



Univerzita Karlova v Praze  
Přírodovědecká fakulta  
Katedra zoologie

**PROSTOROVÁ DYNAMIKA EKTO- A ENDODERMU BĚHEM  
FARYNGOGENEZE VE VZTAHU K ZUBNÍM ZÁKLADŮM**

Bakalářská práce

**VLADIMÍR SOUKUP**

Školitel: Mgr. Robert Černý, Ph.D.

Praha 2006



Prohlašuji tímto, že jsem předloženou práci vypracoval samostatně s použitím veškeré citované literatury.

V Praze dne 24.8.2006

# Obsah

<b>1. Abstrakt</b> .....	<b>2</b>
<b>2. Úvod</b> .....	<b>3</b>
<b>3. Evoluční původ zubů</b> .....	<b>4</b>
3.1. <i>Zuby z ektodermu a Odontodová teorie</i> .....	4
3.2. <i>Zuby z endodermu</i> .....	8
3.3. <i>Dvojitý původ zubů?</i> .....	11
<b>4. Ontogenetický vývoj orofaryngeální oblasti u axolotla</b> .....	<b>13</b>
4.1. <i>Gastrulace a časný embryonální vývoj axolotla</i> .....	13
4.2. <i>Hltanová oblast embrya</i> .....	14
4.3. <i>Faryngogeneze u axolotla</i> .....	16
4.4. <i>Vývoj úst u axolotla</i> .....	18
4.5. <i>Vývoj zubů u axolotla</i> .....	20
<b>5. Role endodermu v orofaryngeální oblasti</b> .....	<b>24</b>
5.1. <i>Role endodermu ve faryngeální oblasti</i> .....	24
5.2. <i>Role endodermu v ústní oblasti</i> .....	25
<b>6. Závěr</b> .....	<b>28</b>
<b>7. Poděkování</b> .....	<b>29</b>
<b>8. Seznam použité literatury</b> .....	<b>30</b>
8.1. <i>Přímé citace</i> .....	30
8.2. <i>Nepřímé citace</i> .....	34

# 1. Abstrakt

Orofaryngeální dutina obratlovců je vyslána epitelem jak ektodermálního, tak i endodermálního původu. U axolotla *Ambystoma mexicanum*, námi studovaného modelu, vznikají ústa přes stádium ektodermálního límce, což je vnější invaginovaný epitel, který prstencovitě obaluje vnitřní endodermální masu buněk. Během formace zubních zárodků však nelze rozlišit, která z těchto vrstev generuje zubní sklovinu, neboť buňky obou tkání jsou v této době prakticky nerozeznatelné. Zuby čelistnatců jsou sice obecně považovány za derivát ektodermu, nicméně v mnoha případech je tato interpretace značně nejistá a nepodložená. Takovým případem je i dentice axolotla, kde dosud přímý vliv endodermu na tvorbu zubů nebyl prokázán, nicméně takováto situace, kterou naše předběžné studie naznačují, by nutně vedla k přehodnocení obecně přijímané tzv. „Odontodové teorie“ o ektodermálním původu zubů. Následující práce je literární rešerší k již započatému projektu zameraného na vztah ekto- a endodermu během vývoje orofaryngeální oblasti a vliv zárodečných vrstev na morfogenezi zubů.

## 2. Úvod

Zub je komplexní struktura generovaná na pomezí epitelu a mezenchymu. Zatímco zubovina (dentin) vzniká z ektomezenchymu původu neurální lišty, sklovina (email) je derivátem ektodermálního epitelu ústní dutiny. Takovýto rozvrh příspěvku zárodečných vrstev na vlastní tvorbu zubu, získaný však převážně ze savčích dat, je nicméně apodikticky aplikován na všechny typy zubů a dentice všech čelistnatců.

Přestože o embryonálním odvození dentinu z buněk neurální lišty není pochyb, ektodermální původ skloviny je v mnoha případech velice nejistý, neboť zuby se často vyvíjejí v oblastech, které se zdají být pokryty epitelem spíše endodermálního původu. Takovéto zuby jsou umístěné hlavně v posteriorní části ústní dutiny a na žaberních (faryngeálních) obloucích u mnoha různých skupin čelistnatých i bezčelistnatých obratlovců. Přesný embryonální původ těchto zubů tak vlastně není znám.

Během časného embryonálního vývinu lze histologicky obě zárodečné vrstvy (ektoderm a endoderm) poměrně dobře rozlišit, neboť buňky ektodermu nesou pigmentové granule, zatímco buňky endodermu obsahují velké množství tukových tělísek. Nicméně již během pozdějšího vývoje, ještě však před založením vlastních zubních zárodků, se ekto- a endoderm stávají z morfologického hlediska nerozlišitelnými a morfogeneze zubu se z hlediska příspěvku buněk z odlišných zárodečných vrstev stává velice nepřehlednou.

Tato situace platí i pro axolotla *Ambystoma mexicanum* (Shaw, 1789), ocasatého obojživelníka, jehož orální zuby snad pocházejí z ektodermu, ale původ skloviny posteriornějších zubů (vomerových, palatálních a spleniálních) je nejasný; axolotla tedy plánujeme využít jakožto modelový organismus pro zkoumání výše zmíněných otázek.

Tato práce je literární rešerší týkající se prostorové dynamiky ektodermu a endodermu během vývoje ústní a faryngeální oblasti nejen u axolotla, vzájemné hranice těchto zárodečných vrstev během morfogeneze a možného vlivu těchto buněk (ať už se jedná o vlastní příspěvek či jen o indukční vliv) na tvorbu zubních základů. Dále jsou diskutovány teorie o evolučním původu zubů z povrchového ektodermu (*sensu* W. E. Reif) i z faryngeálního endodermu (M. M. Smith) a možná role endodermu jakožto důležité komponenty pro vývoj viscerálních a dentálních elementů.

### 3. Evoluční původ zubů

#### 3.1. Zuby z ektodermu a Odontodová teorie

Ještě předtím, než se dostaneme k samotné Odontodové teorii, je nutné vysvětlit termín *odontoda*. Poprvé se objevil v roce 1967 a nahrazoval do té doby používané „dermal tooth“ nebo „denticle“. Značil „jednotku tvrdé tkáně, která se velmi věrně shoduje se zuby a těžko se od nich odlišuje“<sup>1</sup> (Ørvig, 1967; podle Ørvig, 1977).

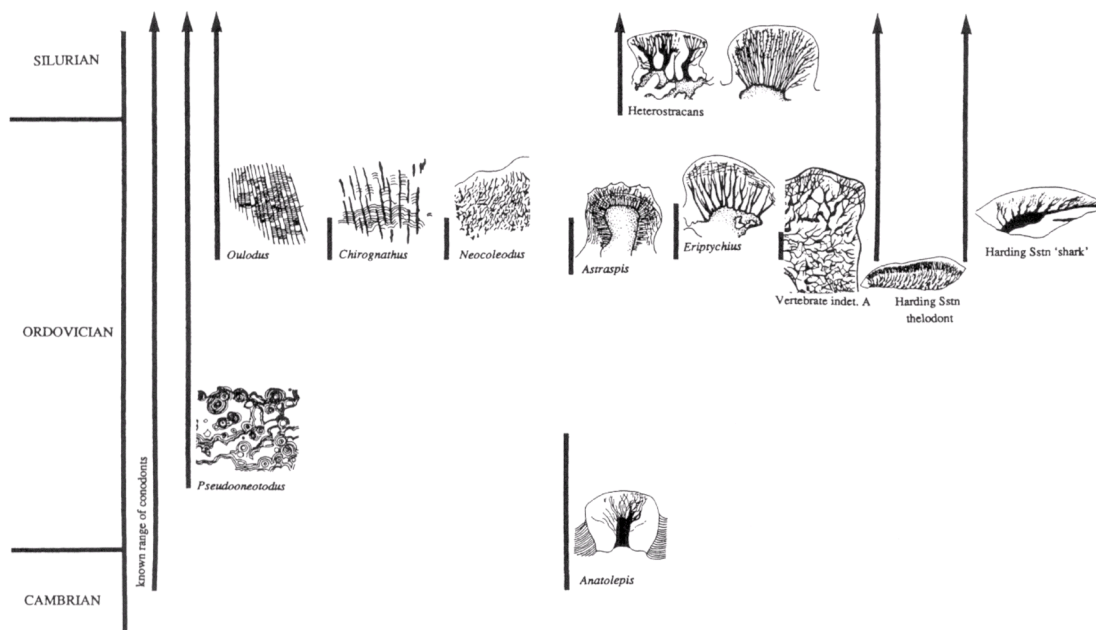
Jedná se o jednotky, které (stejně tak jako zuby) vznikají z mezenchymální dentální papily a z epiteliálního sklovinového orgánu, který ji obklopuje. Jsou tvořeny z dentinu (nebo tkáně podobné dentinu) a mohou být pokryty sklovinou nebo enameloidem. Narozdíl od zubů ovšem odontody netvoří aktivní část dentice a tudíž nemusejí být používány k chycení nebo zpracování potravy. Vyskytují se ale v orofaryngeální dutině a na povrchu těla jakožto dermální skelet (Huyseune & Sire, 1998), a tak měly a mají odlišné funkce. Dalším rozdílem je, že nikdy nevznikají ze subepidermální dentální laminy nebo z invaginovaného epitelu, ale přímo na rozhraní povrchové vrstvy dermis a pokožky. Také nejsou nahrazovány ze stran nebo zespodu, jak je tomu u zubů.

Odontody jsou součástí dermálního skeletu, který dále obsahuje dermální kosti, dermální desky, branchiální a dermální dentikuly („denticles“; Hanák, ústní sdělení) různé typy šupin (plakoidní, kosmoidní, ganoidní, elasmoidní), paprsky a výztuhy ploutví (lepidotrichia) a také zuby (Huyseune & Sire, 1998). Jejich společnou vlastností je to, že vznikají z dermálního mezenchymu (popř. z nad ním ležícího vícevrstevného epitelu) bez přítomnosti chrupavčitého stadia. Zajímavé je, že tyto struktury jsou spjaty hlavně s primárně vodními obratlovci (Sire & Huyseune, 2003). Naproti tomu u Tetrapoda jsou zachovány (kromě několika výjimek) pouze dva typy dermálních elementů, a to zuby a kranální dermální kosti.

Odontody (dermální dentikuly) se vyskytovaly na povrchu prvohorních bezčelistnatých obratlovců (před 500 mil. lety), kde tvořily součást exoskeletu. Již v této době byly velice diverzifikované (obr. 1; Smith & Sansom, 2000). S postupem času buď zfúzovaly a transformovaly se v odontokomplexy, různě se tvarově a velikostně modifikovaly a získaly tak nové funkce, anebo naopak částečně nebo úplně zmizely (Huyseune & Sire, 1998). Původně zřejmě sloužily jako obrana před predátory. Prvohorní bezčelistnatí (kromě mihulí,

---

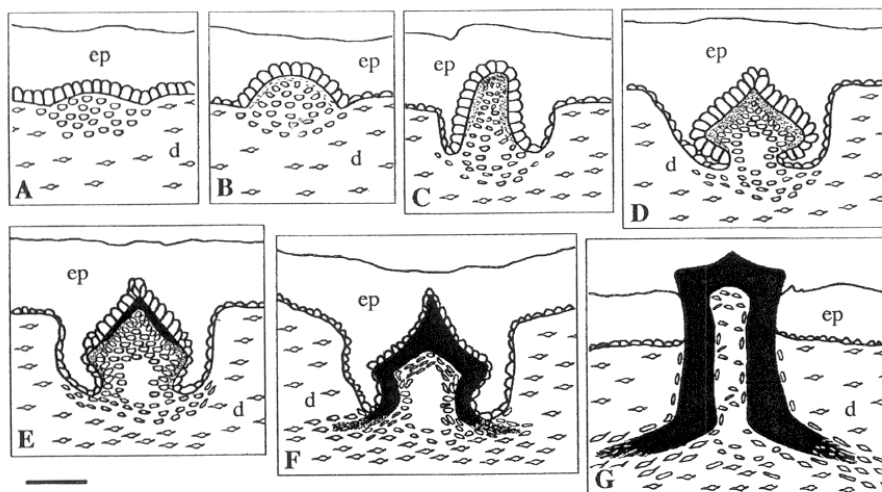
<sup>1</sup> ‘hard tissue units corresponding very closely to teeth and difficult to distinguish from teeth by any rational criteria’



Obr. 1. Tvar a struktura odontod a částí dermálního skeletu raně prvohorních bezčelistnatých obratlovců. Ze Smith & Sansom (2000).

