


Úvod, obecné termíny, rozmnožování, gametogeneze,

HELENA NEJEZCHLEBOVÁ

Embryologie

- zabývá se individuálním vývojem jedince (ontogenezí) uvnitř vaječných obalů nebo v těle matky (tzv. prenatální vývoj)
- studuje embrya, plody a jejich vývoj
- **pozn:** ř. „*embryon*“ = zárodek; embryo = zárodek organismu, vyvíjející se z oplozené vaječné buňky, útvar vzniklý první mitózou zygoty; l. „*foetus*“ = plod; plod = nenarozený jedinec obratlovce (savce), fetální období následuje po embryonálním
- embryologie deskriptivní (popisná), srovnávací, experimentální embryologie 
- zabývá se vývojem jedince od oplození až do porodu či do vylínutí

Význam embryologie:

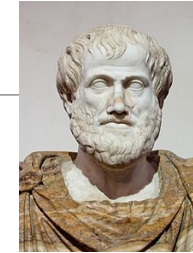
a) rozšíření a prohloubení poznání

b) poznání faktorů, mechanismů, zákonitostí a kritických období v ontogenezi má velký význam pro zdravý vývoj jedinců (předcházení vzniku vrozených vývojových vad, řešení neplodnosti, ...)

c) objasňuje, jak se vyvíjejí normální a abnormální struktury

c) znalost prenatálního vývoje je nutná pro výkon řady profesí: zootechnik, veterinární lékař, vědecký pracovník, embryolog, porodník, pediatr, chirurg,...

Síň slávy



Aristoteles (384-22 př. n. l.):

- zakladatel biologie jako vědy
- 1. učebnice reprodukční biologie *De generatione animalium* (O rozmnožování živočichů)
- 1. písemné záznamy o vývoji organismů: inkuboval a preparoval kuřecí vejce v různých stádiích vývoje, tak popsal morfogenezu (postupné formování tvaru z bezstrukturní hmoty)
- Aristotelova teorie o vzniku a vývoji živočichů je velmi komplexní, pojímá rostliny, živočichy, ale také spontánní rození z bahna nebo jako v případě motýlů z kapek rosy
- **Zajímavý článek o Aristotelově představě o rozmnožování:**
<https://vesmir.cz/cz/on-line-clanky/2015/02/jak-se-dela-potomek-aristoteles-rozmnozovani-zivocichu.html>

Klaudius Galén (130-200 n. l.):

- teorie mužského a ženského semene

Síň slávy



1578-1657

William Harvey (1578-1657):

- objevitel krevního oběhu, odmítl teorii samoplození, formulovanou Aristotelem
- „*Omne vivum ex ovo*“ (všichni živočichové se vyvíjejí z vajíčka, jeho existenci však nebyl schopen dokázat)
- kniha *De Generatione Animalium* (1651): začátek „embryologické revoluce“, WH věřil, že spermie po vstupu do dělohy se metamorfují tak, že vznikne embryo

Antony van Leeuwenhoek (1632-1723):

- amatérský badatel, zakladatel mikroskopické anatomie, otec mikrobiologie, objevil spermie - stoupenec preformismu: prý pozorovat všechny části člověka v embryu i ve spermích (*homunculi*), obdobně byly listy/květy preformovány v semenech (ontogeneze je rozbalováním předtvořených forem)



Marcello Malpighi (1628-1694):

- pozoroval *homunculi* ve vajíčkách 😊, myslel si, že neoplozená slepičí vajíčka obsahují miniaturní kuřata

Lazarro Spallanzani (1729-1799):

- 1. umělá fertilizace (žába) a inseminace (pes), prokázán význam vajíčka a spermie, vyvrácena teorie preformismu a samoplození

Carl Linné (1707-1778):

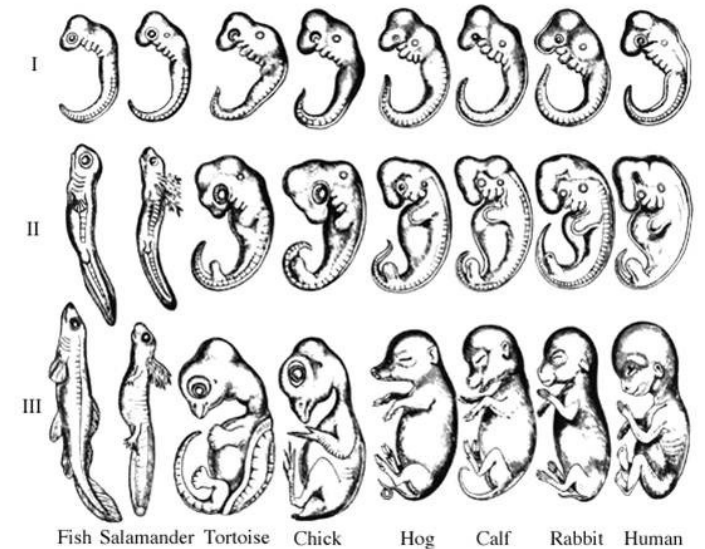
- pokusy s opylováním rostlin (1740)

<http://freethoughtblogs.com/pharyngula/files/2015/02/leeuwenhoek.jpg>, https://cs.wikipedia.org/wiki/William_Harvey

Síň slávy

Carl Ernst von Baer (1791 – 1876):

- přesný mikroskopický popis vajíčka (1827)
- komparace embryonálního vývoje u savců → **Baerův ontogenetický zákon:**
- obecné znaky společné velkým skupinám se u embryí objevují dříve než znaky specializované
- embrya různých druhů se od sebe v průběhu vývoje odlišují více a více
- časné embryo vyššího živočicha (fylotypické stádium) je podobné časnému embryu nižšího živočicha, nikoliv dospělci



J. E. Purkyně (1787–1869):

- popis jádra vajíčka („*vescicola germinale*“)

Síň slávy

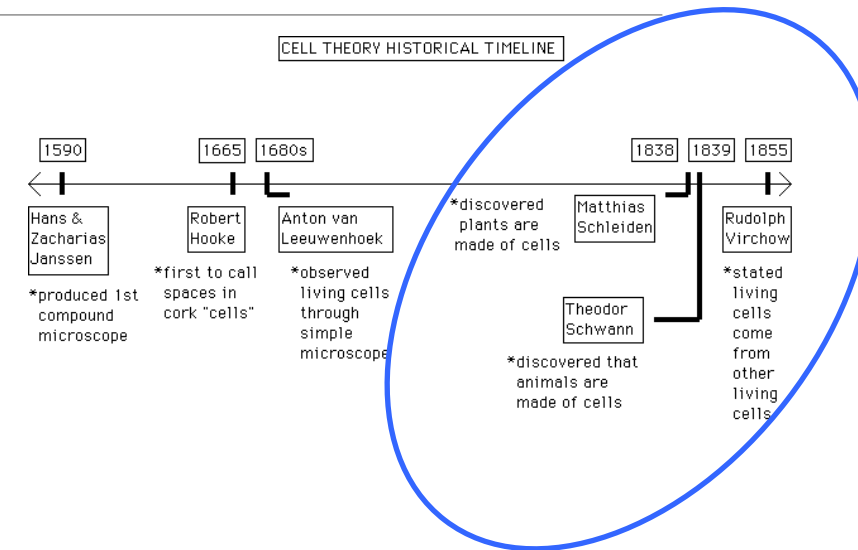
Rudolf Virchow (1821-1902): buněčná teorie: „*Omnis cellula ex cellula*“

Ernst Haeckel (1834-1919): biogenetický/rekapitulační zákon: ontogeneze je zkrácená fylogeneze

August Weismann (1834-1914): teorie kontinuity zárodečné plazmy, tj. linie pohlavních buněk = nesmrtelné „germen“, přenášené smrtelné tělo

Oscar a Richard Hertwigovi (19./20. stol.): studium fertilizace (modelový organismus mořská ježovka, zygota pochází ze spojení dvou odlišných pohlavních buněk), mezoblast: střední zárodečný list (u některých se nezakládá na způsob epiteliálního listu, ale jako výplň prvotní dutiny tělní - houby a láčkovci)

O. Hertwig 1875: oplození se realizuje jedinou spermií, 1890 popis fází meiózy



Síň slávy

Theodor Boveri (1862-1915): chromozómová teorie: definoval jaderné komplexy s odlišnými efekty na různé buňky

Thomas Hunt Morgan (1866 – 1945): model *Drosophila*, 1933: Nobelova cena jako první biolog!

Hans Spemann (1869-1941): výzkum obojživelníků, embryonální indukce (1924) = schopnost jedné embryonální tkáně indukovat diferenciaci jiné tkáně, 1935: Nobelova cena

Sydney Brenner (1927): modelový organismus *Caenorhabditis elegans*, 2002: Nobelova cena; zajímavá videa o úloze organismus *Caenorhabditis elegans* v biologii: <http://www.jove.com/science-education/5110/c-elegans-development-and-reproduction>

<http://www.jove.com/video/2852/time-lapse-microscopy-of-early-embryogenesis-in-caenorhabditis-elegans>

Robert Edwards a Patrick Steptoe

- 1978 - Louise Brownová (Velká Británie) jako první „dítě ze zkumavky“ na světě
- R. Edwards obdržel v roce 2010 Nobelovu cenu za fyziologii a lékařství, která ovšem není udělována posmrtně (Steptoe umírá v roce 1988)
- narození Luisy vyvolalo velké množství otázek → 1984 Warnock Report (modelový příklad pro právní úpravu asistované reprodukce nejen ve Velké Británii)

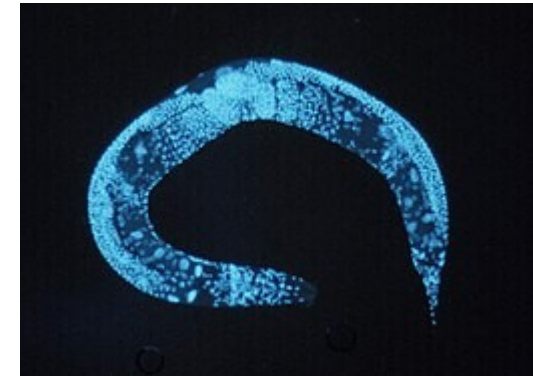
Modelové organismy v embryologii

- **Modelový organismus:** jeho zkoumání neslouží jen k poznání jeho samého, ale též ke zkoumání obecnějších jevů a odvozování zákonitostí platných pro jiné organismy. Studium těchto organismů umožnilo významné objevy v mnoha vědních oborech včetně embryologie a vývojové biologie s dalekosáhlými důsledky pro praxi (viz též „Síň slávy“ v této prezentaci). Mezi důležité modelové organismy patří:
- octomilka obecná (*Drosophila melanogaster*)
- ježovka (rod *Echinus*)
- dánío pruhované (*Danio rerio*, ryba)
- drápatka vodní (*Xenopus laevis*, žába)
- kur domácí (*Gallus gallus*)
- myš domácí (*Mus musculus*)
- potkan obecný (*Rattus norvegicus*) – nesprávně „laboratorní krysa“
- pes domácí (*Canis lupus familiaris*)
-



Modelové organismy

- Proč obecně nestudujeme prenatální vývoj u lidí?: pozorování embryí/plodů je v těle obtížné; morálně a eticky problematické; experimentální postupy u lidí velmi omezené
- → modelové organismy: podobnosti ve vývoji velmi odlišných organismů; vajíčka různých modelových organismů se liší velikostí, ale celková stavba a tělesný plán jsou u embryí velmi podobné;
- modelové organismy umožňují pochopit široké spektrum biologických dějů nebo odpovědět na konkrétní otázky, na které by odpovědět bylo jinak obtížné
- výhody: snadný a levný chov v laboratorních podmínkách, snadná manipulace s gametami, embryi, dospělci; embrya se vyvíjejí mimo tělo matky, krátký životní cyklus, jednoduchý genom, ...



