

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Tomáš Suchánek

Migrace a skeletogeneze buněk trupové neurální lišty

Migration and skeletogenesis of trunk neural crest cells

Bakalářská práce

Školitel práce: **Mgr. Robert Černý, Ph.D.**

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci vypracoval samostatně, a že jsem uvedl všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného či stejného akademického titulu.

V Luhačovicích, dne 12.08.2018.

Podpis

Poděkování:

Děkuji svému školiteli Mgr. Robertu Černému, Ph.D. za věnovanou péči a informace, které mi poskytoval během vypracovávání této práce.

Abstrakt

Pojmem neurální lišta je označována embryonální buněčná oblast, jež je přítomna pouze u obratlovců. Vzniká v dorzální části nervové trubice, a její buňky se během vývoje zárodku oddělují, a následně migrují tělem jedince na konečné místo určení. Zde se vlivem signálů diferencují v rozličné deriváty. Neurální lišta je rozlišována na dvě hlavní oblasti – hlavovou a trupovou. Zatímco hlavová neurální lišta se dostala do popředí zájmu vlivem své zřejmé skeletogenní schopnosti a značné účasti na vzniku „nové hlavy“, trupová neurální lišta byla opomíjená z důvodů tvorby „méně atraktivních“ derivátů. Proto je tato práce zaměřena především na trupovou neurální lištu. Důraz je kladen na migraci buněk trupové neurální lišty a jejich skeletogenní potenciál, jež představuje dosud možnost budoucího bádání, které by přispělo svým dílkem do mozaiky poznatků o neurální liště.

Klíčová slova: neurální lišta, skeletogeneze, migrace, vývoj, evoluce.

Abstract

The neural crest is specific cell population of vertebrates embryos. It emerges in dorsal part of the neural tube from which it separate as individual cells. After that, these cells migrate throughout the embryo to their final destination. There they are exposed to a molecular signals and then they differentiate into various types of derivatives. The neural crest is distinguished into two main parts – cranial and trunk. While the cranial neural crest has been in the forefront of interest due its skeletogenic potential and participation in formation of the „new head“, the trunk neural crest had been neglected due its „less attractive “ derivates. Hence this bachelor thesis is focused on trunk neural crest. Especially it highlights the migratory behavior of trunk neural crest cells and its skeletogenic potential which represents opportunity for prospective research about neural crest.

Key words: neural crest, skeletogenesis, migration, development, evolution.

Obsah

1.	Úvod.....	1
2.	Neurální lišta.....	2
2.1.	Neurální lišta jako čtvrtá zárodečná vrstva.....	2
2.2.	Vznik neurální lišty během embryogeneze	4
2.3.	Delaminace, migrace a diferenciacce	5
2.4.	Vymezení neurální lišty	5
3.	Hlavová neurální lišta	7
3.1.	Hranice hlavové a trupové neurální lišty	7
3.2.	Migrace buněk hlavové neurální lišty.....	8
3.3.	Skeletogeneze hlavové neurální lišty.....	8
3.4.	Odontogeneze hlavové neurální lišty.....	9
4.	Migrace buněk trupové neurální lišty	12
4.1.	Somitomerie	12
4.2.	Konkrétní cesty migrace.....	13
5.	Skeletogeneze trupové neurální lišty	16
5.1.	Potenciál trupové neurální lišty tvořit skelet.....	16
5.2.	Projev skeletogeneze trupové neurální lišty	17
6.	Závěr.....	20
7.	Zdroje.....	22

