

O původu očí

K 200. výročí narození Charlese Darwina

Vnímat okolí je pro organismy nezbytné, protože interakce s ním bývá obvykle nutná pro přežití (zajištění potravy, teritoria, potomstva atd.). Smysly, které to umožňují, představují pro své nositele velkou výhodu. Zrak je jedním z nejrozšířenějších smyslů – alespoň nějaká forma očí se vyskytuje téměř u všech živočišných kmenů. Je zajímavé, že anatomie a ontogeneze oka (např. z jakých tkání oko během svého vývoje vzniká) se stejně tak jako jeho komplexita (odrážející se často v kvalitě zrakového vjemu) mnohdy výrazně liší i mezi příbuznými organismy. Obzvláště výhodné je oko, které dokáže informovat i o intenzitě a směru světla, či je dokonce schopné vytvořit obraz okolí. V průběhu evoluce vzniklo mnoho typů očí: odlišují se vývojem, typem fotoreceptorových buněk i způsobem, jakým dosahují koncentrace světelných paprsků do oka a případně jejich zaostření na světločivnou vrstvu tak, aby pro živočicha vznikl co nejpříznivější obraz okolí. Těžko hledáme i v rámci jedné skupiny náznak postupného vývoje oka, přechod od jednoduché formy k složitější. Nad tím se pozastavil již známý britský přírodovědec Charles Darwin, který položil základy novému vědnímu oboru – evoluční biologii. Jistě by ho zaujalo, že teprve v uplynulém roce bylo díky novým poznatkům konečně možné (byť prozatím pouze v hrubších rysech) rekonstruovat původ oka. K tomuto poznání vedla dlouhá cesta a my se ji nyní pokusíme sledovat.

Oko: buňka fotoreceptorová a buňka pigmentová

Zrak je jako každý ze základních smyslů založen na receptorech převádějících nejrůznější podněty v nervovou aktivitu. Pro fotoreceptory jsou těmito stimuly fotony, tedy světlo. Nejjednodušší oko si můžeme představit jako uskupení minimálně dvou buněk – buňky fotoreceptorové a buňky se stínícím pigmentem (ve výjimečných případech dokonce jako jedinou buňku obsahující obě tyto součásti).

V membráně fotoreceptorové buňky jsou přítomny a světlu vystaveny molekuly rhodopsinu (s proteinem opsinem), jehož neproteinová složka retinal, derivát vitamínu A, reaguje na dopad fotonu (tedy na světlo) a zahájí řadu dějů signalizujících, že „buňka byla osvětlena“. Retinal změní svou konformaci (tvar), následně změní své prostorové uspořádání i samotný opsin a zahájí tím sled dějů, který vyústí ve změnu membránového potenciálu.

1 Čtyřhranka trojitá (*Tripedalia cystophora*) obývá mangrovy Karibiku. Mezi kořeny mangrovníků vyhledává světelné kužely, kde se shromažďuje její potrava, drobní korýši. Na snímku mangrovy nedaleko portorické výzkumné stanice u La Parguera. Vložené obrázky zachycují dospělou samici čtyřhranky (o velikosti asi 2 cm, vlevo) a mladou medúzu s ještě plně nevyvinutými chapadly. Zrakové orgány – rhopalia – se jeví jako oválné objekty s hnědým pigmentem a světlo-
lomným statolitem (šipka).

Tato fototransdukční kaskáda převede dopad fotonů na depolarizaci (vychýlení kladového membránového potenciálu k pozitivním hodnotám) či hyperpolarizaci (vychýlení k negativním hodnotám) buňky.

Buňka se stínícím pigmentem syntetizuje a ukládá (nejčastěji do pigmentových granulí) barvivo, které pohlcuje přebytečné světlo či stíní fotoreceptorové buňky

a umožňuje jejich vystavení světlu např. jen z jedné strany. Tím se omezí zorné pole buněk, což ve výsledku umožňuje lokalizovat, z jakého směru světlo přichází (např. tak, že některé skupiny fotoreceptorů světlo zachytí a jiné nikoli).