<https://cs.wikipedia.org/wiki/Octomilka>, https://cs.wikipedia.org/wiki/H%C3%A1%C4%8F%C3%A1tko_obecn%C3%A9

Advantages of *Xenopus* as a Model Organism

Category:	<i>C. elegans</i>	<i>Drosophila</i>	Zebrafish	<i>Xenopus</i>	Chicken	Mouse
Broodsize	250-300	80-100	100-200	500-3000+	1	5-8
Cost per embryo	low	low	low	low	medium	high
High-throughput multiwell-format screening	good	good	good	good	poor	poor
Access to embryos	good	good	good	good	poor	poor
Micro-manipulation of embryos	limited	limited	fair	good	good	poor
Genome	known	known	known	known	known	known
Genetics	good	good	good	fair	none	good
Knockdowns (RNAi, morpholinos)	good	good	good	good	limited	limited
Transgenesis	good	good	good	good	poor	good
Evolutionary distance to human	very distant	very distant	distant	intermediate	intermediate	close

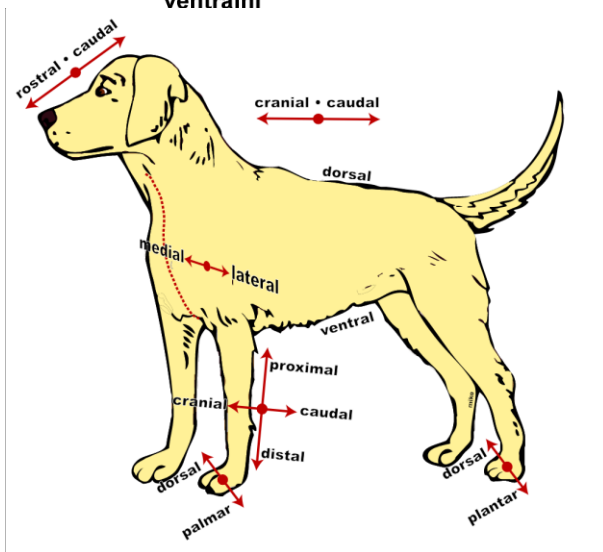
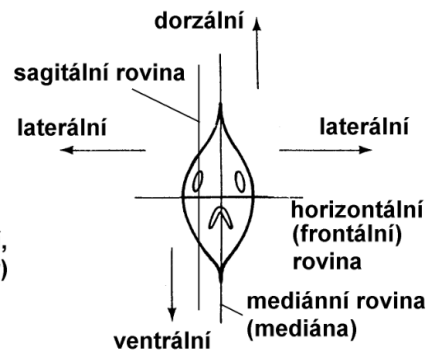
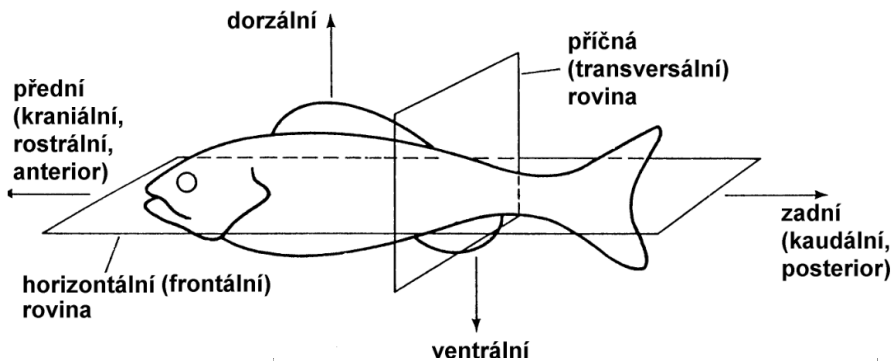
Color code: green, best in category; red, worst in category.

Adapted from Wheeler & Brändli 2009 Dev Dyn 238:1287-1308.

Základní pojmy

- vývoj = kvalitativní změna
- ontogeneze = vývoj jedince
- fylogeneze = vývoj druhů
- gameta = zralá pohlavní buňka
- zygota = buňka vzniklá oplozením
- proliferace = dělení buněk
- růst buněk = změna kvantitativní, anabolismus/katabolismus > 1
- diferenciace = rozrůžňování buněk
- migrace = přesun buněk
- morfogeneze = tvarový a strukturální vývoj
- asociace = přesun buněk do větších celků
- apoptóza = programovaná buněčná smrt


Orientace na těle živočicha



Anterior	In front of or front
Posterior	In behind of or behind
Ventral	Towards the front of the body
Dorsal	Towards the back of the body
Distal	Away or farthest away from the trunk or the point of origin of the body part
Proximal	Closer or towards the trunk or the point of origin of the body part
Median	Midline of the body
Medial	Towards the median
Lateral	Away from median
Superior	Towards the top of the head
Inferior	Towards the feet
Cranial	Towards the head
Caudal	Towards the tail
External	Towards the surface, superficial
Internal	Away from the surface, deep
Superficial	Nearer to the surface
Deep	Farther from the surface
Palmar	Anterior hand or palm of hand (palmar)
Dorsal (of hand)	Posterior surface of hand (dorsum)
Plantar	Inferior surface of foot (sole)
Dorsal (of foot)	Superior surface of foot (dorsum)


<http://rocek.gli.cas.cz/Courses/Microsoft%20Word%20-%20Morfologie2.pdf>

Rozmnožování

- základní vlastnost živých organismů, schopnost vytvořit základ pro systém, stejný jako zakládající
- umožňuje zachovat druh a časovou kontinuitu života, vyvíjet se, zvyšovat počet jedinců, zajišťuje přežití genetických 
- pohlavní (sexuální) a nepohlavní (asex.), případně jejich střídání (rodozměna-metageneze)
- úroveň reprodukce je ukazatelem pohody organismu v daném prostředí, je ukazatelem vyvornanosti podmínek vnějšího a vnitřního prostředí organismu

Rozmnožovací soustava




- soustava orgánů zajišťujících rozmnožování (tzv. generativní orgány)
- žlázy + vývody (urogenitální soustava) + přídatné žlázy (žloutkové, endokrinní, semenné schránky u ♀, semenné váčky u ♂)+ kopulační orgány
- orgány sloužící k sexuální selekci (peří, signály zvukové, pachové, ...)
- primitivní rozmnožovací orgány lze nalézt už u ža 

Plodnost (*fertilitas*):

- základní biologická vlastnost, je předpokladem pro zachování druhu
- komplexní vlastnost založená na schopnosti mít zdravé potomky v optimálním počtu (v daném časové období)
- je dána více geny (polygenní dědičnosti), dědivost (heritabilita, h^2) ukazatelů plodnosti je nízká, o plodnosti zvířat rozhodují zejména podmínky prostředí (např. podmínky chovu)

<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/af/PeacockSide.jpg/258px-PeacockSide.jpg>

Nepohlavní rozmnožování

- Z x mil. druhů živočichů se jich nepohlavně rozmnožuje jen cca 1000, u 15 000 druhů: střídání pohl. a nepohlavního rozmn. = *rodozměna (metageneze)*
- potomci = „genetické kopie“ jednoho jedince
- podstata: regenerace, **mitóza** (a její modifikace)
- vedle mitózy se setkáváme s promitózou, m  plární mitózou a mnohonásobným dělením vícejaderných buněk
- u jednobuněčných a primitivních mnohobuněčných, vede ke vzniku klonů
- somat. buňky mateřského jedince → dceřinný jedinec
- nevýhody: nevede k dědičné různorodosti mezi potomky, ale genetické uniformitě a omezené schopnosti adaptace
- výhody: stačí jeden jedinec, rychlé namnožení

Mitóza a její modifikace

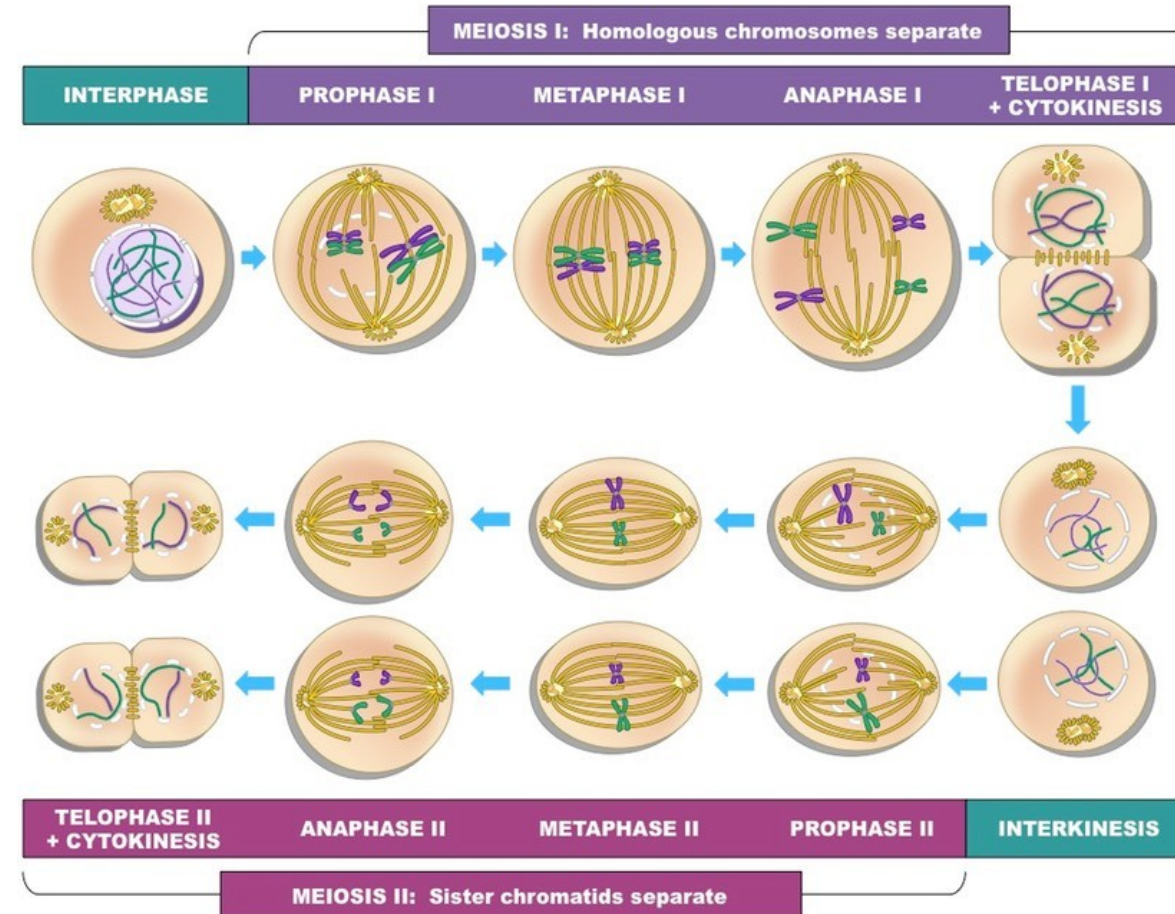
- **endomitóza:** zkrácená karyokineze, **buňka vstupuje do pozměněné profáze:** v jádru se tvoří a podélně dělí chromozómy, **ALE nenavazuje jejich rozestup**, jádro se nedělí, zmnožené chromozomy se opět despiralizují a mizí, jádro přechází do klidové fáze
 - zvyšuje funkci buněk, **vede k polyploidii**, zpět: somatická redukce
- **polytenie:** chromatin syntetizovaný v S fázích se ukládá v tzv. polytenních (mnohovláknových) chromozomech, v každé S fázi se se zdvojnásobí počet chromozómů, ale nedochází k rozdělení do chromatid
 - zvyšuje funkci buněk - **nevede však k polyploidizaci**, zpět somatickou redukcí
- **somatická redukce:** buňka vstupuje do typické mitózy bez předchozí S fáze
- **restituční dělení jádra:** po metafázi navazuje ihned telofázní rekonstrukce jediného jádra, výsledek: buňka s dvojnásobným počtem chromozómů, **u partenogenetického vývoje vajíček upravuje haploidní stav vajíčka na diploidní**
- **promitóza (pseudomitóza):** všechny karyokinetické fáze se odehrávají uvnitř jádra, které se obvykle dělí **piškotovitým zaškrcením**
 - fylogenetický předstupeň mitózy, zejména u prvoků
- **vznik plazmodií (mnohojaderných buněk):** plazmodia vznikají opakovanou karyokinezí uvnitř jediné buňky (př. výtrusovci), může následovat rozpad mnohojaderné buňky na jednojaderné
- **multiolární mitóza:** u vajíček při polyspermii: zde však nejsou chromozomy rozděleny do dceřiných buněk rovnoměrně a vývoj nepokračuje

