

Stará tajemství nové hlavy obratlovců

Stará tajemství nové hlavy obratlovců

Robert Černý
robert.cerny@natur.cuni.cz

Katedra zoologie
Přírodovědecká fakulta
Univerzita Karlova v Praze
Viničná 7
128 44 Praha 2
Česká republika

© 2020 Robert Černý





PŘÍRODOVĚDECKÁ
FAKULTA
Univerzita Karlova

Stará tajemství nové hlavy obratlovců

habilitační práce

Mgr. Robert Černý, PhD.

2020

*Embryology is to me by far the strongest single class of facts
in favor of change of forms.*

C. Darwin (1860)

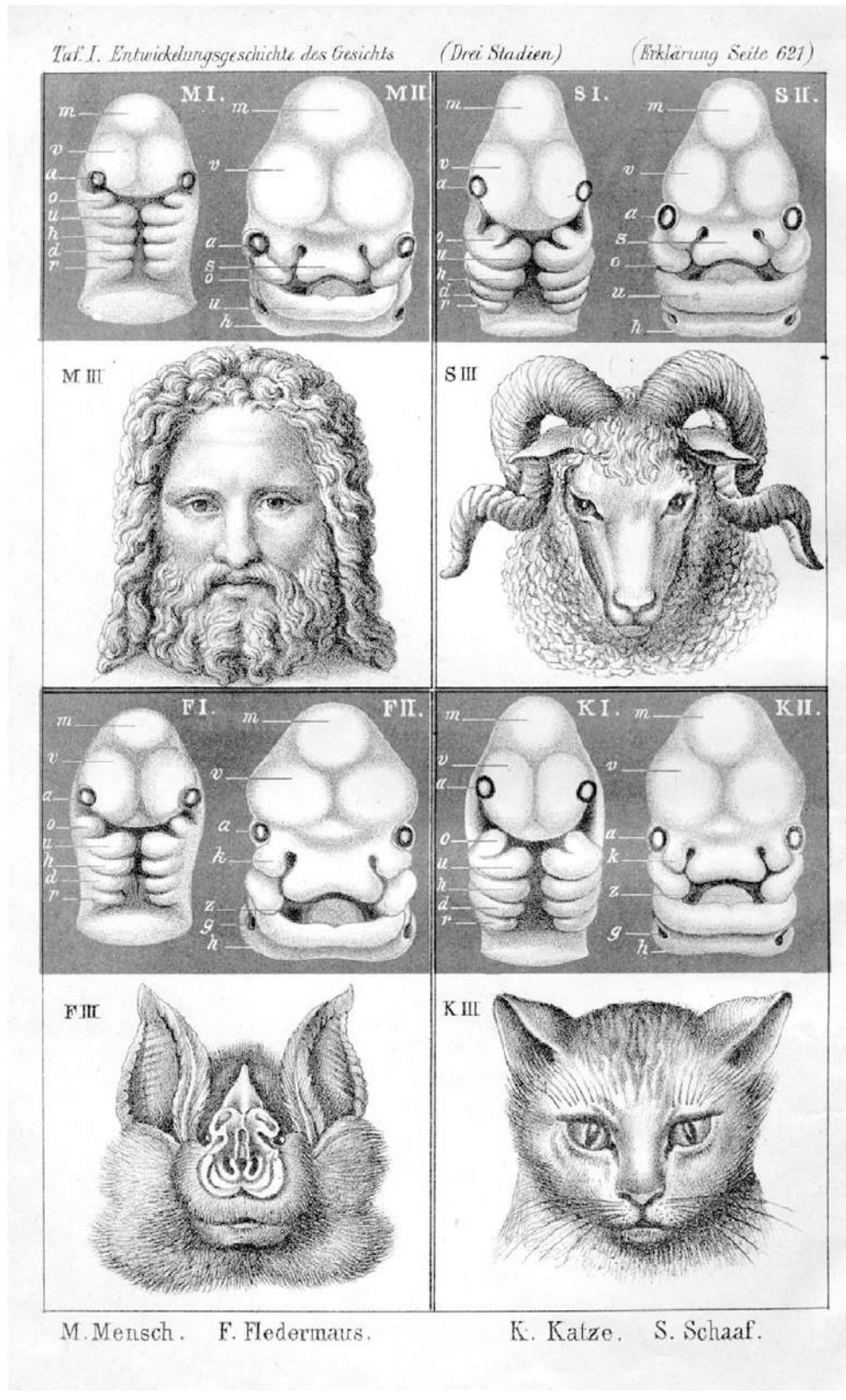
*The question whether the vertebrate head is segmented or not
was the origin of morphology itself.*

S. Kuratani (2003)

/na další straně/

Obr. 1: Odlišnosti adultních forem vznikají postupně během ontogeneze. Ikonografický obraz mnohoznačně otevírající témata této habilitační práce, jako je důležitost ontogeneze pro pochopení adultních forem a evoluce vůbec, či to, že kraniofaciální evoluce může být viděna jako změny morfogeneze buněk neurální lišty v kontextu signalizace epitelů orofaryngeální oblasti /viz dále/.

Ernst Haeckel (1874), *Antropogenie*; převzato z [1](#).



Obsah

Poděkování

Seznam publikací zařazených do habilitační práce

Úvod, aneb *jak čist* Stará tajemství nové hlavy obratlovců

My obratlovcí: Vertebrata/Craniata v kontextu Chordata & Deuterostomata

Neurální lišta: naše základní apomorfie & zdroj kraniofaciální diversity

Kraniofaciální evoluce & skeletogeneze hlavy obratlovců jako změna morfogeneze buněk neurální lišty

Oro-faryngeální komplex: rozhraní ektodermu & entodermu jako klíčový organizátor kraniofaciální evoluce

Stará tajemství nové hlavy obratlovců: před-ústní střevo jako archaický (spolu) organizátor Nové hlavy

Citovaná literatura

Poděkování

Tato habilitační práce vznikla z výsledků mého (téměř) 15-ti letého působení na katedře zoologie UK Praha. Děkuji všem svým studentům za inspirující prostředí naší laboratoře, všem studentům našich kurzů na UK Praha, a mnohým spolupracovníkům a dalším kolegům z katedry (a dalších ústavů) za inspiraci a radostné spolubytí na pracovišti.

Především tedy velice děkuji všem svým studentům, s nimiž jsem měl možnost diskutovat jejich témata, a spolupodílet se na jejich práci. Konkrétně se jedná o Vladimíra Soukupa, Martina Královiče, Lenku Fialovou, Martina Minaříka, Barboru Crkvovou, Jana Štundla, Marka Romáška, Simonu Macháčovou, Zuzanu Karpeckou, Lucii Kubickou, Annu Pospíšilovou, Terezu Matějkovou, Veroniku Truhlářovou, Kristýnu Markovou, Viktorii Psutkovou, Agatu Horáčkovou, Tomáše Suchánka a Lenku Píchovou. Z výše uvedených musím ještě vyzdvihnout Vladimíra Soukupa, Martina Minaříka a Jana Štundla, kteří se mnou vydrželi od svých bakalářských až po (již skončené) doktorské práce.

Dále bych rád s díky zmínil post-doky naší laboratoře (David Jandzík, Yosuke Yamazaki, Rolf Ericsson, Peter Fabián), a z mnoha dalších kolegů, s nimiž jsem měl tu čest spolupracovat, zde jmenovitě zmíním alespoň I. Horáčka s mnohými díky za zaučení do vědecké praxe, H.-H. Epperleina s díky za zaučení do praxe experimentální embryologie, a D. Medeirose s díky za zaučení do praxe molekulárních technik. Nakonec uctivě děkuji za finanční podporu mnoha zdrojů, a našim ne-modelovým organismům za jejich podivuhodná embrya a larvy.

Seznam publikací zařazených do habilitační práce

I.: Olsson, L., Ericsson, R. & **Cerny, R.** (2005): Vertebrate head development: Segmentation, novelties and homology.

Theory in Biosciences 124: 145-163.

II.: **Cerny, R.**, Horacek, I. & Olsson, L. (2006): The Trabecula cranii: development and homology of an enigmatic vertebrate head structure.

Animal Biology 56(4): 503-518.

III.: Epperlein, H.-H., Selleck, M.A., Meulemans, D., Mchedlishvili, L., **Cerny, R.**, Sobkow, L., Bronner-Fraser, M. (2007): Migratory patterns and developmental potential of trunk neural crest cells in the axolotl embryo.

Developmental Dynamics 236: 389-403.

IV.: Soukup, V., Epperlein, H.-H., Horacek, I. & **Cerny, R.** (2008): Dual epithelial origin of vertebrate oral teeth.

Nature 455: 795-798.

V.: **Cerny, R.**, Cattell, M., Spengler, T.S., Bronner-Fraser, M., Yu, F. & Medeiros, D.M. (2010): Evidence for the prepattern/cooption model of vertebrate jaw evolution.

Proceedings of the National Academy of Sciences 107(40): 17262-17267.

VI.: Fraser, G.J., **Cerny, R.**, Soukup, V., Bronner-Fraser, M. & Streelman, J.T. (2010): The Odontode Explosion: The origin of tooth-like structures in vertebrates.

BioEssays 32: 808-817.

VII.: Cattell, M., Lai, S., **Cerny, R.** & M.Medeiros, D. (2011): A new mechanistic scenario for the origin and evolution of vertebrate cartilage.

PLoS One 6(7)e22474.

VIII.: Soukup, V., Horacek, I., & **Cerny, R.** (2013): Development and evolution of vertebrate primary mouth.

Journal of Anatomy 222: 79-99.

IX.: Jandzik, D., Hawkins, M., Cattell, M., **Cerny, R.**, Square, T & Medeiros, D. (2014): Roles for FGF in lamprey pharyngeal pouch formation and skeletogenesis highlight ancestral functions in the vertebrate head.

Development 141: 629-638.

X.: Square, T., Jandzik, D., Romasek, M., **Cerny, R.** & Medeiros, D (2017): The origin and diversification of the developmental mechanisms that pattern the vertebrate head skeleton.

Developmental biology 427: 219-229.

XI.: Minarik, M., Stundl, J., Fabian, P., Jandzik, D., Metscher, B.D., Psenicka, M., Gela, D., Osorio-Pérez, A., Arias-Rodriguez, L., Horáček, I. & **Cerny, R.** (2017): Pre-oral gut contributes to facial structures in non-teleost fishes.

Nature 547: 209-212.

XII.: Stundl, J., Pospisilova, A., Jandzik, D., Fabian, P., Dobiasova, B., Minarik, M., Metscher, B.D., Soukup, V. & **Cerny, R.** (2019): Bichir external gills arise via heterochronic shift that accelerates hyoid arch development.

eLife 8: e43531.