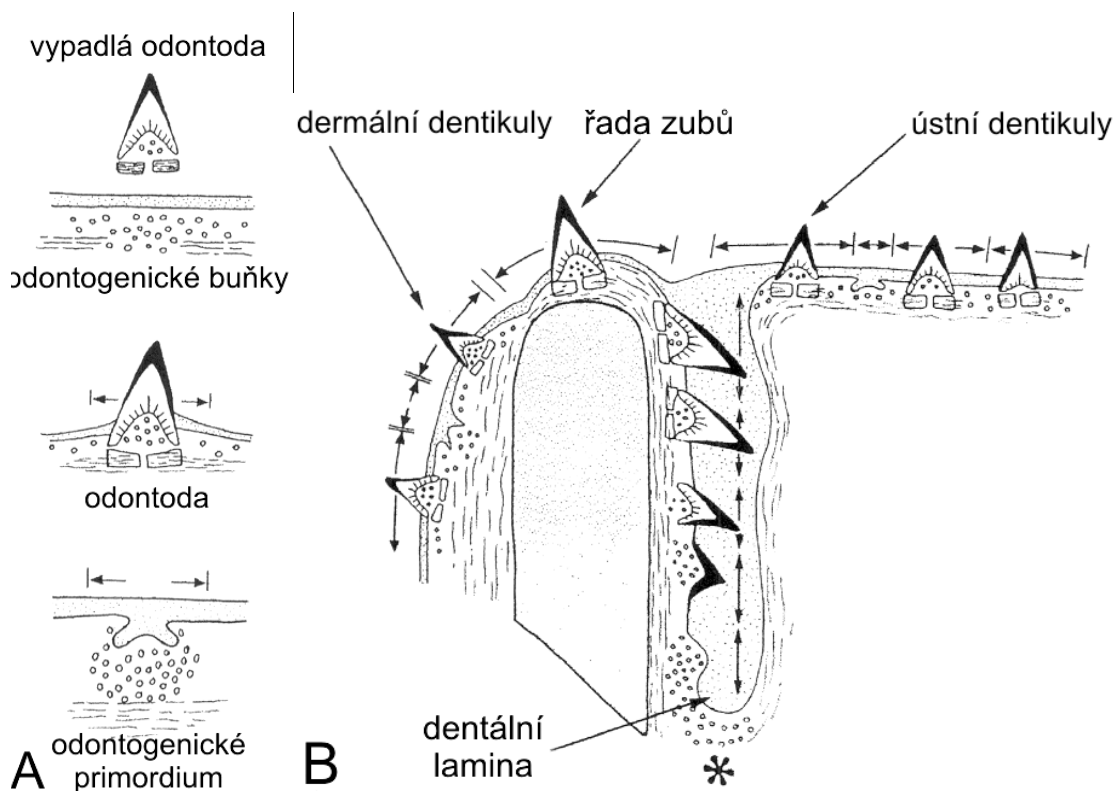
sliznatek a konodontů) byli odontodami doslova obrněni. Možná ale také měly senzorycké funkce (např. pro neuromasty postranní čáry). Dentin má totiž senzorycké a mechano-receptivní funkce (viz. Smith & Sansom, 2000 a lit. uvnitř). Dnes mohou mít i různé jiné funkce, např. filtrace planktonu v žaberní oblasti, lov, zpracování potravy nebo mohou přispívat k hydrodynamickým vlastnostem těla (Ørvig, 1977 a lit. uvnitř).

Co se týče ontogeneze, neprodělavá odontoda tak dramatický vývoj jako zub. Její tvorba je ve skutečnosti mnohem jednodušší a může být charakterizována ontogenezí



Obr. 2. Schéma ontogeneze plakoidní šupiny paryby. A, nahloučení mezenchymálních buněk na hranici epitel-mezenchym; B,C, odontodová papila obklopená buňkami sklovinového orgánu; D,E, tvorba korunky a její mineralizace apiko-bazálním směrem; F, osteoblasty v dermis formují bazální část šupiny; G, kompletní šupina po erupci a fixaci v dermis. d, dermis; ep, epidermis. Měřítka = 50  $\mu$ m. Podle Reif (1980) z Huisseune & Sire (1998).





Obr. 3. A, Model výměny odontod (zespoda nahoru). Odontogenické primordium okolo sebe generuje inhibiční pole (šipky). Nová odontoda se může vytvořit až po vypadnutí předchozí odontody. B, Odontodová teorie vzniku zubů. Zuby vznikají na konci epiteliální invaginace – dentální laminy (hvězdička) mimo vliv inhibičního pole. A podle Osborn (1978), B podle Reif (1982), ze Smith & Coates (2000).

plakoidní šupiny žraloka (obr. 2). Odontoda vzniká těsně pod epidermis v místech, kde dochází k akumulaci mezenchymálních buněk a tvorbě kondenzací. Každá tato kondenzace vytvoří dermální papilu, která se začne evaginovat do epidermální bazální vrstvy tvořené krychlovými buňkami. Vytvoří se tak dentální papila obklopená sklovinovým orgánem. Celá tato struktura se invaginuje hlouběji do dermis. Následně probíhá ukládání a mineralizace dentinu a enameloidu. Odontoda je poté připojena v dermis přímo bazální částí tvořenou z acelulární kosti (žralok, Reif, 1980; podle Huysseune & Sire, 1998). Nakonec dojde k erupci a odontoda se stane plně funkční.

Z výše uvedeného popisu vyplývá, že odontoda svou strukturou, tkáňovým složením, nebo způsobem vzniku velice připomíná vlastnosti zubu. Srovnáním odontod a zubů vyplývá, že se s největší pravděpodobností jedná o homologické struktury (např. Huysseune & Sire, 1997) a že odontody přítomné v ústní dutině daly během evoluce čelistnateců vznik zubům (Ørvig, 1977). Toto srovnání se tak stalo podkladem pro vypracování dnes uznávané Odontodové teorie<sup>2</sup> vzniku zubů (Reif, 1982; podle Smith & Hall, 1993).

<sup>2</sup> orig. “odontode regulation theory”

Odontodová teorie předpokládá, že okolo vyvíjejícího se odontodového primordia existuje jakési inhibiční pole, které je generováno primordiem a které znemožňuje tvorbu nových primordií v jeho těsné blízkosti (Osborn, 1978, podle Smith & Hall, 1993). Nová odontoda tak může vzniknout pouze mimo toto inhibiční pole, tzn. během růstu jedince nebo poté, co některá funkční odontoda vypadla (obr. 3A). Odontody tedy daly vznik zubům tak, že se po jejich migraci z povrchového ektodermu do stomodea propojily s vyvíjející se dentální laminou, která vznikla invaginací stomodeálního epitelu podél okrajů čelistí do mezenchymu (obr. 3B). V tomto místě bylo možné, aby se odontody vyvíjely mimo dosah inhibičního pole a právě ochrana před inhibičním polem poskytovala možnost vytvoření větších odontod – zubů (Reif, 1982; podle Smith & Hall, 1993). S dentální laminou bylo dále možné rychle nahrazovat opotřebované nebo vypadlé dentikuly. Navíc mohly tyto dentikuly díky separovanému vývoji získat komplexní tvar, vytvořit zubní rodiny a další vlastnosti specifické pro dentici.

Odontody tedy daly vznik zubům poté, co ektoderm s odontogenickým potenciálem vmigroval do stomodea, inkorporoval se do dentální laminy a spolu s evoluční novinkou, čelistmi, vytvořily funkční aparát pro příjem větší potravy. Odontodová teorie proto předpokládá *čistě ektodermální* vznik zubů.

Tento pohled je založen na podobnosti plakoidních šupin a zubů žraloka. Ve skutečnosti ale nikdy nebyla nalezena vývojová nebo fylogenetická řada, kde by odontody (plakoidní šupiny) postupně přecházely v zuby (Reif, 1980; podle Sire & Huysseune, 2003)

Ektodermální vznik zubů zastávají také Sire & Huysseune (2003). Srovnáním vývojových stadií jednotlivých dermálních elementů předpokládají, že zuby vznikly z odontod již před 450 mil. lety. Naproti tomu dentikuly mají mnohem podobnější ontogenezi a stavbu se zuby a tak musely vzniknout později (přibližně před 100 mil. lety). Na základě tohoto srovnání tedy Sire & Huysseune (2003) předpokládají homologii mezi těmito třemi typy struktur a navrhují evoluční sekvenci: (1) izolované odontody, (2) zuby, (3) dermální dentikuly. Zuby by tedy v tomto případě nebyly terminální linií dermálního skeletu, ale meziproduktem, který dal dále vznik dermálním dentikulám. To, že se ve vývoji zubu (oproti odontodám resp. dermálním dentikulám) vyskytují stadia, která vyžadují hluboké epiteliální invaginace do mezenchymu, je považováno za sekundární vlastnost, která se objevila recentněji a umožňovala ochranu vyvíjejícímu se zubnímu zárodku. Dentikuly, které se vyskytují v ústní dutině a hltanu recentních obratlovců, by tak byly relativně novým znakem a ne pozůstatkem po migraci odontod do stomodea.

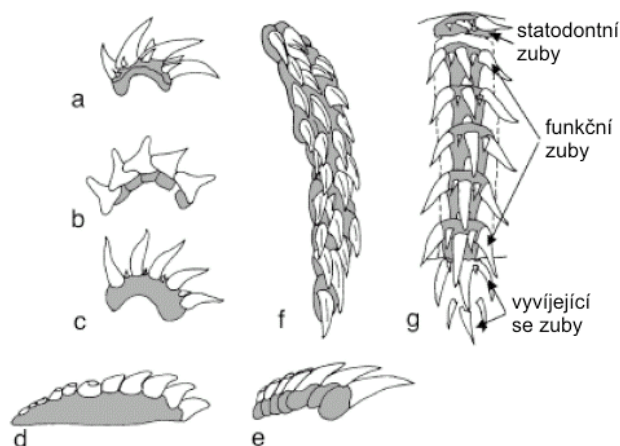
### 3.2. Zuby z endodermu

Odontodová teorie, i přes zahrnutí velkého množství mineralizovaných tkání a velkou použitelnost v evoluci zubů, nemůže vysvětlit některé skutečnosti. Je vázána na žraločí model, kde předpokládá, že se zuby vyvinuly společně s čelistmi. Ovšem struktury podobné zubům (dentikuly) byly také nalezeny v orofaryngeální dutině thelodontů (Van der Bruggen & Janvier, 1993), což jsou obratlovci bez čelistí. Dále nevysvětluje původ, nebo spíše předpokládá ektodermální vznik, dentikul, které se vyskytují na povrchu hltanu vodních čelistnatců. Otázkou ale zůstává, zda-li je tento hltan opravdu pokryt ektodermem. To je také případ faryngeální dentice kaprovitých a jiných kostnatých ryb.

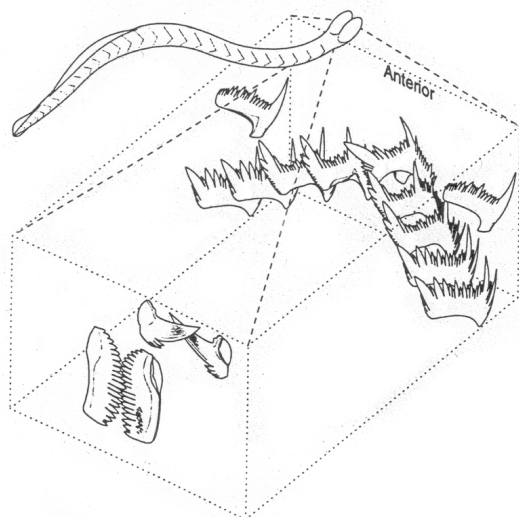
Orofaryngeální dentikuly u thelodonta *Loganellia* naznačují, že by „zuby“ mohly být přítomny již před vznikem čelistí (Van der Bruggen & Janvier, 1993). Navíc, spirálně složené dentikuly nalezené v hltanu thelodontů připomínají spirálně tvořené zubní rodiny kmenových Chondrichthyes (obr. 4; Smith & Coates, 1998; Smith, 2003) a ostatních živočichů na bázi čelistnatců (Acanthodii, bazální Osteichthyes). Takto specializované zuby žraloků by tedy mohly mít svůj fylogenetický původ ve faryngeální, a možná tedy *endodermální*, a nikoli dermální oblasti (Smith & Coates, 1998, 2000; Smith, 2003; Johanson & Smith, 2005). To by ovšem znamenalo, že by se zuby vyvinuly nezávisle na kožních dentikulách a jako preadaptace pro dentici čelistnatců by sloužily orofaryngeální dentikuly.

Další otázkou jsou „zuby“ konodontů. Konodonti byli bezčelistní obratlovci zřejmě příbuzní s mihulemi, kteří se odštěpili od linie vedoucí k čelistnatcům již v pozdním kambriu a

přežívali až do triasu (Smith & Coates, 2000). Měli specializovaný přijímací aparát umístěný v předním konci hltanu (na jeho tvorbě by se teoreticky mohl podílet i endoderm) a tvořený párovými mineralizovanými elementy, které zřejmě působily proti sobě, ovšem laterálně (obr. 5, Smith & Hall, 1993; Smith & Coates, 2000). Zvláštností je ale, že neměli žádný

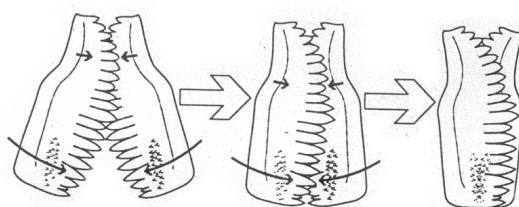


Obr. 4. Schémata zubních spirál asociovaných s čelistmi fosilních a recentních vodních obratlovců. a, Acanthodii; b, Chondrichthyes; c, Sarcopterygii; d, jedna řada zubů zubní desky Dipnoi; e, sada faryngeálních dentikul primitivní Chondrichthyes; f, sada faryngeálních dentikul thelodonta *Loganellia*; g, zubní řada žraloka *Chlamydoselachus anguineus*. Převzato ze Smith (2003).