Pohlavní rozmnožování

- kombinace genetického materiálu 2 organismů → geneticky variabilní potomstvo, relativně pomalý způsob reprodukce
- chromozomy dvou rodičů jsou rekombinovány segregovány → žádní dva potomci nejsou identičtí navzájem, ani s jedním z rodičů
- vnější a vnitřní oplodnění
- **hologamie** (u 1buněčných: splývání celých těl, tj. buněk)
- **oogamie** (u mnohobuněčných, vznikají pohlavní buňky odlišené od somatických buněk)
- **gametická redukce** (gamety $1n$, jinak $2n$ fáze)
- **zygotická redukce** ($2n$ jen krátce u zygoty do konce redukčního dělení)
- **gonochorismus**: jedinci odlišného pohlaví
- **hermafroditismus**: jedinec má samčí i samičí orgány
- **partenogeneze**: vývoj jedince z neplozené vaječné buňky bez účasti samčí gamety (některé strašilky, pakobylky, kobylky), partenogeneze na bázi spermie není známa
- **heterogonie**: střídání pohlavního a partenogenetického rozmnožování (dle vnějších podmínek; mšice, perloočky)

Meióza (zrací dělení pohlavních buněk)

- zajišťuje vznik gamet v pohlavně se rozmnožujících organismech a přesný přenos genetických informací do nich redukční dělení jádra $2n \rightarrow 1n$
- klíčová událost u eukaryot;
- rekombinace částí párových homologických (mateřských a otcovských) chromozomů \rightarrow genetická variabilita a proměnlivost
- zajišťuje u potomstva stejný počet chromozomů jako v mateřském organismu
- **první meiotické dělení:** odděluje páry homologních chromozomů na polovinu počtu chromozomů ($2n \rightarrow 1n$)
- bezprostředně poté: druhé meiotické dělení - odděluje sesterské chromatidy
- Poruchy \rightarrow vážné následky (viz dále)



Meióza

I. ZRACÍ DĚLENÍ - HETEROTYPICKÉ (REDUKČNÍ)

I. PROFÁZE

1) leptoten: chromozómy spiralizují, svými konci se orient. k povrchu jádra v místě centriolu - buketové stádium

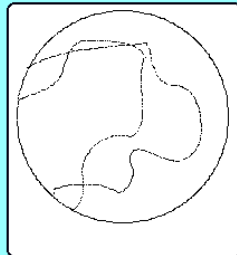
2) zygoten: homologické chromozómy se spojí za pomoci **synaptonemálního komplexu**. Vzniklé páry = bivalenty - mezi nimi tzv. redukční štěrbina

- u oocytů se konjugují oba chromozomy X po celé délce

- u spermatocytů párování chromozomů X a Y není úplné, heterologní úsek chromozomu Y nese lokus pro SRY (sex-determining region), transkripční faktor exprimovaný SRY-genem podmiňuje diferenciaci *testis*

- místy jsou chromatinová vlákna více nahromaděna a stočena – chromomery (intenzivní transkripce genů) → štětečkovité chromozomy

Prophase-I leptotene

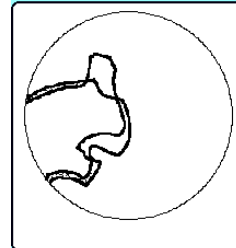


Chromosomes are visible for the first time

Chromosomes are very long

Homologous chromosomes are **unpaired**

Prophase-I zygotene



Chromosomes are shorter

Homologous chromosomes are **in the process** of pairing

Portions of homologues paired, other portions not paired

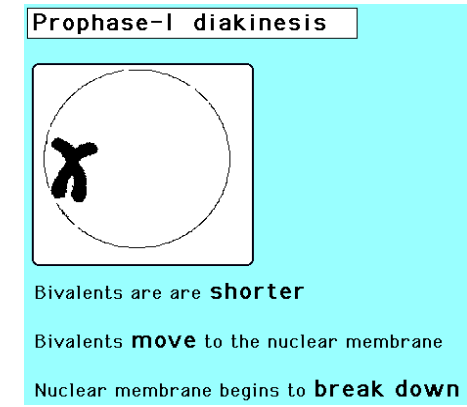
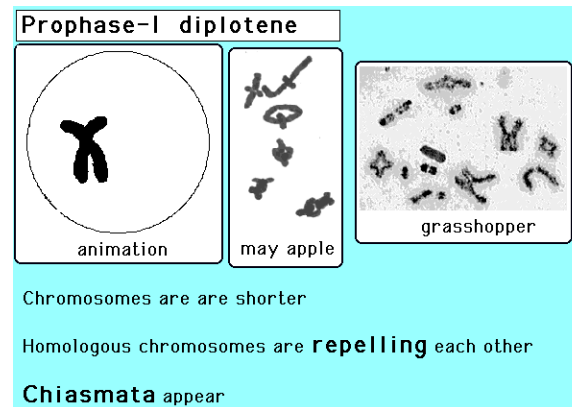
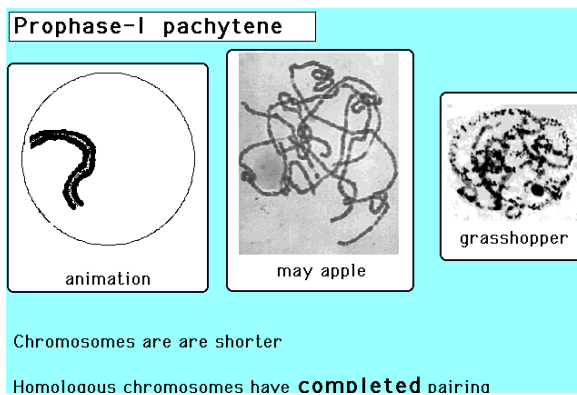
Meióza

3) **pachyten**: homolog. chromozómy se proplétají, každý se podél štěpí na 2 chromatidy, spojené centromérou (+ tzv. ekvační štěrbina), čtveřice chromatid = tetrády.

- překřížení nesesterských chromatid (tzv. crossing-over): kombinace mateřského a otcovského genetického materiálu → originální genotypická podoba chromatid

4) **diploten**: rozestup tetrád, v určitých místech zůstávají překřížené - tzv. chiasmata

5) **diakineze**: rozpad jaderné membrány, vymizení jadérka a vznik dělicího vřeténka



Meióza

I. **METAFÁZE:** homologické chromozómy → ekvatoriální rovina, mikrotubuly dělicího vřeténka se náhodně napojí na kinetochory centromer tak, že z každého pólu dosahují vždy k jednomu z homologických chromozomů

I. **ANAFÁZE:** rozchod celých homologických chromozomů k opačným pólům jádra (redukci počtu chromozomů), u každého pólu se shromáždí sada chromozomů (kombinace chromozomů mateřských a otcovských, s rekombinovanými chromatidami v důsledku crossing-overu)

I. **TELOFÁZE:** zakončena dělením buňky, jehož výsledkem je vznik dvou haploidních buněk

II. ZRACÍ DĚLENÍ - HOMEOTYPICKÉ (EKVAČNÍ): až na haploidní počet chromozomů se neliší od mitózy

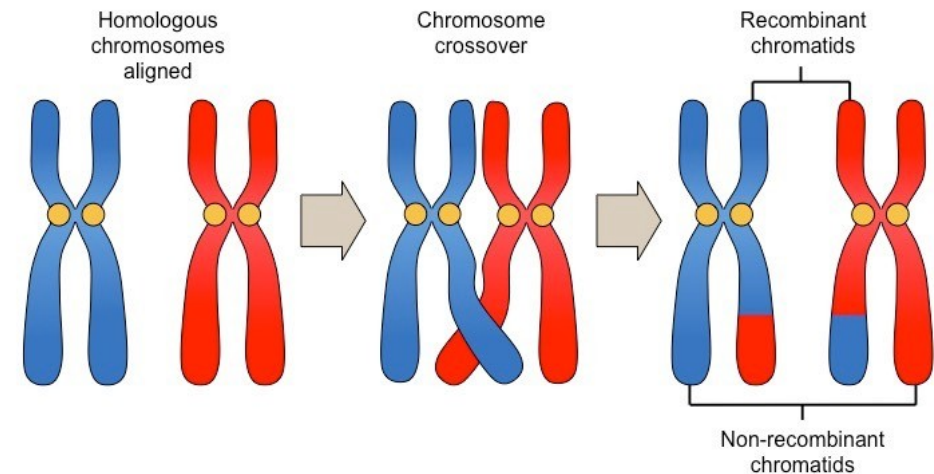
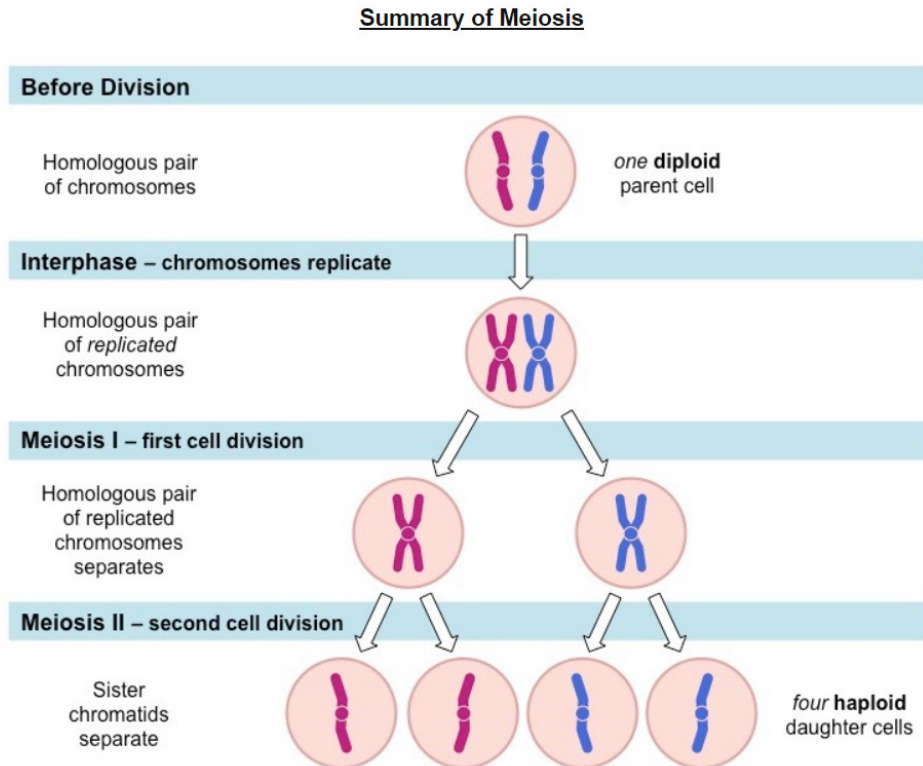
Poznámka k meióze:

- nastane crossing-over: 4 různé rekombinované gamety
- nenastane crossing-over: 4 gamety, díky náhodné segregaci po dvou stejné

Meióza

Crossing-over NE (vlevo): 4 gamety, díky náhodné segregaci jsou 2 gamety vždy navzájem identické

Crossing over ANO (vpravo): 4 různé rekombinantní gamety



→ rozdělení sesterských chromatid → 4 různé rekombinantní gamety

Gametogeneze

- tvorba gamet (pohlavních buněk, tj. vysoce specializované buňky → nový jedinec v procesu pohlavního rozmnožování)
- u vývojově nižších živočichů: gamety vznikají z nediferencovaných buňkách v tkáních a přeměna na gamety je dána vnějšími vlivy (např. nepříznivými podmínkami). Nediferencují se speciální rozmnožovací orgány, např. houbovci (*Porifera*)
- většina živočichů však obsahuje již na začátku vývoje prvopohlavní zárodečné buňky, ze kterých vznikají buňky pohlavní. Ve většině případů se vyvíjejí rozmnožovací orgány, které produkují pohlavní buňky (gamety, spermie a vajíčka) a umožňují jejich splynutí v zygotu. Rozmnožovací orgány většinou vznikají ze speciálního zárodečného epitelu stěny coelomu.
- primitivní speciální reprodukční orgány lze nalézt již u žahavců (*Cnidaria; Dibratica*, tj. tzv. „dvojlistí“ živočichové).

