mesodermu (Tao a kol., 2005).

U druhu *Eleutherodactylus coqui* obdobné molekulární studie provedeny nebyly, avšak gastrulace má velmi podobný průběh (Elinson a Fang, 1998), tudíž i mechanismy vzniku mezodermu by mohly být obdobné.

3.2. Diferenciace somitů

První počátky segmentace mesodermu a tvorba somitů probíhá v průběhu neurulace. Začíná v axiální části mesodermu a pokračuje kaudálně (obr. 2). Mezi vznikem somitů u *Xenopus laevis* a ostatních žab existují rozdíly. U *X. laevis* je paraxiální mesoderm ve stadiu rané neuruly stejně jako u ostatních obojživelníků dvouvrstvý, avšak na rozdíl od nich má mezi jednotlivými vrstvami dutinu, tzv. premyocoel (Hamilton, 1969). U *Bombina variegata* nebo *Pelobates fuscus* přiléhají obě vrstvy k sobě. Vlastní somitogeneze začíná ve stadiu pozdní neuruly. Několik somitů vzniká velmi rychle za sebou. *B. variegata* ve stadiu NF 19 má vytvořeno již asi 7 somitů, jejichž buňky však nejsou uspořádány, obdobně jako buňky nesegmentovaného mesodermu. V pozdějších stádiích (NF 22-25) dochází u nejranějších somitů, tedy nejkraniálněji uložených, ke změně tvaru buněk z kulatých na vřetenovité. Postupně se tento proces odehrává na úrovni všech segmentů, až je ve stadiu NF 36 segmentován celý paraxiální mesoderm (Kieřówna, 1981).



Obr. 2. *Rana temporaria*, pulec. Ektoderm (ect), 14 somitů (s), nesegmentovaný mesoderm v ocasní části (tb), neurální lišta (nc), entoderm (ent.) (Kordvlewski. 1978)

Dalším zásadním rozdílem u *X. laevis* je rotace premyotomálních buněk o 90°, probíhající na počátku somitogeneze. Před samotnou segmentací leží buňky kolmo k podélné ose embrya. Buňka ležící nejkraniálněji se přesune na vnější okraj somitu a buňky ležící kaudálně se přesunou na jeho mediálněji část. Nejedná se však o rotaci celé skupiny buněk najednou, ale spíše o jakousi migraci, která způsobuje zánik premyocoelu. Ve stadiu NF 33 zůstávají poslední nesegmentované části mesodermu pouze na ocasu a ve stadiu NF 38, tedy o něco později než u ostatních druhů, je segmentace dokončena. Je vytvořeno asi 45 somitů, avšak jen 9 z nich tvoří trup, ostatní tvoří ocasní část. Vznik somitů u *X. laevis* je odlišný nejenom v rámci obojživelníků, ale i ostatních obratlovců. Obdobný vývoj nalezneme pouze u ryby *Danio rerio*.

Somit můžeme rozdělit na několik částí: sklerotom a dermomyotom. Pro nás je zásadní dorsolaterální část, kde se formuje dermomyotom, zodpovědný za vznik svalů a škáry. U žab však rozhraní mezi sklerotomem a dermomyotomem není dostatečně zřetelné. Byl však izolován sklerotomální marker Pax1, díky němuž byla vymezena i oblast zodpovědná za tvorbu obratlů a části žeber (Handrigan a Wassersug, 2007).

3.3. Vznik myotomů

Jako myotom je označována ta část somitu, ze které vzniká příčně pruhované svalstvo v oblasti inervované odpovídajícím míšním segmentem. Vývoj svalových buněk však v myotomech probíhá bez přítomnosti těchto nervů, což je zásadní rozdíl oproti vývoji svalových buněk v oblasti končetin.

Muntz (1975) vývoj myotomu u *Xenopus laevis* rozdělil do několika fází, jejichž přehled a popis je uveden v tabulce 1. První fázi označil jako nepohyblivé stádium. Tomuto stádiu odpovídá vymezení NF20 – NF22. Během ní nedochází k žádné odezvě při stimulaci myotomálních buněk, z čehož se usuzuje, že nejsou schopny trakce. Při užití světelného mikroskopu nelze nalézt žádné příčně pruhované myofibrily. Ačkoliv ještě nejsou vytvořeny motorické nervy, souběžně s tvorbou prvních somitů lze rozeznat první motorické buňky v kraniální části míchy. Rovněž lze v těchto místech rozeznat tzv. Rohon-Beardsovy buňky.