Úvod,

aneb *jak číst* Stará tajemství nové hlavy obratlovců

My obratlovci (*Vertebrata*, resp. *Craniata*) se lišíme od našich nejbližších příbuzných nejen páteří složenou z obratlů (*vertebrae*), ale především tím, že máme unikátní, specializovaný a značně komplexní útvar - hlavu (*cranium*). Na hlavě z nemalé části stojí a leží evoluční úspěch naší linie, neboť hlava je bezesporu našim centrálním orgánem bytí, který zosobňuje jedno z vyvrcholení evolučních tendencí dvoustranně symetrických živočichů k vytváření předního, tedy hlavového konce těla. Hlava obratlovců však právě díky komplexitě svého složení a komplikovanosti vývoje představuje odjakživa nemalou vývojovou i evoluční hádanku. Tato habilitační práce vykazuje, že starobylé téma bauplánu hlavy obratlovců, neboli téma vývojových principů kraniofaciální diversity - jak by se hodilo říci ve vrcholící době evo-devotické - neztratilo nic ze své přitažlivosti či důležitosti ani po téměř dvou staletích intenzivního průzkumu.

Otázky ohledně vzniku a metamerického uspořádání hlavy obratlovců patří k centrálním problémům biologie a morfologie již od dob Johanna Goetha či Lorenze Okena. Jejich paradigmatický nálezy lebky rozpadající se na stereotypní obratle (paralelní & vědecký objev *par excelance*, srv. [Horáček, 2016](#)) vedl ke všeobecně známým segmentalistickým stavebním plánům hlavy obratlovců. Tyto představy jsou výstižně před-zosobněné idealistickým *archetypem* Richarda Owena, kde celý obratlovec není než modifikované, seriálně uspořádané obratle. Ještě předtím než byly tyto modely uniformně metamerického bauplánu obratlovců po(s)tupně opuštěny, dovedly srovnávací a morfologické obory k obrovskému rozkvětu, který bývá označován za zlatý věk morfologie (*viz též Obr. 1*).

První publikace zařazená do této habilitační práce pojednává právě o segmentalistických bauplánech hlavy a lebky obratlovců převážně z historických perspektiv (*I.*). Tato publikace vznikla ve spolupráci se dvěma kolegy z univerzity v Jeně (*Dr. Rolf Ericsson, Prof. Lennart Olsson*) a shrnuje některá naše starší data. Druhá, taktéž souhrnná publikace zařazená do této habilitační práce se věnuje embryonální podstatě kompozitního složení hlavy, a vychází z našich diskusí s *prof. Ivanem Horáčkem* (UK, Praha) a *prof. Olssonem* (Uni Jena) (*II.*). Z této publikace je také převzatý (převzatý) klasický a v zásadě segmentalistický model evoluční transformace starobylých skeletálních elementů žaberní oblasti v chrupavčitý obal mozku nové hlavy obratlovců (*Obr. 2*), který bude dále rozpracován v poslední kapitole o starých bauplánech v nové hlavě obratlovců.

Diskuse v této druhé publikaci o úrovních homologie mezi jednotlivými segmenty hlavy předznamenávají paradigmatickou změnu, technicky zprostředkovanou nesmírným rozvojem molekulární a vývojové biologie v nedávné minulosti. Následný posun od popisnosti srovnávací morfologie k experimentálním analýzám vývojových principů ukázal, že primárním zdrojem specifik bauplánu obratlovců jsou unikátní modifikace embryogeneze. Modernistický model tzv. Nové hlavy obratlovců tak zdůrazňuje inovativní roli nových tkání - především buněk neurální lišty a plakod - při zakládání stavebního plánu hlavy obratlovců. Naše Nová hlava již tedy není viděna jako pouhé pokračování uniformního metamerního bauplánu trupu, ale jako důsledná apomorfie, která vznikla díky celkovostní regulaci

zcela nových tkání, které starý archetypální rozvrh převrstvují a přepracovávají. Neurální lišta (a epidermální plakody) jsou často označovány za čtvrtou zárodečnou vrstvu nás obratlovců, neboť představují zdroj téměř všech unikátních buněčných typů a tkání, které zakládají naši (kraniofaciální) rozrůzněnost, a náš evoluční úspěch. Kraniogeneze vedená těmito unikátními buněčnými populacemi tak beze sporu představuje hlavní emancipační událost evoluce obratlovců. A naopak, procesy zdomácnění, vedoucí k opakovaným a stereotypním změnám zvláště v kraniofaciální oblasti, mohou být nahlíženy jako poruchy či malformace proliferace a vývojové morfogeneze (převážně) buněk neurální lišty.

S buňkami neurální lišty jsem pracoval již během svého doktorského studia, a to převážně na axolotlovi (*Ambystoma mexicanum*) (Cerny et al., 2004a,b, Ericsson et al., 2004, Epperlein et al., 2007). Další publikace zařazené do této habilitační práce vycházejí z analýz biologie buněk neurální lišty na embryích axolotla, mihule mořské (*Petromyzom marinus*) a drápatky (*Xenopus laevis*). Tato sekce začíná článkem zkoumající migraci buněk neurální lišty v trupu axolotla, která vznikala ještě za mého působení na TU Dresden v laboratoři Dr. Epperleina (III.). Další čtyři publikace (V., VII., IX. & X.) vznikaly díky mé následné spolupráci s Danielem M. Medeiros na Kalifornské technologické univerzitě v Pasadeně a později na jeho domovské Coloradské univerzitě v Boulderu. Při řešení některých těchto srovnávacích analýz bezčelistnatých a čelistnatých obratlovců mají zásadní podíl i další členové naší pražské laboratoře Mgr. Marek Romášek a Dr. David Jandzík, kteří oba pracovali taktéž na CU Boulder (IX. & X.). Tato sekce začíná článkem představující nový evolučně-vývojový model vzniku čelistí obratlovců (V.), a končí recentní souhrnnou publikací o evolučním původu a diverzifikaci vývojových mechanismů, které paternují skelet hlavy obratlovců (X.). Téma morfogeneze buněk neurální lišty a jejich signálních interakcí s dalšími tkáněmi během vývojové morfogeneze a evoluce kraniofaciálních struktur je pro tuto habilitační práci klíčové. Toto téma je teoreticky rozpracované již ve druhém příspěvku na příkladu trabekuly ve smyslu integrace starého faryngeálního elementu v element nové hlavy (II.), a dále konkrétně rozvedené v příspěvku o vzniku čelistí (V.), chrupavky (VII.), a zubů obratlovců (VI.).

Konečně, nová hlava obratlovců je vystavěna na starém bauplánu našich strunatčích a deuterostomátních předků, jehož základní synapomorfii je oro-faryngeální komplex s žaberními výchlipkami. Toto důležité embryonální rozhraní ektodermu s entodermem slouží jako signální organizátor s nesmírným adaptivním významem pro evoluční modifikace druhoústých skupin, jakožto i pro vlastní kraniofaciální morfogenezi nás obratlovců. Další tři publikace zařazené do této habilitační práce prozkoumávají vývojovou dynamiku primárních epiteliálních zárodečných vrstev, ektodermu s entodermem, v kontextech morfogeneze, plasticity a evolvability kraniofaciálních struktur (IV., VI. & VIII.). Prvním příspěvkem v této sekci je práce mého vůbec prvního studenta a doktoranda Vladimíra Soukupa, který detailně popsal morfogenezi orální oblasti axolotla, a odhalil podivuhodné odlišnosti v časných interakcích ektodermu s entodermem (IV.). Zajímavou konsekvencí formování úst axolotla je unikátní embryonální původ orálních zubů ze smíšených primárních zárodečných vrstev, což vedlo k odmítnutí některých tehdejších představ o podvojně evoluci orální dentice obratlovců. Nás tato zkoumání postupně zavedla k systematickému studiu dynamiky ektodermu s entodermem během vzniku primárních úst u všech skupin obratlovců (VIII.), a k sepsání dalšího review o

důležitosti těchto epiteliálních interakcí s buňkami neurální lišty pro plasticitu a evolvabilitu kraniofaciálních struktur obratlovců, resp. zubů a dentice (VI).

Poslední dvě publikace této sekce a celé habilitační práce vznikly díky rozšíření zájmu naší laboratoře o bichiry, jesetery a kostlínny. Tyto tzv. bazální linie paprskoploutvých ryb mají - jak vidno dále - značnou vypovídající hodnotu pro pochopení mnoha starých tajemství evoluce (nejen hlavy) obratlovců. První publikace se týká (znovu)objevení starobylé faryngeální domény v pre-mandibulární části vznikající hlavy obratlovců (XI). Toto tzv. před-ústní střevo popsal ve své práci můj druhý doktorand *Martin Minařík*, který tuto doménu identifikoval v rané embryogenezi afrických bichirů, amerických kostlínů a evropských jeseterů, kteří tak představují vývojově vůbec nejprimitivnější obratlovce. Tato unikátní srovnávací analýza, na které se podíleli další členové naší laboratoře (*Dr. Jan Štundl*, *Dr. Peter Fabián*, a *Dr. David Jandzík*) také poukázala na možné příčiny redukce této domény u většiny linií současných obratlovců. Vlastně ani nepřekvapí, že klíčem k pochopení starobylosti studovaných skupin jsou jejich volně žijící larvální stadia, připomínající larvy praobratlovců, které však drtivá většina obratlovců ztratila. Existence před-ústního střeva bude na konci této dizertační práce představena v kontextu klasických hlavových bauplánů, kde tato doména představuje ono staré tajemství naší nové hlavy, tedy pozůstatek prastarých faryngeálních metamerních principů zavzatý do kraniofaciálního vývoje Nové hlavy obratlovců.

Druhá publikace čerpající z našich unikátních srovnávacích dat pojednává o vývoji a homologii vnějších žaber larev bichira (XII). Tato publikace umně propojuje výsledky práce mnoha studentů naší laboratoře (*Dr. Jan Štundl*, *Mgr. Anna Pospíšilová*, *Dr. David Jandzík*, *Dr. Peter Fabián*, *Mgr. Bára Crkvová (Dobiášová)*, *Dr. Martin Minařík*, a *Dr. Vladimír Soukup*), a probíraným tématem vkusně uzavírá okruh zájmů této habilitační práce. Pojednává totiž o (překvapivě) urychlené a masivní migraci druhého (hyoidního) proudu buněk neurální lišty, která společně s akcelerovaným vývojem hyoidní (operkulární) žaberní výchlipky utváří vývojový základ morfogeneze vnějších žaber volně žijících embryí a larev bichira. Tyto vývojové charakteristiky jsou natolik unikátní, že jasně argumentují proti homologii s vnějšími žábry larev jiných obratlovců, které typicky představují metamericky branchiální struktury se značně odlišnou morfogenezí. Tato evo-devo publikace tedy pojednává o vývojových principech kraniofaciální diversity, řeší metamerické uspořádání a následně homologii struktur hlavy obratlovců, a zahrnuje jak unikátní biologii buněk neurální lišty, tak i procesy faryngeální morfogeneze. Vše v jednom, dalo by se říci. Jak vidno, použitý evo-devo přístup a široký srovnávací kontext slibuje do budoucna zpřístupnění mnoha dalších otázek.

/na další straně/

Obr. 2: Evoluční model transformace výztuh (staré) žaberní oblasti ve skeletální element chránící přední část (nové) hlavy, resp. lebky obratlovců. Převzato z II.