Gametogeneze

- **fáze rozmnožovací:** mitotické dělení primordiálních oogonií a spermatogonií
- **fáze růstová:** zvětšování objemu cytoplasmy, vznik primárních spermatocytů a oocytů
- **fáze zrání:** vznik haploidních sekundárních spermatocytů a oocytů (1. meiotickým dělením)
- druhým meiotickým dělením se vytvářejí haploidní spermatidy a ovulovaný sekundární oocyt
- zatímco spermatidy musí projít dalším procesem diferenciací, tzv. spermateliozou (průběh závisí na tom, jaký typ spermií vzniká, nejrozšířenější typ jsou bičíkaté) oocyt je po druhém meiotickém dělení zralou vaječnou buňkou
- v procesu spermatogeneze → 4 zralé spermie, v procesu oogeneze 1 zralý oocyt a 3 pólová tělíška (nebo 2, pokud se první pólové tělíško již dále nedělí (jako u člověka))


Gametogeneze

- vývoj zárodečných buněk (extraembryonálního původu) a jejich migrace do gonád

a dále vývoj podle odlišných schémat u ♂ a ♀:

- mitotické množení zárodečných buněk v zárodečném epitelu gonád
- oögonie se u množí u ♀ do konce 5. měsíce těhotenství, vzniká až 7 mil. zárodečných buněk, dále až do menopauzy jejich úbytek (atresií), XX = homogametní pohlaví
- spermatogonie si zachovávají schopnost množení po celý život, jejich zrání nastává až od puberty, haploidizace
- strukturální a funkční maturace gamet

Primordiální (prvopohlavní) zárodečné buňky

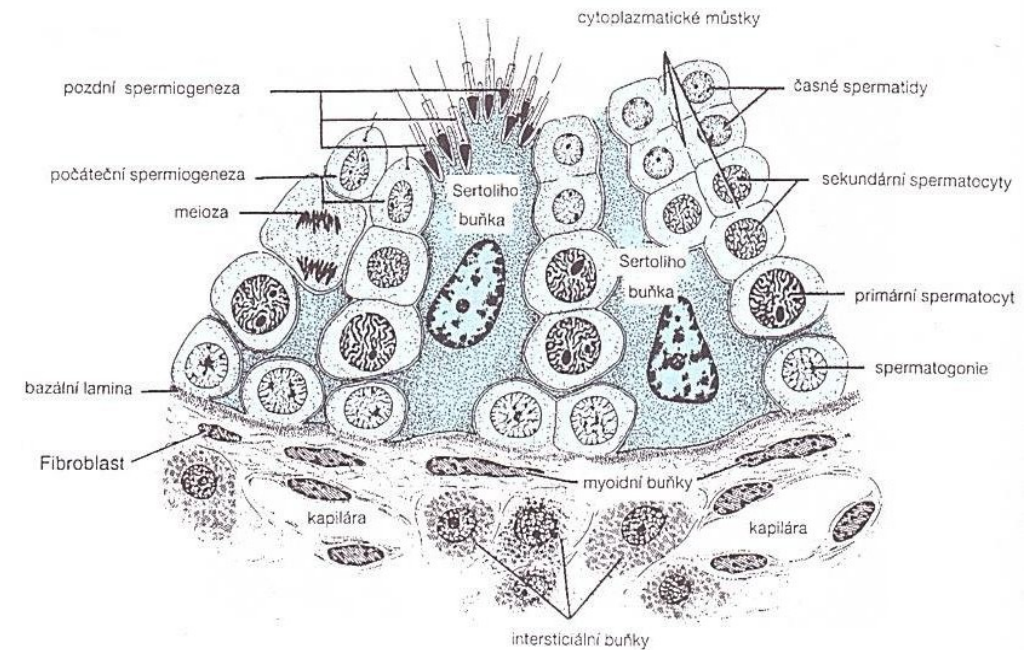
- dávají vzniknout pohlavním buňkám, jejich izolací a kultivací vznikají embryonální zárodečné buňky („embryonic germ cells“, EGCs, léčebný potenciál)
- = gonocyty, mitoticky se dělí → spermiogonie (spermatogonie) a ogonie
- v lidském embryu detekovatelné 24 dní po fertilizaci v  žloutkového vajíčku, ve 4.-6. týdnu migrují (aktivní pohyb?, růstové síly a směrovaná proliferace?) do genitálních lišt, stávají se součástí zárodečného epitelu ovárií/semenotvorného epitelu stočených kanálků, → ogonie/spermatogonie
- tyto buňky v mimogonadálních oblastech → teratomy
- základy gonád u člověka získávají M/F charakter ve 12. týdnu: vývoj determinován gonozomy, TDF („testis-determining factor“) na krátkém raménku Y chromozomu) a MIF (Müllerian inhibiting factor; produkován Sertoliho b.)

Spermatogeneze

- **spermie:** se vyvíjejí v **semenotvorných kanálcích varlete** (typ tubulózních žláz), zrání začíná vlivem pohlavních hormonů v pubertě
- spermatogonie (kmenové buňky) a z nich vzniklé buňky bývají spojené cytoplazmatickými můstky – synchronní vývoj skupiny buněk, zpočátku závislý na Sertoliho buňkách, které vytvářejí prostředí pro vývoj, bariéru regulující výměnu molekul a chrání před imunologickou destrukcí (hematotestikulární bariéra, podobně jako krevně-mozková bariéra)
- produkce spermií u muže: cca 2 triliony/život, jejich **vývoj trvá 64 dní, pozor:** např. na antibiotika, antimitotická léčba!!!
- spermie patří k nejmenším buňkám těla, nejrozšířenější typ u živočichů jsou bičíkaté

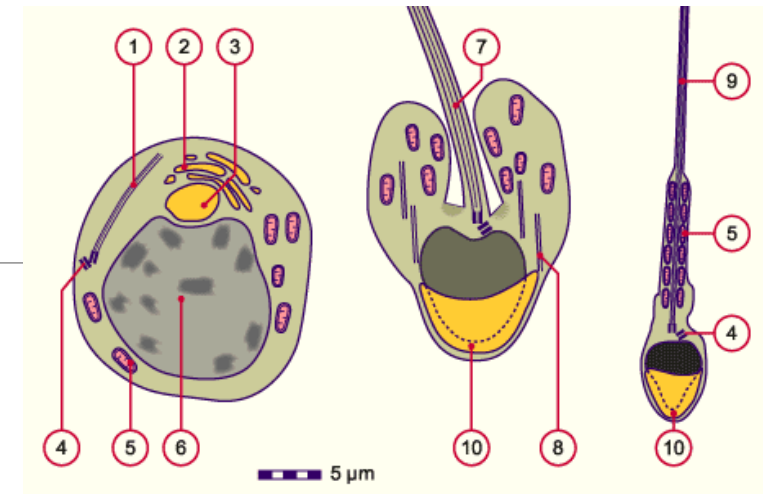
Spermatogeneze

- **spermatogonie:** u bazální membrány kanálků → vývojová stádia typu A (liší se od kmenových buněk strukturou jádra, tvoří klony) , IM a B. Typ B vystupuje z bazálního kompartmentu do adluminalního mezi Sertoliho buňkami a mitózou se dělí na 2 spermatocyty I. řádu. Spermatogonie se tedy opakovaně se dělí (rozmnožovací zóna), obohacují se živinami a mitoticky se dělí na **spermatocyty I. řádu**. Toto stadium označujeme jako stadium růstu.
- vstoupí-li buňka do stadia zrání, nastává první meiotické dělení. Vznikají **spermatocyty II. řádu (prespermatidy, relativně nejkratší doba existence v rámci spermiogenetického cyklu)**. Druhým meiotickým dělením se vytváří sférické **spermatidy** s haploidními sadami chromozomů.
- vznikem spermatid končí spermatocytogeneze a nastupuje spermiohistogeneze (metamorfóza)



Spermiohistogeneze

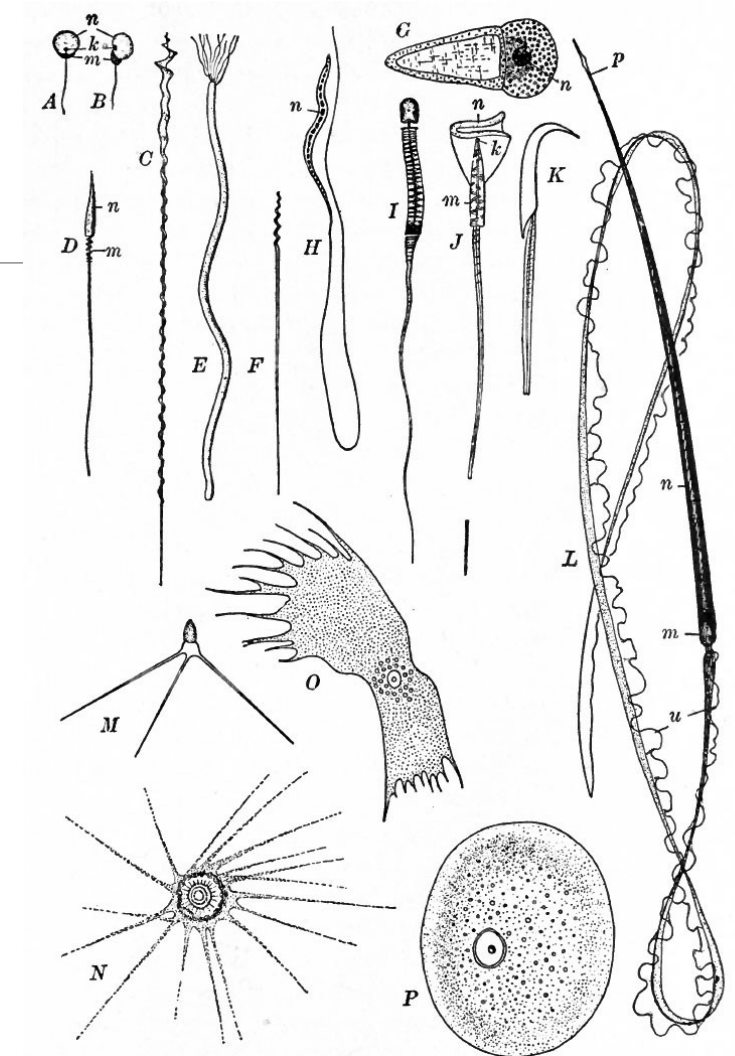
- **redukce jádra:** kondenzace chromatinu
- **redukce cytoplazmy:** oddělování reziduálních tělísek (fagoytóza Sertoliho buňkami)
- kondenzace Golgiho aparátu → **akrozom:** hyaluronidáza, akrosin, proakrosin, kolagenáza
- **vývoj bičíku:** mitochondrie spirálně uspořádány v proximální části
- až do stádia spermatid jsou buňky spojeny cytoplazmatickými můstky



- 1 Axonemal structure, first flagellar primordium
- 2 Golgi complex
- 3 Acrosomal vesicle
- 4 Pair of centrioles (distal and proximal)
- 5 Mitochondrion
- 6 Nucleus
- 7 Flagellar primordium
- 8 Microtubules
- 9 Sperm cells tail
- 10 Acrosomal cap