Obr. 5. A, Přijímací aparát konodonta *Vogelgnathus campbelli*, jeho pozice a orientace v těle. B, posteriorní elementy a předpokládaný pohyb během zpracovávání potravy stříhem. Podle Purnell & von Bitter (1992), ze Smith & Hall (1993)

A

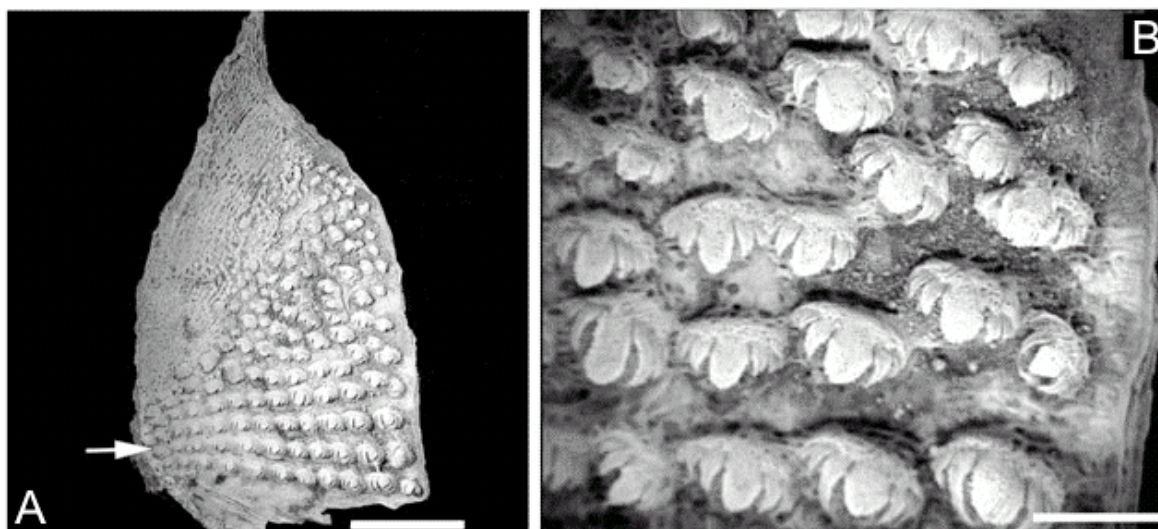


B

mineralizovaný dermální štít. Nicméně přítomnost dentinu a skloviny v jejich elementech přijímacího aparátu posouvá výskyt mineralizovaných tkání o 40 milionů let dříve (tedy do pozdního kambria) než přítomnost prvního obratlovce s mineralizovaným exoskeletem (Sansom et al., 1992, 1994). Tato skutečnost také podporuje vznik zubů nezávisle na kožních dentikulách. U konodontů se ovšem zřejmě bude jednat o

nezávislý evoluční pokus vytvořit mineralizovaný přijímací aparát (Smith & Coates, 2000).

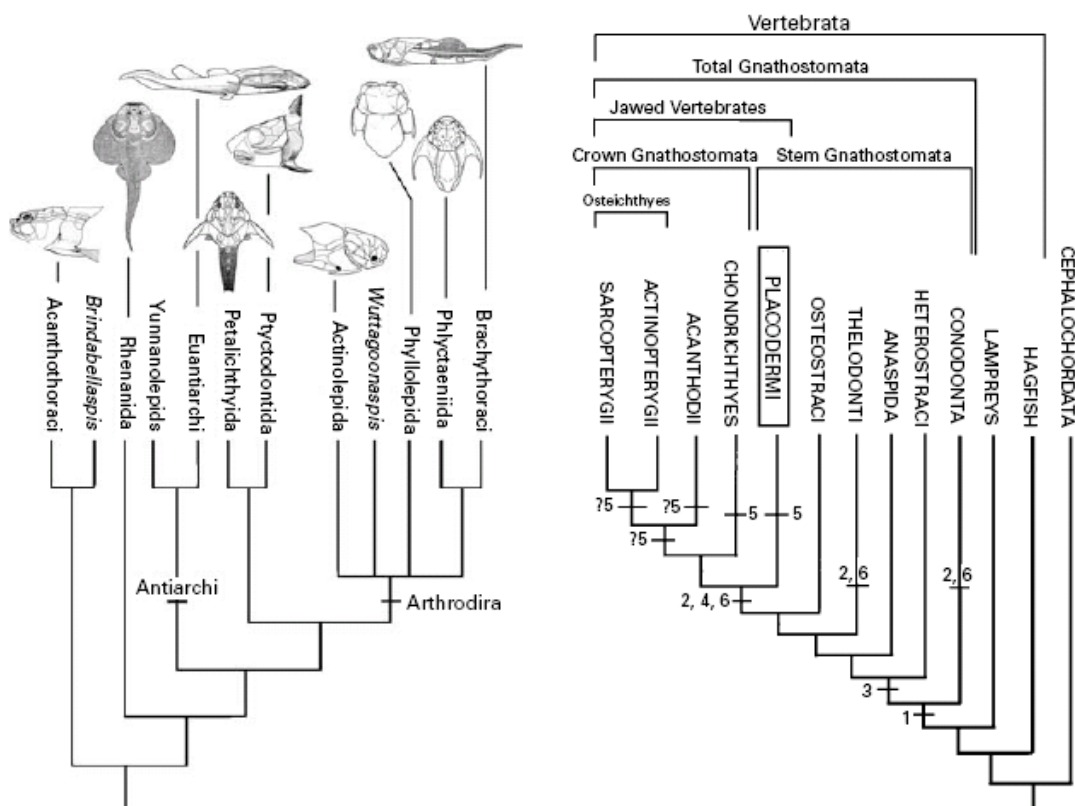
Pravé zuby jsou definovány jako jednotky, které vznikají, jsou řízeny a nahrazovány z dentální laminy a jsou tvořeny ještě předtím, než je jich doopravdy potřeba – tzn. že nový zub je generován dříve, než vypadne starý – funkční (Reif, 1982; podle Smith & Coates, 2000 a Johanson & Smith, 2005), což neplatí pro dermální dentikuly (obr. 3A; Osborn, 1978; podle Smith & Coates, 2000). Této definici odpovídají zuby paryb, trnoploutvých a kostnatých ryb,



Obr. 6. A, anteriorní laterální faryngeální deska *Campbellodus decipiens* (Placodermi) pokrytá dentikulami, šipka značí pravděpodobnou hranici ektoderm-endoderm; B, detail dorzální části desky. Měřítko A = 1,0 cm, B = 0,25 cm. Upraveno podle Johanson & Smith (2005).

ale ne pancířnatých (Placodermi), vyhynulé skupiny bazálních čelistnatců. Gnathalia (čelisti) pancířnatých nesou různé ostré hrany a oblasti s hroty, ovšem nikdy nebyly popsány známky dentální laminy. Placodermi tedy nemají dentici v pravém slova smyslu (*sensu* Reif). Avšak „zuby“, které vznikají a jsou nahrazovány přesným způsobem, byly v této skupině nalezeny, a to u odvozených Arthrodira (obr. 7; Smith & Johanson, 2003; Johanson & Smith, 2005). Jedná se o „zuby“ tvořící řady podél gnathalií, přičemž nové „zuby“ jsou přidávány na konec těchto řad. Staré „zuby“ jsou postupně opotřebovávány, ale nevypadávají (statodontní dentice). Ovšem u bazálních zástupců Placodermi (např. Antiarchi a Rhenanida) se „zuby“ nevyskytují. To podporuje myšlenku konvergentního vzniku „zubů“ vzhledem k ostatním čelistnatcům, neboť zde chybí fylogenetická kontinuita (obr. 7, bod 5; Smith & Johanson, 2003).

Johanson & Smith (2005) považují další vlastnost Placodermi, přítomnost míst pokrytých velkým množstvím dentikul na posteriorních stěnách faryngeální dutiny (obr. 6), za homologickou s dentikulami asociovanými s žaberními oblouky ostatních čelistnatců. Právě jejich přítomnost v hltanu vede Johanson & Smith (2005) k myšlence o vlivu *endodermu* na tyto struktury.



Obr. 7. Kladogramy zobrazující vztahy mezi obratlovci (vpravo) a ve skupině Placodermi (vlevo). 1, mineralizovaný skelet; 2, vnitřní mineralizovaný skelet; 3, vnější mineralizovaný skelet; 4, čelisti; 5, zuby; 6, geny zodpovědné za rozmístění vnitřního skeletu. Vlevo z Johanson & Smith (2005), vpravo podle Donoghue et al. (2000) a Purnell (2001), z Johanson & Smith (2005).

„Zuby“ by tedy mohly předcházet evoluci čelistí a v případě sliznatek a konodontů též evoluci dermálního štítu. Avšak v těchto případech se bude zřejmě jednat o konvergentní vznik mineralizovaného přijímacího aparátu (obr. 7, bod 2). Reif (1982; podle Smith & Coates, 2000) sice definoval zuby jako jednotky vznikající z invaginovaného epitelu (dentální laminy), nicméně spirálně organizované „zuby“ nacházené u thelodonta *Loganellia* a v bazálních liniích čelistnatců by mohly reprezentovat nezávislou evoluční událost, a to vznik zubů z *endodermu* (Johanson & Smith, 2005).

Pokud se podíváme na Chondrichthyes, Acanthodii a Osteichthyes, zjistíme, že někteří bazální zástupci také nevlastní zuby. Je ale pouhým dohadem, zda-li by se u těchto zástupců jednotlivých skupin také zuby vyvinuly nezávisle (obr. 7, bod 5; Johanson & Smith, 2005).

### **3.3. Dvojitý původ zubů?**

Klasický náhled na evoluci zubů předpokládá přechod dermálních dentikul z povrchu těla do ústní dutiny a jejich asociaci s dentální laminou (Reif, 1982; podle Smith & Hall, 1993). Dentikuly vyskytující se posteriorněji ve faryngu se sem přesunuly až později. Zuby se tedy do stomodea dostaly s ektodermálním epitelem.

Alternativní pohled zastává Jollie (1968; podle Johanson & Smith, 2005). Dermální dentikuly se do ústní dutiny dostaly poté, co se mandibulární oblouk přesunul posteriorně a spojil se s hyoidním obloukem. Vznikla tak opora pro čelist. Zde se ovšem dentikuly rozšířily posteriorní migrací z ektodermu do endodermu. Hranice ektoderm-endoderm byla definována v místech, kde došlo ke spojení mandibulárního a hyoidního oblouku.

Naproti tomu Smith & Coates (1998, 2000) předpokládají nezávislý vznik dentikul ve faryngeální a tedy endodermální oblasti, které se později mohly přesunout do orální oblasti a dát vznik zubům. Tato hypotéza je založena na přítomnosti spirálně tvořených zubních rodin, které se vyskytují ve faryngeální oblasti thelodonta *Loganellia* (Van der Bruggen & Janvier, 1993) a některých bazálních čelistnatců (obr. 4; Smith, 2003).

Není jednoduché rozhodnout, která hypotéza lépe vysvětluje evoluční původ zubů. Existuje také možnost, že by zuby (alespoň u primárně vodních čelistnatců) byly dvojitěho původu: orální zuby vzniklé z dermálních dentikul, tedy z *ektodermu*, a faryngeální zuby reprezentující *endodermální* původ. Tato situace by mohla platit u zástupců recentních Osteichthyes, kteří mají dentici složenou jak ze zubů na okrajích čelistí a charakterizovaných dentální laminou, tak z faryngeálních zubů umístěných volně v povrchu hltnu nebo

asociovaných s žaberními oblouky. Poté by bylo zajímavé studovat, jak se shodují nebo liší jednotlivé signální molekuly a transkripční faktory popř. jejich exprese během ontogenetického vývoje orální vs. faryngeální dentice.

Některé práce se již zaměřily na studium exprese molekul během ontogeneze zubů ve faryngeální oblasti dania *Danio rerio* (Jackman et al., 2004; Laurenti et al., 2004; Borday-Birraux et al., 2006) a pstruha *Oncorhynchus mykiss* (Fraser et al., 2004, 2006). Bylo nalezeno množství shodných nebo podobných vlastností zkoumaných genů. Exprese myších *Dlx2* a *Dlx4* se během ontogeneze zubu dobře shoduje s expresí jejich orthologů *dlx2a*, *dlx2b* a *dlx4a*, *dlx4b* u dania (Borday-Birraux et al., 2006). Také prostorová a časová exprese *Shh*, *Pitx-2* a *Bmp-4* se během vývoje zubů u pstruha a myši neliší (Fraser et al., 2004). Podobnost v místech exprese myších FGF a některých jejich downstream genů s jejich orthology u dania ukazují i Jackman et al. (2004). To by mohlo napovídat, že všechny tyto geny mají u čelistnatců vzhledem k dentici stejné funkce anebo se bez nich vývoj zubu prostě neobejde.

Naproti tomu existují geny, které jsou, nebo naopak nejsou, exprimovány v dentici dania vzhledem k myši. *eve-1* je exprimován v časně se diferencujících ameloblastech, zatímco jeho možný ortholog nebyl v myších ameloblastech nalezen (Laurenti et al., 2004). Dále *dlx1a* a *dlx6a* (orthology myších *Dlx1* a *Dlx6* exprimovaných v zubním mezenchymu) nebyly ve vyvíjejících se zubních zárodcích dania vůbec nalezeny (Borday-Birraux et al., 2006). Stejná situace platí i pro *fgf8* a *pax9* (Jackman et al. 2004). Vyvstaly i rozdíly v rámci dentice pstruha *Oncorhynchus mykiss*. *Pitx-2* má jinou expresi v zubních zárodcích náhradních zubů faryngeální oblasti než orální (marginální, palatální a linguální) oblasti (Fraser et al., 2004). Přitom však morfogeneze těchto zubů není odlišná od ostatních oblastí.

Lze namítnout, že danio, stejně jako myš, má velice odvozený typ dentice, a tak je jejich srovnání velice problematické. Faryngeální zuby jsou navíc situovány v oblasti, která vzniká z jiných proudů neurální lišty než orální dentice a je pod přímým vlivem Hox genů (Hunt, 1991; Krumlauf, 1993), a tak se dají předpokládat jisté rozdíly v expresi genů. Stejně tak se ovšem může jednat o *endodermální* vliv na vývoj zubů, jejichž rozdíly se oproti orální dentici v evoluci prohlubovaly. Vždyť také žaberní oblouky, které často nesou zuby, při svém vzniku z neurální lišty závisejí na endodermální signalizaci (Crump et al., 2004; Piotrowski & Nüsslein-Volhard, 2000).