Tab 1. Shrnutí strukturálního a funkčního vývoje u *Xenopus laevis* (Muntz, 1975)

Stádia chování	Morfologická stádia (<i>Nieuwkoop a Faber</i>)	Věk (h)	Struktura myotomů	Struktura nervů	Chování
I. Nepohyblivé	20 -22	21 - 24	Přítomných je 6 - 10 myotomů. Prodloužené buňky bez příčně pruhovaných vláken. Jediné velké jádro.	Krátká a tlustá Rohon-Beardova vlákna vycházejí z chordy laterálně. Několik delších ventrálních vláken v chordě	Žádná odpověď na jakoukoliv formu stimulu
II. Předpohyblivé	22 -24	24 - 27	Přítomných je 9 - 15 myotomů. Prodloužené buňky s jediným velkým jádrem. Několik tenkých příčně pruhovaných vláken.	Rohon-Beardovy buňky laterálně s delšími vlákny zasahujícími mezi myotomy. Stále žádná ventrální vlákna neopouštějí chordu.	Odpověď s pomalou jednostrannou kontrakcí v krční oblasti na přímé mechanické nebo elektrické podněty.
III. reflexogenické a rané flexe	24 -27	27 - 31	Přítomných je 15 - 19 myotomů. Prodloužené jednojaderné buňky. Jedno hrubší příčně pruhované vlákno na jednu buňku předních myotomů.	Rohon-Beardovy buňky s delšími vlákny dosahujícími ke kůži. Ventrální vlákna v přední oblasti opouštějí chordu a šikmá vlákna se kříží nedaleko nervového kanálu.	Odpověď na sensorické podněty odklonem hlavy na opačnou stranu. Pozorovatelné spontánní kontrakce.
IV. Flexe končetin a rané plavání	28 -33	32 - 44	Přítomných je 20 - 32 myotomů. Velmi prodloužené jednojaderné buňky. Tlusté klubko myofibril vyplňuje téměř celou buňku.	Rohon-Beardovy buňky v dorso-laterální pozici. Periferní sensorická vlákna vycházející ke kůži a podélná vlákna v chordě. Ventrální vlákna a kořeny pro myotomy. Šikmá vlákna obsahují Mauthnerovy buňky.	Flexe přechází v kmitání. Rané plavání v krátkých nekoordinovaných záchvěvech. Maximální spontánní kontrakce.
V. Volné plavání	32 - 42	44 - 72	Přítomných je 32 - 45 myotomů. Jednojaderné buňky plně vyplněny myofibrilami.	Rohon-Beardovy buňky v dorsální pozici. Mnoho sensorických, motorických a šikmých vláken v chordě. Velmi dobře vyvinuty Mauthnerovy neurony.	Mnohem méně pozorované spontánní kontrakce. Larva plave po jakékoliv formě stimulu.

Jedná se o populaci sensorických buněk, která je dočasná a vyskytuje se pouze u obojživelníků a moderních ryb.