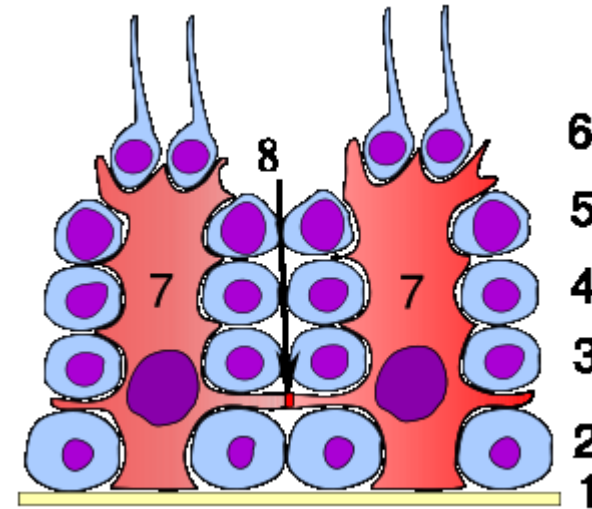
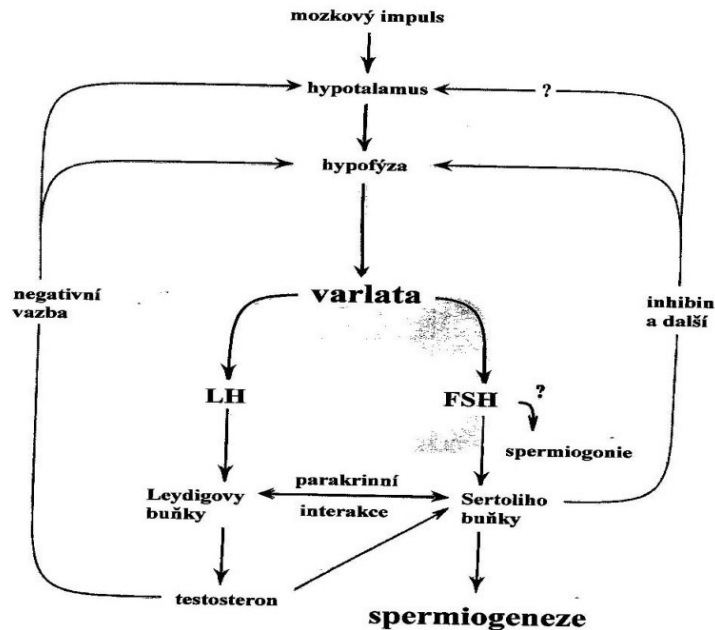
Spermie

- spermie v semenotvorných kanálcích: pouze morfologická zralost, nepohyblivé, neschopné oplodnění, do nadvarlat se dostávají proudem tekutiny produkované kanálky, biologická maturace během transportu ♂ reprodukčním traktem
- v ♀ reprodukčním traktu: kapacitace: změny v CM, nabytí oplodňovací schopnosti
- spermie člověka: pohyb 1 až 4 mm/min., málo zásobních výživa difúzí omezená životnost, Ca^{II} zásadně ovlivňuje funkčnost



Spermie různých skupin živočichů: A, B ryby; C, D ptáci; E, F hadi; G škrkavky; H netopýři; K krysy; L čolek; M, N, O, P korýši; u: undulující membrána

Řízení spermatogeneze



Sertoliho buňky (7 na barevném obrázku) jsou spojené těsnými spojeními (*zonulae occludentes*, tight junctions, 8): tvoří bariéru mezi vyvíjejícími se pohl. buňkami a extratubulárním prostorem (bariéra mezi krví a vyvíjejícími se pohlavními buňkami, látky jimi produkováné tak nemohou pronikat do krve a indukovat tvorbu protilátek, v případě porušení této **hematotestikulární bariéry** může vzniknout autoimunitní neplodnost)

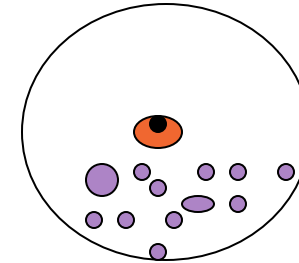
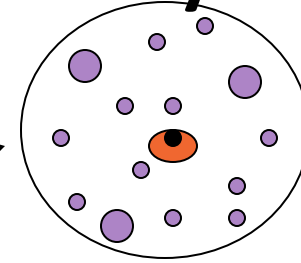
Vaječné buňky

- jednobuněčné útvary, které obsahují genetickou informaci a materiál pro výživu embrya v časných fázích vývoje
- sférické, s asymetrickou vnitřní strukturou
- místo odštěpení polárního tělíska od vaječné buňky: animální pól
- na opačné straně vegetativní pól
- osa mezi póly: animálně-vegetativní osa
- stabilizační obaly vajíček: z hmyzu chorion (tvrdý chitinoidní obal vajíček); rosolovovité obaly u obojživelníků; kožovité obaly u plazů, ptáků *membrána vitellina* (obaluje žloutek), bílek, vnitřní a vnější papírová membrána, vápenatá skořápka; *zona pellucida* u savců
- **fertilizace** → **holoblastické (totální) rýhování** (ježovka, žába, ...)
→ **meroblastické (částečné) rýhování** (superficiální u hmyzu, diskovité u ryb, plazů a ptáků)
- **pokud se vyvíjí vajíčko za účasti folikulárních buněk**, je oocyt obklopen jednou nebo více vrstvami epiteliálně uspořádaných buněk, které nejsou jeho sesterskými buňkami. Jde o somatické buňky, které vytvářejí kolem oocytu váček (folikul). S tímto vývojem se setkáváme např. u hmyzu, plazů, ptáků a savců vč. člověka

Vajíčka dle rozložení žloutku v cytoplazmě

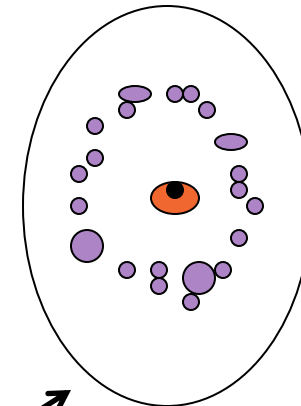
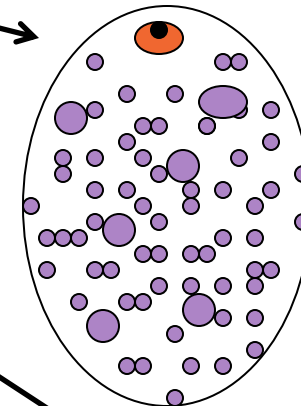
Holoblastická (oligolecitální) vajíčka

- alecitální: bez žloutku
- izolecitální: rovnoměrné rozložení žloutku, rýhování totální
→ stejně velké blastomery, ekvální rýhování (oligolecitální vajíčka savců, bezobratlí)
- heterolecitální: žloutek u veget. pólu (obojživelníci)



Meroblastická (polylecitální)

- telolecitální: plazi a ptáci, žloutek nahromaděn u vegetat. pólu (těžší), animální pól obsahuje jádro oocytu - rýhování inekvální: animální pól → mikromery, vegetativní pól → makromery; zvláštní typ: diskoidální rýhování
- centroleciální: členovci, rýhování superficiální (povrchové)
- člověk: oligolecitální, izolecitální oocyty, rýhování totální a ekvální

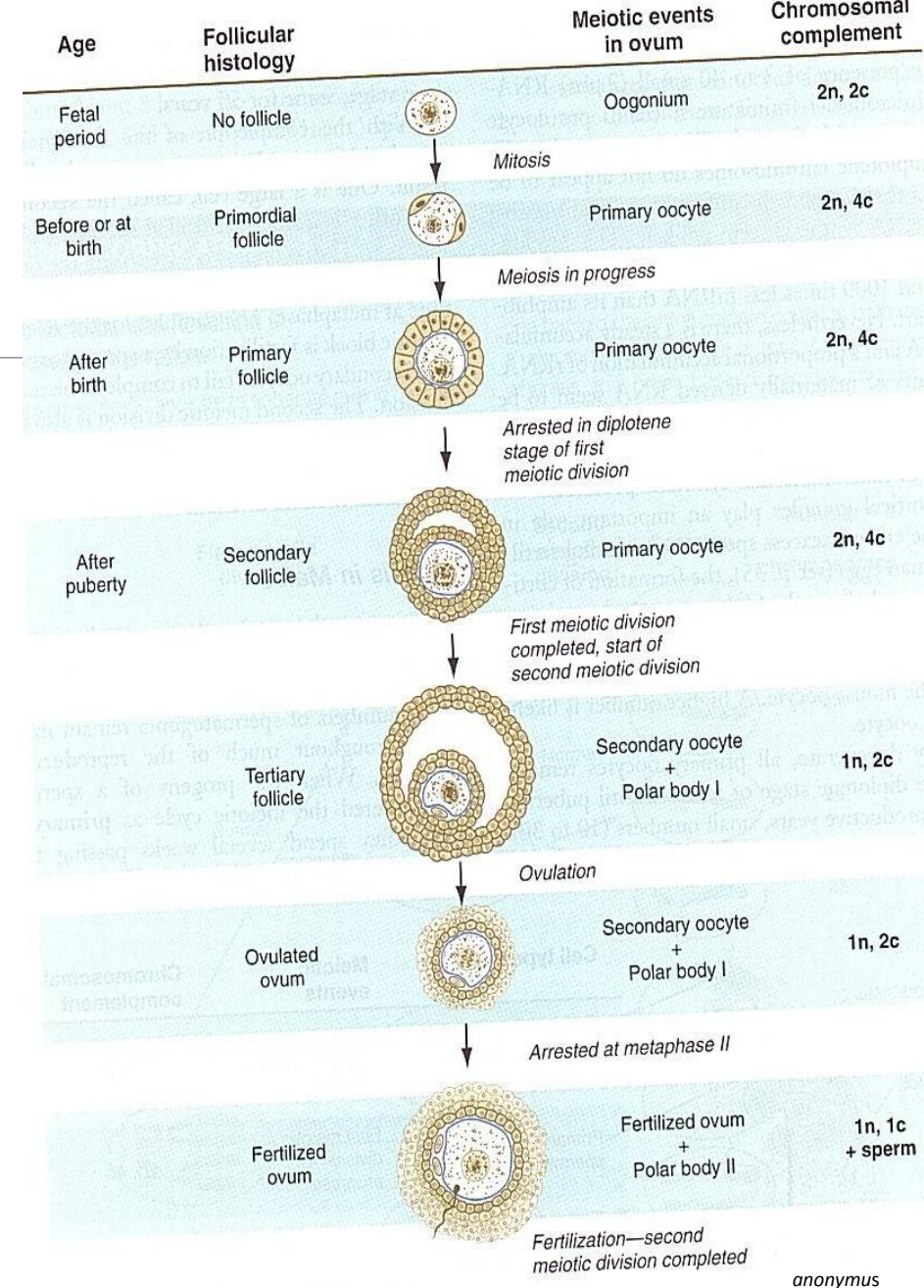


Oogeneze

- **množení oogonií** mitózou začíná prenatálně (u člověka koncem 2. měsíce a končí v 5. měsíci intrauterinního vývoje). K oogoniím se přikládají v jedné vrstvě buňky epitelu, vznikají tzv. **primordiální folikuly** (např. u savců). Z oogonií vzniknou mitózou **oocyty I. řádu**
- **oocyty I. řádu vstupují do meiosis. Profáze 1. zracího dělení probíhá do diplotenního stadia, ve kterém oocyty setrvávají až do hormonální iniciace dalšího zrání. Tzv. diktyotenní stadium trvá i desítky let!** → nondisjunkce a aneuploidie plodu - způsobeno inhibičním faktorem DMI („oocyte maturation inhibitor“), produkovaným folikulárními buňkami
- **na obrázku si všimněte vývoje oocytů/folikulů v čase!**

Poznámka – savci vč. člověka:

- primordiální folikul = oocyt ohraničený plochými folikulárními buňkami (klidové stadium, největší frakce folikulů)
- 1 vrstva folikulárních buněk kubických nebo cylindrických: primární folikul
- více než 1 vrstva granulóznic buněk: sekundární folikul
- dále terciální (antrální folikul) před ovulací