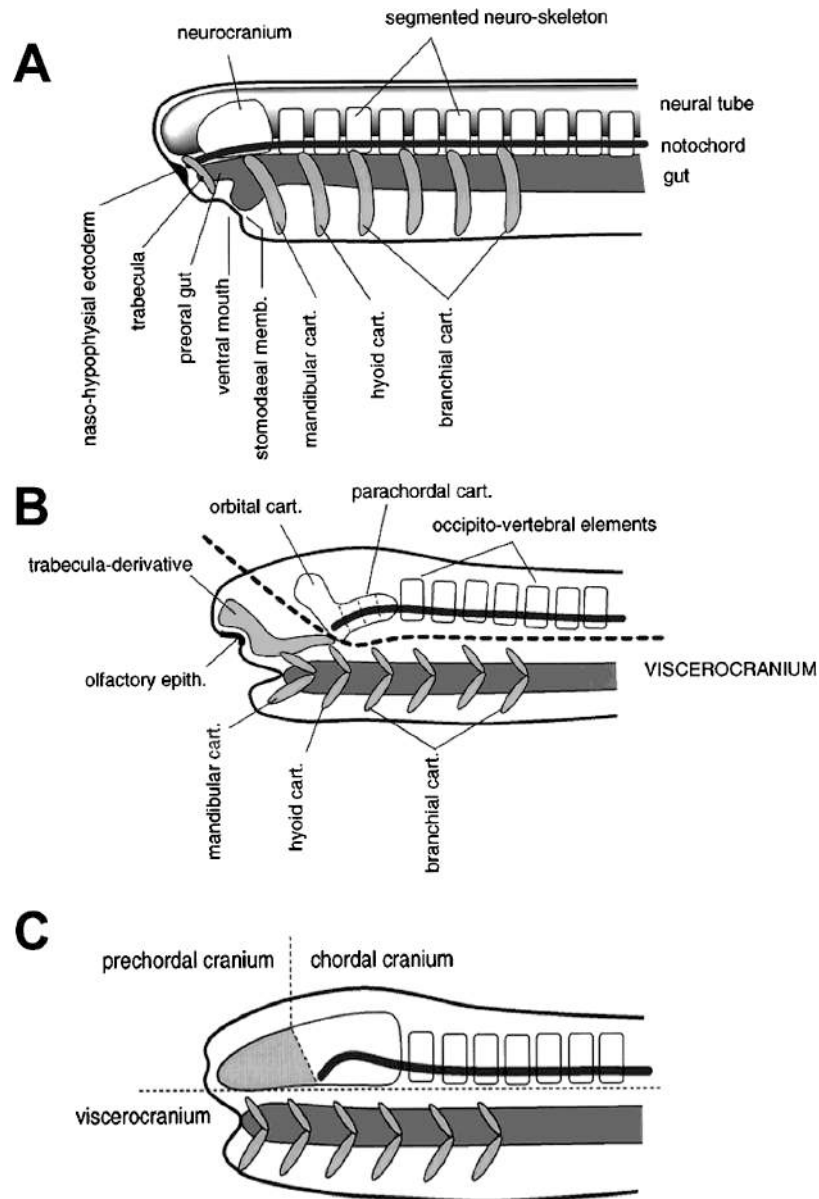


Figure 3. Evolutionary hypothesis explaining the trabecular cartilage as a viscerocranial element. **A:** An ancestral state: the trabecula comprises an anterior visceral arch structure being topographically in a pre-oral position. **B:** During the course of evolution, the trabecula enlarged to protect the anterior brain and subsequently become integrated into the neurocranium. The thick dotted line indicates the border between neural crest-derived viscerocranium (light gray) and mesoderm-derived chondrocranium (white). **C:** The resulting morphological plan of the vertebrate skull consists of dorsal neurocranium and ventral viscerocranium; however, the prechordal cranium is neural crest-derived whereas the chordal cranium is mesoderm-derived. Based on Kuratani et al. (1997).

My obratlovci:

Vertebrata/Craniata v kontextu Chordata & Deuterostomata

My obratlovci jsme vznikli v době tzv. Kambrické exploze před více než 500 mil. let a od té doby jsme se vyvinuli v druhově nejbohatší, a geograficky nejrozšířenější skupinu druhoústých živočichů (kupř. [Janvier, 1996](#), [Kardong, 2014](#), [Satoh, 2016](#)). Tělní plán nás obratlovců je vystavěn na zásadních přeměnách především přední části těl našich strunatčích prapředků, které primárně zahrnují propracovanou část nervové trubice tvořící mozek, kraniofaciální skeleton, reorganizace faryngu a vznik nových senzorických systémů (kupř. [Gans & Northcutt, 1983](#), [Northcutt & Gans, 1983](#), [Northcutt, 2005](#), [Schlosser, 2005](#)).

Za archetypální morfotyp předka obratlovců byl klasicky považován bezlebečný kopinatec (Cephalochordata), který je tak tedy *hned po člověku nejzajímavějším živočichem*, jak se (prý) vyjádřil (sám) Ernst Haeckel. Kopinatec je volně žijící, dvoustranně symetrické stvoření, pohybující se díky struně hřbetní, a živící se filtrací mnohočetně perforovanou faryngeální oblastí. Kopinatec je celkovostně segmentovaný díky blokům metamerně uspořádané svaloviny, které vznikají jako coelomové váčky embryonálně vyštěpované z prvostřeva. Tato mesodermální segmentace, která obepíná tělo kopinatce po celé délce, tvoří jakýsi embryonálně-evoluční předobraz známého Owenova archetypu obratlovce jako plně metamerního živočicha sestávajícího (primárně) z mesodermálních obratlů. Kopinatec tedy po léta paradigmaticky stál v centru zájmu práce evolučních morfologů a "fylo-embryologů" (srv. [Horder, Presley, Slipka, 2010](#)), s čímž také souvisela jeho pozice sesterské linie k nám obratlovcům (srv. Euchordata), zatímco pláštěnci (Tunicata) byli považováni za bazální linii v rámci strunatců (Chordata) (kupř. [Gee, 1996, 2006](#)).

Pokroky v molekulární fylogenetice však nověji jasně podpořily alternativní a donedávna nepředstavitelnou evoluční historii kmene strunatců, kde sesterské skupiny tvoří obratlovci a pláštěnci (srv. [Olfactores](#)), zatímco kopinatci představují bazálně odštěpenou skupinu (kupř. [Delsuc et al., 2006](#), [Putnam et al., 2008](#)). Evoluční hypotéza [Olfactores](#) implikuje, že pláštěnci sekundárně ztratili dříve tak analyticky ceněné znaky jako segmentaci či coelom, a nejnověji je (jaksi paradigmaticky a až samozřejmě, chtělo by se říci) také podporována sdílenou přítomností multipotentních buněk pra-typu plakod a neurální lišty. Pláštěnci tak mají jak pigmentové buňky, tak i specializovaný typ neuronů, embryonálně vznikající kolem neurální trubice, a mající nemalý migratorní potenciál ([Jeffery et al., 2004](#), [Abitua et al., 2012](#), [Stolfi et al., 2015](#)). Tělní plán kopinatce však na rozdíl od pláštěnců a obratlovců neobsahuje žádné buňky s charakteristikou podobnou té neurální liště, ač se jeho hledání věnovalo mnoho úsilí (kupř. [Gee, 1996](#), [Holland & Holland, 2001](#), [Horder, Presley, Slipka, 2010](#)). Pravé buňky */bona fide/* neurální lišty jsou však přítomny pouze u obratlovců a jak bude argumentováno dále, právě na plném využití vývojové potence neurální lišty stojí evoluční úspěch nás obratlovců.

Neurální lišta:

naše základní apomorfie & zdroj kraniofaciální diversity

Buňky neurální lišty vznikají pouze v poměrně krátkém časovém období rané embryogeneze obratlovců, kdy jsou již založeny všechny tři klasické zárodečné vrstvy, ektoderm, entoderm i mesoderm, a kdy na budoucí hřbetní straně embrya dochází ke vzniku neurální trubice. Z jejího nejbližšího okolí pocházejí buňky, které po indukci z okolních tkání přebudovávají svůj cytoskeletální aparát, vymaňují se ze sevření svých usedlých epiteliálních kolegů a začínají migrovat do periferie (kupř. *Le Douarin & Kalcheim, 1999, Santagati & Rijli, 2003, Morales et al., 2005*). Tyto volné mezenchymatické buňky mají nevídaný diferenciační potenciál, neboť jsou schopny tvořit přes dvacet odlišných buněčných typů (kupř. *Hall, 1999, Hall, 2000, Hall & Gillis, 2012*).

Zatímco v trupu obratlovců migrují buňky neurální lišty jednotlivě, v zásadě skrytě a vytvářejí (především) pigment a periferní nervstvo (*III.*), hlavová neurální lišta produkuje značně mohutné migratorní buněčné proudy, které primárně tvoří multipotentní mezenchym (kupř. *Minoux & Rijli, 2010, Theveneau & Mayor, 2012*) (*Obr. 3*). Tento rozdíl v migrační patrnosti neurální lišty v trupové vs. hlavové části dobře vykresluje, jak zásadní je příspěvek buněk neurální lišty pro následnou morfogenezi (téměř všech) našich hlavových tkání. Buňky neurální lišty jsou zdrojem hlavového mezenchymu a škáry, tvoří kost, zuby, chrupavku, pigmentové buňky, či mnoho odlišných typů podpůrných neuronů. a také většinu periferního nervového systému (kupř. *Noden, 1991, Couly et al., 1993, Le Douarin et al., 2004*). Mesenchym původu neurální lišty dává vznik i úponům hlavových svalů (kupř. *Ericsson et al.,*

Obr. 3: Charakteristická migrace buněk hlavové neurální lišty ve třech proudcích.
Převzato z *X*.