Fotoreceptorových buněk a buněk se stínícím pigmentem je tedy obvykle více a vytvářejí v oku zvláštní vrstvy, jako je sítnice a za ní ležící vrstva pigmentových buněk (u obratlovců sítnicový pigmentový epitel). Čočka, rohovka a další specializované části očí umožňují soustředit na fotoreceptory více světla a případně světelné paprsky zaostřit do určité roviny (např. na sítnici) a vytvořit tak obraz okolí. Oči s čočkou se proto staly důležitým evolučním vylepšením a v nejrůznějších formách je nalézáme téměř na všech úrovních mnohobuněčných, žahavci počínaje a obratlovci konče. Kde se ale takové oči vzaly? Vyvinuly se všechny z jednoho prototypu, nebo vznikaly nezávisle několikrát či dokonce mnohokrát v různých vývojových větvích? U jakých organismů se poprvé objevily struktury nutné pro vznik tak složitého a specializovaného orgánu, jako je oko?

Cesta za poznáním: příběh nekonečné rozmanitosti

Zdánlivě nekonečná rozmanitost očních typů brala dech generacím evolučních biologů, kteří se snažili odhalit jejich původ. Protože možná trochu překvapivě neplatí, čím vyspělejší organismus, tím složitější oko, oči s čočkou, které představují zjevně komplexnější formu, nacházíme u korýšů stejně jako u savců.

Oči s překvapivě dobrou optikou najdeme již u kmene žahavců – *Cnidaria*. Žahavci se přitom oddělili od hlavní vývojové větve mnohobuněčných organismů velmi dávno, ještě před vznikem pravých bilaterálně (dvoustranně) symetrických organismů. Oči s čočkou mají i někteří drápkovci (*Onychophora*), kteří sekretují kutikulární rohovku a nebuněčnou čočku epidermálního (pokožkového) původu.



U obrovského kmene členovců (*Arthropoda*) se vyskytují převážně oči složené. Skládají se z jednotlivých oček (omatií), která dohromady vytvářejí výsledný obraz. Každé omatidium je přitom vybaveno tzv. rohovkovou čočkou a krystaliním kuželem (světlolomné tělísko zpravidla čtyř průhledných buněk) odvozených od epitelů, jak je tomu např. u octomilky. Měkkýši (*Mollusca*) jsou, co se týče očí, kmenem s extrémní rozmanitostí. Nalézáme u nich nejen jednoduchý typ oka bez čočky (např. loděnka), ale i velmi dokonalé komorové oko (např. oliheň, chobotnice), téměř tak dokonalé, jako je oko lidské. U mlže hřebenatky bylo dokonce popsáno tzv. zrcadlové oko zahrnující kromě čočky i zrcátko uložené za sítnicí, které odráží paprsky zpracované čočkou na sítnici. Oči s čočkou najdeme i u kroužkovců (*Annelida*). Opravdu neobvyklé čočky nejspíše mitochondriálního původu byly popsány u ploštěnců (*Platyhelminthes*). U ostnokožců (*Echinodermata*) ze skupiny hadic byly dokonce objeveny drobné kalcitické (uhlíkatý vápenatý) čočky. Podobné kalcitické čočky se vyskytovaly i u fosilních trilobitů. Pláštěnci (*Tunicata*) jako skupina nejbližší příbuzná obratlovcům mají náznak čočky v podobě tří vysoce světlolomných buněk v blízkosti jejich jednoduchého oka – ocellu.

Obratlovci uspěli se svým dokonalým komorovým okem s opticky velmi efektivní rohovkou a častou čočkou. Jak jsme již zmínili, jejich oči jsou vzhledem i stavbou velice podobné očím hlavonožců. Srovnání vývoje očí obou skupin však ukázalo, že se vyvíjejí velmi odlišně. Zatímco čočka obratlovců vzniká vchlípením nebo delaminací (oddělováním či rozdělováním buněčného materiálu tak, že je formován do vrstev) buněk povrchového ektodermu (např. budoucí pokožky), čočka hlavonož-

ců je tvořena z obdobné tkáně, ale prochází odlišnými procesy. Dvě primordia (okrsky zárodečných buněk) zakládají dvě poloviny čočky, které vznikají splýváním výběžků čočkotvorných buněk formujících výslednou sférickou čočku s gradientem refrakčního indexu (lomu světla), funkční i morfologickou obdobu např. čočky ryb. Zmíněný gradient refrakčního indexu s maximem v centru čočky je nezbytný pro potlačení vlivu sférického tvaru čočky na kvalitu obrazu (tzv. sférická aberace) a představuje další vylepšení funkce oka. Z předchozího výčtu je zřejmé, že morfologie a vývojové procesy, jimiž oči různých živočichů vznikají, se mohou značně různit. To vedlo evoluční biologie k názoru, že oči vznikly v průběhu evoluce několikrát nezávisle na sobě.