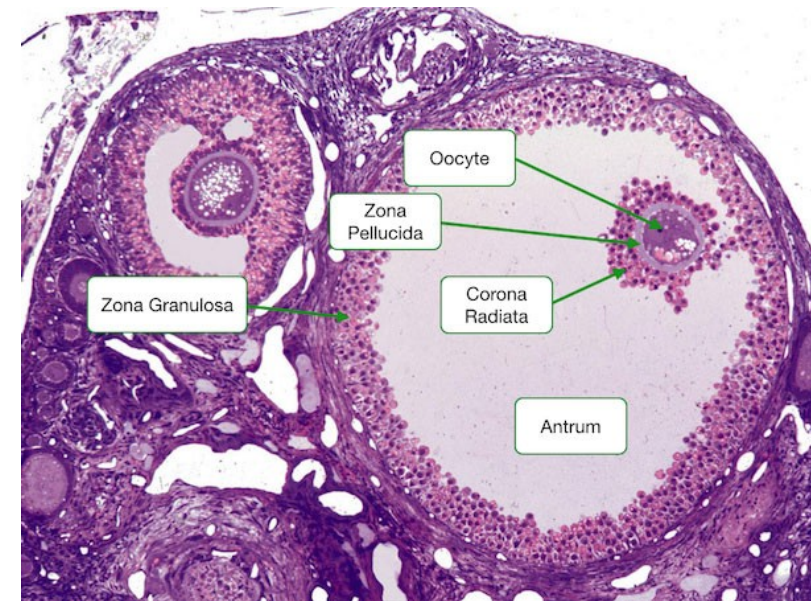
anonymus

Oogeneze

- **zrání** jednotlivých folikulů tedy pokračuje **až v a po pubertě** vlivem **hormonů**. První meiotickým dělením z vyvíjejícího se oocyty vzniknou dvě haploidní buňky: **jeden oocyt II. řádu a pólóvé tělísko**.
- **druhé meiotické dělení** je iniciováno v čase ovulace (u většiny savců) a **dokončeno až po proniknutí spermie do vajíčka**, kdy z oocyty II. řádu, vznikne jedno vajíčko a druhé pólóvé tělísko. Zároveň 1. pólócyt prochází ještě mitózou, dělí se ve dvě a všechna 3 pólóvá tělíška záhy zaniknou a jsou resorbována (platí obecně, u člověka se první pólóvé tělísko nedělí a zaniká)


Poznámka:

- na obrázku je nejvýraznější (největší) terciální (antrální) folikul - před ovulací
- u uniparních živočichů ovuluje jediné vajíčko (člověk, lidoopi, sloni, ...)
- u multiparních živočichů ovuluje více vajíček (hlodavci, šelmy, ...)



http://medcell.med.yale.edu/histology/ovary_follicle.php

Oogeneze

- ovulace je vyvolána peakem LH: **ovulovaný oocyt (člověk)**: omezená životnost (!), nemá zásobní látky, výživa difuzní, zdroj energie: pyruvát, neprobíhá syntéza nukleových kyselin, ale obsahuje je
- u člověka: **na začátku cyklu** započne svůj vývoj kohorta cca 20 časných antrálních folikulů, ale jen cca 3 dosáhnou \varnothing 8 mm: jeden z rostoucích folikulů (nejvíce citlivý na gonadotropiny) dospěje k ovulaci jako tzv. dominantní folikul, ostatní podléhají procesu atresie (apoptóza) 
- **AMH** („anti-Müllerian hormon“): významná role ve vývoji oocytů - produkován buňkami granulózy preantrálních a časných antrálních folikulů, jeho koncentrace koreluje s ovariální rezervou (diagnostický význam)
- po ovulaci: luteinizace granulózních buněk → *corpus luteum* → progesteron (ovlivňuje diferenciaci tkání reprodukčního systému)
- absence fertilizace: luteolýza (apoptóza) a kolagenózní degenerace *corpus luteum* na *corpus albicans*
- fertilizace: hCG (lidský choriový gonadotropin, produkován syncytiotrofoblastem blastocysty), hCG podporuje činnost *corpus luteum graviditatis* (produkuje progesteron zejména v prvních 2 měsících gravidity)

Poruchy gametogeneze (meiózy)

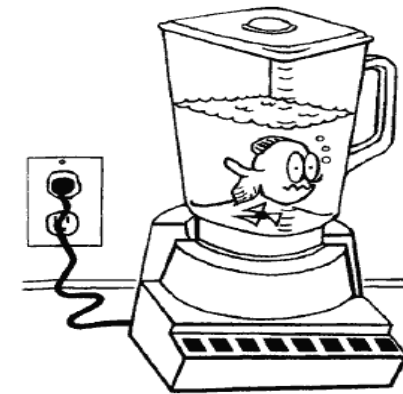
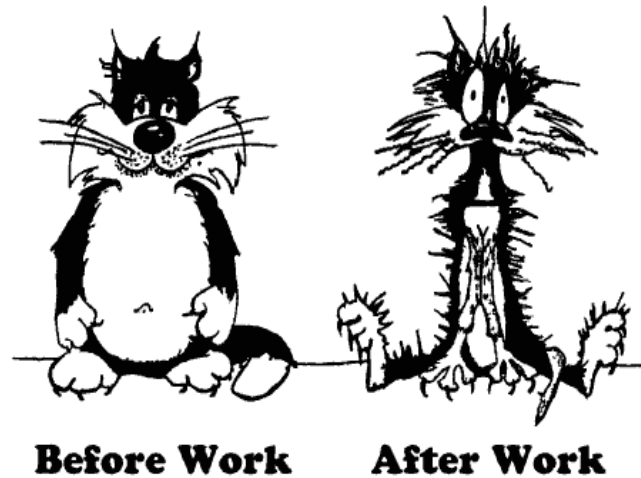
- teratomy: nádory z části nejasného původu, některé zřejmě mohou vzniknout z prvopohlavních zárodečných buněk, které se odchýlili od své migrační dráhy

Poruchy gametogeneze (meiózy) → [chromozomální abnormality \(strukturní a numerické\)](#):

- **vznik aneuploidii** (abnormality v počtu chromozomů, obvykle trisomie nebo monosomie = v chromozomovém páru je chromozom navíc, nebo chybí):
 - non-disjunkce (=chybná segregace) chromozomu (chromatidy) během 1. (2.) meiotického dělení
 - chybná (předčasná) separace sesterské chromatidy v průběhu 1 meiotického dělení (dominantní způsob?)
 - další příčiny: propustnost kontrolního bodu buněčného dělení (Spindle Assembly Checkpoint, SAC), nestabilita dělicího vřeténka
 - Downův syndrom (trisomie 21), Edwardsův s. (trisomie 18), Patauův s. (trisomie 13), Klinefelterův s.(47, XXY, někdy i 48, XXXY), Turnerův s. (45, X), syndrom trojího X, ..., nejčastěji maternálního původu, výskyt ↑ s věkem
- **vznik strukturních chromozomových abnormalit:** translokace části chromozomu na jiný (běžné pro chromozomy 13, 14, 15, 21, 22, které se během meiózy shlukují); ztráta části chromozomu (syndrom cri-du-chat = syndrom kočičího křiku = částečná delece krátkého raménka chromozomu 5), inverze,...
- **genové mutace**
- více než 75% spontánních potratů během prvních 2 týdnů a více než 60 % v prvním trimestru těhotenství je způsobeno chromozomálními abnormalitami (nejčastější jsou 45, X (Turnerův syndrom), triploidie, trisomie 16).
- chromozomové abnormality způsobují 7 % vrozených vývojových vad (VVV) a genové mutace dalších 8 % VVV

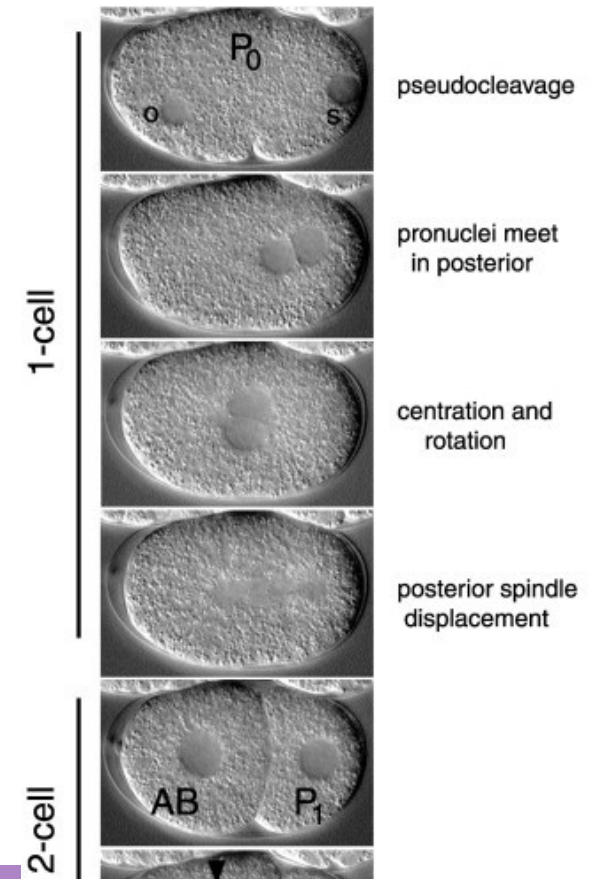
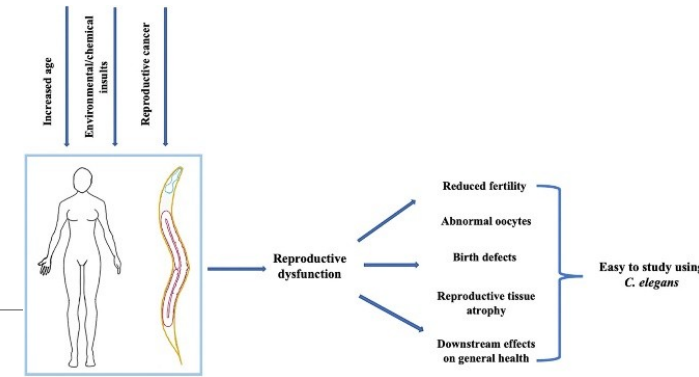
Úloha hormonů v reprodukci

Stres → zvýšení hladiny stresových hormonů (kortizol) → pokles GnRH a nárůst GnIH → pokles počtu spermií/narušení ovulace, ...



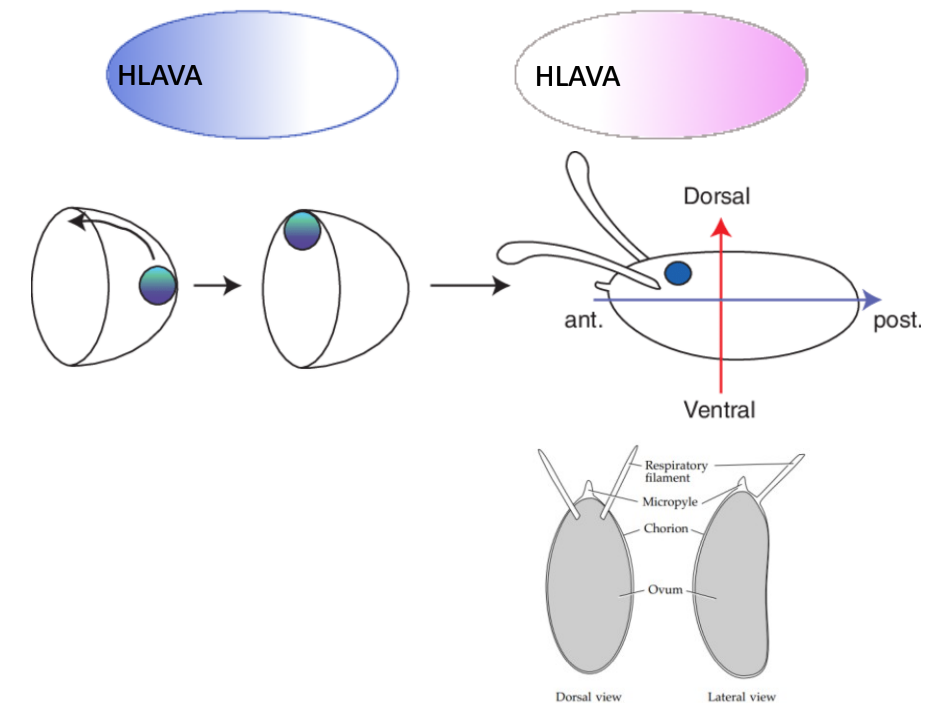
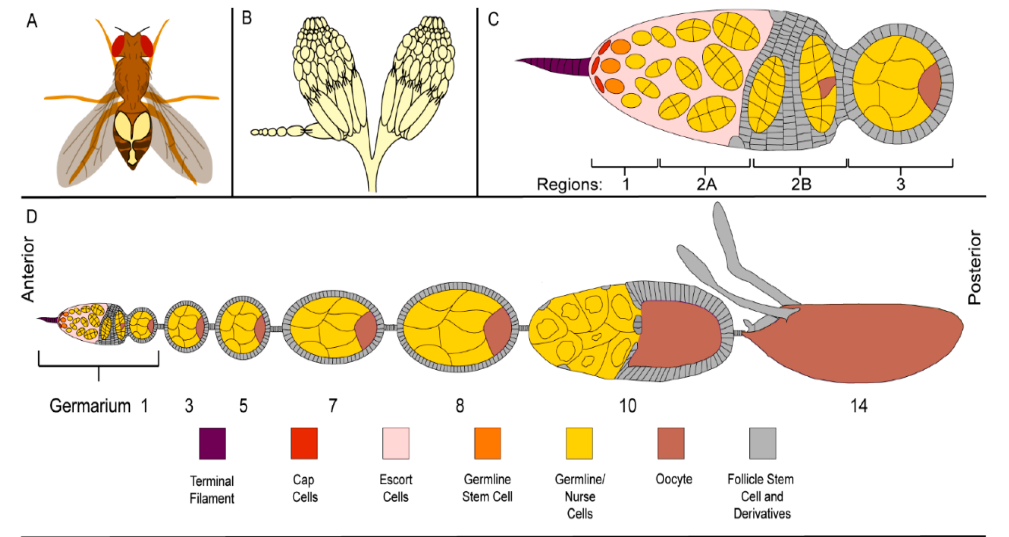
Coenorhabditis elegans