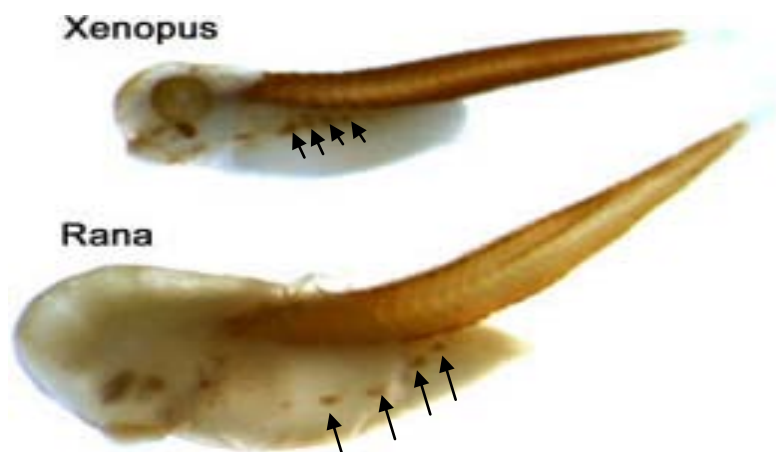
V dalším stádiu dochází k prvním odpovědím na stimulaci. Děje se tak ve stadiu NF 22 – NF 24. V této fázi vývoje je vyvinuto již 9 až 15 somitů, přičemž na kraniálněji umístěných lze již pozorovat výskyt myofibril. Stále ještě není vyvinuta inervace motorickými nervy. K té dochází až v navazujících stádiích NF 26 – NF 27. V této fázi roste oblast buňky (stále jednojaderné), vyplněné myofibrilami. Může se však jednat pouze o jednotlivé myofibrily. Jsou tedy na první pohled velmi odlišné od diferencovaných svalových vláken nebo dokonce svalů, jež lze pozorovat u pozdních stádií pulců. Během dalšího vývoje dochází k narůstání počtu myofibril, což vede k dobře pozorovatelnému posunu buněčného jádra z jeho centrální pozice.

Ve fázi samostatně plovoucího pulce, což odpovídá stádiu NF 33 – 46, dochází k takovému nárůstu myofibril, že jádro, stále ještě jediné v buňce, je jimi přitisknuto na buněčnou stěnu. V důsledku toho dochází ke změně tvaru buňky na cylindrický. Zásadní změnou je úplná inervace motorickými i sensorickými nervy. Během stádia pro metamorfosu (asi NF 50) jsou uvnitř svalové buňky pozorovatelná malá jádérka. Během dalších stádií tak buňka získává svou výslednou podobu syncytia. U *Bombina variegata* probíhá diferenciace svalových vláken v myotomu stejným způsobem jako u *Xenopus laevis*. *Pelobates fuscus* je v tomto ohledu odlišný, především dřívějším vznikem vícejaderných buněk (Hollway a kol., 2007).

3.4. Diferenciace na epaxiální a hypaxiální somatické svalstvo

Zatímco epaxiální svaly vznikají na místě somitů, z nichž jsou odvozeny, zárodky hypaxiálních svalů se objevují jako malé shluky buněk (viz obr. 3) po stranách embrya (Elinson a Fang, 1998). Z těchto shluků svalových buněk se vyvine m. rectus abdominis (u *Xenopus laevis* se tak děje ve stadiu NF 44). U *Rana pipiens* a *X. laevis* je mezi pravou a levou částí m. rectus abdominis poměrně velká mezera. Během metamorfosis se tato mezera uzavře a stane se součástí linea alba (Ryke, 1953). U *Eleutherodactylus coqui* lze pozorovat migraci svalů ventrolaterálně po povrchu žloutkového váčku, dokud nedorazí na ventrální stranu embrya. Obdobně se přemisťují i další skupiny svalů, ať už se jedná

o m. obliquus externus nebo m. transversus, které se nachází laterálněji, nebo o m. pectoralis, jenž leží kraniálněji. Tento posun je způsoben hlavně nárůstem svalové tkáně v místech původu. Během růstu embryo žloutek obklopí a získá vzhled připomínající kuřecí chorion a žloutkový vak. Je tedy možné, že vajíčko amniot se vyvinulo podobným způsobem (Elinson, 1989).



Obr. 3. Zárodky hypaxiálních svalů (znázorněno šípkami (podle Elinsona, 2007, upraveno)

3.5. Vznik končetinových svalů

V průběhu metamorfosis se celá oblast pletence zadní končetiny zásadně mění. Svaly ocasu a některé svaly trupu zanikají a vznikají svaly v končetině. U *X. laevis* ve stadiu NF 55 lze rozlišit dvě různé populace myoblastů (Shimizu-Nishikawa a kol., 2002). Tyto typy se navzájem liší například v těžkém myosinovém řetězci. Dalším příkladem je β -tropomyosin, který se vyskytuje pouze u dospělců. Během metamorfosis se larvální typ svaloviny mění na svalovinu dospělého. Podle Nishikawy a Hayashiho (1994) je tento proces podobný jakési „metamorfosní vlně“, která postupuje od hlavové části směrem kaudálně.