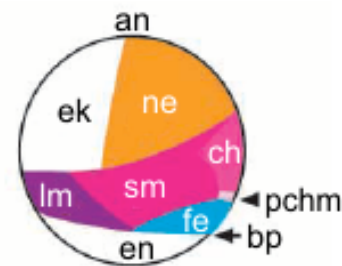
## 4. Ontogenetický vývoj orofaryngeální oblasti u axolotla

### 4.1. Gastrulace a časný embryonální vývoj axolotla

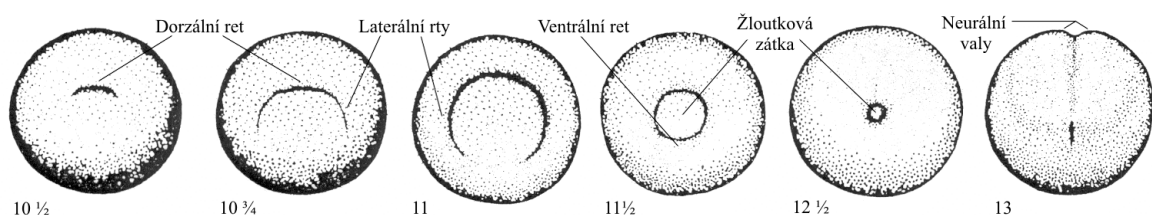
Po oplození dochází u axolotla k rýhování vajíčka a tvorbě moruly. Další dělení spolu s následnou tvorbou blastocoelu vede k tvorbě blastuly. Následná gastrulace je velice složitý proces (popsáno podle Gilbert, 2000), kdy se zakládají jednotlivé zárodečné vrstvy – tedy ektoderm, endoderm a mezoderm. Na počátku gastrulace jsou již jednotlivé buňky embrya předurčeny, která část těla se z nich stane (obr. 8; Cleine & Slack, 1985). Celá vegetativní hemisféra bude formovat endoderm a mezoderm, zatímco apikální hemisféra vytvoří ektodermální struktury.

V průběhu časně gastrulace se v opačném místě, než došlo k oplození, vytvoří blastoporus. Ten je charakterizován buňkami specifického tvaru („bottle cells“), které se invaginují jako první a vytvoří přední okraj archenteronu. Později se z nich stanou buňky hltanu. Postupně dochází k migraci dalších a dalších vegetativních buněk dovnitř gastruly, zatímco animální (ektodermální) část migruje po povrchu a postupně zakrývá endo- a mezodermální buňky. Blastoporus během involuce mění tvar (obr. 9). Nejprve tvoří dorzální ret, poté laterální rty a nakonec i ventrální ret. Nejdříve tedy dochází k migraci budoucích faryngeálních buněk přes blastoporus, následně buněk prechordálního mezodermu, chordamezodermálních buněk, atd. Po involuci všech původně vegetativních buněk je endoderm vidět jako žlutková zátka („yolk plug“). Z blastoporu se stane řitní otvor.

Krátce po gastrulaci dochází k dalšímu procesu, kdy se povrchové buňky dostávají dovnitř embrya. Jedná se o



Obr. 8. Oblasti časně gastruly axolotla dávající vznik různým buněčným typům. Laterální pohled, dorzální strana je vpravo. an, animální pól; bp, blastoporus; ek, ektoderm; en, endoderm; fe, faryngeální endoderm; ch, chorda; lm, laterální mezoderm; ne, neuroektoderm; pchm, prechordální mezoderm; sm, somitický mezoderm. Upraveno podle Pasteels (1942), z Barlow (2001).

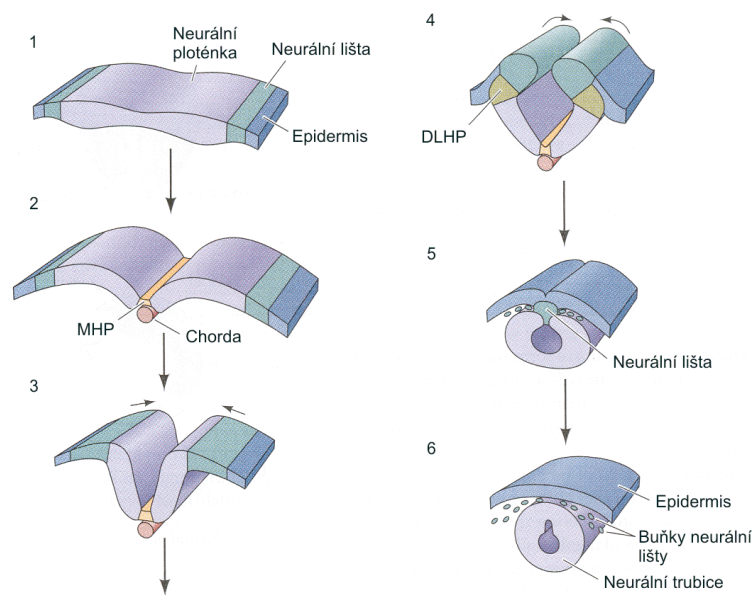


Obr. 9. Tvar blastoporu během involuce vegetativní hemisféry embrya axolotla. Ve stadiu 13 se již objevují neurální valy. Upraveno podle Bordzilovskaya et al. (1989).



neurulaci (obr. 10). Během tohoto procesu se na dorzální straně embrya tvoří pruh ztlustělého epitelu (neurální ploténka). Postupně dochází ke zdvihání neurálních valů, jejich přibližování a následnému zfúzování. Vytvoří se tak uzavřená nervová trubice, ze které vznikne mozek a mícha. V místě fúze neurálních valů dochází k přeměně původně epiteliálních buněk v buňky mezenchymální („epithelial-mesenchymal transition“; Nieto, 2002). To je zajištěno aktivací exprese *Snail*, který reprimuje expresi *E-cadherinu*. Snail tak umožňuje buňce migrovat. Takto přeměněné buňky se nazývají neurální lišta. Ta putuje ventrolaterálním směrem a dá vznik mnoha derivátům v embryonálním těle (Le Douarin et al., 2004).

Během invaginace neurální ploténky dochází k rozlišení a diferenciaci endo- a mezodermálních buněk. Anteriorní část archenteronu je zvětšená a dotýká se dna uzavírající se neurální ploténky. Přitom se dostává do přímého kontaktu s ektodermem v místě budoucích úst.



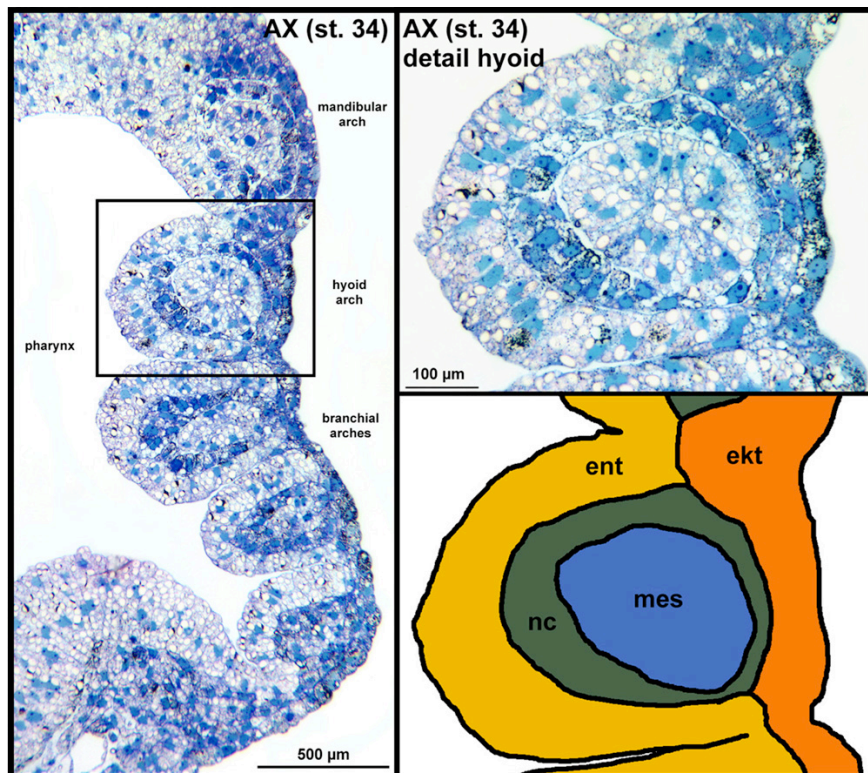
Obr. 10. Neurulace u kuřete. 1, neurální ploténka se ztlušťuje; 2, neurální valy se zdvihají; 3,4, dochází k jejich postupu k mediální linii; 5, neurální ploténka se uzavře a vytvoří nervovou trubici, přitom se odštěpují buňky neurální lišty; 6, tyto buňky putují ventrolaterálním směrem. DLHP, MHP, buňky, u kterých během tvorby neurální trubice dochází k největšímu ohybu. Upraveno podle Gilbert (2000).

## 4.2. Hltanová oblast embrya

Faryngeální oblast embrya je velice konzervativní (u různých obratlovců je stavěná podobným způsobem), ale také komplexní částí těla (skládá se ze žaberních (faryngeálních) oblouků, které jsou tvořeny několika různými embryonálními buněčnými populacemi). Tyto

populace spolu interagují a vytvářejí aparát, který slouží k příjmu potravy, dýchání a jiným funkcím. Jedná se o ektoderm (epidermis), který kryje hltan zvenčí, endoderm, který pokrývá žaberní oblouky zevnitř, mezoderm umístěný centrálně v každém oblouku a neurální lištu, jejíž proudy osidlují oblast mezi mezodermem a ekto-/ endodermem (obr. 11). Mezi jednotlivými oblouky tvoří ekto- a endoderm hranici mezi vnitřním a vnějším prostředím, což se navenek jeví jako série žaberních štěrbin.

Jednotlivé zárodečné vrstvy generují různé struktury. Ektoderm tvoří epidermis, epibranchiální ganglia a žábry. Endoderm vystylá povrch hltanu a navíc formuje štítnou žlázu, příštítná a ultimobranchiální tělíska, brzlík, chuťové pohárky (*Ambystoma*; Johnston, 1910; Barlow & Northcutt, 1995) a v neposlední řadě zřejmě také sklovinu zubů, ať již faryngeálních (*Cyprinus*; Edwards, 1929) nebo palatinových a spleniálních (*Ambystoma*; Adams, 1924; de Beer, 1947). Navíc se z posteriorní části endodermu vychlipuje váček, který později dá vznik plicím. Z mezodermu se mimo jiné vytvoří svaly a endotel branchiálních artérií. Z ektomezenchymu neurální lišty vznikají pojivové tkáně (tedy hlavně skelet), dentin zubů, neurální ganglia a pigmentové buňky.



Obr. 11. Horizontální řez faryngeální oblastí axolotla (st. 34). Vlevo, mandibulární, hyoidní a čtyři branchiální oblouky; vpravo nahoře detail hyoidního oblouku, lze rozpoznat jednotlivé tkáně formující faryngeální oblouky; vpravo dole, schématické znázornění tkání hyoidního oblouku. ekt, ektoderm; ent, endoderm; mes, mezoderm; nc, neurální lišta. R. Černý (orig.).

Každý z oblouků je dále modifikován. Z nejanteriornějšího se staly čelisti (mandibulární oblouk), další (hyoidní) dělá oporu čelistem nebo se u Tetrapoda (kromě larev obojživelníků) diferencoval v přední rohy jazyčky. Zbylé (branchiální, u axolotla čtyři) oblouky nesou žábry. V evoluci se dále diferencovaly v zadní rohy jazyčky, nebo se přimkly k dýchací trubici. U některých ryb se navíc odlišil i nejposteriornější oblouk. Ten již nese žábry, nýbrž faryngeální dentici. Všechny oblouky se navíc ještě dále diferencovaly – sluchové kůstky, výběžky na lebce aj.

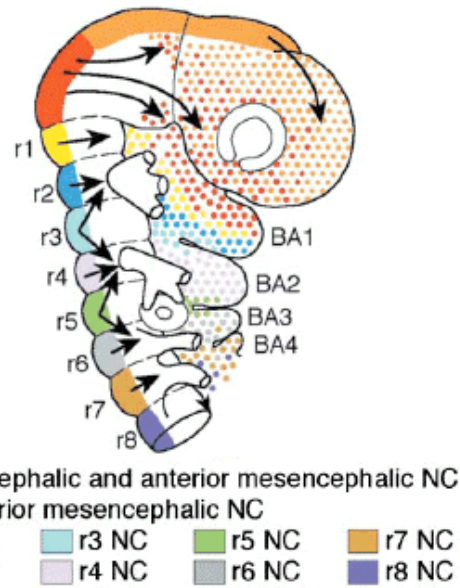
### **4.3. Faryngogeneze u axolotla**

Jak tedy dojde ke zformování tak složité části těla? Vraťme se na konec neurulace. Neurální trubice je již uzavřená, začínají se diferencovat první somity. Z laterálních stěn endodermální trubice se v budoucí hltanové oblasti evaginuje na každé straně série výchlipek. Výchlipky prostoupí mezodermem, čímž jej segregují na sérii dorzoventrálně orientovaných úseků a vytvoří kontakt s ektodermem, který formuje podobné evaginace zvnějšku dovnitř. Tyto kontakty se rozšiřují dorzálně a ventrálně. Takto vytvořené branchiální membrány vytvářejí prostředí, do kterého nyní mohou namigrovat buňky neurální lišty. U primárně vodních obratlovců dále dojde k protržení membrán. Vzniklými otvory následně může proudit voda a omývat žábry.

Mezoderm je před uzavřením neurálních valů přítomen po stranách chordy až k úrovni očí. Prechordální mezoderm vzniká samostatně od paraxiálního mezodermu (*Necturus*; Platt, 1897), ale následně se s ním spojí nad a pod hyomandibulární štěrbinou. Z prechordální destičky se derivují okohybné svaly. Mezoderm se na ventrální straně podílí na tvorbě srdce. To je zpočátku přítomno v úrovni hyoidního oblouku, ale později se posunuje posteriorně. Během formace chrupavčitých elementů faryngeálních oblouků se z mezodermu formují svaly prodlužováním buněk do svalových vláken. Mezoderm také tvoří parachordalia, která se spojí s trabekulami a vytvoří tak základ dna endokrania.