- hermafroditní jedinci + samci
- modelový organismus pro genetiku, buněčnou biologii, studium infertility a reprodukčního zdraví
- ameboidní spermie
- posteriorní pól určený místem penetrace spermie do vajíčka při fertilizaci
- první mitóza zygoty je inekvální → větší A buňka (AB) a menší P buňka (P₁)



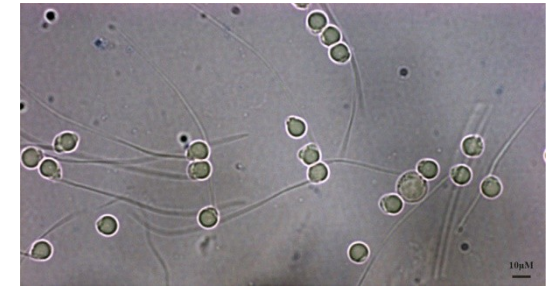
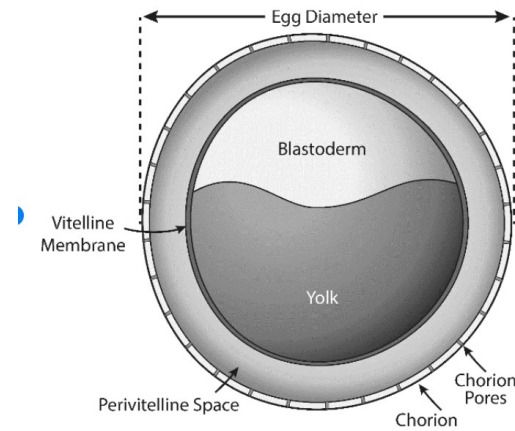
Drosophila melanogaster

- centrolecitální vajíčka ve vaječnicích z ovariol
- k oplodnění dochází pouze v oblasti oocytu, který se stane přední částí embrya
- spermie jsou uloženy v těle samice v semenné schránce a párových spermatékách
- vaječná komora = mnohobuněčná struktura ve vaječnicích; v každé se vyprodukuje jedno vajíčko
- vaječná komora = vnitřní shluk zárodečných buněk složený z 15 „nurse cells“ a jednoho oocytu,
- oplodnění: vnitřní; dochází k němu po ovulaci v děloze
- **tvorba osy A-P:** geny s maternálním účinkem exprimované ve vaječnicích → messenger RNA, které jsou deponovány v různých oblastech vajíčka → translace těchto mRNA po oplodnění: bicoid protein řídí tvorbu A embryonálních částí, nanos protein řídí tvorbu P částí
- **D-V polarita:** během oogeneze se jádro oocytu pohybuje z centrální zadní do asymetrické přední polohy; pohyb jádra = významný krok narušující symetrii → A-P a D-V osa. Asymetricky umístěné jádro definuje oblast v oocytu, která akumuluje vysoké hladiny gurken mRNA a proteinu; gurken = ovariální specifický člen rodiny secernovaných ligandů TGF- α → koncentrační gradient → D-V gradient aktivace receptoru EGF (resp. jeho homologu Torpedo) ve folikulových buňkách obklopujících oocyt.

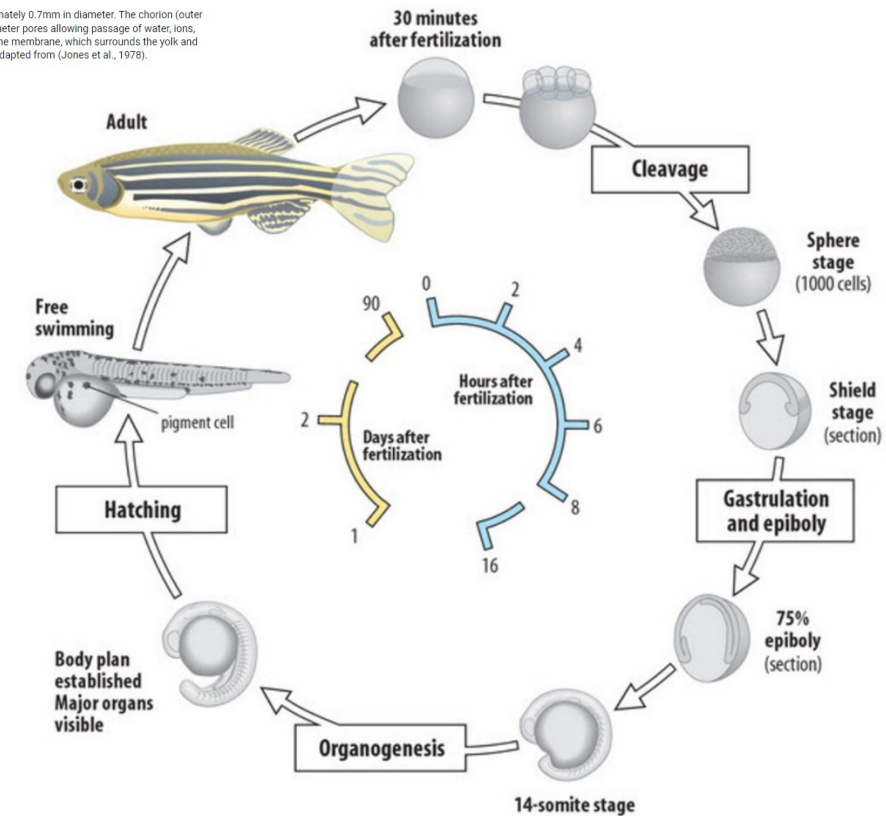


Danio rerio

- průhledná embrya
- telolecitální vajíčka: blastoderm + velké množství žloutku
- neúplné (meroblastické) rýhování
- rychlý vývoj
- bičíkaté spermie
- vnější olození
- <https://www.jove.com/v/5151/zebrafish-reproduction-and-development>

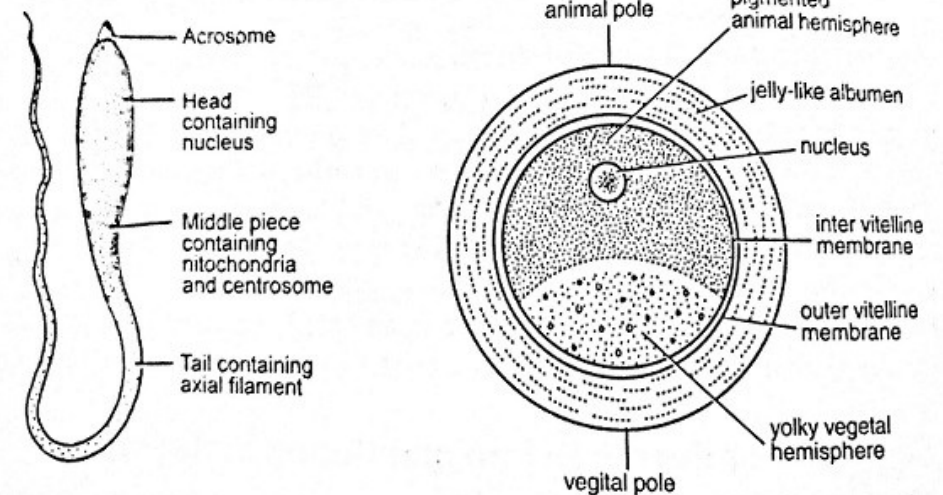
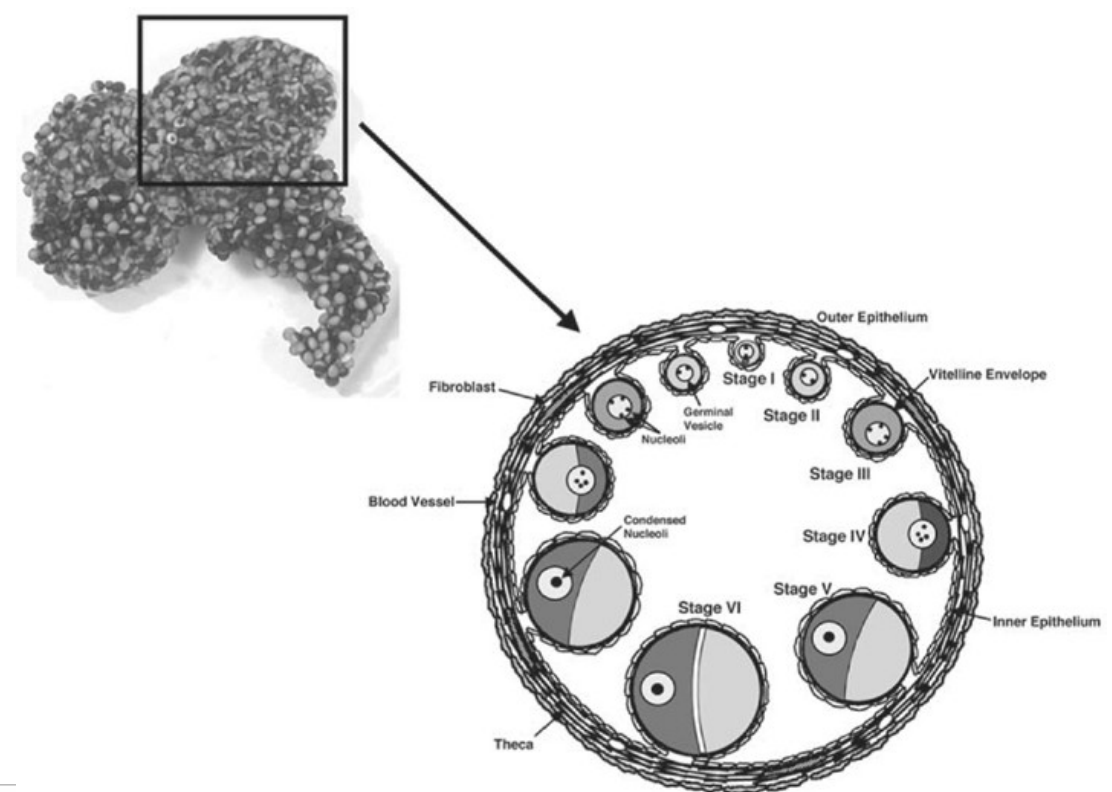


General structure of the zebrafish egg The zebrafish egg is approximately 0.7mm in diameter. The chorion (outer layer) has a thickness of 3.5μm and is fenestrated with 0.5 μm diameter pores allowing passage of water, ions, and chemicals. The fluid-filled perivitelline space overlies the vitelline membrane, which surrounds the yolk and the blastoderm, which will become the developing embryo. Figure adapted from (Jones et al., 1978).