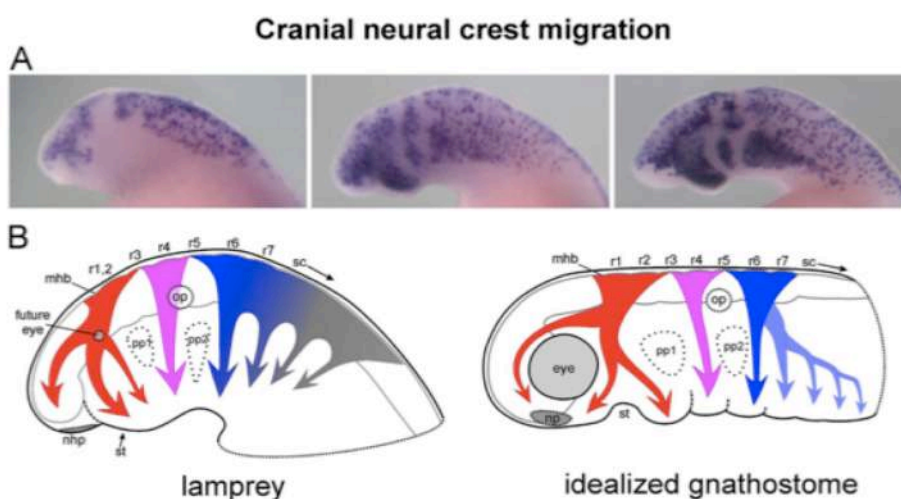
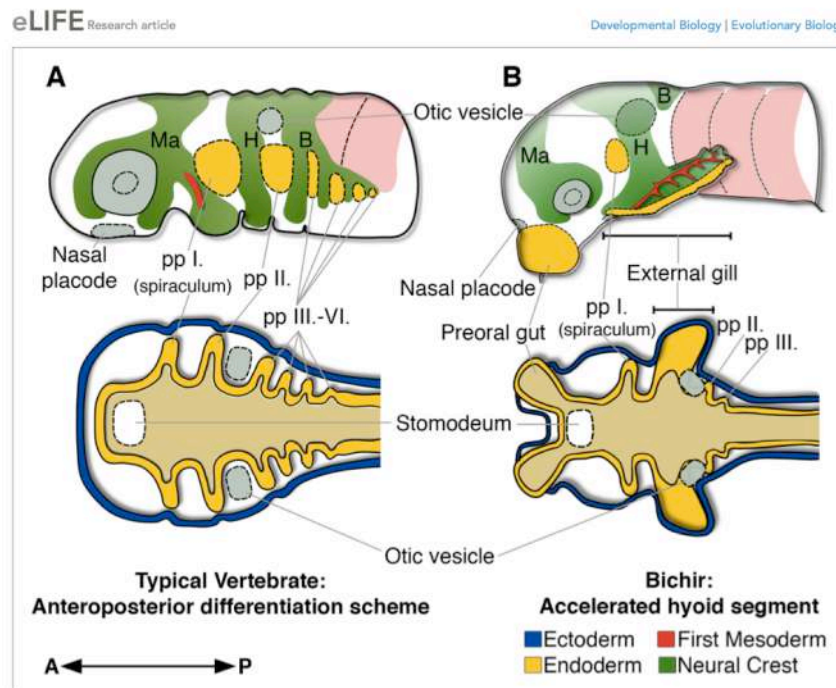


Fig. 2. Vertebrate cranial neural crest migration occurs as three topographically conserved streams. (A) Left lateral views of early pharyngula stage lamprey embryos (*Petromyzon marinus*; Tahara stage 21–23 (Tahara, 1988)) stained via *in situ* hybridization for *ednrB* transcripts (see Square et al., 2016 for a broader staging series of *ednrB* *in situ* hybridizations). This gene marks migratory skeletogenic cranial neural crest, among other neural crest derivatives. (B) A cartoon of early cranial neural crest migration in lamprey and an idealized gnathostome. The three homologous populations of CNCs are indicated by different colors (red, pink, and blue); the sub-arrows within each of these streams are meant to depict general directions of cell migration, but do not explicitly indicate stream subdivisions. Each uniquely colored stream is molecularly defined by *hox* expression (see text). The 3rd stream in lamprey appears to have some contribution from the trunk (sc, spinal cord; see text); this is partially colored gray. The posteriormost arches of the gnathostome are slightly transparent to indicate that these splitting events occur after the population of cells is already moving ventrally (a process coincident with pharyngeal pouch formation [see text]). An outline of the brain is shown in gray. mhb, midbrain/hindbrain boundary; nhp, nasohypophyseal plate; np, nasal placode; op, otic placode; pp1 and pp2, pharyngeal pouches 1 and 2; r1–7, rhombomeres 1–7; sc, spinal cord; st, stomodaeum.

2004), což umožňuje jejich společnou evoluci se skeletem.

Buňky neurální lišty navíc přinášejí do periferie embrya předozadní identitu, kterou obdržely z místa svého vzniku z jednotlivých neuromer primitivní neurální trubice. Tuto poziční informaci pak dále roznášejí během své migrace, čímž zajišťují integritu jednotlivých segmentů vznikajícího embrya (kupř. *Kuratani & Eichele, 1993, Köntges & Lumsden, 1996, Trainor & Krumlauf, 2001*). U axolotla (*Cerny et al., 2004a*) se proudy buněk neurální lišty během své migrace chovají jako kompaktní buněčná masa, která se nejdříve převalí přes vznikající neurální trubici, dále pokračuje přes mezoderální tkáň, by nakonec dorazila k faryngeálním obloukům, kde kondenzující mezenchymatické buňky vytvářejí základy skeletu (*Cerny et al., 2004b*). První (trigeminální) proud neurální lišty dodává buňky tzv. mandibulárnímu segmentu, zahrnující celou přední část hlavy a obústní prostor, zatímco druhý (preotický) proud definuje hyoidní segment a buňky třetího (postotického) proudu neurální lišty okupují branchiální oblouky. Charakteristická migrace hlavových proudů buněk neurální lišty v předozadním směru je obecně považována za stereotypní a velice konzervativní, a to dokonce i mezi embryi čelistnatých a bezčelistnatých obratlovců (*Obr. 3*). Práce autorů z naší laboratoře však překvapivě ukázala urychlenou a masivní migraci druhého (hyoidního) proudu buněk neurální lišty u embryí bichira, která společně s akcelerovaným vývojem hyoidní (operkulární) žaberní výchlípku utváří vývojový základ morfogeneze vnějších žaber volně žijících embryí a larev bichira (*Obr. 4*). Výsledky práce Dr. Jana Štundla dokonce naznačují, že vývojová akcelerace hyoidního proudu buněk neurální lišty může představovat společnou charakteristiku (minimálně) všech paprskoploutvých ryb, spojenou se vznikem hyoidních (operkulárních) dýchacích struktur.

Obr. 4: Unikátní akcelerace hyoidní metamery embryí bichira. Převzato z *XII*.



Skeletogeneze hlavy obratlovců & kraniofaciální evoluce jako změna morfogeneze buněk neurální lišty

Obrovský evoluční úspěch nás obratlovců také zjevně souvisí se vznikem a značnou evolvabilitou skeletálních tkání, elementů a struktur (X). V hlavě obratlovců vzniká většina složek kraniofaciálního skeletu z migrujících buněk neurální lišty, které postupně ztrácejí svou multipotentnost, až nakonec kondenzují na místě svého určení (kupř. *Bronner-Fraser & Fraser, 1988, Le Douarin & Dupin, 2003, Hall & Gillis, 2012*). Během migrace a po vstupu do oro-faryngeální oblasti přicházejí buňky neurální lišty do kontaktu s molekulárními signály z rodin jako jsou BMP, FGF, EndR, RA, či Hh, které obecně regulují jejich proliferaci, diferenciaci a následnou morfogenezi (kupř. *Santagati & Rijli, 2003, Richman & Lee, 2003, Minoux & Rijli, 2010*). Jednotlivé subpopulace kraniofaciálního mezenchymu jsou dále přesně definovány překrývajícími se doménami exprese transkripčních faktorů jako jsou *Alx*, *Hand*, *Msx*, či *Prrx*, které fungují společně s *Hox*-kodem určující identitu na předozadní, a *Dlx*-kodem na dorzo-ventrální ose. Tento "kombinatorický kód" funguje (vlastně trochu překvapivě) velice podobně u recentních bezčelistnatých i čelistnatých obratlovců (Obr. 5.), a srovnávací analýza těchto molekulárních patrností či modulů obecně umožňuje detailní pochopení formování hlavového skeletu jednotlivých linií obratlovců (srv. *V., VII., IX., X.*).

Evolučně-vývojové analýzy kraniofaciálního paternování odhalují, které komponenty těchto kombinatorických kódů jsou starobylé, které jsou odvozené, a mohou tak být identifikovány změny přepojení genetických regulačních sítí, zodpovědné za kraniofaciální evoluci. Příkladem takové makroevoluční změny, která byla bezesporu zásadní pro evoluci obratlovců, je vznik čelistí z elementů výztuh

Obr. 5: Kombinatorický expresní kód skeletogeneze hlavy obratlovců. Převzato z X.

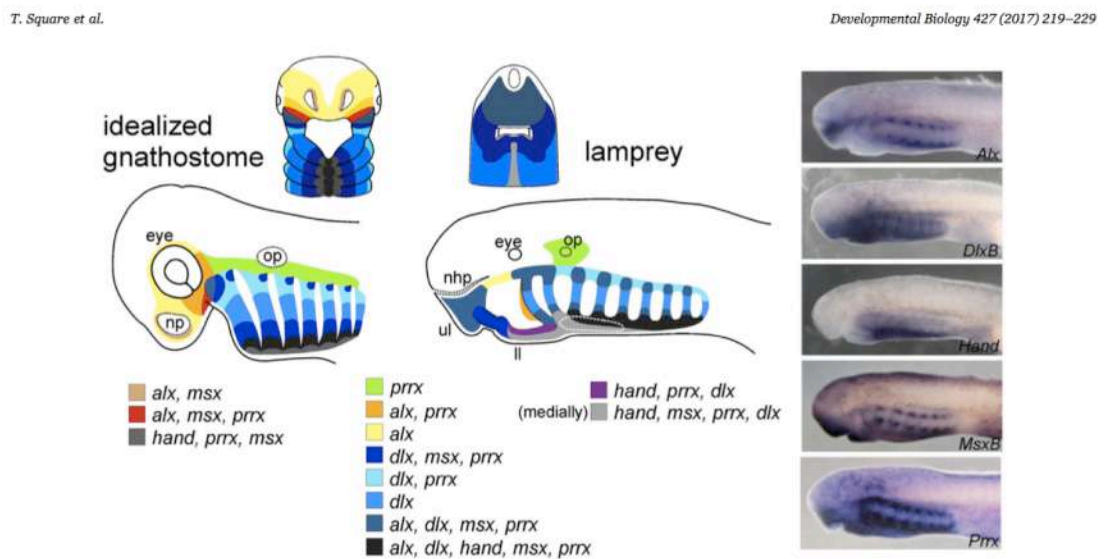


Fig. 3. A comparison of the gene expression schemes of lamprey and gnathostome nascent head skeletons. Top are oral views, below which are left lateral views. The key below is arranged such that the combinatorial domains in the left and right columns are found only in gnathostomes or lamprey, respectively, while the combinatorial domains in the middle column are found in both lineages. For gene types with multiple paralogs, these domains represent the expression of all paralogs (e.g. an *msx* positive domain could express multiple or any one of the *msx* genes in that lineage). On the right are example *in situ* hybridizations of each gene depicted in the lamprey expression map. The gnathostome map represents a simplification and slight modification to the map found in (Square et al., 2015). The ventrally-positioned white dotted oval in the lamprey represents the position of the endostyle, which is derived from endoderm and expresses none of the genes addressed here. ll, lower lip; nhp, nasohypophyseal plate; np, nasal placode; op, otic placode; ul, upper lip.