Pupeny zadních končetin začínají být u *X. laevis* pozorovatelné ve stadiu NF 46. Ve stadiu NF 51 lze nalézt v končetinovém pupenu myogenové prekursorové buňky. V této fázi vývoje se však v těle pulce již žádná struktura podobná somitům nenachází. Podle Satoha a kol. (2005) jsou tyto buňky odlišné od buněk, z nichž vznikají svaly trupu.

Jedná se tedy buď to o buňky, které se diferencovaly mnohem později, anebo o buňky, jejichž původ je nejasný. Pokud by se skutečně jednalo o buňky nesomitického původu, jednalo by se o rozdíl vůči všem ostatním obratlovcům. Tento názor byl již uveden v pracích z konce 19. století (Byrnes, 1898). Původ, stejně jako způsob migrace těchto buněk, však zůstává nejasný. Poté, co myogenové prekursorové buňky doputují na definitivní místo svého působení, tedy do dorsální nebo ventrální myogenní zóny, jsou aktivovány tzv. svalovými regulačními faktory ("muscle regulatory factors", MRFs). Za růst a diferenciaci svalů však nejsou zodpovědny pouze tyto faktory, ale i signály vycházející z okolních mesenchymálních a ektodermálních tkání. První svalová vlákna zadní končetiny u *X. laevis* lze rozlišit ve stádiu NF 53 (Muntz, 1975; Satoh a kol., 2005). Na rozdíl od myotomálních svalů, svaly končetiny se stávají vícejaderné již před vytvořením příčně pruhovaných myofibril. U *E. coqui* probíhá vývoj odlišně. Končetinový pupen se objevuje ve stádiu TS 4 (podle Townsenda a Stewarta, 1985). Toto období odpovídá spíše amniotům než obojživelníkům. Nejspíše se tedy jedná o důsledek tzv. přímého vývoje, tedy vývoje, v němž je potlačeno larvální stádium. První svalová vlákna se pak objevují ve stádiu TS 9 (Elinson a Fang, 1998). U *Rana temporaria* pak lze první svalová vlákna nalézt u 14 mm dlouhého pulce (Green, 1931).