Využití přístupů molekulární biologie: radikální revize názorů na vznik očí

V posledních 15 letech výzkum v oblasti evoluce očí značně pokročil, a to zejména díky metodám molekulární biologie, jež umožnily studovat oči na úrovni jednotlivých genů nezbytných pro jejich vývoj a funkci. Srovnání genů, které určují vývoj očí mezi navzájem vzdálenými organismy umožnilo zcela nový pohled, který nebylo možné získat metodami klasické srovnávací morfologie, tradiční vývojové biologie či paleontologie. Hlavní pozornost byla zpočátku věnována genetické mašinérii, která vývoj očí kontroluje. Velice nečekané zjištění, že homologické transkripční faktory *eyeless* a *pax-6* plní funkci hlavního regulátoru při formování očí jak u octomilky, tak i u obratlovců, bylo jakýmsi prvním milníkem naznačujícím, že oči odlišné stavbou i vývojem mají společného více, než se původně myslelo. Objev blízké příbuzných a dokonce navzájem zastupitelných genů v roli ústředních regulátorů očního vývoje u octomilky

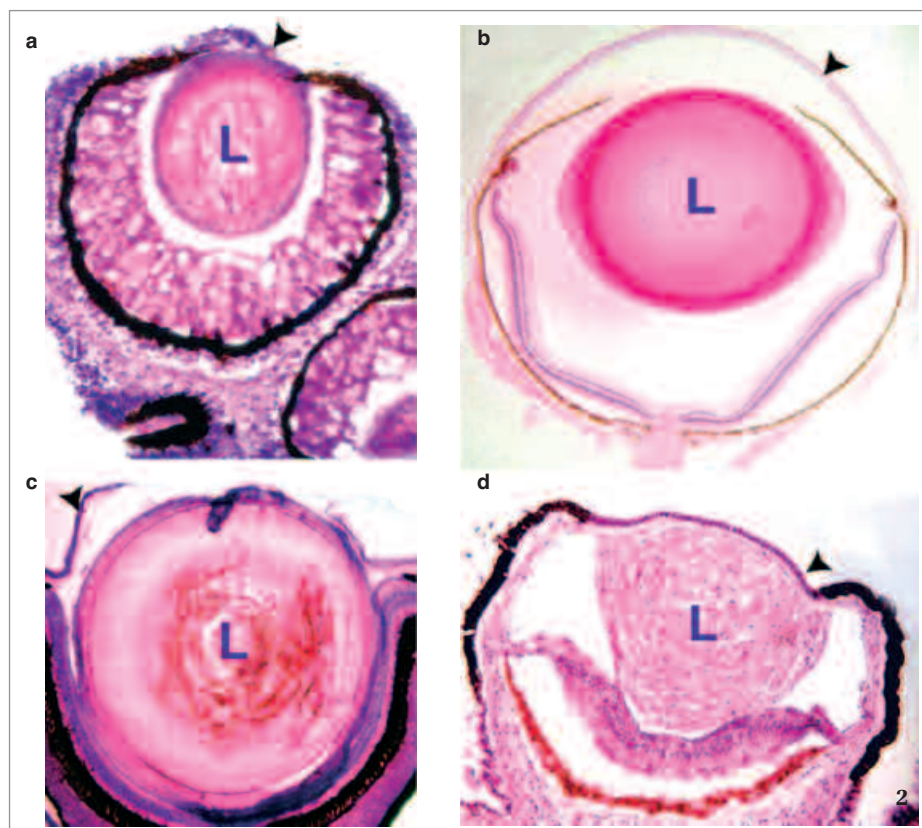
a obratlovců inicioval intenzivní bádání na poli molekulární biologie oční determinace.