Poslední složkou faryngeálních oblouků je neurální lišta. Jedná se o populaci buněk, která vzniká během invaginace neurální ploténky (st. 18) jako proužek podél neurální trubice. Ektomezenchymální buňky se odštěpují z ektodermu na pomezí uzavírající se neurální trubice a epidermis a putují z tohoto místa subepidermálně ventrolaterálním směrem. Během této doby je zadní mozek (rhombencephalon) rozdělen na osm částí (rhombomer), ze kterých vznikají právě buňky neurální lišty. Existuje vztah mezi rhombomery, kde neurální lišta

vzniká, a faryngeálními oblouky, které neurální lišta osídlí (obr. 12). Ve stadiu 21 formují v hlavové části buňky neurální lišty tři proudy. Mandibulární (neboli trigeminální) proud je generován z prosencephala až mesencephala a z rhombomer 1 a 2 (r1 a r2). Dává vznik čelistem, trabekulám (Černý et al., 2004a) a také přispívá k tvorbě odontoblastů formujících dentin orálních zubů (de Beer, 1947; Imai et al., 1996, Chai et al., 2000). Hyoidní proud, který expanduje ze střední části zadního mozku (r4), formuje hyoidní oblouk. Branchiální



Obr. 12. Schéma migrace buněk neurální lišty u embrya kuřete. BA1-4, branchiální oblouky 1-4; NC, neurální lišta. Převzato z Creuzet et al. (2005).

(čili postotický) proud vzniká z kaudálního zadního mozku (r6 a r7) a přispívá do kaudálních faryngeálních oblouků, na kterých u axolotla vznikají žábry.

Ještě před migrací dochází k evaginaci laterálních výchlipek endodermu. Jejich kontaktem s ektodermem dochází k vytvoření jakýchsi tunelů, kudy proudí ektomezenchym neurální lišty (Černý et al., 2004b). Zajímavé je, že kontakty ekto- a endodermu sice oddělují jednotlivé proudy, ale buňky neurální lišty takto separovaně migrují ještě před dosažením jejich úrovně. Buňky neurální lišty tedy vlastní jakousi vnitřní informaci o tom, jak migrovat, ovšem později jsou závislé také na vnějších vlivech z okolních tkání (Černý et al., 2004b).

Během migrace narazí mandibulární proud na oko, což způsobí jeho rozdělení na dvě části. Ze zadní (postoptické) části se diferencují dvě kondenzace buněk. Z dorzální se generuje trabekula a ventrální dá vznik palatoquadratu a Meckelově chrupavce (Černý et al., 2004a). Branchiální populace buněk neurální lišty, která je ve své migraci oproti ostatním lehce opožděna, je následně rozdělena okolními tkáněmi na jednotlivé proudy.

Proudů hlavové neurální lišty u axolotla migrují subepiteliální cestou, ovšem nikoli mediální, která je běžná v trupu. Místo toho stále putují laterálně mezi epidermis a mezodermálním jádrem oblouku (st. 24). Po dosažení ventrální části embrya začnou jednotlivé buňky neurální lišty migrovat mediálně kolem mezodermálních jader („outside-in movement“; st. 27), a tak se dostanou do kontaktu s endodermem (Platt, 1897; Černý et al., 2004b). Neurální lišta poté ztrácí homogenitu a její buňky se diferencují, přičemž chrupavky faryngálních oblouků kondenzují na jejich mediálních stranách.

#### **4.4. Vývoj úst u axolotla**

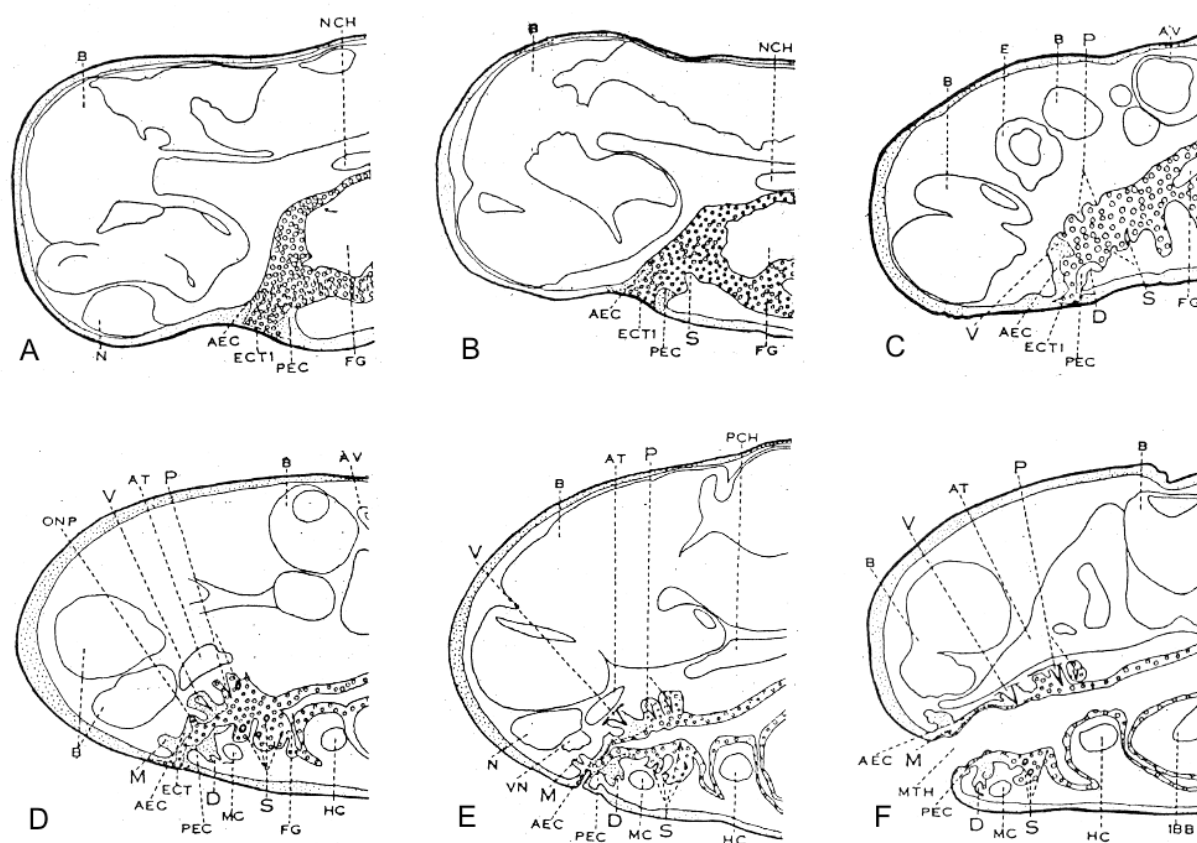
U většiny obratlovců se ústa vyvíjejí tak, že dojde k invaginaci povrchového ektodermu. Tento ektodermální váček se nazývá stomodeum. Jeho posteriorní stěna se dotýká přední části endodermální masy buněk a spolu tvoří dvouvrstevnou přepážku, tzv. bukofaryngeální membránu (např. Balinsky, 1975; Waterman & Balian, 1980; Waterman & Schoenwolf, 1980; Watanabe et al., 1984). Jedná se tedy o strukturu, která je tvořena ektodermem a endodermem. Její perforaci dojde ke zprůchodnění trávicí trubice, ovšem od té doby již není možné určit, kde přesně leží hranice mezi ekto- a endodermem.

U axolotla se ústa tvoří jiným způsobem, a to přes stadium ektodermálního límce. Po skončení gastrulace je endoderm téměř přilehlý k ektodermální orální destičce. Ta již obsahuje dvě mělké deprese. Anteriornější z nich reprezentuje budoucí adenohipofýzu a z posteriornější se vytvoří ústa. Adenohipofýza tak vznikne z klínovitě tvarované vnitřní vrstvy orální destičky, která těsně přiléhá k v té době již téměř uzavřené neurální ploténce, a vytvoří jakýsi malý slepý váček (stadium 35; Johnston, 1910). Nakonec se oddělí od ektodermu (st. 37), vytvoří vejčitý útvar a spojí se s infundibulem mozku. Orální destička se postupně mění z trojúhelníkovité na šterbinovitou, což zřejmě souvisí se změnou polohy a tvaru mandibulárního oblouku.

Formující se přední část neurální trubice a rostrální prolongace způsobí dorzoventrální stlačení budoucího hltanu. Jeho stěny se tak přitlačí k sobě a dutina mezi nimi zmizí. Budoucí ústní otvor je nyní charakterizován tenkou vrstvou vnějších ektodermálních buněk (st. 25-29). Vnitřní vrstva ektodermálních kubických buněk ovšem invaginuje (st. 34) a postupně tak vytvoří „límcovitou“ strukturu, která prstencovitě obalí endodermální masu buněk (obr. 13A; Johnston, 1910). Tento ektodermální límec pokračuje v invaginaci a obaluje tak čím dál větší část endodermu. Okolo ektodermálního límce a za ním situovaného endodermu se vyskytují ektomezenchymální buňky, které budou přispívat k tvorbě odontoblastů. V této době dojde ke zvětšení faryngální oblasti embrya. Vytvoří se místo pro žaberní aparát a srdce.

Ústní dutina se objeví jako zářez v endodermální masě buněk (obr. 13E), který se rozšiřuje dozadu dopředu, až vytvoří i ústní otvor (st. 43). Dále dochází k jeho rozšiřování do stran. V tuto chvíli jsou již vytvořeny čichové váčky. Jejich stěna se spojí s endodermálním ohybem anterolaterálně od vomerových zubů (st. 41-42; obr. 13D), již jeden až dva dny před otevřením úst (Johnston, 1910).

Ještě před otevřením úst se však začnou diferencovat první zuby. První zubní zárodek vzniká u axolotla již ve stadiu 37 v místě budoucí dolní čelisti (obr. 13B). Pravděpodobně se jedná o zub spleniální série, a co víc, jeho sklovinotvorný orgán by měl být *endodermálního* původu (Adams, 1924; de Beer, 1947). Mezitím se v invaginovaném ektodermu začnou objevovat první známky dentální laminy a následně i první ektodermální zubní zárodky (st. 38). Postupně dochází k diferenciaci a zvyšování počtu zubních zárodků (obr. 13C,D). Nakonec jsou v ústech přítomny tři série ektodermálních zubů, dentární, maxilární a vomerové, a dvě série endodermálních zubů, spleniální a palatinové. Existuje jakási chronologická sekvence objevu zubních zárodků – nejprve se formují spleniální, pak vomeropalatinové, dentární a nakonec maxilární. Endodermální zárodky primárních zubů by



Obr. 13. Sagitální řezy ústní oblasti axolotla. A, ektodermální límec se začíná invaginovat, epitel orální destičky je jednovrstevný (st. 35); B, objevuje se první zubní zárodek (st. 37); C, počet zubních zárodků se zvyšuje, zde se objevují zuby spleniální, palatinové a vomerové série (st. 39); D, situace před otevřením ústního otvoru, zuby všech sérií jsou již založeny, tvoří se spojení mezi ústní dutinou a čichovými váčky (st. 41); E, dochází k postupnému šíření štěrbin v endodermu, což povede k otevření ústního otvoru (st. 42); F, situace po otevření ústního otvoru (st. 45). 1BB, chrupavka basibranchialia prvního oblouku; AEC, anteriorní část ektodermálního límce; AT, trabekula; AV, sluchový váček; B, mozek; D, dentární zubní zárodek; E, oko; ECT1, jednovrstevný ektoderm orální destičky; FG, přední část trávicí trubice; HC, hyoidní chrupavka; M, maxilární zubní zárodek; MC, Meckelova chrupavka; MTH, ústní otvor; N, čichový váček; NCH, chorda; ONP, výběžek, který dá vznik spojení mezi ústní dutinou a čichovým váčkem; P, palatinový zubní zárodek; PEC, posteriorní část ektodermálního límce; PCH, chrupavka parachordalia; S, spleniální zubní zárodek; V, vomerový zubní zárodek; VN, vomeronasální orgán. Upraveno podle Adams (1924).

podle Adams (1924) měly vznikat samostatně přímo z epitelu, zatímco ektodermální se vyvíjejí z dentální laminy. Fraser et al. (2006) ovšem popisují vznik palatálních zubů také z dentální laminy (obr. 14A). Ve stadiu 45 se nejstarší zuby již prořezávají (obr. 13F). Vyvíjející se zuby jsou od ústní dutiny odděleny endodermální výstelkou, tudíž jejich prořezání musí procházet přes endoderm (Johnston, 1910).

Zajímavý nález popisuje Adams (1924), kdy v mediální rovině nachází dentární zub, jehož sklovinotvorný orgán je derivovaný jak z ektodermu tak z endodermu. Navíc, když byl znemožněn kontakt mezi ektodermem a endodermem<sup>3</sup> a do prostoru mezi nimi se dostávaly buňky mezodermu, nedošlo k vytvoření jednovrstevného orálního epitelu a ektodermálního límce. Ovšem i v této situaci se vyvíjely zuby, a to z *endodermální* masy buněk (Adams, 1924).

#### **4.5. Vývoj zubů u axolotla**

Zuby jsou v ústní dutině axolotla uspořádány do dvou oblastí. Vnější série jsou reprezentovány pravidelnými řadami zubů na okrajích horní a dolní čelisti (premaxila, maxila a dentale). Vnitřní série tvoří méně pravidelné řady na prevomerech, palatinech a spleniálech. Na tyto řady jsou kolmé krátké řady zubů různých vývojových stadií. Jedná se o zubní rodiny (její členové se tedy během vývoje nahrazují). V některých případech lze dokonce nalézt zub s opotřebovanou korunkou, který ale ještě drží v epidermis, linguálně připojený funkční zub, dále vytvořený ještě neprořezaný zub a ještě dále linguálně časný nemineralizovaný zubní zárodek (Kerr, 1960).