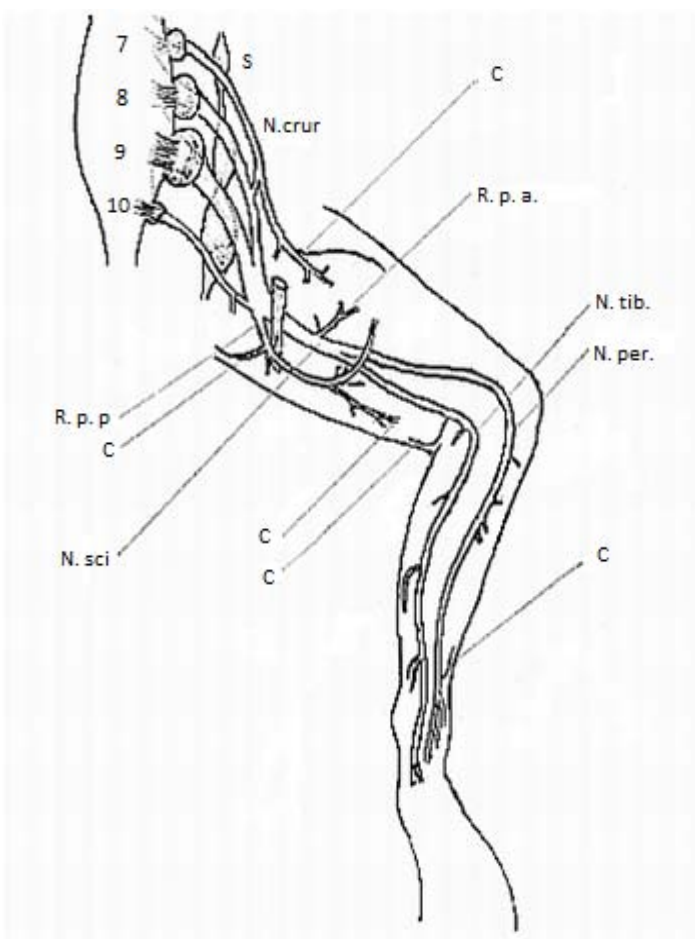
3.6. Inervace končetinových svalů

U *Eleutherodactylus martinicensis* byla provedena řada studií zabývajících se rozvojem inervace ve vyvíjející se končetině. Přestože patří mezi menší druhy s „přímým“ vývojem a počet vláken v typickém nervu je u něj mnohonásobně nižší než u jiných žab, může velmi dobře sloužit jako modelový druh.

Hughes (1962, 1965) rozlišil čtyři různá stadia inervace a tím i pohyblivosti končetin. V prvním stadiu, jehož dosáhne pulec asi v polovině osmého dne při teplotě 30°C, můžeme zaznamenat první nekoordinované pohyby, které se postupně mění na synchronizované vzájemné dotyky zadních končetin. Druhé stádium, které začíná asi o den později, je charakterizováno pohybem končetin nezávisle na pohybu trupu. Během devátého dne začíná končetina reagovat i na velmi jemný dotyk. Pro třetí stádium, počínající desátým dnem, je typická flexe končetiny při jemném stimulu, následovaná

prudkou extensí. Hlavní součástí tohoto reflexu je zapojení kolenního kloubu. Tento pohyb si můžeme představit jako „kopnutí“. V závěrečném stadiu se „kopnutí“ objevují stále častěji, až nakonec plně odpovídají pohybu užívanému k plavání.

Obdobný je vývoj u *X. laevis*. Ve stadiu NF 54 (jedná se o 26. den vývoje), lze pozorovat první nekoordinované pohyby (Hughes a Prestige, 1967). V tomto stadiu končetina reaguje na dráždění 8. spinálního nervu pomocí elektrického výboje. Distální část končetiny se stává citlivou na dotek ve stádiu NF 55 (32. den). O dvacet dní později, ve stadiu NF 63, se končetiny stávají jediným zdrojem pohybu, přestože ocas je ještě zachován (Hughes & Prestige, 1967). Končetina je tedy plně vyvinuta a má charakter končetiny dospělého jedince.



Obr. 4 Schéma inervace zadní končetiny rodu *Eleutherodactylus*.

C. – Nervi cutanei,
 N. crur. – Nervus cruralis,
 N. per. – Nervus peroneus,
 N. sci. – Nervus ischiadicus,
 N. tib. – Nervus tibialis,
 R.p.a. Ramus profundus anterior,
 R.p.p. – Ramus profundus posterior.
 S. – Musculus sartorius

(Hughes, 1965, upraveno)

Pro rod *Eleutherodactylus* je typické, že první nervová vlákna vstupují do obou předních a zadních končetin přibližně v polovině pátého dne. Již o den později může být

n. cruralis, segmentálně pocházející z S 7, spolu s n. ischiadicus s jeho větvemi, segmentálně z S8 a S9, sledován až do oblasti stehna. Podle Eckera (1889) společně tvoří plexus ischiadicus (p. cruralis, p. sacralis). U rodu *Ascaphus* se na tvorbě plexu podílí 9. až 12. spinální nerv (Van Dijk, 1955).

Během šestého dne je nervus ischiadicus již rozdělen na n. tibialis a n. peroneus, a rovněž jsou přítomny i jeho větve pro budoucí m. triceps femoris, rami profundi anterior et posterior. Sedmého dne lze pozorovat první tři prsty zadní končetiny, přičemž mesenchym mezi nimi je ještě zachován, ale již obsahuje příslušné větve n. tibialis. O půl dne později jsou již rozpoznatelné téměř všechny svaly a nervy stehna (obr 4.). Po celou dobu embryonálního vývoje jsou nervová vlákna u tohoto druhu nemyelinizovaná (Hughes, 1965).