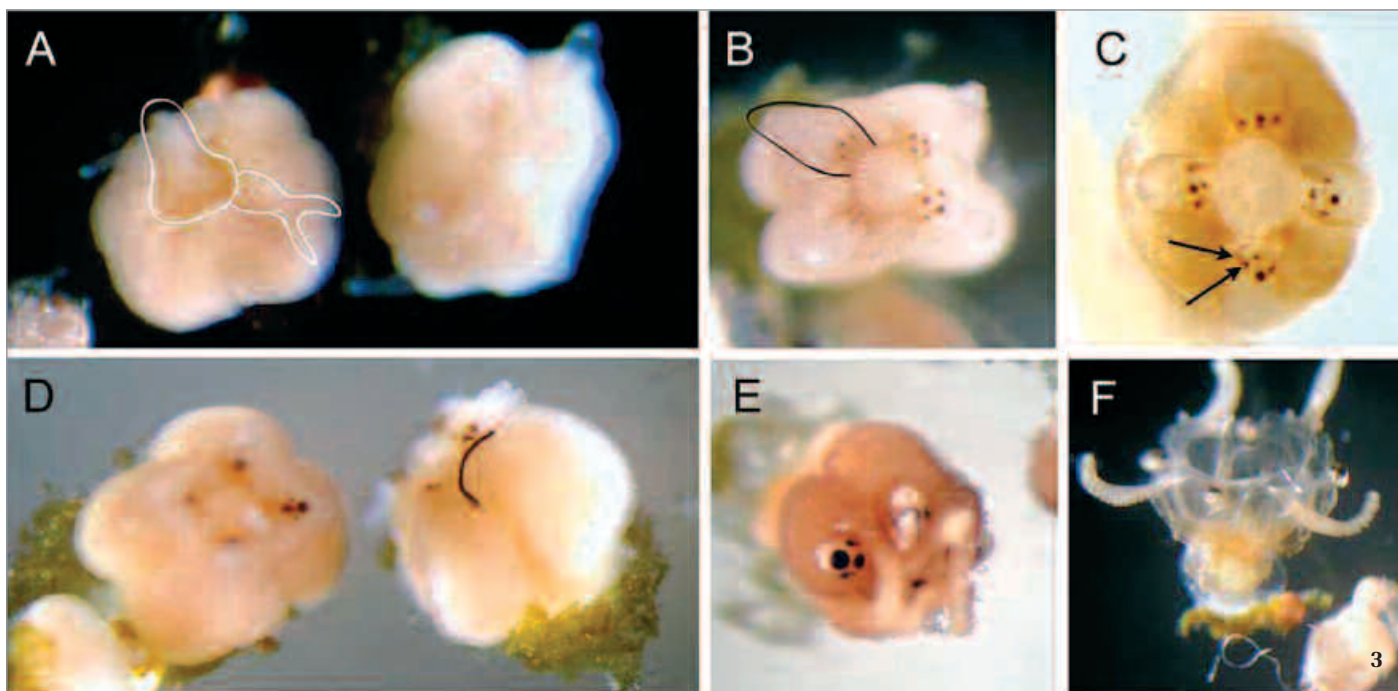
Výzkum u nejrůznějších organismů a následná srovnání nakonec odhalily, že relativně malá skupina transkripčních faktorů z několika genových rodin, mezi které patří např. *pax* (*eyeless*), *atonal* a *eyes absent* octomilky a jejich obratlovčí homology, režíruje vývoj očí většiny, ne-li všech živočichů vybavených očima. Analýza fotoreceptivních proteinů u různých organismů navíc ukázala, že opsin je univerzální pro všechny studované typy očí. Konzervativnost důležitých transkripčních faktorů a opsinu tak vedla k formulaci zcela opačné hypotézy, než byla dosavadní. Podle nové hypotézy se všechny současné oči vyvinuly z primitivního protoka vybaveného předchůdcem dnešních *pax* genů a opsinů.