1. Úvod

Neurální lišta představuje buněčnou populaci, která vzniká během embryonálního vývoje obratlovců ve stádiu neuruly (Hall, 2009). Zakládá se na okraji nervové ploténky v místě kontaktu s epidermálním ektodermem (Bronner & LeDouarin, 2012). Buňky neurální lišty umístěné v dorzální části nervové trubice mění svoji epiteliální podobu na mezenchymální (tzv. epiteliálně-mesenchymální přeměna), oddělují se od nervové trubice, a začínají migrovat (Shoval & Kalcheim, 2012). Migrují nejprve ve velkém množství jako plynulá masa buněk, později v oddělených proudech, migrují až na místo určení, kde se diferencují v kýžený buněčný typ (Theveneau & Mayor, 2012). Těch mohou buňky neurální lišty utvářet širokou škálu. Od melanocytů přes odontoblasty, osteocyty, buňky hladké svaloviny, až po Schwannovy buňky, enterické neurony, sensorické neurony, sympatické neurony a mnoho dalších (Vickaryous & Hall, 2006). Vedle místa původu, migračního chování a multipotentní schopnosti, je charakteristickým znakem buněk neurální lišty také sdílená tvorba transkripčních faktorů, jakými jsou např. *tfAP2*, *Snail 1/2*, *FoxD3*, či *SoxE*. Tyto faktory jsou součástí regulačního mechanismu, jenž pomocí buněčné signalizace vede v důsledku k řízení tvorby a vzniku neurální lišty jako takové (Green et al. 2015).

Společně s ektodermálními plakodami, ze kterých vznikají smyslové orgány hlavy, přispívají buňky neurální lišty do pozoruhodného množství nových struktur jedinečných pro obratlovce (Green et al. 2015). Evolučními novinkami odvozenými výlučně z neurální lišty jsou odontoblasty utvářející zubovinu (Hall, 2005), kraniofaciální kosti či sensorická ganglia (Bronner & LeDouarin, 2012). Neurální lišta po boku plakod stála také za vznikem obratlovcí „nové hlavy“ (Green et al., 2015). Tím, že buňky neurální lišty modifikovaly první žaberní oblouk na horní a dolní čelist, usnadnily tak predátorský způsob života obratlovcům. Neurální lišta mohla po čas evoluce stát dost možná i za zvětšením hlavy, lebky a mozku (Bronner & LeDouarin, 2012). Jak plakody, tak i neurální lišta vznikly pravděpodobně rozčleněním ektodermální laterální ploténky již u společného předka pláštěnců a obratlovců (Horie et al., 2018). To je také možným vysvětlením, proč se i u neobratlovcích strunatců (např. sumky trubičkové *Ciona intestinalis*) vyskytují buňky podobné buňkám neurální lišty obratlovců (Jeffery et al., 2008).

2. Neurální lišta

2.1. Neurální lišta jako čtvrtá zárodečná vrstva

Vývoj obratlovčího jedince je podmíněn několika důležitými událostmi, např. rozdělením těla na předozadní, pravolevou a břichohřbetní stranu, či vznikem zárodečných vrstev (Solnica-Krezel & Sepich, 2012). Všeobecně uznávanými zárodečnými vrstvami jsou (1) ektoderm – vnější vrstva, z níž vzniká kupříkladu povrch jedince a nervová soustava; (2) endoderm – vnitřní vrstva tvořící např. trávicí trubici; a (3) mezoderm – odvozená buněčná vrstva, jež formuje např. kosti, svaly, cévy (Hall, 2009). Mnohobuněčné živočichy rozlišujeme podle jejich počtu zárodečných vrstev na diblastické a triblastické (Hall, 2000).