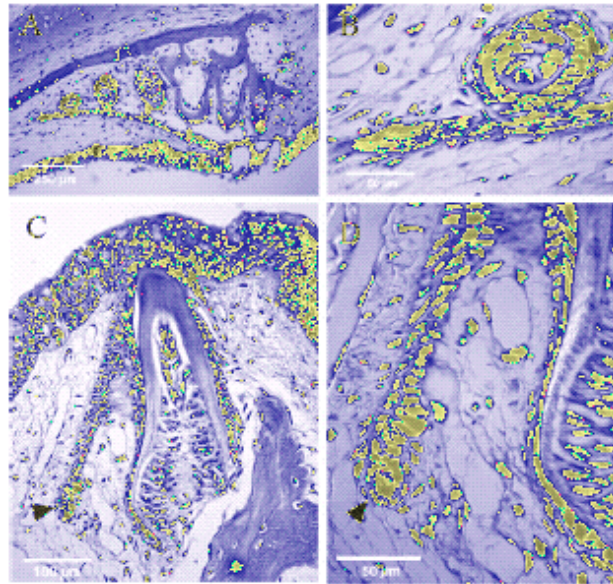
Tvar zubů se během ontogeneze axolotla značně mění (Wistuba et al., 2002). *Zuby časných larev* (obr. 15) jsou kuželovité a monokuspidní (mající jeden vrchol) a jsou přímo připojeny ke kosti (ankylosis). *Zuby metamorfovaných jedinců* jsou bikuspidní (dva vrcholy; obr. 15) a, stejně jako *zuby pozdních larev*, které mají ovšem pouze jeden vrchol (obr. 16), skládají se z apikální části, charakterizované tvorbou dentinu a skloviny (korunka), z bazálního pedicelu, což je cylindrická struktura tvořící bázi zubu, a ze střední oddělující zóny mezi nimi.

---

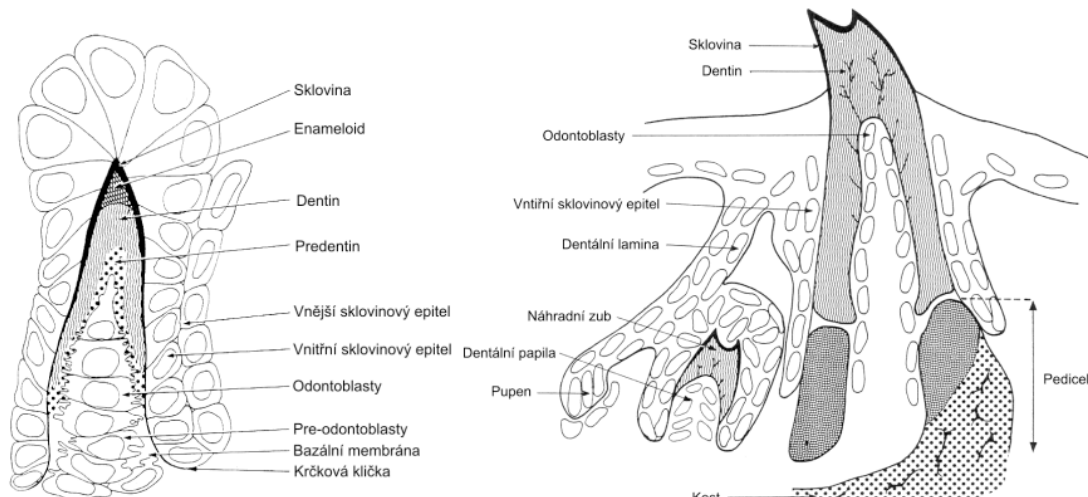
<sup>3</sup> Operativním odstraněním orální destičky docházelo k regeneraci ústní oblasti z okolního ektodermu, ovšem již ne ke kontaktu s endodermem.

Dentice pedomorfických dospělců (pozdních larev) se skládá z mozaiky larválních zubů a zubů transformovaných jedinců. Pak tedy může nastat situace, že horní čelist nese bikuspidní zuby metamorfovaných jedinců, na patře a spleniálech se nacházejí zuby pozdních larev a dolní čelist nese mozaiku zubů časných a pozdních larev. Jednotlivé typy zubů mohou být navíc nahrazovány jinými. Náhradním zubem za opotřebovaný monokuspidní může být bikuspidní a naopak, a to v rámci stejné dentální laminy (Kerr, 1960).

Experimentálně metamorfovaní jedinci mají dentici složenou již pouze z bikuspidních zubů. Zajímavé je, že vrchol zubů časných larev se skládá z enameloidu, což je tkáň jak epiteliálního tak mezenchymálního původu<sup>4</sup>, a z tenké překrývající vrstvy skloviny. Tato vrstva skloviny je navíc překryta kutikulou (Smith & Miles, 1971). Vrchol zubů transformovaných jedinců je



Obr. 14. Vývoj náhradních zubů u tříměsíčního axolotla. A, palatinové funkční zuby a laterální náhradní zuby vyvíjející se z dentální laminy. B, zubní pupen vznikající z laterálního konce dentální laminy. C, neprořezaný dentární zub, který ještě není připojen ke kosti, šipka značí zubní pupen náhradního zubu. D, větší zvětšení pupenu náhradního zubu (šipka), na jeho tvorbě se podílejí epiteliální i mezenchymální buňky. Převzato z Fraser et al. (2006).



Obr. 15. Schéma zobrazující vyvíjející se zuby axolotla. Vlevo, zub časně larvy. Vpravo, zub metamorfovaného jedince. Převzato ze Smith & Miles (1971).

<sup>4</sup> Vzniká tak, že do kolagenní enameloidní matrice vytvořené činností odontoblastů jsou transportovány minerály z ameloblastů.



pokryt pouze sklovinou.

Wistuba et al. (2002) popisují u axolotla pět stadií vývoje zubu. Jedná se o dentální papilu (stadium čepičky), stadium zvonu, primordium, časný a pozdní nastávající zub a funkční zub (obr. 16). Larvální zuby a zuby metamorfovaných jedinců se shodují v prvních třech stadiích.

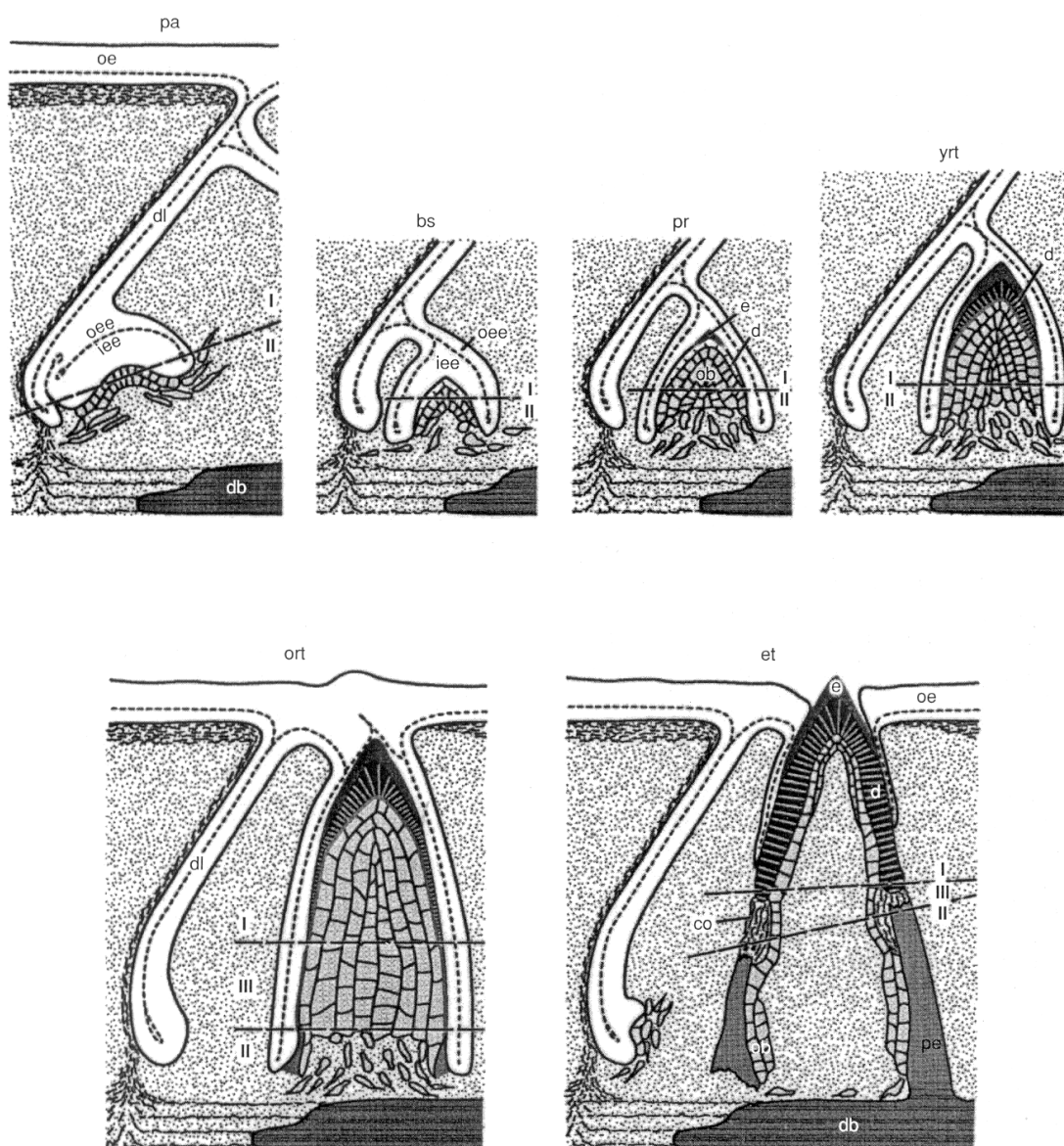
*Stadium dentální papily* pozdního larválního zubu je charakterizováno epiteliální invaginací dentální laminy do mezenchymu, která na svém konci vybíhá v pohárek. V této fázi je již epitel (sklovinový orgán) rozlišen na vnitřní a vnější vrstvu. Ve *stadiu zvonu* dochází k další invaginaci a následnému obklopení mezenchymálních buněk. Již v tuto dobu začínají nejapikálnější odontoblasty ukládat extracelulární matici. Během *primordiálního stadia* začne na vrcholu budoucího zubu probíhat mineralizace. Poprvé se tak objeví jak dentin tak sklovina. Během *nastávajícího zubu* vykazují ameloblasty a odontoblasty největší aktivitu v depozici. Mineralizace probíhá v apikální části apiko-bazálním směrem, zatímco u báze zubu opačně. Na labiální straně dosahuje sklovina bazálněji než na linguální a dentin je zde mineralizovanější. *Funkční zub* je charakterizován erupcí (prořezáním) a připojením ke kosti. Sklovinový orgán degeneruje a stane se součástí orálního epitelu.

Zuby mladých larev se připojují ke kosti přímo, tzn. spojení mezi nimi je kalcifikované, zatímco zuby starších larev a transformovaných jedinců se ke kosti připojují pomocí pedicelu. Způsob připojení je závislý na tom, v jakém vztahu jsou obě tyto struktury. Pokud se vyvíjejí ve stejnou dobu, což je situace ranějšího vývoje, kdy obě struktury ještě nejsou plně ustanovené, může zub prorůst až do kostní tkáně a jedná se tak o primární připojení. V pozdější době, kdy už je kost kalcifikovaná, nemůže již nově vznikající zub penetrovat kostní tkáň, a proto se připojuje pomocí pedicelu (jak je tomu u axolotla) nebo jiným způsobem – sekundární připojení.

Wistuba et al. (2002) považují pedicel za derivát zubu, zřejmě odontoblastů. Ovšem do procesu připojení zubu jsou po regresi vnitřního sklovinového orgánu zahrnuty též osteoblasty. Povaha pedicelu tedy není příliš známá. Po připojení dochází také k degeneraci odontoblastů.

Mezi apikální částí a bází zubu (pedicel) zůstává nemineralizovaná nebo slabě mineralizovaná oddělovací zóna. Obsahuje kolagenní vlákna, která mají menší průměr, jsou méně denzní a nejsou uspořádána podél osy zubu tak, jak je tomu během mineralizace v apikální části.

Vývoj zubu po metamorfóze se během počátečních stadií neliší od výše popsaného schématu. Rozdíly jsou však vidět v pozdějších fázích, kdy je sklovinový orgán aktivnější



Obr. 16. Schéma vývojových stadií pozdního larválního zubu u *Ambystoma mexicanum*. bs, stadium zvonu; co, kolagen; d, dentin; db, kost nesoucí zuby; dl, dentální lamina; e, sklovina; et, funkční zub; iee, vnitřní sklovinový epitel; ob, odontoblast; oee, vnější sklovinový epitel; oe, ústní epitel; ort, pozdní nastávající zub; pa, dentální papila; pe, pedicel; pr, primordium; yrt, časný nastávající zub; I, korunka; II, pedicel; III oddělující zóna. Převzato z Wistuba et al. (2002).

kvůli velikosti zubu. Před erupcí se na vrcholu zubu vytváří velká dutina, do které míří výběžky ameloblastů a zřejmě tak zprostředkovává amelogenezi. S rostoucí sklovinovou špičkou se ovšem zmenšuje až úplně zmizí, a tak její význam není přesně znám. Jak již bylo zmíněno výše, transformované zuby mají korunku tvořenou pravou sklovinou a jsou připojeny ke kosti sekundárně.

## 5. Role endodermu v orofaryngeální oblasti

### 5.1. Role endodermu ve faryngeální oblasti

Neurální trubice je rostro-kaudálně rozdělena na segmenty, které exprimují různé kombinace Hox genů a udávají jí tak antero-posteriorní molekulární identitu. Neurální lišta by mohla být považována za zprostředkovatele pro přenesení této identity do žaberní oblasti (Hunt, 1991; Krumlauf, 1993). Každý žaberní oblouk by tak produkoval svou sadu signálních molekul a regulačních faktorů, které by vedly k jejich rozrůznění. A tak to také skutečně je.