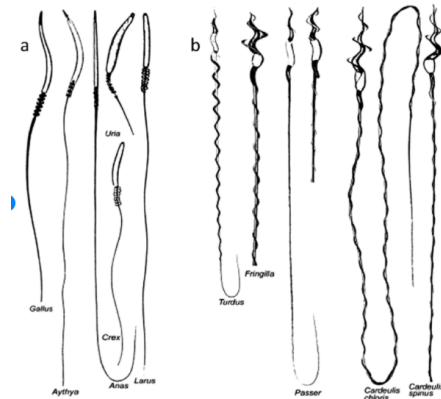
Xenopus laevis

- velké heterolecitální/mezolecitální oocyty (>1 mm v průměru: velké jádro/germinální váček (100 000krát větší než nukleus v somatických buňkách, 1/3 objemu oocytu)
- oocyty se synchronním buněčným cyklem → lze snadno získat velké množství oplozených vajíček
- oocyt připravený k oplození: 200 000krát více ribozomů než průměrná somatická buňka
- zástava vývoje v M I až do aktivace progesteronem → meiotické zrání oocytů
- vajíčka s vitelinní membránou + rosolový obal
- spermie s bičíkem, 30 μm dlouhou
- vnější oplození



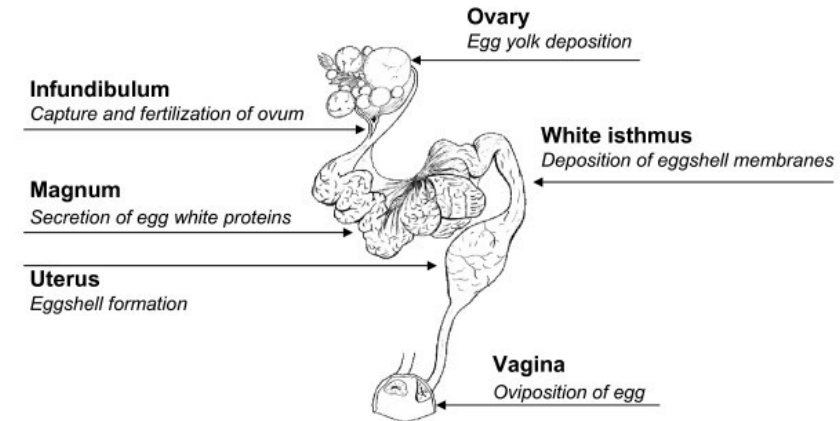
Gallus gallus

- jeden z modelových druhů amniotů pro experimentální embryologii a studium vývoje extraembryonálních obalů
- telolecitální vajíčka
- čerstvě ovulované vajíčko: blastodisk + mnoho žloutku; vitelinní membrána; velké množství bílku („vaječný bílek“) obklopuje vitelinní membránu a je obklopen papírovými membránami a skořápkou
- vnitřní oplodnění

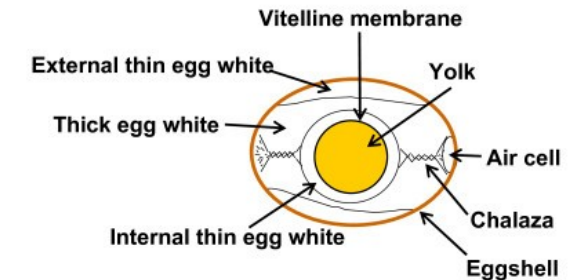


Non-passerine (a) and Passerine (b) Spermatozoa. (a) Non-passerines: Filiform head resembling reptiles-Rooster (*Gallus gallus*), Tufted duck (*Aythya fuligula*), Domestic duck (*Anas platyrhynchos*), Common gull (*Larus aegle*), Cormorant (*Phalacrocorax carolinensis*), Lesser black-backed gull (*Larus fuscus*). (b) Passerines: Helical (Corkscrew-shaped) head-Song thrush (*Turdus philomelos*), Chaffinch (*Fringilla coelebs*), House sparrow (*Passer domesticus*), Greenfinch (*Carduelis chloris*), Siskin (*Carduelis spinus*). Reproduced from Jamieson, B.G.M., 2007. Reproductive Biology and Phylogeny of Birds, Science Publishers.

A.

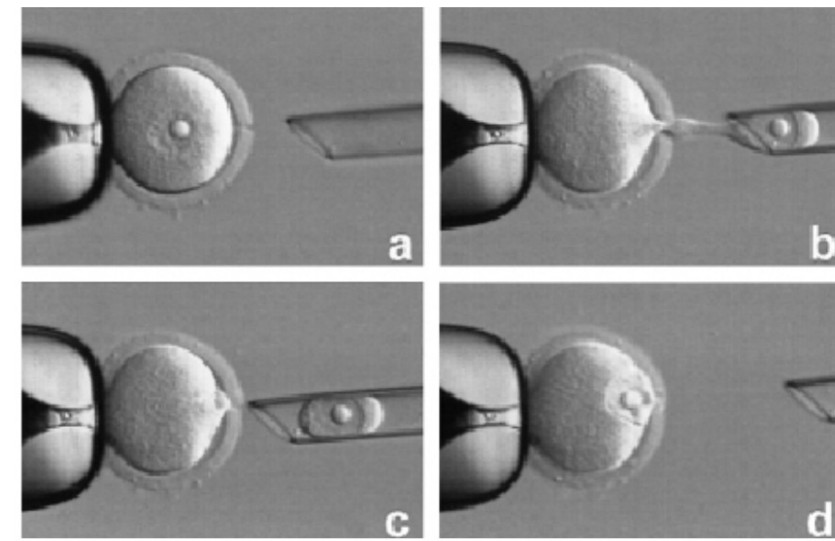
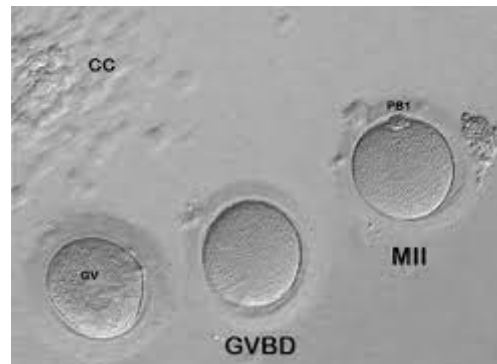


B.

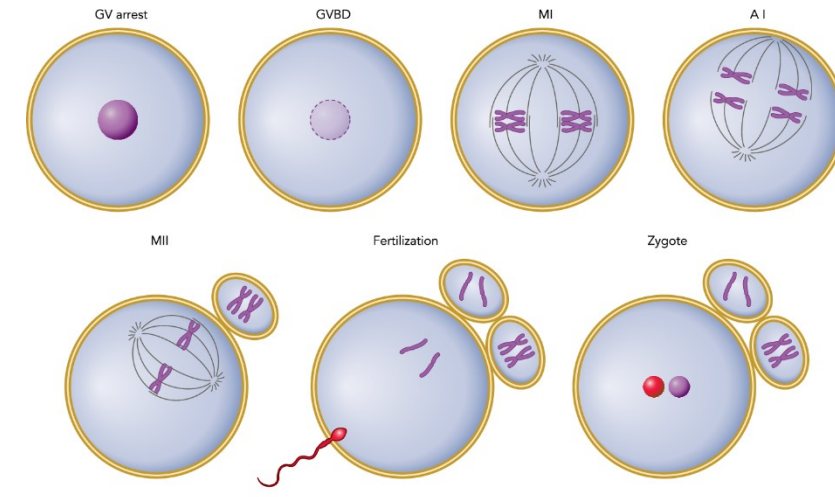


Mus musculus

- oligolecitální vajíčka (obecně u placentálních savců)
- bičíkaté spermie
- <https://www.jove.com/v/5159/development-and-reproduction-of-the-laboratory-mouse>
- pomník laboratorní myši (bronzová myš plete DNA, Памятник лабораторной мыши, Rusko)



Germinal vesicle (GV) transfer: (a) GV-stage mouse oocyte with opened zona; (b) GV removal; (c) GV transfer; (d) GV replaced in perivitelline space awaiting electrofusion (τ 200).



Shrnutí

Spermie (← spermatogeneze):

- velmi malé buňky, které postrádají většinu cytoplazmy
- schopnost cestovat (vnitřním nebo vnějším) prostředím na vodní bázi k dosažení vaječné buňky
- bičík → 3 základních částí: hlavička (obsahuje genetický materiál a akrozomem (s enzymy potřebnými k tomu, aby spermie pronikla do vajíčka); střední úsek (s mitochondriemi); bičík

Oocyty (← oogeneze):

- poskytují živiny vyvíjejícímu se embryu
- obsahují žloutek (lipidy, bílkoviny, glykogen pro výživu embryí)
- klasifikovány podle množství a rozložení žloutku
- množství žloutku a jeho distribuce ve vajíčku → různé typy rýhování embrya
- množství žloutku je v oocytech savců minimální, pro další vývoj embrya je nutný vývoj placenty
- velká vajíčka (ptáci, plazi) mají velké množství žloutku pro podporu embryonálního vývoje do pokročilých stádií

Použité a doporučené zdroje

- L. W. Browder, C.A. Ericson, W.R. Jeffery. *Developmental Biology*. 3rd edition, 1991. ISBN 0-03013514-1.
- B. M. Carlson: *Human embryology and developmental biology*. 4th edition, 2009. ISBN 978-323-05385-3.
- G. German, T. Child. *In vitro maturation of oocytes*. In K. Coward & D. Wells (Eds.), *Textbook of Clinical Embryology* (pp. 300-312). 2013. Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9781139192736.031
- R. Hodge: *Developmental Biology : from a Cell to an Organism*. 1st edition, 2010. ISBN 978-0-8160-6683-4.
- S. Horne-Badovinac . The Drosophila egg chamber-a new spin on how tissues elongate. *Integr Comp Biol*. 2014;54(4):667-676. doi:10.1093/icb/icu067
- J. Knoz. *Obecná zoologie. I Taxonomie, látkové složení, cytologie a histologie. II Organologie, rozmnožování, vývoj živočichů a základy biologie*. PŘF UJEP, Brno. 1979.
- L. C. Junqueira, J. Carneiro J, R. Kelly R. *Základy histologie*. 1997. ISBN 80-85787-37-7.
- R. Lüllmann-Rauch . *Histologie*. Překlad 3. vydání. Grada, Praha. 2012, 556 s.
- K. L. Moore, T. V.N Persaud: *The developing human. Clinically oriented embryology*. 8th edition, 2008. ISBN 978-0-8089-2387-9.
- J. M. W Slack: *Essential developmental biology*. 2nd edition, 2006. ISBN 978-4051-2216-0.
- Z. Vacek: Embryologie. 2006. ISBN 978 -80-247-1267-3.**
- Z. Věžník: *Repetitorium spermatologie a andrologie, metodiky spermatoanalýzy*. Brno : Výzkumný ústav veterinárního lékařství, 2004. 1 sv. (různé stránkování).
- http://www.are.cz/data/file/gametogeneze_mitoza_a_meioza.pdf
- <https://ib.bioninja.com.au/standard-level/topic-3-genetics/33-meiosis/stages-of-meiosis.html>
- <https://owlcation.com/stem/The-why-and-how-of-breeding-zebrafish-for-research>
- <https://sunlab.pnb.uconn.edu/research/>
- www.sci.muni.cz/ptacek
- https://link.springer.com/protocol/10.1007/978-1-59745-000-3_2
- <https://onlinesciencenotes.com/sequential-events-and-stages-in-the-development-of-frog-pre-embryonic-embryonic-and-post-embryonic-development/>
- <http://web.as.uky.edu/Biology/faculty/cooper/Population%20dynamics%20examples%20with%20fruit%20flies/08Drosophila.pdf>
- <https://www.mdpi.com/2073-4409/10/6/1454/htm>
- https://www.pacc.in/e-learning-portal/ec/admin/contents/60_BZO%2052_2020111502214594.pdf
- https://www.researchgate.net/figure/General-structure-of-the-zebrafish-egg-The-zebrafish-egg-is-approximately-07mm-in_fig3_328858072
- https://www.researchgate.net/figure/A-representative-image-showing-sperm-suspensions-prepared-in-the-present-study-are-mainly_fig1_282244810
- https://www.researchgate.net/figure/Non-passerine-a-and-Passerine-b-Spermatozoa-a-Non-passerines-Filiform-head_fig5_326827104
- https://www.researchgate.net/figure/Chicken-oviduct-segments-A-and-egg-components-B_fig1_41110738
- https://www.researchgate.net/figure/Germinal-vesicle-GV-transfer-a-GV-stage-mouse-oocyte-with-opened-zona-b-GV_fig1_12355102
- <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/gallus-gallus>
- https://www.shsu.edu/~bio_mlt/Chap5.html
- <https://www.xenbase.org/anatomy/intro.do>