Krok vpřed: oko s čočkou a rohovkou

Jak jsme si ukázali, čočka a rohovka zásadním způsobem vylepšily kvalitu oka a představují významný posun v evoluci. Jejich hlavní charakteristikou je průhlednost a refrakční síla (schopnost zalomit světlo směrem do oka). Proteiny přispívající k těmto vlastnostem a vyplňující čočky a rohovky se nazývají krystaliny. Lze je nejlépe definovat jako cytoplazmatické a ve vodě rozpustné proteiny hojné především v čočce (tvoří až 90 % suché hmoty čoček) a zodpovědné za jejich optické vlastnosti. Analýzy krystalinů z nejrůznějších čoček metodami molekulární biologie prokázaly, že zdaleka nejde o příbuzné proteiny, což ukázalo na nezávislý vznik čoček u mnoha druhů organismů. V kontrastu s univerzálním využitím opsinu jako světločivného pigmentu ve všech studovaných očích jsou krystaliny čoček rozmanité, často druhově specifické proteiny vyskytující se i v dalších tkáních. Dosud popsané krystaliny jsou nezdědká příbuzné proteinům teplotního šoku nebo proteinům účastnícím se oxidačně-redukčních pochodů. Např. ptačí krystalin ϵ je laktátdehydrogenáza, chobotnice ve své čočce využívá s-krystalin – modifikovanou glutathion-S-transferázu a hřebenatka má čočku i rohovku vyplněnou aldehyddehydrogenázou. Krystaliny se odvozuji z proteinů odolávajících stresovým podmínkám, jež musí v čočce vydržet v ne-

2 I když se oči nepříbuzných organismů často nápadně podobají, nemusejí mít na úrovni vývoje či použitých „stavebních materiálů“ mnoho společného. Příkladem jsou medúza čtyřhranka (a) a její oko vznikající dediferenciací svalových epitelů, myš (b) s okem vybaveným čočkou vznikající během embryogeneze zcela jiným způsobem a dokonce jinak než u dalšího obratlovce, ryby halančíka (c). Materiál čočky (proteiny uložené v buňkách), odlišný u každého ze zobrazených očí, poukazuje na nezávislý vznik čočky jako vylepšení oka v nejrůznějších vývojových liniích. Oko měkkýše hřebenatky (d), kde obraz zpracovává především zrcátko – oranžově se jevící vrstva buněk pod sítnicí. Písmeno L označuje pozici čočky, šipka pak rohovku.





změněné podobě, v některých případech po celou dobu života organismu. Studie krystalinů podporují obecný koncept strategie tzv. sdílení genu (gene sharing strategy), tedy využití jednoho proteinu kódovaného jedním genem k více účelům. Takový protein může mít dvě i více zcela odlišných funkcí, např. refrakční v čočce a katalytickou v jiné tkáni (ale např. i v čočce). Jde o příklad strategie, kdy protein získá novou funkci bez ztráty funkce původní, a to jednoduše změnou exprese genu (např. vznikem vazebného místa v promotoru genu, jež bude specifické pro transkripční faktory, jako je *pax-6*, důležité pro vývoj čočky). Sdílení genu lze považovat za evoluční strategii zvyšující využitelnost genomu bez zvyšování počtu genů prostřednictvím genových duplikací.

Fototransdukční kaskády a další zvrát

Opsin byl jako univerzální světločivný pigment nalezen ve všech doposud studovaných očích. Další výzkum však odhalil, že se extrémně liší jím iniciované fototransdukční kaskády. Již na morfologické úrovni můžeme odlišit dva typy fotoreceptorových buněk: ciliární fotoreceptory, které jsou typické především pro obratlovce, a fotoreceptory rhabdomerické charakteristické pro ostatní živočichy. Ciliární fotoreceptorové buňky (tedy mimo jiné i ty u člověka) mají kaskádu, která po konformační změně opsinu využívá G protein transducin jako aktivátor fosfodiesterázy, která následně rozkládá volné cGMP (cyklický guanosinmonofosfát) – ligand kanálu Na^+ v cytoplazmatické membráně, jehož úbytek vede k iontovým změnám a výsledné hyperpolarizaci buňky. Rhabdomerické fotoreceptory jsou závislé na odlišném typu G proteinu (Gq) a fosfolipáze C na místě fosfodiesterázy. Různí se i další členové této kaskády, která vede ke zvýšení membránového potenciálu a k depolarizaci buňky. Oba typy kaskád se liší i typem opsinu – v ciliárních fotoreceptorech obratlovců se vyskytuje c-opsin, v rhabdomerických receptorech r-opsin. Oba