Nicméně endoderm je také rozrůzněn a také vlastní jakousi identitu, a to ještě předtím, než dojde k migraci neurální lišty. V normální situaci jsou v endodermu exprimovány *Fgf8*, *Pax1*, *Bmp7* a *Shh*, a to v jednotlivých doménách faryngeálních laterálních výchlipek. Pokud dojde k operativnímu odstranění neurální trubice a buněk neurální lišty, oblouky se nejen vytvoří, ale exprese těchto molekul není postižena (Veitch, 1999). Faryngeální oblouky tak nejsou zcela závislé na neurální liště, což by odpovídalo evolučním souvislostem. U kopinatce nebyla nalezena neurální lišta a přesto se zde žaberní oblouky vyvíjejí.

Dále, endoderm je pro migrující buňky neurální lišty důležitou komponentou. Pokud nedojde k vytvoření laterálních endodermálních výchlipek, jak je tomu např. u mutantů *van gogh* (*vgo*; *Danio rerio*), neurální lišta nedokáže migrovat v proudech a kostěné elementy žaberních oblouků se nevytvoří správně (Piotrowski & Nüsslein-Volhard, 2000). *vgo* fenotyp připomínají také jiní mutanti – *open-eye pinhead* (*oep*) a *casanova* (*cas*), u kterých se vůbec nevytvoří endoderm (Schier et al., 1997; Alexander et al., 1999). Zde jednotlivé proudy neurální lišty také zfúzí, což opět vede ke špatnému vytvoření a deformacím žaberních oblouků. Nevytvoření laterálních výchlipek je způsobeno „downregulací“ *Fgf3* a *Fgf8* v endodermu (Abu-Issa et al., 2002; David et al., 2002; Crump et al., 2004). Faryngeální segmentaci a tvorbu laterálních výchlipek umožňuje také *Tbx1*, způsobující *vgo* fenotyp, exprimovaný v mezodermu a v antero-posteriorní vlně v endodermu (Xu et al., 2005).

Endoderm dále nese informace o pozicích a orientaci budoucích kostěných elementů. Odstranění některé endodermální části vedlo k redukci nebo absenci přilehlého chrupavčitého elementu (Couly et al., 2002). Např. odstranění nejanteriornější části endodermu vedlo k silné redukci nasální kapsuly a premaxily. Transplantace endodermálních oblastí do ektopických míst dále vedla k vytvoření ektopických kostěných elementů. Navíc orientace těchto elementů překvapivě přesně souvisela s orientacemi endodermálních transplantátů (Couly et al., 2002).

Naneštěstí byly tyto experimenty prováděny na kuřeti, a tak úloha endodermu na formaci zubů nemohla být zhodnocena.

Má endoderm vliv na vývoj faryngeálních zubů? Klasické studie z první poloviny dvacátého století říkají, že ano.

Edwards (1929) pozoruje u kapra (*Cyprinus carpio*) masivní průnik ektodermálních buněk do dutiny faryngu během protržení žaberních štěrbin. Endoderm laterálních faryngeálních záhybů se dostane do kontaktu s vnitřní vrstvou ektodermu. Po tomto kontaktu již není možné přesně určit hranici ektoderm-endoderm. Nicméně v evaginovaném endodermu reprezentovaném dvěma těsně přilehlými vrstvami buněk se tvoří lumen, který se rozšiřuje laterálně. Proráží vrstvu buněk, až dojde k otevření žaberní štěrbin. Následuje průnik zřejmě ektodermálních epiteliálních dlaždicových buněk po povrchu endodermu, který tak pokryje endodermální cylindrickou vrstvu faryngu. Zuby jsou ovšem generovány invaginací *vnitřní* vrstvy faryngálního epitelu do mezenchymálního podkladu. Edwards (1929) tedy u kapra předpokládá *endodermální* vznik faryngeálních zubů.

Zuby nebo alespoň mineralizované přijímací elementy mohou být přítomny i dosti hluboko ve faryngeální oblasti. U ryb skupiny Stromateoidei (Perciformes) se vyskytují ozubené vakovité výrůstky dokonce až za žaberními oblouky v rozšířeném faryngeálním vaku (Haedrich, 1967).

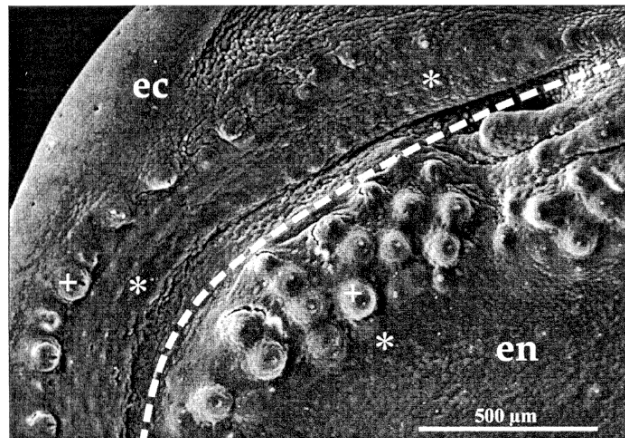
Zde je již interpretace ektodermálních zubů opravdu problematická.

## **5.2. Role endodermu v ústní oblasti**

Zatímco role endodermu ve faryngeální oblasti začíná být jasnější, nedá se to samé říci o jeho úloze v ústech. Přesná hranice ektoderm-endoderm zde totiž není známá. Po perforaci bukofaryngeální membrány již lze jen těžko odlišit ektoderm a endoderm, protože následně dochází k vyčerpání žlutkových granulí v buňkách endodermu a buňky obou vrstev si jsou podobné.

U ocasatých obojživelníků se předpokládá, že hranice mezi ekto- a endodermem je anteriornější než u savců, což zřejmě souvisí se specifickou tvorbou ústní oblasti. Tato hranice by se tedy měla nacházet někde mezi mandibulárním a hyoidním obloukem (Adams, 1924).

Rozřešit tento problém by mohl výskyt chuťových pohárků. Jelikož u axolotla vznikají chuťové pohárky hlavně z endodermu (Barlow & Northcutt, 1995), bylo možné po označení dorzálního rtu blastoporu (který dává vznik faryngeálnímu endodermu) pomocí DiI sledovat jejich finální rozmístění v ústní dutině. Endoderm u axolotla opravdu zasahuje nečekaně dopředu a vystylá velkou část ústní dutiny. V jednom případě dokonce došlo i k obarvení mnoha zubů! Dalším studiem se zjistilo, že chuťové pohárky mohou vznikat i z ektodermu, ovšem pouze pokud je v blízkosti endodermu (Barlow, 2000). Endoderm tedy vytváří signály pro tvorbu chuťových pohárků. Tyto signály jsou rozšiřovány v endodermu a putují také na krátkou vzdálenost do přilehlého ektodermu. Specifickým označením chuťových pohárků by se tak dala poměrně dobře určit hranice obou epitelů. Na obr. 17 je taková hranice přibližně načrtnuta. Zajímavé je, že tato linie rozděluje i dvě oblasti s výskytem zubů.



Obr. 17. Fotografie horní levé anteriorní části orofaryngeální dutiny jednotýdenní larvy axolotla. Přerušovaná čára značí přibližnou hranici mezi ektodermem (ec) a endodermem (en). Chuťové pohárky (hvězdička) a zuby (křížek) se vyskytují v obou typech tkání. Převzato z Barlow (2000).

Podobně jako u chuťových pohárků, hraje endoderm také roli během tvorby úst a zubů. Pokud nedojde operativním zásahem ke kontaktu mezi endodermem a orální destičkou, vede to posléze k vážným vývojovým důsledkům (Adams, 1924). Dvouvrstevný epitel orální destičky se nezmění v jednovrstevný a nedojde k invaginaci a následné tvorbě ektodermálního límce. Takto postižený ektoderm posléze není schopný vytvořit maxilární, vomerové a dentární zuby. A pokud se vůbec ektodermální zuby vytvoří, jedná se o jeden nebo pár zubů umístěných ektopicky na trabekulách. Naproti tomu se vždy vytvoří zuby z endodermální masy buněk! Sice jsou tyto palatinové a spleniální zuby situovány v nesprávných pozicích, zato se však vytvoří v každém případě a ve správnou dobu. Navíc, okolní tkáně jsou také postiženy nevytvořením kontaktu mezi orální destičkou a stěnou endodermu. Meckelova a hyoidní chrupavky jsou deformované a umístěné špatným způsobem. Adenohypofýza se nevyvine vůbec.

Sellman (1946; podle Smith & Hall, 1993) při svých transplantačních experimentech na axolotlovi zjistil, že k tomu, aby se vytvořil zub, je nutná přítomnost tří tkání – odontogenické neurální lišty, stomodeálního ektodermu a faryngeálního endodermu. Cassin &

Capuron (1979; podle Smith & Hall, 1993) navíc po transplantacích u *Pleurodeles waltli* získali zuby, pokud byla hlavová neurální lišta v kontaktu s endodermem, ale ne když byla neurální lišta s ektodermem. Endoderm by se tak stal komponentou, která zajišťuje prvotní signál neurální liště k odontogenezi.

Tento „tříkomponentový systém“ nutný pro vývoj zubů byl nalezen také u krysy. Imai et al. (1998) vynalezli specifický způsob, jak označit endoderm. Jejich rekombinantní adenovirus Adex-LacZ umožnil sledovat buňky endodermu až do jejich finálních pozic. Touto technikou zjistili, že myší řezáky vznikají z orálního ektodermu hned vedle endodermu. Navíc, proximální orální ektoderm, který exprimuje *Fgf8* nutný pro vznik molárů v této oblasti (Trumpp et al., 1999), vyžaduje přítomnost endodermu (Haworth et al., 2004). První rozdělení ektodermu mandibuly na proximální a distální doménu je tedy řízeno interakcemi s endodermem. Endoderm tak hraje roli během iniciace zubního vývoje.

## 6. Závěr

V této práci byla zhodnocena dynamika zárodečných vrstev během ontogenetického vývoje orofaryngeální oblasti, s důrazem na axolotla *A. mexicanum*. Dále byly shrnuty možné původy zubní skloviny, ať již z evolučního nebo morfologického hlediska a role endodermu jakožto důležité komponenty pro tvorbu kostěných elementů faryngeálních oblouků a zubů.

V dnešní době je sklovina považována za čistě ektodermální derivát. Jsou zde ovšem pochybnosti u některých „zubů“, např. ve faryngeální oblasti ryb. I když klasické morfologické studie poukazují na možný endodermální vliv na tvorbu zubů (ať již u kapra nebo u axolotla), není jim v dnešní době přikládána velká váha, zřejmě právě kvůli tomu, že byly tyto studie vypracovány pouze na morfologické úrovni. Novější poznatky ovšem ukázaly, že endoderm se vyskytuje velice blízko odontogenického ektodermu a je nutnou komponentou pro vývoj zubních zárodků.

Pokud budeme chtít ověřit přímý vliv endodermu na formaci zubů, je nutné použít sofistikovanějších metod než je klasická histologie. Značení endodermu (např. dorzálního rtu blastoporu během gastrulace) nebo naopak orálního ektodermu může ukázat, jak daleko nebo kde všude se v ústní oblasti ta či ona zárodečná vrstva vyskytuje. K tomu by mohl dopomoci specifický marker faryngeálního endodermu – *her5* (Bally-Cuif et al., 2000). Spolu se značením časných zubních zárodků, např. *Fgf8*, *Shh*, *Pitx1*, *Pitx2* nebo *Pax9* (Neubüser et al., 1997; Hardcastle et al., 1998; St.Amand et al., 2000) by *her5* mohl být platným prostředkem pro další studium hranice ektoderm-endoderm v ústech ve vztahu k zubním základům.

Další variantou jsou transplantace např. orální oblasti pigmentovaného jedince nebo specificky označeného ektodermu časného embrya do albinotického jedince. Poté by bylo možné sledovat postup invaginace ektodermu a jeho finální rozložení v orofaryngeální oblasti vzhledem k zubním zárodkům.

Právě značením zárodečných vrstev, popř. výše popsány transplantacemi, bych se chtěl věnovat v dalším studiu. Budoucí diplomová práce tedy bude čerpat z literárního přehledu této bakalářské práce a bude zaměřena na definování přesné hranice ektoderm-endoderm a na jejich vliv na zubní zárodky u axolotla.

## **7. Poděkování**

Na tomto místě bych chtěl poděkovat svému školiteli Mgr. Robertovi Černému, Ph.D. za uvedení do problematiky, mnoho užitečných rad a čtení mé bakalářské práce. Dále patří můj dík rodičům, kteří financují mé studium, a Michalovi, Romanovi a Emilce za příjemné chvíle strávené během studia.



## 8. Seznam použité literatury

### 8.1. Přímé citace

- Abu-Issa R, Smyth G, Smoak I, Yamamura K & Meyers EN** (2002) Fgf8 is required for pharyngeal arch and cardiovascular development in the mouse. *Development* 129, 4613-4625.
- Adams AE** (1924) An experimental study of the development of the mouth in the amphibian embryo. *The Journal of Experimental Zoölogy* 40, 311-378.
- Alexander J, Rothenberg M, Henry GL & Stainier DYR** (1999) *casanova* plays an early and essential role in endoderm formation in zebrafish. *Developmental Biology* 215, 343-357.
- Balinsky BI** (1975) Development of the mouth. In: *An Introduction to Embryology*, 5<sup>th</sup> Edition, pp. 448-453. New York: Saunders College Publishing.
- Bally-Cuif L, Goutel C, Wassef M, Wurst W & Rosa F** (2000) Coregulation of anterior and posterior mesendodermal development by a hairy-related transcriptional repressor. *Genes & Development* 14, 1664-1677.
- Barlow LA** (2000) Taste buds in ectoderm are induced by endoderm: implications for mechanisms governing taste bud development. In: *Regulatory Processes in Development, Wenner-Gren International Series, Vol. 76* (ed. Ollson L & Jacobson CO), pp. 185-190. London: Portland Press.
- Barlow LA** (2001) Specification of pharyngeal endoderm is dependent on early signals from axial mesoderm. *Development* 128, 4573-4583.
- Barlow LA & Northcutt RG** (1995) Embryonic origin of amphibian taste buds. *Developmental Biology* 169, 273-285.
- Borday-Birraux V, Van der heyden C, Debiais-Thibaud M, Verreijdt L, Stock DW, Huysseune A & Sire JY** (2006) Expression of Dlx genes during the development of the zebrafish pharyngeal dentition: evolutionary implications. *Evolution & Development* 8, 130-141.
- Bordzilovskaya NP, Dettlaff TA, Duhon ST & Malacinski GM** (1989) Developmental-stage series of axolotl embryos. In: *Developmental Biology of the Axolotl* (ed. Armstrong JB & Malacinski GM), pp. 201-219. Oxford: Oxford University Press.
- Cleine JH & Slack JMW** (1985) Normal fates and stages of specification of different regions in the axolotl gastrula. *Journal of Embryology and Experimental Morphology* 86, 5703-5716.
- Couly G, Creuzet S, Bennaceur S, Vincent C & Le Douarin NM** (2002) Interactions between Hox-negative cephalic neural crest cells and the foregut endoderm in patterning the facial skeleton in the vertebrate head. *Development* 129, 1061-1073.
- Creuzet S, Couly G & Le Douarin NM** (2005) Patterning the neural crest derivatives during development of the vertebrate head: insights from avian studies. *Journal of Anatomy* 207, 447-459.