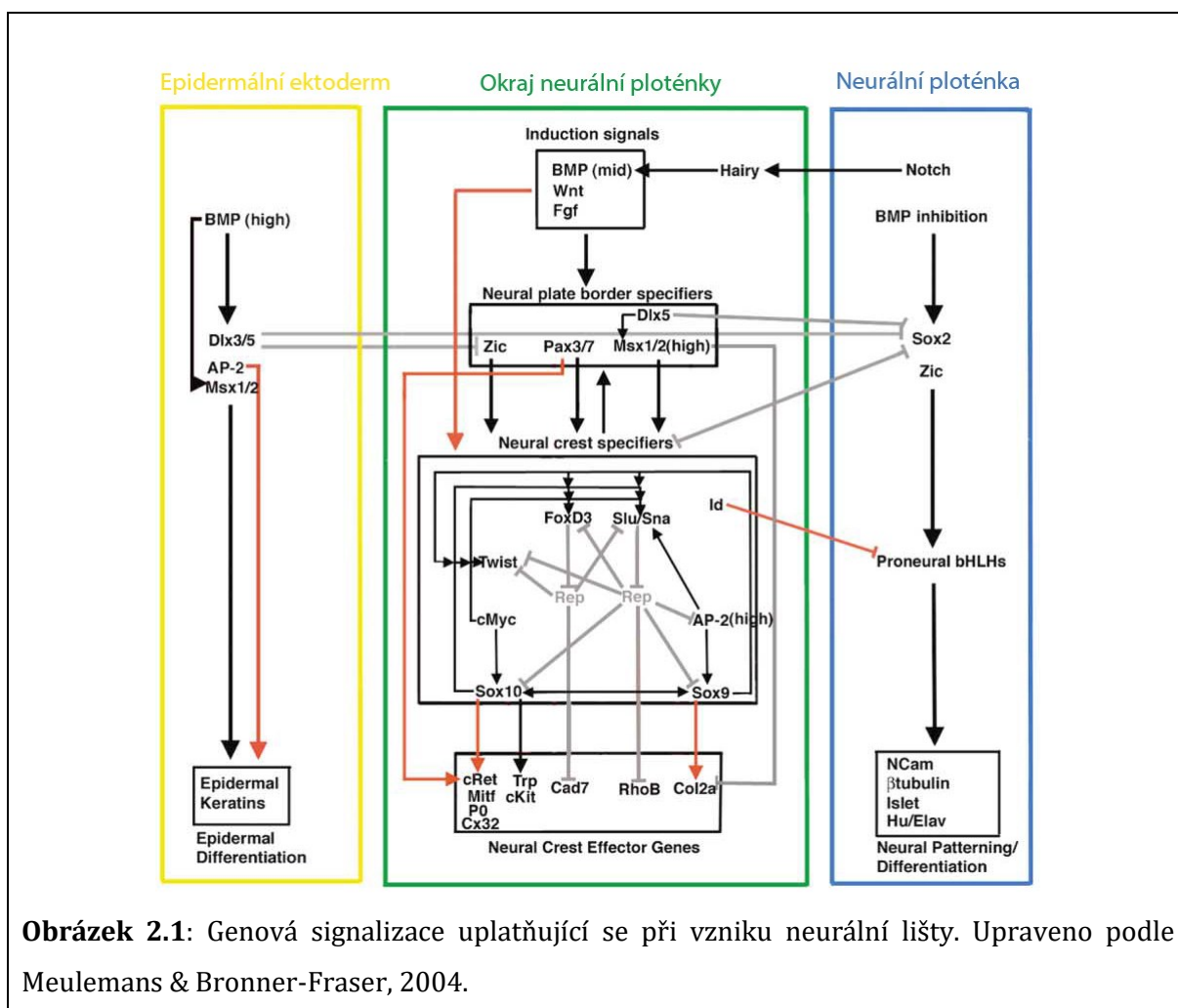
Prvotní zárodečné vrstvy ektoderm a endoderm, jež se jako první objevily v evoluci živočichů a vystávají v nejranějším stádiu embryogeneze, jsou předběžně přítomny již v neoplozeném vajíčku. Zato druhotná zárodečná vrstva mezoderm není v obratlovčím vajíčku předpřipravena, nýbrž vzniká následkem induktivních interakcí mezi ektodermem a endodermem (Hall, 2009). Mezoderm je řazen mezi zárodečné vrstvy z důvodů obrovské rozmanitosti buněčných a tkáňových typů jaké utváří, a formace stejných tkání a struktur napříč živočichy. Neurální lišta, stejně tak jako mezoderm, utváří embryonální mezenchym a vzniká až na popud induktivních interakcí, avšak mezi neurálním a epidermálním ektodermem. Její buněčné populace jsou konzervativní mezi obratlovci, a také dává vznik stejným tkáním a orgánům napříč obratlovci. V porovnání s mezodermem navíc neurální lišta utváří větší spektrum buněčných typů a tkání (Hall, 2000). Z těchto důvodů, jak navrhuje Hall (Hall, 2000), by měla být neurální lišta označována za sekundární zárodečnou vrstvu vedle mezodermu. Nabytí neurální lišty bylo zásadním krokem v rozvoji nových buněčných typů, tkání a morfologií při vzniku obratlovců. Došlo tak k přeměně triblastického tělního plánu strunatců na sofistikovanější tetrablastický bauplan zároveň s obrovským rozšířením buněčné rozmanitosti (Bronner & LeDouarin, 2012).