typy kaskád mají jen málo společného: zcela nepříbuzné proteiny se podílejí na tvorbě druhých posílů (malé molekuly předávající a posilující signál z receptorů, např. cGMP, cAMP nebo ionty vápníku), také odlišných, změna membránového potenciálu je u obou kaskád opačná. Přeměna jedné fototransdukční kaskády v druhou se jeví jako nereálná, vyžadovala by změnu značného množství proteinů. Jak jinak vysvětlit rozdílné mechanismy detekce světla v očích obratlovců a bezobratlých, než že vznikaly nezávisle? Co v tomto kontextu znamená ona konzervace *pax* genů a jiných klíčových regulátorů vývoje oka mezi dalece nepříbuznými organismy? Řešení tohoto rozporu přineslo studium žahavce čtyřhranky trojitě (*Tripedalia cystophora*), jež se stala unikátním modelem pro studium evoluce očí.

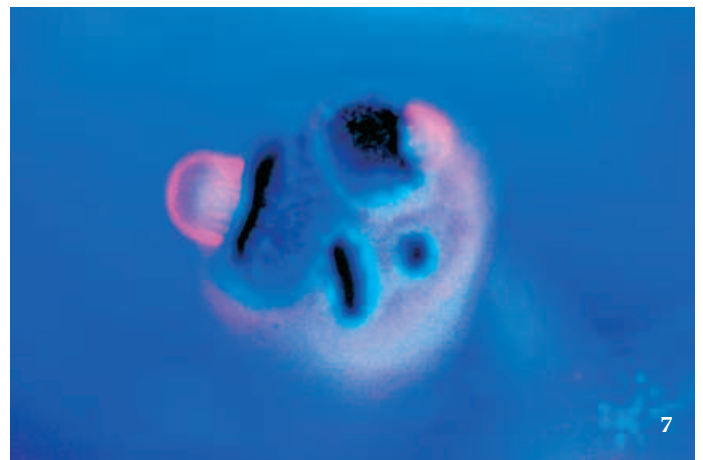
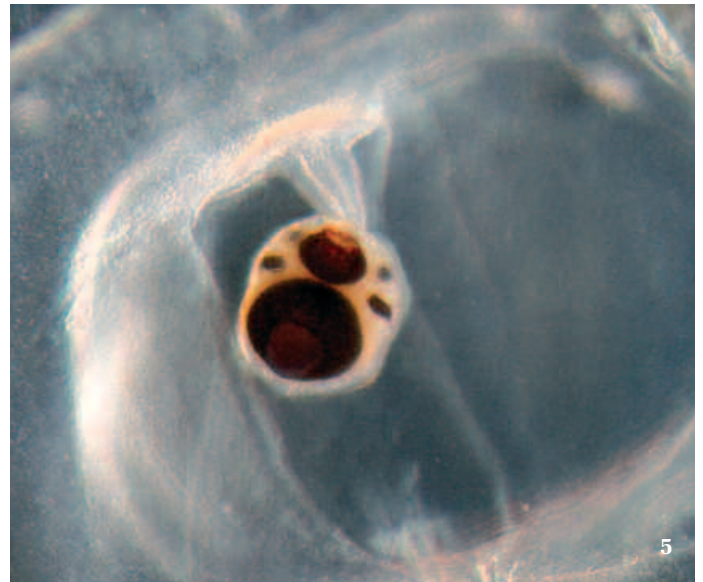
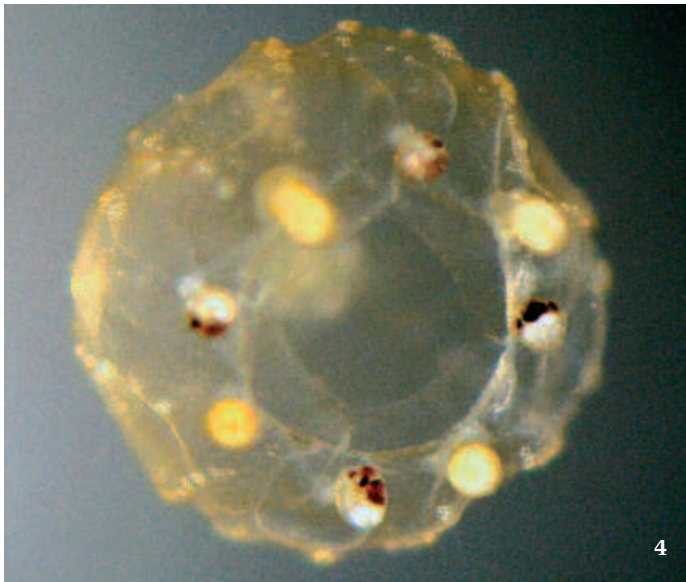
Chceme-li pochopit něco tak komplexního, jako je vznik a vývoj očí a nemůžeme-li se opírat ani o fosilní nálezy, je klíčové vybírat modely z co nejrůznějších vývojových větví. Pro studium původu očí je nedocenitelný kmen žahavců, který jako jediná sesterská skupina bilaterálně symetrických organismů vyvinul oko. Čtyřhranky jsou navíc žahavci jedineční v mnoha ohledech. Živí se aktivním lovem a pohybují se často v nebezpečném prostředí, v němž musí chránit svá křehká těla před nárazy. Jejich životní styl patrně souvisí se vznikem unikátního zrakového a rovnovážného orgánu – rhopalia, jež zahrnuje různé typy očí včetně komplexních očí s čočkou podobných očím obratlovců. Čtyřhranky se staly cenným nástrojem pro studium evoluce očí zejména díky skupině Zbyňka Kozmika z Ústavu molekulární genetiky Akademie věd ČR, v. v. i., která se úspěšně věnuje výzkumu vývoje a evoluce očí a mozku. Čtyřhranka trojitá, v dospělosti asi dvoucentimetrová medúza, střídá ve svém životním cyklu stadium larvy, polypa a již zmíněné medúzy. Larva přisedá a mění se v polypa, který za příhodných podmínek metamorfuje v mladou medúzu. Jde o komplikovaný proces, při kterém se uplatňuje dediferenciace