- Crump JG, Maves L, Lawson ND, Weinstein BM & Kimmel CB** (2004) An essential role for Fgfs in endodermal pouch formation influences later craniofacial skeletal patterning. *Development* 131, 5703-5716.
- Černý R, Lwigale P, Ericsson R, Meulemans D, Epperlein HH & Bronner-Fraser M** (2004a) Developmental origins and evolution of jaws: new interpretation of “maxillary” and “mandibular”. *Developmental Biology* 276, 225-236.
- Černý R, Meulemans D, Berger J, Wilsch-Bräuninger M, Kurth T, Bronner-Fraser M & Epperlein HH** (2004b) Combined intrinsic and extrinsic influences pattern cranial neural crest migration and pharyngeal arch morphogenesis in axolotl. *Developmental Biology* 266, 252-269.
- David NB, Saint-Etienne L, Tsang M, Schilling TF & Rosa FM** (2002) Requirement for endoderm and FGF3 in ventral head skeleton formation. *Development* 129, 4457-4468.
- de Beer GR** (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, 337-406.
- Edwards LF** (1929) The origin of the pharyngeal teeth of the carp (*Cyprinus carpio* Linnæus). *The Ohio Journal of Science* 29, 93-130.
- Fraser GJ, Graham A & Smith MM** (2004) Conserved deployment of genes during odontogenesis across osteichthyans. *Proceedings of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences* 271, 2311-2317.
- Fraser GJ, Graham A & Smith MM** (2006) Developmental and evolutionary origins of the vertebrate dentition: Molecular controls for spatio-temporal organization of tooth sites in osteichthyans. *Journal of Experimental Zoology. Part B. Molecular and Developmental Evolution* 306B, 183-203.
- Gilbert SF** (2000) Early development and axis formation in amphibians. In: *Developmental Biology, 6<sup>th</sup> Edition* (ed. Sinauer AD), pp. 303-338. Sunderland: Sinauer Associates, Inc.
- Haedrich RL** (1967) The stromateoid fishes: systematics and classification. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology* 135, 31-139.
- Hardcastle Z, Mo R, Hui C & Sharpe PT** (1998) The Shh signalling pathway in tooth development: defects in *Gli2* and *Gli3* mutants. *Development* 125, 2803-2811.
- Haworth KE, Healy C, Morgan P & Sharpe PT** (2004) Regionalisation of early head ectoderm is regulated by endoderm and prepatterns the orofacial epithelium. *Development* 131, 4797-4806.
- Hunt P, Gulisano M, Cook M, Sham MH, Faiella A, Wilkinson D, Boncinelli E, Krumlauf R** (1991) A distinct *Hox* code for the branchial region of the vertebrate head. *Nature* 353, 861-864.
- Huyseune A & Sire JY** (1997) Structure and development of teeth in three armoured catfish, *Corydoras aeneus*, *C. arcuatus* and *Hoplosternum littorale* (Siluriformes, Callichthyidae). *Acta Zoologica (Stockholm)* 78, 69-84.
- Huyseune A & Sire JY** (1998) Evolution of patterns and processes in teeth and tooth-related tissues in non-mammalian vertebrates. *European Journal of Oral Sciences* 106 (Suppl. 1), 437-481.

- Chai Y, Jiang X, Ito Y, Bringas P Jr, Han J, Rowitch DH, Soriano P, McMahon AP & Sucov HM** (2000) Fate of the mammalian cranial neural crest during tooth and mandibular morphogenesis. *Development* 127, 1671-1679.
- Imai H, Osumi-Yamashita N, Ninomiya Y & Eto K** (1996) Contribution of early-emigrating midbrain crest cells to the dental mesenchyme of mandibular molar teeth in rat embryos. *Developmental Biology* 176, 151-165.
- Imai H, Osumi N & Eto K** (1998) Contribution of foregut endoderm to tooth initiation of mandibular incisor in rat embryos. *European Journal of Oral Sciences* 106 (Suppl. 1), 19-23.
- Jackman WR, Draper BW & Stock DW** (2004) Fgf signaling is required for zebrafish tooth development. *Developmental Biology* 274, 139-157.
- Johanson Z & Smith MM** (2005) Origin and evolution of gnathostome dentitions: a question of teeth and pharyngeal denticles in placoderms. *Biological Reviews* 80, 1-43.
- Johnston JB** (1910) The limit between ectoderm and endoderm in the mouth, and the origin of taste buds in amphibians. *The American Journal of Anatomy* 10, 41-67.
- Kerr T** (1960) Development and structure of some actinopterygian and urodele teeth. *Proceedings of the Zoological Society of London* 133, 401-422.
- Krumlauf R** (1993) Hox genes and pattern formation in the branchial region of the vertebrate head. *Trends in Genetics* 9, 106-112.
- Laurenti P, Thaëron-Antono C, Allizard F, Huysseune A & Sire JY** (2004) Cellular expression of *eve1* suggests its requirement for the differentiation of the ameloblasts and for the initiation and morphogenesis of the first tooth in the zebrafish (*Danio rerio*). *Developmental Dynamics* 230, 727-733.
- Le Douarin NM, Creuzet S, Couly G & Dupin E** (2004) Neural crest cell plasticity and its limits. *Development* 131, 4637-4650.
- Neubüser A, Peters H, Balling R & Martin GR** (1997) Antagonistic interactions between FGF and BMP signaling pathways: a mechanism for positioning the sites of tooth formation. *Cell* 90, 247-255.
- Nieto MA** (2002) The Snail superfamily of zinc-finger transcription factors. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 3, 155-166.
- Ørving T** (1977) A survey of odontodes ('dermal teeth') from developmental, structural, functional and phylogenetic points of view. In: *Problems in Vertebrate Evolution* (ed. Andrews SM, Miles RS & Walker AD), pp. 53-75. New York: Academic Press.
- Piotrowski T & Nüsslein-Volhard C** (2000) The endoderm plays an important role in patterning the segmented pharyngeal region in zebrafish (*Danio rerio*). *Developmental Biology* 225, 339-356.
- Platt JB** (1897) The development of the cartilaginous skull and of the branchial and hypoglossal musculature in *Necturus*. *Gegenbaurs Morphologisches Jahrbuch* 25, 377-464.
- Sansom IJ, Smith MP, Armstrong A & Smith MM** (1992) Presence of the earliest vertebrate hard tissues in conodonts. *Science* 256, 1308-1311.
- Sansom IJ, Smith MP & Smith MM** (1994) Dentine in conodonts. *Nature* 368, 591.

- Schier AF, Neuhauss SCF, Helde KA, Talbot WS & Driever W** (1997) The *one-eyed pinhead* gene functions in mesoderm and endoderm formation in zebrafish and interacts with *no tail*. *Development* 124, 327-342.
- Sire JY & Huysseune A** (2003) Formation of dermal skeletal and dental tissues in fish: a comparative and evolutionary approach. *Biological Reviews* 78, 219-249.
- Smith MM** (2003) Vertebrate dentitions and origin of jaws: when and how pattern evolved. *Evolution & Development* 5, 394-413.
- Smith MM & Coates MI** (1998) Evolutionary origins of the vertebrate dentition: phylogenetic patterns and developmental evolution. *European Journal of Oral Sciences* 106 (Suppl. 1), 482-500.
- Smith MM & Coates MI** (2000) Evolutionary origins of teeth and jaws: developmental models and phylogenetic patterns. In: *Development, Function and Evolution of Teeth* (ed. Teaford MF, Smith MM & Ferguson MWJ), pp. 133-151. Cambridge: Cambridge University Press.
- Smith MM & Hall BK** (1993) A developmental model for evolution of the vertebrate exoskeleton and teeth: The role of cranial and trunk neural crest. *Evolutionary Biology* 27, 387-448.
- Smith MM & Johanson Z** (2003) Separate evolutionary origins of teeth from evidence in fossil jawed vertebrates. *Science* 299, 1235-1236.
- Smith MM & Miles AEW** (1971) The ultrastructure of odontogenesis in larval and adult urodeles; differentiation of the dental epithelial cells. *Zeitschrift für Zellforschung und mikroskopische Anatomie* 121, 470-498.
- Smith MM & Sansom IJ** (2000) Evolutionary origins of dentine in the fossil record of early vertebrates: diversity, development and function. In: *Development, Function and Evolution of Teeth* (ed. Teaford MF, Smith MM & Ferguson MWJ), pp. 65-81. Cambridge: Cambridge University Press.
- St.Amand TR, Zhang Y, Semina EV, Zhao X, Hu YP, Nguyen L, Murray JC & Chen YP** (2000) Antagonistic signals between BMP4 and FGF8 define the expression of *Pitx1* and *Pitx2* in mouse tooth forming anlage. *Developmental Biology* 217, 323-332.
- Trumpp A, Depew MJ, Rubenstein JLR, Bishop LM & Martin GR** (1999) Cre-mediated gene inactivation demonstrates that FGF8 is required for cell survival and patterning of the first branchial arch. *Genes & Development* 13, 3136-3148.
- Van der Bruggen W & Janvier P** (1993) Denticles in the thelodonts. *Nature* 364, 107.
- Veitch E, Begbie J, Schilling TF, Smith MM & Graham A** (1999) Pharyngeal arch patterning in the absence of neural crest. *Current Biology* 9, 1481-1484.
- Watanabe K, Sasaki F & Takahama H** (1984) The ultrastructure of oral (buccopharyngeal) membrane formation and rupture in the anuran embryo. *The Anatomical Record* 210, 513-524.
- Waterman RE & 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, 619-635.
- Waterman RE & Schoenwolf GC** (1980) The ultrastructure of oral (buccopharyngeal) membrane formation and rupture in the chick embryo. *The Anatomical Record* 197, 441-470.

**Wistuba J, Greven H & Clemen G** (2002) Development of larval and transformed teeth in *Ambystoma mexicanum* (Urodela, Amphibia): an ultrastructural study. *Tissue & Cell* 34, 14-27.

**Xu H, Cerrato F & Baldini A** (2005) Timed mutation and cell-fate mapping reveal reiterated roles of *Tbx1* during embryogenesis, and a crucial function during segmentation of the pharyngeal system via regulation of endoderm expansion. *Development* 132, 4387-4395.

## 8.2. Nepřímé citace

**Cassin C & Capuron A** (1979) Buccal organogenesis in *Pleurodeles waltii* Michah (urodele amphibian), Study by intrablastocelic transplantation and *in vitro* culture. *Journal de Biologie Buccale* 7, 61-76. Citováno podle Smith & Hall (1993).

**Donoghue PCJ, Forey PL & Aldridge RJ** (2000) Conodont affinity and chordate phylogeny. *Biological Reviews* 75, 191-251. Citováno podle Johanson & Smith (2005).

**Jollie M** (1968) Some implications of the acceptance of a delamination principle. In: *Current Problems of Lower Vertebrate Phylogeny* (ed. Ørving T), pp. 89-108. Stockholm: Almqvist and Wiskell. Citováno podle Johanson & Smith (2005).

**Ørving T** (1967) Phylogeny of tooth tissues: evolution of some calcified tissues in early vertebrates. In: *Structural and chemical organisation of teeth, Vol. 1* (ed. Miles AEW), pp 45-110. New York & London: Academic Press. Citováno podle Ørving (1977).

**Osborn JW** (1978) Morphogenetic gradients: Fields versus clones. In: *Development, Function and Evolution of Teeth* (ed. Butler PM & Joysey KA), pp. 171-202. London: Academic Press. Citováno podle Smith & Hall (1993).

**Pasteels J** (1942) New observations concerning the maps of presumptive areas of the young amphibian gastrula (*Amblystoma* and *Discoglossus*). *The Journal of Experimental Zoölogy* 89, 255-281. Citováno podle Barlow (2001).

**Purnell MA** (2001) Feeding in extinct jawless heterostracan fishes and testing scenarios of early vertebrate evolution. *Proceedings of the Royal Society of London Series B – Biological Sciences* 269, 83-88. Citováno podle Johanson & Smith (2005).

**Purnell MA & von Bitter PH** (1992) Blade-shaped conodont elements functioned as cutting teeth. *Nature* 359, 629-631. Citováno podle Smith & Hall (1993).

**Reif WE** (1980) Development of dentition and dermal skeleton in embryonic *Scyliorhinus canicula*. *Journal of Morphology* 166, 275-288. Citováno podle Huysseune & Sire (1998) a Sire & Huysseune (2003).

**Reif WE** (1982) Evolution of dermal skeleton and dentition in vertebrates: The odontode regulation theory. *Evolutionary Biology* 15, 287-368. Citováno podle Smith & Hall (1993).

**Sellman S** (1946) Some experiments on the determination of the larval tooth in *Amblystoma mexicanum*. *Odontologisk Tidskrift* 54, 1-128. Citováno podle Smith & Hall (1993).