Tabulka 1.1.: Součet buněčných typů odvozených od buněk neurální lišty a tkáně s orgány, které jsou původem přímo z neurální lišty, nebo obsahují deriváty buněk neurální lišty. Převzato od Hall, 2009.

<p>Buněčné typy: Senzorické neurony Adrenergní neurony Satelitní buňky – prekursori buněk příčně pruhované svaloviny Neuroglie Parafolikulární buňky Melanocyty Osteoblasty a osteocyty Fibroblasty (mezenchymální) Příčně pruhovaný myoblast Mezenchymální kmenové buňky Merkelovy buňky Cholinergní neurony Rohon-Béardovy buňky Schwannovy buňky Chromafinní buňky Kalcitonin produkující buňky Chondroblasty, chondrocyty Odontoblasty Srdeční mezenchym Myoblasty hladkého svalstva Angioblasty</p>	<p>Tkáně a orgány: Spinální ganglia Sympatický nervový systém Štítná žláza a příštítná tělíska Nadledviny Zuby Pojivové tkáně Hladká svalovina Srdeční septa, ventily, aortální oblouky Oči Endotel Srdce Mozek Parasympatický nervový systém Periferní nervový systém Ultimobranchiální tělíska Kraniofaciální skelet Dentin Tuková tkáň Příčně-pruhovaná svalovina Škára Rohovka Cévy Hřbetní ploutev Pojivová tkáň příštítných tělísek, štítné žlázy, brzlíku, hypofýzy a slzných žláz</p>
--	--

2.2. Vznik neurální lišty během embryogeneze

K formování neurální lišty dochází během neurulace, během níž se povrchový ektoderm člení na tři fyzicky a funkčně odlišné oblasti vlivem indukčního působení prechordální destičky a struny hřbetní (Gilbert & Barresi, 2016). Z jedné oblasti ektodermu vzniká (1) neurální ploténka (neuroektoderm), jež vnořením pod povrch a zakřivením svého tvaru dá vznik nervové trubici. Z nervové trubice v následném vývoji vzniká centrální nervová soustava, mozek a mícha. Oblast obepínající neurální ploténku se mění v (2) epidermální ektoderm, jenž je základem pro pokožku jedince v průběhu dalšího vývoje. Třetí oblastí vyvíjejícího se ektodermu je (3) neurální lišta, jež vzniká z neuroektodermu a rozkládá se na pomezí neurální ploténky a epidermálního ektodermu (Gilbert & Barresi, 2016). Indukce neurální lišty nastává vlivem signalizace z paraxiálního mezodermu. Ten produkuje signalizační molekuly, jež ustálí množství kostního morfogenetického proteinu (BMP) na středních hodnotách, které jsou stěžejní pro indukci neurální lišty. Ačkoli je BMP pro indukci neurální lišty nejzásadnějším signalizačním prvkem, nedokáže vznik neurální lišty řídit sám o sobě. Vedle BMP jsou klíčové zejména FGF a Wnt signalizace (Sauka-Spengler & Bronner-Fraser, 2008).



Obrázek 2.1: Genová signalizace uplatňující se při vzniku neurální lišty. Upraveno podle Meulemans & Bronner-Fraser, 2004.