4. Závěr

Velká většina prací posledních desetiletí, včetně těch, které se samy prezentují jako srovnávací nebo alespoň zahrnující výsledky pokusů s více druhy, je zaměřena na druh *X. laevis*. Důvodem je jeho snadný chov, rychlý vývoj, a v porovnání s ostatními druhy žab i vhodná velikost. Způsobem vzniku somitů a formováním myotomů se však tento druh odlišuje nejen od jiných žab, ale i od jiných modelových druhů obratlovců (Kiełówna L. 1981, Hollway a kol., 2007). Podle Elinsona (2007) by to mohlo být způsobeno právě rychlým ontogenetickým vývojem. Pro tuto domněnku hovoří podobnost s vývojem ryby *Danio rerio*.

Není jasný ani původ myogenních prekurzorů, z nichž vznikají svaly během metamorfosy. Tyto buňky se liší od buněk, z nichž vzniklo premetamorfní trupové svalstvo (Shimizu-Nishikawa et al., 2002). Bylo formulováno několik hypotéz o jejich původu, avšak žádná není dostatečně podložena. Je však pravděpodobné, že tato otázka bude v nejbližších letech s pomocí metod molekulární biologie vyřešena.

V neposlední řadě je nutné se zaměřit na inervaci vyvíjející se končetiny. Hrubé rysy vzniku a výsledný vzhled nervového zásobení jsou známy. Příklad a kol. (2009) nastiňují rozdíly ve svalstvu zadní končetiny u jednotlivých druhů.

Je však nutné mít jistotu, že se porovnávají svaly homologické. Jako nejprůkaznější nástroj homologizace svalů se užívá jejich nervového zásobení. Proto se ve své magisterské práci budu zabývat právě tímto problémem, tzn. vznikem a vývojem nejen svalů, ale i jejich inervace.

5. Seznam literatury

- Appleton AB.** 1928. Muscles and nerves of the post-axial region of the tetrapod thigh. *J Anat Lond* 62:364-438.
- Bodian D.** 1936. A new method for staining nerve fibres and nerve endings in mounted paraffin sections. *Anat. Rec.* 65:89-97.
- Byrnes EF.** 1898. Experimental studies on the development of limb-muscles in amphibia. *J Morph* 14:105-141. *non vidi*
- Van Dijk DE.** 1955. The "Tail" of *Ascaphus*. *Ann Univ Stellenbosch* 31:1–71.
- Duellman WE, Trueb L.** 1986. *Biology of amphibians*. New York: McGraw-Hill Book Co., 670p.
- Ecker A.** 1889. *Anatomy of the Frog*. Trans. Haslam, G. Oxford. 449 p.
- Elinson RP.** 1989. Egg evolution. In: Wake DB, Roth G, editors. *Complex organismal functions: integration and evolution in vertebrates*. Chichester, England: John Wiley & Sons. p.251-262 *non vidi*
- Elinson RP.** 2007. Muscle Development in a Biphasic Animal: The Frog. *Dev Dyn* 236:2444-2453.
- Elinson RP, Fang H.** 1998. Secondary coverage of the yolk sac by the body wall in the direct developing frog, *Eleutherodactylus coqui*: an unusual process for amphibian embryos. *Dev Genes Evol* 208:457–466.
- Freihofer WC.** 1966. The Sihler technique of staining nerves for systematic study especially of fishes. *Copeia* 3:470-475.
- Green TL.** 1931. On the Pelvis of the Anura : a Study in Adaptation and Recapitulation. *Proc Zool Soc Lond.* 1931:1259–1289.
- Hamilton L.** 1969. The formation of somites in *Xenopus*. *J Embryol exp Morphol* 22:253-264.