3 Unikátní proces metamorfózy polypa v mladou medúzu je u čtyřhranky spojen s vývojem rhopalium – zrakového orgánu s několika očima. Rhopalium vzniká přeměnou tkáně chapadel polypa (A), na jejichž bázi vzniká zduřina, kde se objevují nejprve základy očí – čtyři pigmentové skvrny (B), později šest (C). Ta se dále vyvíjejí mimo jiné v oči s čočkou (stadia D, E), které jsou již téměř plně dokončeny u medúzy připravené k uvolnění (F).

tkání: rhopalium vznikají z původně myoepiteliálních buněk (v podstatě svaloviny) polypa.

Rhopalium je oválného tvaru a nepřesahuje svými rozměry 1 mm. Šest očí tří odlišných typů a rovnovážný orgán statocysta se statolitem z bazanitu (hemihydrát síranu vápenatého) je uspořádáno symetricky podél vertikální osy rhopalium. Nejprimitivnější je tzv. jamkovité oko, které není vybaveno čočkou, následuje o něco větší štěrbinovité oko s náznakem čočky. Komplexní oči s buněčnou, téměř sférickou čočkou, která je dokonce vybavena gradientem refrakčního indexu, jsou umístěny nad sebou a obklopeny dvěma jamkovitými a dvěma štěrbinovitými očima. Čtyřhranky jsou živočichové symetrické podle čtyř os (tetaradiálně), jediná medúza má proto čtyři rhopalium, každé v jedné ze čtyř stěn zvonu.

Morfologické studie ukázaly, že fotoreceptorové buňky očí rhopalium plní i funkci stínících buněk. Jejich zadní část, odkud vybíhá nervový výběžek vedoucí vzruch (neurit), vyplňují granule se stínícím barvivem melaninem. Tato kombinace fotoreceptorové a stínící funkce může být původním (ancestrálním) stavem. Melanin je typický stínící pigment v očích obratlovců, zatímco bezobratlí obvykle využívají jiné typy pigmentů – ommochromy a pteridiny. Nález melaninu a genů kódujících proteiny nezbytné pro jeho syntézu u čtyřhranky ukázal na zajímavou podobnost jejich očí a očí obratlovců. Čeští vědci se intenzivně zabývali studiem genetických