2.3. Delaminace, migrace a diferenciace

První viditelná aktivita buněk neurální lišty po jejich indukci je tzv. epiteliálně-mezenchymální přeměna, při níž buňky neurální lišty mění svůj charakter a odprošťují se od nervové trubice (Gilbert & Barresi, 2016). Epiteliálně-mezenchymální přeměna je spuštěna souborem mimobuněčných signálních molekul, mezi kterými jsou také prvky mimobuněčné hmoty, jako např. kolagen nebo hyaluronová kyselina, či členové TGF β a FGF rodin (Sauka-Spengler & Bronner-Fraser, 2008). Následně ztrácí buňky neurální lišty svoji apikálně-bazální polaritu a zároveň rozkládají mezibuněčné adhezivní molekuly, které jsou nezbytné pro epiteliální formaci. Pro umožnění migrace dochází také k odstranění těsných spojení mezi samotnými buňkami, a poté již nic nebrání buňkám neurální lišty v jejich migraci na místo určení (Cordero et al. 2010). Pohybují se v bezbuněčném a na mimobuněčnou hmotu bohatém prostředí (Bronner-Fraser, 1995), okolní bariéru jim tvoří pojivové tkáně složené z kolagenů, fibronektinu, lamininu, vitronectinu a proteoglykanů. Řízení migrace na kýžené místo určení se odehrává signalizací mezi samotnými migrujícími buňkami neurální lišty, tak mezi těmito buňkami a okolním prostředím (Sauka-Spengler & Bronner-Fraser, 2008). Aby se následně mohly diferencovat v patřičný buněčný typ, potřebují interagovat s transkripčními faktory, růstovými faktory, receptory, nebo jinými genovými produkty. Tato interakce může probíhat již v nervové trubici před migrací, během migrace, či v konečném místě určení (Hall, 2009).

Experimentální data ohledně multipotence buněk neurální lišty naznačují, že valná většina těchto buněk není předurčena v jasný buněčný typ a diferencuje se až v důsledku signální determinace okolním prostředím během migrace. Některé buňky neurální lišty se zdají být předem vázané na určitou buněčnou linii. Buněčná populace neurální lišty se tedy jeví jako heterogenní skupina složená z buněk s různým stupněm multipotence a plasticity (Mayor & Theveneau, 2013).

2.4. Vymezení neurální lišty

Buňky neurální lišty migrují odlišnými cestami a vytváří často rozdílný soubor derivátů v závislosti na jejich axiálním místě původu. Standardně rozlišujeme čtyři hlavní oblasti, ze kterých buňky neurální lišty vycestovávají: hlavová, vagální, trupová a lumbosakrální (Bronner & LeDouarin, 2012). Poziční určení jednotlivých populací buněk neurální lišty je stanoveno kombinací homeodoméních transkripčních faktorů. Ty jsou v buňkách neurální lišty indukovány, a nadále udržovány vlivem signálů z okolního prostředí (Minoux & Rijli, 2010). Kupříkladu hlavová neurální lišta čelistnatců dává vzniknout kostem a chrupavkám obličeje, ale také melanocytům, gliovým buňkám a některým sensorickým neuronům hlavy. Naproti tomu trupová neurální lišta není schopna přispívat chrupavčitou ni kostěnou tkáně do organismu za přirozených

podmínek vývoje, utváří však melanocyty, spinální ganglia, sympatická ganglia a chromafinní buňky (Green et al. 2015).

Následující rozdělení neurální lišty na čtyři hlavní oblasti neurální lišty podle Gilberta & Barressiho (Gilbert & Barressi, 2016). Pro danou oblast je často charakteristické finální místo určení, do kterého buňky neurální lišty cestují, a také buněčné typy, jež utváří.