žaberní oblasti. Tato klíčová evoluční inovace umožnila opuštění filtračního způsobu žití a vedla ke vzniku čelistního aparátu s nesmírným následným adaptačním významem (kupř. *Gee, 1996, Janvier, 1996, Mallatt, 2008*). Naše detailní vývojová analýza kraniofaciálního paternování embryí mihule mořské (V.) odhalila překvapivě sofistikovaný "kombinatorický kód" *Dlx, Msx* a *Hand* genů, velice podobný tomu u modelových čelistnatých organismů (srv. Obr. 5.). Ukázala však také, že v evoluci čelistí zřejmě sehrála klíčovou roli koopce genů *Bapx* a *Gdf5/6/7* (představující u čelistnatců klíčové regulátory diference chrupavky a čelistního kloubu) do starého kombinatorického kódu našich předchůdců (V., X.). Jiná naše vývojová analýza podrobila zkoumání kombinatorické genové exprese v chrupavčitých hlavových tkání mihule, a vedla k navržení hypotetického scénáře o původu a evoluci chrupavky obratlovců (VII.) (Obr. 6.). Kraniofaciální evoluce obratlovců může být do značné míry pochopena jako změna patrností signalizace a morfogeneze buněk neurální lišty, jak také patrné na klasických příkladech adaptivní radiace kupř. u tzv. Darwinových pěnkav (*Abzhanov et al., 2004, 2006*), zobáků ptáků (kupř. *Schneider & Helms, 2003; Tucker & Lumsden, 2004, Wu et al., 2004, 2006*), či orální oblasti cichlid (kupř. *Albertson & Kochler, 2006*).

A tak se zpátky dostáváme k úvodní ilustraci této habilitační práce o odlišnostech adultních forem vznikajících postupně během ontogeneze, která může být viděna také jako před-obraz kraniofaciální evoluce (srv. Obr. 1). Vyobrazené tváře odlišných obratlovců (totiž) vznikají postupnými změnami během vývoje ze starobylého stadia farynguly, představující zootyp s plně vyvinutými faryngeálními

Obr. 6: Hypotetický scénář původu a evoluce chrupavky obratlovců. Převzato z VII.

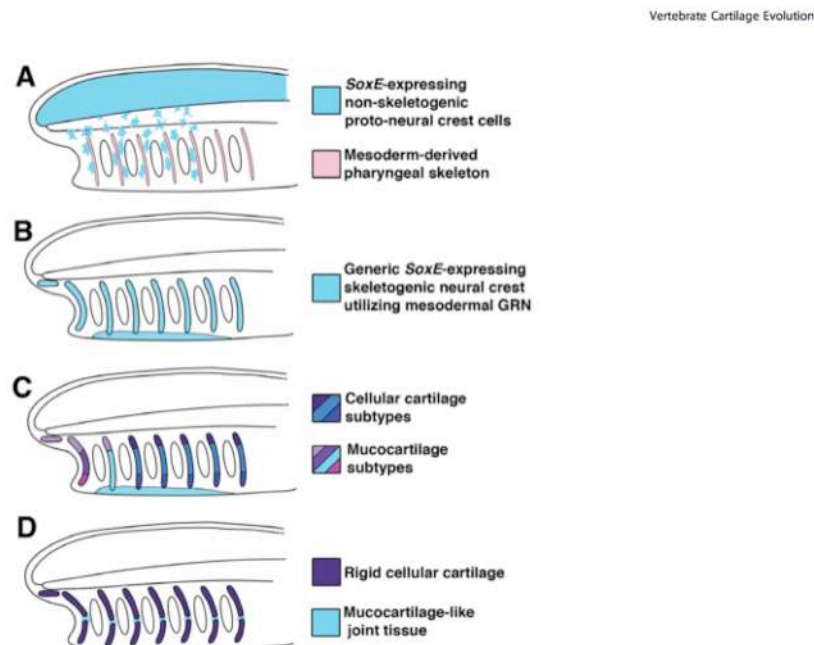
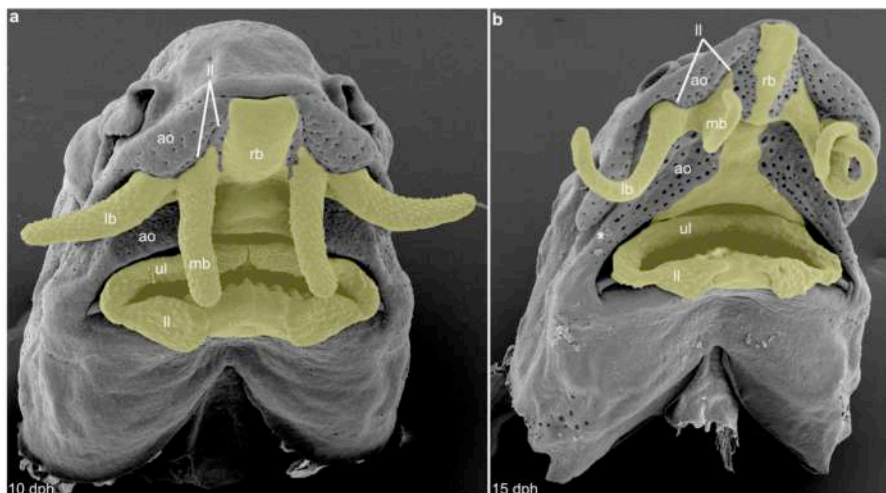


Figure 8. A hypothetical scenario for the origin and evolution of vertebrate cartilage. A) Based on the expression of *SoxE* genes throughout the neural tube of amphioxus larvae, and the presence of migratory neural cells in urochordates and other invertebrates, we posit that the ancestral pre-vertebrate chordate possessed migratory neural tube cells that expressed *SoxE* genes (light blue). These cells migrated into the pharynx and generated neural and/or pigment cells, but were not skeletogenic. The pharyngeal skeleton at this stage (pink) resembled that of amphioxus, consisting of acellular cartilage incorporating acid mucopolysaccharides and secreted by pharyngeal mesoderm expressing *Twist*, *Ets*, *Id*, *Aix*, *CSPGs* and fibrillar collagen. B) The origin of bona fide skeletogenic neural crest, and the first craniates, was marked by the activation of this mesodermal skeletogenic gene program in *SoxE*-expressing migratory neural tube cells (light blue). This ancestral form of cellular cartilage provided structural support for the evolving head. C) In the lineage leading to the common ancestor of modern jawed and jawless vertebrates, this generic skeletal tissue diversified into several subtypes with distinct molecular and structural properties via cooption of *Runx* and *Barx* and the selective loss of *Aix* expression. This included definitive "cellular cartilage" similar to that seen in gnathostomes and multiple mucocartilage subtypes as seen in lamprey. This basal condition is maintained in lamprey. D) In gnathostomes this heterogeneous head skeleton was replaced with a skeleton consisting mainly of a single type of rigid cellular cartilage. Coincident with this shift was the consolidation of *SoxE1*, *Runx*, *Barx*, and *Aix* genes into a single gnathostome cellular cartilage gene network. Based on similar gene expression and cell morphology, the joint tissue seen in gnathostomes (light blue) may represent a basal form of skeletal tissue similar to mucocartilage in the ventral pharynx of lamprey. doi:10.1371/journal.pone.0022474.g008

oblouky jako klíčovými centry signalizace (viz následující kapitola). Tyto oblouky se postupně naplní post-migratorními buňkami neurální lišty (viz předchozí kapitola), jejichž vývojová morfogeneze vedoucí k odlišným adultním fenotypům ze značné míry odvisí od časové (srv. heterochronie) a topografické (srv. heterotopie) patnosti signalizace těchto oro-faryngeálních epitelů. Veškerá kraniofaciální evoluce a diverzita obratlovců tedy, zdá se, povstává právě na tomto plastickém a dynamickém rozhraní nového mezenchymu neurální lišty a starých oro-faryngeálních epitelů budoucí tváře (viz též [Obr. 4](#), [5](#), [6](#) či mnohé další v této práci).

Obr. 7: Endoderm před-ústního střeva na tvářové oblasti jesetera. Převzato z [XI](#).

RESEARCH LETTER



Extended Data Figure 10 | SEM images of sturgeon head mapping experimental fate-mapping data with endodermal contribution pseudocoloured yellow. Antero-ventral views, 10 and 15 days post hatching (d.p.h.); mb, medial barbel; lb, lateral barbel; ao, ampullary organs; rb, rostrum.

Oro-faryngeální komplex:

rozhraní ektodermu & entodermu jako klíčový organizátor kraniofaciální evoluce

Nová hlava obratlovců je vystavěna kolem ústního otvoru a na starém bauplánu našich strunatčích a deuterostomátních předků (kupř. [Gee, 1996](#), [Satoh, 2016](#)). Základní synapomorfii druhoústých je segmentovaná faryngeální oblast s žaberními štěrbinami, přičemž homologické faryngeální oblouky řízené identickým geny jsou známy u polostrunatců, kopinatců, a dospělých pláštěnců (kupř. [Swalla & Smith, 2008](#), [Gillis et al., 2012](#), [Lowe et al., 2015](#)). Tak jako orální otvor a faryngeální štěrbinu tvoří klíčové rozhraní vnějšího a vnitřního prostředí, orofaryngeální komplex představuje embryonální rozmezí ektodermu s entodermem sloužící jako signální organizátor s nesmírným významem pro evoluční modifikace druhoústých skupin (kupř. [Christiaen et al., 2007](#), [Graham, 2008](#), [Grevellec & Tucker, 2010](#), [Graham & Richardson, 2012](#), [Choe & Crump, 2015](#), [Lowe et al., 2015](#)).

U embryí obratlovců navíc vznikající výchlípky faryngu mechanicky separují jednotlivé proudy buněk neurální lišty (srv. [Cerny et al., 2004a](#)), přičemž tato

Obr. 8: Odvozená morfogeneze tkání primárních úst axolotla vede k odlišnému embryonálnímu původu orálních zubů. Převzato z [IV](#).

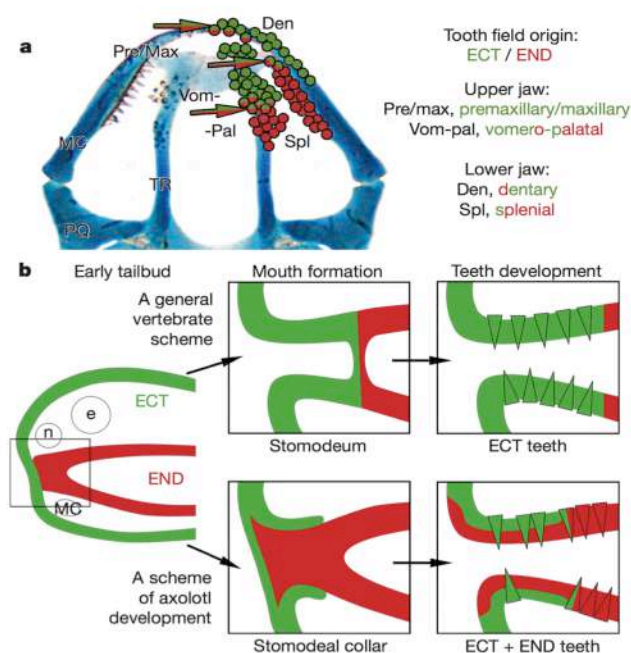


Figure 3 | Germ-layer origin and morphogenesis of teeth of the Mexican axolotl. **a**, A sketch of the germ-layer origin of teeth in the Mexican axolotl. ECT teeth, green; END teeth, red; teeth of mixed origin, red-green (the colouring in the key is a qualitative guide to the ratio of the components in each tooth field). Cartilages visualized using alcian blue. **b**, Comparative developmental morphogenesis of the mouth region and the germ-layer origin of teeth of vertebrate (upper row) and an axolotl (lower row) embryo. In the majority of vertebrates, the mouth develops from a stomodeum with teeth distributed in invaginated ECT. In contrast, in urodeles the mouth develops from a stomodeal collar with an oral epithelium either of a dual origin, with teeth of ECT or END, or of a mixed origin. PQ, palatoquadrate; TR, trabecula cranii; n, nose; e, eye.

autonomní segmentace faryngu je základní složkou metamerického uspořádání hlavy obratlovců (kupř. *Veitch et al., 1999, Piotrowski & Nüsslein-Volhard, 2000, Graham & Smith, 2001, Kuratani et al., 1997*) (srv. Obr. 4). Signály z faryngeálních výchlipek slouží jako organizátor kraniofaciální morfogeneze, neboť jsou klíčové pro indukci plakod a jejich neurogenezi (kupř. *Begbie et al., 1999, Holzschuh et al., 2005*), stejně jako pro velikost, tvar, či orientaci hlavových elementů skeletu vznikajících z mezenchymu neurální lišty (kupř. *Le Douarin & Kalcheim, 1999, David et al., 2002, Couly et al., 2002, Crump et al., 2004a,b*).