- Handrigan GR, Wassersug RJ.** 2007. The anuran Bauplan: a review of the adaptive, developmental, and genetic underpinnings of frog and tadpole morphology. *Biol Rev.* 82:1–25.
- Hollway GE, Bryson-Richardson RJ, Berger S, Cole NJ, Hall TE, Currie PD.** 2007. Whole-somite rotation generates muscle progenitor cell compartments in the developing zebrafish embryo. *Dev Cell* 12:207–19.
- Hughes A.** 1962. An Experimental Study on the Relationships between Limb and Spinal Cord in the Embryo of *Eleutherodactylus martinicensis*. *J Embryol exp Morph* 10:575-601
- Hughes A.** 1965. A quantitative study of the development of the nerves in the hind-limb of *Eleutherodactylus martinicensis*. *J Embryol exp Morph* 13:9-34.
- Hughes AF, Prestige MC.** 1967. Development of behaviour in the hind limb of *Xenopus laevis*. *J Zool Lond* 152:347-359. *non vidi*
- Chevallier A, Kieny M, Mauger A.** 1977. Limb-somite relationship: origin of the limb musculature. *J Embryol Exp Morphol* 41:245–258.
- Kiełówna L.** 1981. The formation of somites and early myotomal myogenesis in *Xenopus laevis*, *Bombina variegata* and *Pelobates fuscus*. *J Embryol Exp Morph* 64:295–304.
- Kordylewski L.** 1978. Scanning electron microscopic observations of the development of the somites and their innervation in anuran larvae. *J Embryol Exp Morphol* 45:215-227.
- Klymkowsky MW, Hanken J.** 1991. Whole-mount staining of *Xenopus* and other vertebrates. In *Xenopus laevis: Practical Uses in Cell and Molecular Biology*. *Meth Cell Biol* 36:419-441.
- Muntz L.** 1975. Myogenesis in the trunk and leg during development of the tadpole of *Xenopus laevis* (Daudin 1802). *J Embryol Exp Morph* 33:757–774.
- Nieuwkoop PD, Faber J.** 1956. Normal table of *Xenopus laevis* (Daudin). Amsterdam: North-Holland Publishing Co., 233 p.
- Nishikawa A, Hayashi H.** 1994. Isoform transition of contractile proteins related to muscle remodeling with an axial gradient during metamorphosis in *Xenopus laevis*. *Dev Biol* 165:86–94.
- Noble GK.** 1922. The phylogeny of Salientia. I. *Bull Amer Mus Nat Hist* 46:3-87.
- Palmgren A.** 1948. A rapid method for selective silver staining of nerve fibres and nerve endings in mounted paraffin sections. *Acta zool Stockh* 29:377.
- Přikryl T, Aerts P, Havelková P, Herrel A, Roček Z.** 2009. Pelvic and thigh musculature in frogs (Anura) and origin of anuran jumping locomotion. *J Anat* 214:100-139
- Radice GP, Neff AW, Shim YH, Brustis JJ, Malacinski GM.** 1989. Developmental histories of amphibian myogenesis. *Int J Dev Biol* 33:325–343.

- Ryke PAJ.** 1953. The ontogenetic development of the somatic musculature of the trunk of the aglossal anuran *Xenopus laevis* (Daudin). *Acta Zool* 34:1–70 *non vidi*
- Satoh A, Sakamaki K, Ide H, Tamura K.** 2005. Characteristics of initiation and early events for muscle development in the *Xenopus* limb bud. *Dev Dyn* 234:846–857.
- Selman GG, Pawsey GJ.** 1965. The utilization of yolk platelets by tissues of *Xenopus* embryos studied by a safranin staining method. *J Embryol exp Morph* 14:191–212.
- Schlosser G, Roth G.** 1997. Evolution of Nerve Development in Frogs. *Brain, behav and Evol* 50:61–128.
- Shimizu-Nishikawa K, Shibota Y, Takei A, Kuroda M, Nishikawa A.** 2002. Regulation of specific developmental fates of larval- and adult-type muscles during metamorphosis of the frog *Xenopus*. *Dev Biol* 251:91–104.
- Tao Q, Yokota C, Puck H, Kofron M, Birsoy B, Yan D, Asashima M, Wylie CC, Lin X, Heasman J.** 2005. Maternal Wnt11 activates the canonical Wnt signaling pathway required for axis formation in *Xenopus* embryos. *Cell* 120:857–871.
- Townsend DS, Stewart MM.** 1985. Direct development in *Eleutherodactylus coqui* (Anura:Leptodactylidae): A staging table. *Copeia* 1985:423–436.