- **Hlavová neurální lišty** – buňky této oblasti dávají vznik kraniofaciálnímu mezenchymu, který se diferencuje v chrupavku, kost, hlavové neurony, gliové buňky, pigmentové buňky a pojivovou tkáň tváře. Tyto buňky také vstupují do žaberních oblouků, dávají vzniknou buňkám brzlíku, odontoblastům, a kostem středního ucha a čelisti (Gilbert & Barressi, 2016). Buňky hlavové neurální lišty vznikají v úrovni mezimozku až po oblast třetího somitu (Mayor & Theveneau, 2013). Podoblastí hlavové neurální lišty je srdeční neurální lišta, jejíž buňky se vyvíjí v melanocyty, neurony, chrupavku a pojivovou tkáň třetího, čtvrtého a šestého žaberního oblouku. Utváří také veškerou svalově-pojivovou tkáň stěny velkých tepen při vzniku ze srdce. Také se podílí na tvorbě přepážky oddělující plicní a aortální cirkulaci (Gilbert & Barressi, 2016). Tyto buňky vznikají v úrovni od otické oblasti až po oblast čtvrtého somitu (Mayor & Theveneau, 2013).
- **Trupová neurální lišta** – migrace buněk vystávajících z této oblasti může probíhat dvěma hlavními proudy: Ventrolaterálním proudem přes přední polovinu každého sklerotomu, přičemž buňky zůstávající ve sklerotomu utváří spinální ganglia, zatímco buňky migrující dále ventrálním směrem, tvoří sympatická ganglia, dřeň nadledvin a nervový shluk okolo aorty. Druhý proud poté vede dorsolaterálním směrem. Migrující buňky touto cestou putují škárou od hřbetní strany k břichu, kde se na různých místech usazují jako pigmentové buňky – melanocyty (Gilbert & Barressi, 2016). Buňky trupové neurální lišty jsou přítomny od čtvrtého somitu dále kaudálním směrem (Mayor & Theveneau, 2013).
- **Vagální neurální lišta + sakrální neurální lišta** – obě oblasti sestávají z buněk formující parasympatická ganglia střeva (Gilbert & Barressi, 2016).

3. Hlavová neurální lišta

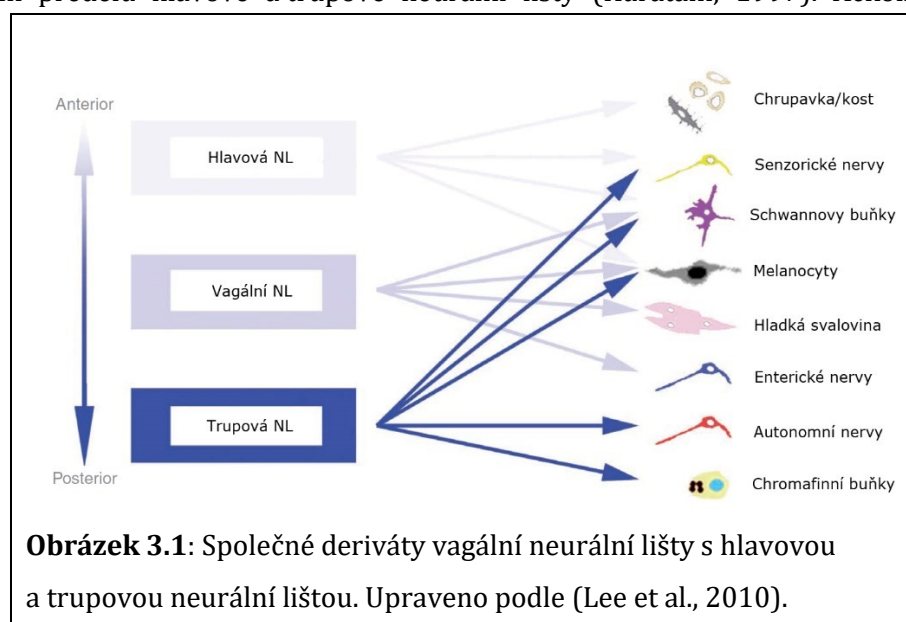
Výzkum neurální lišty je v posledních desítkách let soustředěn převážně na její hlavovou část. Oproti ostatním oblastem neurální lišty ji totiž specifikuje patrná skeletogenní schopnost. Hlavová neurální lišta utváří celou preotickou část lebky, podílí se na vzniku prechordálií a zubů, ovlivňuje úpon kraniálních svalů, utváří složky nervové soustavy a také dává vznik měkké plně mozkové (LeDouarin & Kalcheim, 1999).