Embryonální vývoj orální a faryngeální oblasti obratlovců je obecně považován za poměrně uniformní, nicméně naše analýzy odhalily komplexní a rozhodně neočekávanou dynamiku epiteliálních zárodečných vrstev, ektodermu s entodermem, mající zásední dopad na následnou morfogenezi tkání a struktur (*IV., VIII., XI.*). Tak kupříkladu podivuhodná morfogeneze nejpřednějšího endodermu vede u jesetera k situaci, kdy jeho vznikající rostrum, obůstní a tvářová oblast jsou pokryty epitelem tzv. před-ústního střeva (*Obr. 7.*), což představuje unikátní příspěvek buněk vnitřního zárodečného listu do povrchu těla obratlovce (*XI.*). U embryí axolotla zase aberantní morfogeneze ústních epitelů vede k embryonálnímu původu orálních zubů ze smíšených primárních zárodečných vrstev (*Obr. 8*) (*IV.*), což vedlo k odmítnutí některých teorií o podvojně evoluci orální dentice obratlovců (*Smith & Johanson, 2003, Tucker & Sharpe, 2004*), a k novějším představám o evoluci odontody jako skeletální jednotky povstávající na vývojovém rozhraní primárních epiteliálních zárodečných vrstev s mezenchymem původu neurální lišty (*Obr. 9*) (*VI.*).

Obr. 9: Vývojový model evoluce odontody obratlovců. Převzato z VI.

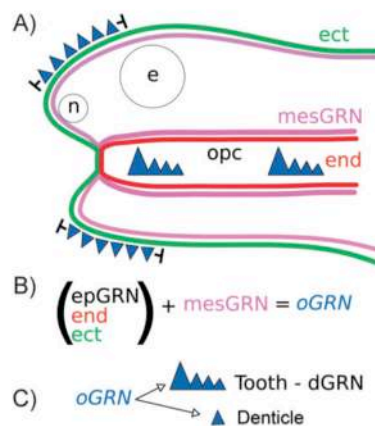


Figure 2. The inside and out gene regulatory hypothesis for odontode evolution. **A:** Schematic diagram represents a generalised early vertebrate/fish in lateral/sagittal view: we propose that regardless of tissue origin (endoderm or ectoderm), the ingredients for odontode evolution, instigated by the appearance of the putative odontode gene regulatory network (oGRN), involved the collaboration of two pre-existing gene co-expression groups: (i) the neural crest-derived ectomesenchymal co-expression group (mesCEG) and (ii) the epithelial co-expression group (epCEG), which operates within both the endoderm and ectoderm (**B**). **C:** The evolution of both skin denticles and teeth were separate operations of the combination of epCEG and mesCEG in alternative locations, the epidermis and the oro-pharyngeal cavity (opc). Within the opc, co-option of the oGRN potential was transferred to the oral jaws during the transition from jawless (agnathans) to jawed vertebrates (gnathostomes). Each CEG (mesCEG and epCEG) must have acted as part of larger yet currently unknown GRN (mesGRN and epGRN).

Primární ústa, tedy embryonální orální otvor (*Dickinson & Sive, 2005*) jsou u obratlovců obecně popisována jako hluboká vchlípenina vnějšího ektodermu (tzv. stomodeum), která se stýká z výchlípkou přední části embryonálního střeva, aby společně vytvořili orální membránu, jejíž perforací se ústa otevírají (kupř. *Dickinson & Sive, 2005, Chen et al., 2017*). Jak jsme však ukázali v našem review (*VIII.*), u obratlovců se obecně dají dobře rozlišit tři odlišné typy této orální morfogeneze (*Obr. 10*). Mimo klasický, výše popsany a obecně rozšířený vývoj skrz stomodeum, se primární ústa mohou formovat dvěma dalšími způsoby, jako tzv. stomodeální klín, či jako tzv. stomodeální límec (viz *Obr. 8, 10*). Nebudeme si teď všimnout (nesporně zajímavých) detailů vývojové morfogeneze primárních úst, ale zaměříme se na jejich fylogenetickou distribuci mezi obratlovcí. Z naší srovnávací analýzy totiž vyplývá, že vývoj skrz klasické stomodeum je pro obratlovce archaický, zatímco tzv. stomodeální klín evolučně vznikl pouze u koncové linie kostnatých ryb (Teleostei), a tzv. stomodeální límec se vyvinul u mloků, bahníků a některých žab (*VIII.*). Naše analýza však také identifikovala, že určujícím faktorem těchto změn byly pravděpodobně v obou případech transformace obsahu zásobního žloutku ve vajíčku, které ovlivnily typ embryonálního vývoje a následně také formování primárních úst. Jednoduše řečeno, u kostnatých ryb (srv. zebrafish) je invaginace stomodea - tedy klasický vývoj primárních úst - znemožněna vklíněním celé orofaryngeální oblasti mezi obrovský mozek a kompaktní kouli zásobního žloutku ve formě jedolité masy, na níž celý vývoj probíhá. Klasický vývoj primárních úst u mloků a bahníků je zase znemožněn díky přítomnosti zásobního žloutku i v orální oblasti, kde tzv. orální entoderm zabraňuje invaginaci stomodeálního ektodermu, který namísto toho obklopi centrálně ležící entoderm jako límec (viz *Obr. 8*) (*IV., VIII.*).

Obr. 10: Tři typy vývojového formování primárních úst obratlovců. Převzato z *VIII.*

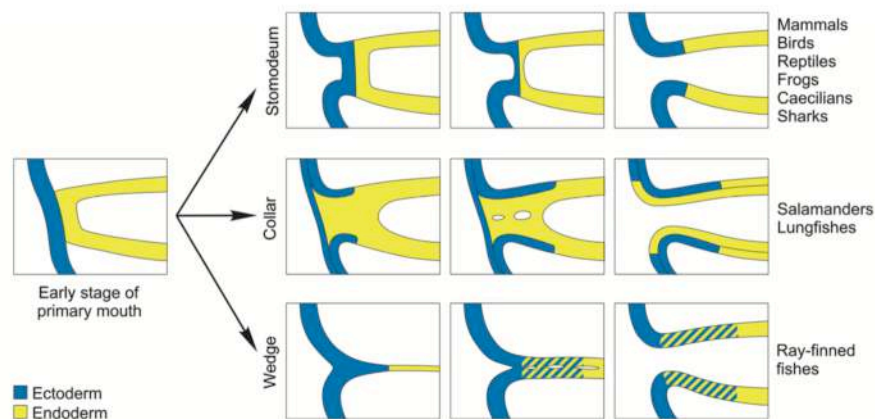


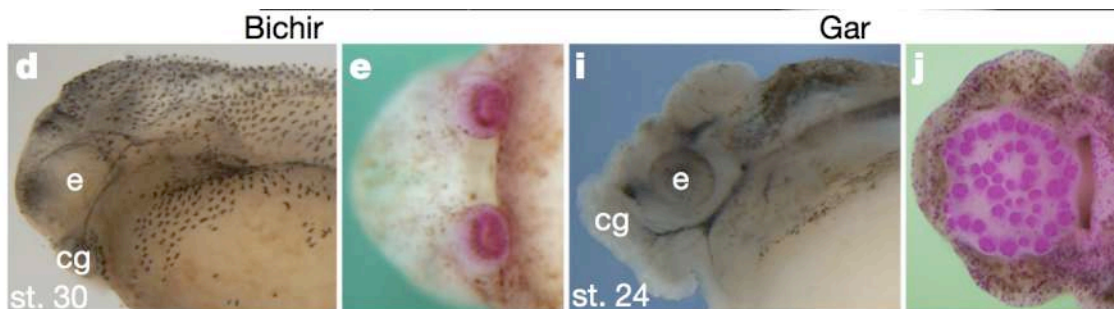
Fig. 2 Main modes of primary mouth formation in jawed vertebrates. The sagittal plane is shown, anterior to the left. The initial stage of primary mouth formation is shared among vertebrates, and involves a direct contact between outer ectoderm and foregut endoderm (left box). Its further morphogenesis in diverse vertebrate groups can generally be schematized to proceed in three main alternative developmental modes. The mouth formation via stages of stomodeal invagination and perforation of the oral membrane is the most common. In salamanders, lungfishes and few frog species, the primary mouth forms via the stomodeal collar and horizontal detachment of oropharyngeal epithelia. In ray-finned fishes, primary mouth formation includes a contact between the stomodeal wedge and the endoderm sheet, and the mouth opens via horizontal detachment of these epithelia.

Stará tajemství nové hlavy obratlovců: před-ústní střevo jako archaický (spolu) organizátor Nové hlavy

Rostrální hranice oro-faryngeálního komplexu se zdá být intuitivní a jasná, a jak jsme sami uváděli v review ještě před pár lety (VIII.), u (všech) obratlovců jsou embryonální ústa obecně chápána jako vtlačení vnějšího (rostrálního) ektodermu omezující přední část embryonálního střeva, které se tak nachází pozičně až za ústy, v mandibulární oblasti (kupř. Dickinson & Sive, 2005, Chen et al., 2017). Nám se však nedávno podařilo (znovu)objevit a popsat faryngeální doménu, která vzniká pozičně před ústy, tedy v pre-mandibulární části hlavy obratlovců (XI.). Toto tzv. před-ústní střevo bylo sice teoreticky předpokládáno u společného předka obratlovců, nicméně absence u kteréhokoli žijícího zástupce vyvolávala značné pochybnosti o jeho existenci.