stavebních bloků očí čtyřhranky a odhalili, že i její fototransdukční kaskáda je bližší obratlovcům – je založena na fosfodiesteráze a ciliárním typu opsinu. Jak jsme si vysvětlili, odlišnosti fototransdukčních kaskád obratlovců a ostatních živočichů jsou zásadní a nelze tak uvažovat o tom, že by se „obratlovčí“ kaskáda u čtyřhranek vyvinula druhotně. Objev ciliárního typu kaskády u žahavců tak upozornil na to, že společný předek žahavců a obratlovců musel mít k dispozici základy pro oba typy fotoreceptivních systémů, což ukazuje na společný evoluční původ obou typů kaskád. U žahavců byly posléze nalezeny a popsány další typy opsinů a fototransdukčních kaskád, což naznačuje, že u předků obou skupin existovala v tomto směru značná diverzita a různé typy opsinů spolu od začátku koexistovaly. U obratlovců byl jako primární světločivný pigment využit ciliární opsin i kaskáda, ostatní živočichové mají ve svých fotoreceptorech rhabdomerický typ. Ciliární opsin byl v posledních letech zjištěn i v mozku některých dalších bezobratlých (např. u kroužkovce *Platynereis*). Jeho využití ve fotoreceptorech obratlovců tak lze dávat do souvislosti s tím, že sítnice (fotoreceptivní vrstva) obratlovců vzniká z nervové tkáně budoucího mozku (povrchového neuroektodermu). Ukazuje se, že v oku obratlovců se dokonce uplatňují i rhabdomerické fotoreceptory, které daly vzniknout gangliovým buňkám, jež mají klíčovou funkci při zpracování obrazu.

Neexistuje přesvědčivější vysvětlení než to, že historie očí začíná u společného předka žahavců a bilaterálně symetrických živočichů, vybaveného předchůdci obou základních typů opsinů a jejich kaskád. Tento předek měl ve své výbavě zmíněné konzervované transkripční faktory nebo jejich předky, které plnily odlišné funkce, neboť je nalézáme nejen u žahavců, ale i u „nižších“ skupin, jako jsou živočišné houby, které žádné zrakové orgány nemají. Takovými transkripčními faktory jsou např. zástupci genové rodiny *Pax*, kteří byli pro své specifické vlastnosti opětovně odvozeni v různých liniích organismů jako jedni z hlavních regulátorů očního vývoje. V současnosti uznávaný model předpokládá, že pro realizaci dvou základních složek budoucího primitivního oka byly vybrány dvě nezávislé DNA vazebné domény jediného *pax* genu. Produkce stínícího pigmentu (pigmentační program) je kontrolována párovou doménou, zatímco produkce fotopigmentu (opsinový program) je řízena homeodoménou. Jakmile byla jednou transkripční regulační síť ustavena, tyto dva programy se staly prakticky neoddělitelnými.

Dostupná data tedy ukazují, že oči medúzy čtyřhranky, olihně, členovců i obratlovců nejsou výsledkem překotné konvergentní (souběžné, ale nezávislé) evoluce, ale evoluce paralelní, která byla založena na společné historii základních prvků a mechanismů ustanovených již během rané fáze evoluce mnohobuněčných organismů.

4 Přibližně 5 mm velká, několik dní stará medúza je již schopna aktivně vyhledat a pozítit milimetrovou larvu korýše, a to přestože má zatím pouze jednoduchá chapadla (patrná jako přívěsky ve čtyřech rozích medúzy). Brzy budou v každém rohu chapadla tři. Výrazně se třpytí statolity – část rhopalia, která jej udržuje ve správné poloze a nejspíš funguje i jako rovnovážný orgán.

5 Rhopalium je u čtyřhranek zavěšeno v sensorické dutině za stopku, kterou prochází jak vedení nervové, tak gastrovaskulární (výživa). Při pohledu zepředu je dobře patrné všech šest hnědých pigmentovaných očí. Nad sebou se nacházejí největší oko rhopalia, tzv. velké oko s čočkou a tzv. malé oko s čočkou. Obklopují je symetricky umístěné oči štěrbinovité a jamkovité.

6 a 7 Pohled na rhopalium z boku. Dobře patrné jsou dvě oči s čočkou a stopka, kterou je rhopalium připojeno ke zvonu medúzy. V rámci výzkumu zabývajícího se porovnáním komponent očí čtyřhranky s jinými známými modely, byla připravena protilátka specificky rozpoznávající čočkový protein, krystalin J2. Obr. 7 ukazuje barvení touto protilátkou (J2 krystalin je značen červeně, jádra jednotlivých buněk modře).

Všechny snímky K. Markové