3.1. Hranice hlavové a trupové neurální lišty

Hlavová neurální lišta se rozkládá na úrovni neurální trubice předního, středního a zadního mozku (Kuratani et al., 2018). Zadní mozek je u blanatých obratlovců členěn na 7 či 8 částí, rhombomer. Rhombomery r1-r5 náleží preotické, r6-r8 potom k postotické oblasti (Kuratani, 1997). A právě z postotické oblasti neurální lišty migrují cirkumfaryngeální (circumpharyngeal) buňky, jež mohou dát vznik jak buňkám hlavové, tak trupové neurální lišty. Taková situace může nastat pouze v této oblasti, neboť se zde vyskytují faryngeální oblouky – odpovědné za paternování (patrnost) hlavy – zároveň se somity – odpovědnými za paternování trupu (Kuratani, 2018).

Cirkumfaryngeální buňky postotické oblasti neurální lišty mohou migrovat dorzolaterálně jak ventrolaterálně (Kuratani, 1997). Při dorzolaterální migraci však brzy naráží na somity, od kterých jsou odklány, a mění směr migrace k rostrálnímu konci těla. Viditelný proud buněk ve tvaru písmene S tak představuje nejdorzálnější cestu migrace buněk hlavové neurální lišty, a je tedy jasným ukazatelem předělu hlavové a trupové neurální lišty (Kuratani, 1997). Ačkoli cirkumfaryngeální

buňky představují nejakaudálnější buněčnou populaci hlavové neurální lišty, bývá tato oblast označována jako vagální neurální lišta, jež tvoří hranici mezi hlavou a trupem (Kuratani, 1997).



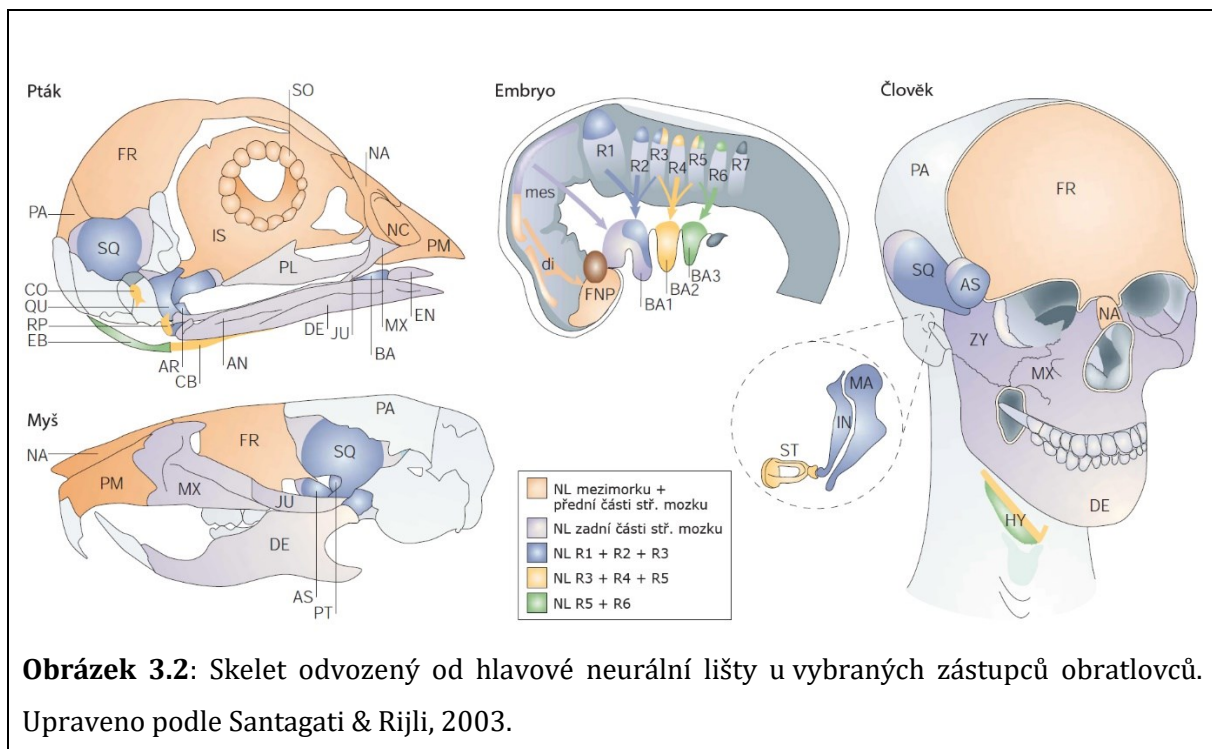
3.2. Migrace buněk hlavové neurální lišty