Tato doména však byla dříve běžnou součástí učebnic zoologie, avšak upadla v zapomnění, z části díky neblahým konotacím k dřívějším segmentalistickým příběhům, z části asi také díky nad-užívání tzv. modelových organismů, které nic podobného zjevně nevykazují. My jsme tuto doménu identifikovali během raného vývoje afrických bichirů, amerických kostlínů a evropských jeseterů, a díky unikátnímu experimentálně-embryonálnímu přístupu se nám podařilo vysledovat endodermální buňky této domény až na povrch rostrální hlavy (XI.). Ukázali jsme, že u embryí bichira a kostlína před-ústní střevo vytváří přísavné (neboli adhezivní či cementové) žlázy, které se tvoří jako jejich úplně nejranější (a nejrostrálnější) kraniální struktury, (Obr. 11), zatímco u embryí jesetera vytváří před-ústní střevo většinu povrchu jejich prodlouženého rostra a oro-faciální oblasti hlavy (srv. Obr. 7).

Obr. 11: Přísavné žlázy embryí bichira a kostlína vznikají morfogenezí před-ústního střeva. Převzato z XI.



Naše vývojová analýza charakterizovala před-ústní střevo jako rostrální doménu prvostřeva situovanou v pre-orální oblasti, která se tvoří epiteliální evaginací endodermu typickou pro faryngeální výchlípky, a která exprimuje set endodermálních a faryngeálních genů (srv. XI.). Před-ústní střevo je zjevně součástí branchiomernické segmentace a kontinuálně přechází ve faryngeální prostor, který se však plně formuje až později, stejně jako embryonální ústa (srv. XI.). Naše srovnávací analýza také ukázala, že v zásadě identické rostrální domény existují u kopinatce (*Branchistoma*) jako tzv. Hatschekovy výchlípky, a u embryí žaludovce (*Saccoglossus*) jako tzv. stomochord. Všechny tyto odlišné struktury s odlišnými názvy jsou vývojově

vytvářeny identickou embryonální morfogenezí před-ústního střeva, které tak zjevně představuje znak zděděný od našich předobratlovčích předků (srv. XI.) (Obr. 12). Zdá se možné, že plně rozvinuté před-ústní střevo u bazálních linií paprskoploutvých ryb souvisí se strukturami, které jsou klíčové pro přežití jejich volně žijících embryonálních a larválních stadií. Tato mohou upomínat larvy praobratlovců, které však drtivá většina obratlovců ztratila v souvislosti s paralelním zvětšováním zásobního žloutku v jejich vajíčkách.

Před-ústní střevo je u většiny linií obratlovců redukováno (či chybně interpretováno, viz dále) a jeho existence je často zatlačena ze stadia farynguly do ranějších stadií tzv. hlavové kličky (*head-fold*), kdy ještě nemůžeme mluvit o jednotlivých segmentech hlavy, či o topografické pozici budoucích embryonálních úst. Zdá se však, že v tomto stadiu tato nejrostrálnější endodermální (a tedy branchiomernická) doména, která se topograficky nachází pod neuromernickou tkání vznikajícího předního mozku, představuje (především svou *Shh*-expresí) možný klíčový organizátor vývoje (celé) přední části hlavy obratlovců.

Naše srovnávací analýza také ukázala, že před-ústní střevo bývá u obratlovců často chybně zaměňováno s tzv. pre-chordální destičkou, která - obecně řečeno - představuje nejrostrálnější populaci většinově nerozlišeného mes-endodermu, a která bývá viděna jako anteriorní součást mesenchymu struny hřbetní, a tedy jako součást mesodermální kraniální segmentace. Naše vývojová i srovnávací analýza však ukazuje, že pre-chordální destička v sobě obsahuje (dobře odlišitelnou, avšak přehlíženou) endodermální výchlípku před-ústního střeva, a zdá se dokonce, že v epitelu před-ústního střeva dochází k epitelo-mesenchymální transici, a volný hlavový mesenchym rostrální hlavy, který je nahlížen jako apomorfe obratlovců, tak může embryonálně pocházet z přímo z této rostrální branchiomernické domény starobylého původu (srv. XI.) (Obr. 12).

Tento náhled a předběžná data jsou součástí našich obecných závěrů a (dále testovaných) předpokladů, že bauplán, či segmentální uspořádání přední části Nové hlavy obratlovců v sobě (překvapivě) zahrnuje i faryngeální metamerních principy strunatčích předků. Teorie Nové hlavy obratlovců při zakládání stavebního plánu naší hlavy zdůrazňuje inovativní roli neurální lišty a plakod, tedy (novou) neuromerii, a rostrální hlava je viděna jako jasný neomorf obratlovců. Naše vlastní srovnávací analýzy však naznačují, že kraniogeneze vedená těmito unikátními buněčnými populacemi je již od nejranějších embryonálních počátků organizovaná či navedená starou vývojovou dynamikou faryngeální branchiomernie. Embryonální doména před-ústního střeva tak představuje jakési staré tajemství naší Nové hlavy, tedy pozůstatek prastarých faryngeálních metamerních principů zavzatý do kraniofaciálního vývoje Nové hlavy obratlovců.

Obr. 12: Pře-důstní střevo v embryogenezi strunatců a obratlovců. Převzato z XI.

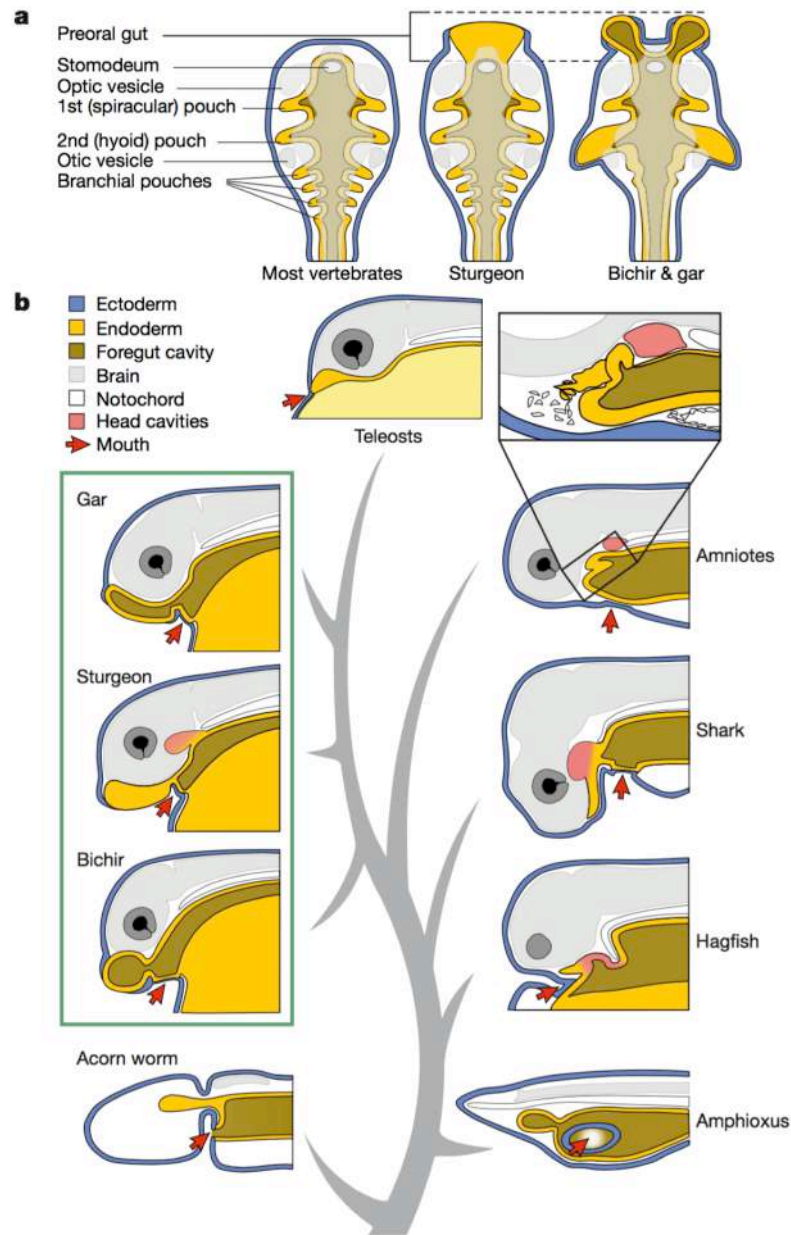


Figure 4 | Oropharyngeal development comprising POGD, and distribution of POGD on chordate phylogenetic tree. a, A common scheme of vertebrate pharynx (left) with typical pharyngeal pouches in post-oral position; the ectoderm is outside (blue), and endoderm inside (yellow). In non-teleost fishes, outpocketing of the primitive gut cavity forms prominent POGD (either single as in sturgeon, or paired as in bichir and gar) that penetrate the epidermis, and develop by morphogenesis similar to pharyngeal pouch formation. Endodermal epithelium is yellow, cavity of the primitive gut is brown, brain structures are grey. **b,** Simplified phylogenetic scheme of chordates, with the presence of POGD in hemichordates (stomochord in acorn worms²⁴), cephalochordates (Hatschek's diverticula of amphioxus³¹), and in non-teleost fishes (framed). POGD seem to be reduced in teleosts²⁴ and can be observed as rudimentary in hagfishes²⁷, sharks²⁵ and amniotes^{7,26} in the form of Seessel's pouch²⁸. The top right (framed) scheme has been redrawn from ref. 26.

Citovaná literatura

- Abzhanov, A., Protas, M., Grant, B.R., Grant, P.R., Tabin, C.J. (2004): Bmp4 and morphological variation of beaks in Darwin's finches. *Science* 305:1462-1465.
- Abzhanov, A., Kuo, W.P., Hartmann, C., Grant, B.R., Grant, P.R., Tabin, C.J. (2006): The calmodulin pathway and evolution of elongated beak morphology in Darwin's finches. *Nature* 442:563-567.
- Abitua, P., Wagner, E., Navarrete, I., Levine, M. (2012): Identification of a rudimentary neural crest in a non-vertebrate chordate. *Nature* 492: 104–107.
- Albertson, R.C., Kochler, T.D. (2006): Genetic and developmental basis of cichlid trophic diversity. *Heredity* 97: 211-221.
- Begbie, J., Brunet, J.F., Rubenstein, J., Graham, A. (1999): Induction of the epibranchial placodes. *Development* 126: 895-902.
- Bronner-Fraser, M., Fraser, S. (1988): Cell lineage analysis reveals multipotency of some avian neural crest cells. *Nature* 335: 161–164.
- Cerny, R., Meulemans, D., Berger, J., Wilsch-Brauninger, M., Kurth, T., Bronner-Fraser, M., Epperlein, H.H. (2004a): Combined intrinsic and extrinsic influences pattern cranial neural crest migration and pharyngeal arch morphogenesis in axolotl. *Developmental Biology* 266: 252–269.
- Cerny, R., Lwigale, P., Ericsson, R., Meulemans, D., Epperlein, H.H., Bronner-Fraser, M. (2004b) Developmental origins and evolution of jaws: new interpretation of “maxillary” and “mandibular”. *Developmental Biology* 276: 225-236.
- Chen, J., Jacox, L., Saldanha, F., Sive, H. (2017): Mouth development. *WIREs Developmental Biology* 6: e275.
- Choe, C.P., Crump, J.G. (2015): Dynamic epithelia of the developing vertebrate face. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 32: 66–72.
- Christiaen L, Jaszczyszyn Y, Kerfant M, et al. (2007) Evolutionary modification of mouth position in deuterostomes. *Semin Cell Dev Biol* 18, 502–511.
- Couly, G.F., Coltey, P.M., Le Douarin, N.M. (1993): The triple origin of skull in higher vertebrates: a study in quail-chick chimeras. *Development* 117: 409-429.
- Couly, G., Creuzet, S., Bennaceur, S., Vincent, C., Le Douarin, N.M. (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.
- Crump, J. G., Swartz, M. E. and Kimmel, C. B. (2004a). An integrin- dependent role of pouch endoderm in hyoid cartilage development. *PloS Biol.* E244.
- Crump, J. G., Maves, L., Lawson, N. D., Weinstein, B. M. and Kimmel, C. B. (2004b). An essential role for Fgfs in endodermal pouch formation influences later craniofacial skeletal pattern. *Development* 131, 5703-5716.
- Darwin, C. (1860): A letter to Asa Gray. In *Life and letters of Charles Darwin*, Vol. 2.
- David, N.B., Saint-Etienne, L., Tsang, M., Schilling, T.F., Osa, F.M. (2002): Requirement for endoderm and FGF3 in ventral head skeleton formation. *Development* 129: 4457-4468.
- Delsuc, F., Brinkmann, H., Chourrout, D. & Philippe, H. (2006): Tunicates and not cephalochordates are the closest living relatives of vertebrates. *Nature* 439, 965–968.

- Dickinson, A. J. & Sive, H. Development of the primary mouth in *Xenopus laevis*. *Dev. Biol.* 295, 700–713 (2006).
- Epperlein, H.-H., Selleck, M.A., Meulemans, D., Mchedlishvili, L., Cerny, R., Sobkow, L., Bronner-Fraser, M. (2007): Migratory patterns and developmental potential of trunk neural crest cells in the axolotl embryo. *Developmental Dynamics* 236: 389-403.
- Ericsson R, Cerny R, Falck P, Olsson L. (2004): Role of cranial neural crest cells in visceral arch muscle positioning and morphogenesis in the Mexican axolotl, *Ambystoma mexicanum*. *Developmental Dynamics* 231:237- 247.
- Gans, C., Northcutt, R. G. (1983): Neural crest and the origin of vertebrates: a new head. *Science* 220: 268–273.
- Gee, H. (1996): *Before the Backbone: Views on the Origin of the Vertebrates*. Chapman & Hall, London.
- Gee, H. (2006): Careful with that amphioxus. *Nature* 439: 923-924.
- Gee, H. (2015): Origin and evolution of vertebrates. *Nature Insight. Nature* 520 (7548): 449.
- Gee, H. (2018): *Across the Bridge: Understanding the Origin of the Vertebrates*. University of Chicago Press.
- Gillis, J.A., Fritzenwanker, J.H., Lowe, C.J. (2012): A stem-deuterostome origin of the vertebrate pharyngeal transcriptional network. *Proc. Biol. Sci.* 279: 237–246.
- Graham, A., Smith, A. (2001): Patterning the pharyngeal arches. *Bioessays* 23: 54–61.
- Graham, A., Richardson, J. (2012): Developmental and evolutionary origins of the pharyngeal apparatus. *Evodevo* 3: 24.
- Graham, A. (2008): Deconstructing the pharyngeal metamere. *J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol.* 310: 336–344.
- Green, S., Simoes-Costa, M., Bronner. M. (2015): Evolution of vertebrates as viewed from the crest. *Nature* 520: 474-482.
- Grevillec, A., Tucker, A. S. (2010): The pharyngeal pouches and clefts: development, evolution, structure and derivatives. *Semin. Cell Dev. Biol.* 21: 325–332.
- Haeckel, E. (1874): *Anthropogenie oder Etwicklungsgeschichte des Menschen*. Leipzig.
- Hall, B.K. (1999): *The neural crest in development and evolution*. New York: Springer.
- Hall, B.K. (2000): The neural crest as a fourth germ layer and vertebrates as quadroblastic not triploblastic. *Evolution & Development* 2: 3-5.
- Hall, B. K., Gillis, J. A. (2012): Incremental evolution of the neural crest, neural crest cells and neural crest-derived skeletal tissues. *Journal of Anatomy* 222: 19–31.
- Holland, L.Z., Holland, N.D. (2001): Evolution of neural crest and placodes: amphioxus as a model for the ancestral vertebrate? *Journal of Anatomy* 199: 85–98.
- Holzschuh, J., Wada, N., Wada, C., Schaffer, A., Javidan, Y., Tallafuß, A., Bally-Cuif, L., Schilling. T.F. (2005): Requirements for endoderm and BMP signaling in sensory neurogenesis in zebrafish. *Development* 132: 3731-3742.
- Horáček, I. (2016): *Lébnsvelt*. Praha.

- Horder, T.J., Presley, R., Slípka, J. (2010): The head problem. The organizational significance of segmentation in head development. *Acta Univ Carol Med Monogr.* 158:1-165.
- Janvier, P. (1996): *Early Vertebrates*. Oxford University Press.
- Jeffery, W.R., Strickler, A.G., Yamamoto, Y. (2004): Migratory neural crest-like cells form body pigmentation in a urochordate embryo. *Nature* 431: 696-699.
- Kardong, K.V. (2014): *Vertebrates: Comparative Anatomy, Function, Evolution*. McGraw-Hill.
- Köntges, G., Lumsden, A. (1996): Rhombencephalic neural crest segmentation is preserved throughout craniofacial ontogeny. *Development* 122: 3229–3242.
- Kuratani, S., Eichele, G. (1993): Rhombomere transplantation repatterns the segmental organization of cranial nerves and reveals cell-autonomous expression of a homeodomain protein. *Development* 117:105-117.
- Kuratani, S., Matsuo, I., Aizawa, S., 1997. Developmental patterning and evolution of the mammalian viscerocranium: genetic insights into comparative morphology. *Dev. Dyn.* 209, 139–155.
- Kuratani, S., 2003: Evolutionary Developmental Biology and Vertebrate head Segmentation: A Perspective from Developmental Constraint. *Theory in Biosciences* 122(2):230-251.
- Le Douarin, N.M., Dupin, E., 2003. Multipotentiality of the neural crest. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 13, 529–536.
- Le Douarin, N.M., Kalcheim, C., 1999. *The Neural Crest*. Cambridge Univ. Press, Cambridge.
- Le Douarin, N.M., Creuzet, S., Couly, G., Dupin, E. (2004): Neural crest cell plasticity and its limits. *Development* 131:4637-4650.
- Lowe, C.J., Clarke, N., Medeiros, D.M., Rokhsar, S., Gerhart, J. (2015): The deuterostome context of chordate origins. *Nature* 520: 456-465.
- Mallatt, J. (2008): The Origin of the Vertebrate Jaw: Neoclassical Ideas Versus Newer, Development-Based Ideas. *Zoological Science* 25: 990-998.
- Minoux, M., Rijli, F. M. (2010): Molecular mechanisms of cranial neural crest cell migration and patterning in craniofacial development. *Development* 137: 2605–2621.
- Morales, A. V., Barbas, J. A., Nieto, M. A. (2005): How to become neural crest: from segregation to delamination. *Semin. Cell Dev. Biol.* 16: 655-662.
- Noden DM. 1991. Vertebrate craniofacial development: the relation between ontogenetic process and morphological outcome. *Brain Behav Evol* 38:190-225.
- Northcutt, R. G., Gans, C. (1983): The genesis of neural crest and epidermal placodes: a reinterpretation of vertebrate origins. *Q. Rev. Biol.* 58, 1–28.
- Northcutt, R. G. (2005): The New Head Hypothesis Revisited *J. Exp. Zool. B. Mol. Dev. Evol.* 304: 274-297.
- Piotrowski T, Nusslein-Volhard C. (2000): The endoderm plays an important role in patterning the segmented pharyngeal region in zebrafish (*Danio rerio*). *Dev Biol* 225:339-356.
- Putnam, N. H. et al. (2008): The amphioxus genome and the evolution of the chordate karyotype. *Nature* 453, 1064–1071.

- Richman, J.M., Lee, S. H. (2003): About face: signals and genes controlling jaw patterning and identity in vertebrates. *BioEssays* 25: 554-568.
- Santagati, F., Rijli, F.M. (2003): Cranial neural crest and the building of the vertebrate head. *Nat. Rev. Neurosci.* 4: 806-818.
- Satoh, N. (2016): *Chordate Origins and Evolution: The Molecular Evolutionary Road to Vertebrates*. Academic Press.
- Schlosser G (2005) Evolutionary origins of vertebrate placodes: insights from developmental studies and from comparisons with other deuterostomes. *J Exp Zool Mol Dev Evol* 304B, 347- 399.
- Schneider, R. A., Helms, J. A. (2003): The cellular and molecular origins of beak morphology. *Science* 299: 565-568.
- Smith, M. M. & Johanson, Z. (2003): Separate evolutionary origins of teeth from evidence in fossil jawed vertebrates. *Science* 299, 1235-1236.
- Stolfi, A., Ryan, K., Meinertzhagen, I., Christiaen, L. (2015): Migratory neuronal progenitors arise from the neural plate borders in tunicates. *Nature* 527: 371-374.
- Swalla BJ, Smith AB (2008): Deciphering deuterostome phylogeny: molecular, morphological and palaeontological perspective. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 363, 1557-1568.
- Theveneau, E., Mayor, R. (2012): Neural crest delamination and migration: from epithelium-to-mesenchyme transition to collective cell migration. *Dev. Biol.* 366: 34-54.
- Trainor, P.A., Krumlauf, R. (2001): Hox genes, neural crest cells and branchial arch patterning. *Curr Opin Cell Biol* 13:698-705.
- Tucker, A. S., Lumsden, A. (2004): Neural crest cells provide species-specific patterning information in the developing branchial skeleton. *Evol. Dev.* 6: 32-40.
- Tucker, A. & Sharpe, P. (2004): The cutting-edge of mammalian development: how the embryo makes teeth. *Nature Rev. Genet.* 5, 499-508.
- Veitch E, Begbie J, Schilling TF, et al. (1999): Pharyngeal arch patterning in the absence of neural crest. *Curr Biol* 9, 1481-1484.
- Wu, P., Jiang, T. X., Suksaweang, S., Widelitz, R. B., Chuong, C. M. (2004): Molecular shaping of the beak. *Science* 305: 1465-1466.
- Wu, P., Jiang, T.X., Shen, J.Y., Widelitz, R.B., Chuong, C.M. (2006): Morphoregulation of avian beaks: comparative mapping of growth zone activities and morphological evolution. *Dev. Dynamics* 235: 1400-1412.

Seznam publikací zařazených do habilitační práce

L.: Olsson, L., Ericsson, R. & **Cerny, R.** (2005): Vertebrate head development: Segmentation, novelties and homology. *Theory in Biosciences* 124: 145-163.