Aby mohly buňky hlavové neurální lišty vytvořit specifické tkáně na žádoucích místech, musí migrovat z místa svého vzniku na konečnou pozici určení. K tomu využívají přesně dané trasy migrace, jež jsou konzervativní u všech obratlovčích druhů (Hall, 2009). Zahájení migrace buněk hlavové neurální lišty vzniká jako odpověď na induktivní signalizace z epidermálního ektodermu a mezodermu, jež spolu interagují právě na okraji nervové ploténky. Induktivními signály zahájená signalizační kaskáda vede k epiteliálně-mesenchymální přeměně, a buňky se uvolňují z nervové trubice (Kulesa et al., 2010). V hlavě dochází k současnému uvolnění všech buněk neurální lišty najednou, a následně se celá masa dělí do zřetelných migračních proudů (Theveneau & Mayor, 2012). Zatímco v trupové oblasti jsou buňky neurální lišty při své migraci omezeny buď aktivujícími či inhibujícími polovinami somitů (což vede k jejich segmentované organizaci), v hlavě proudí buňky neurální lišty z vyvíjejícího se mozku volně bez přítomnosti somitů (Graham et al. 2003). Jak ukázali Theveneau & Mayor (Theveneau & Mayor, 2012) na modelu drápatky, po uvolnění buněk z neurální trubice se začínají formovat tři migrační proudy: (1) mandibulární, (2) hyoidní a (3) branchiální; jež jsou od sebe odděleny oblastmi prostých buněk neurální lišty (*neural-crest free regions*). Branchiální proud se poté dělí na dva, případně tři menší proudy (Theveneau & Mayor, 2012). Proud migrujících buněk jsou plastické. Pokud během migrace brání buňkám v pohybu nějaká překážka, buňky hlavové neurální lišty (u kuřete) mohou tuto bariéru překonat či odstranit okolní buňky a dále pokračovat v migraci, nebo vedoucí buňky změni směr okolo překážky, a migrují k místu určení oklikou (Kulesa et al., 2010). Migrační proudy sestávají jak z multipotentních, tak diferenciacně omezených buněk, jejichž následný vývoj může být řízen signály z vnějšího prostředí (Kulesa et al., 2010). Buňky formující ganglia hlavy se zastavují v dorzální části hlavy, zatímco buňky tvořící chrupavky a kosti obličeje a krku pokračují ventrálním směrem dále do žaberních oblouků. Z postotické oblasti vystupující některé buňky neurální lišty migrují až do vyvíjejícího se srdce (Theveneau & Mayor, 2012). Následkem nesprávné migrace pak vznikají morfologické vady obličeje, krku a kardiovaskulárního systému (Kulesa et al., 2010).

3.3. Skeletogeneze hlavové neurální lišty

Buňky hlavové neurální lišty se mohou diferencovat v příspěvky ne-ektomezenchymálního typu – např. melanocyty, periferní neurony a gliové buňky; nebo ektomezenchymálního typu – skeletogenní, odontogenní, chrupavčitá či pojivová tkáň (Lee et al., 2013). Podle Santagatiho & Rijliho (Santagati & Rijli, 2003) je schopnost neurální lišty tvořit skelet způsobena množstvím exprese *Hox* genů v dané axiální úrovni. Nejpřednější část hlavové neurální lišty neexprimuje *Hox* geny, kvůli čemuž vytváří vůbec největší počet skeletálních prvků – většinu chrupavky a

dermálních kostí obličeje a čelisti. Naproti tomu neurální lišta druhého žaberního oblouku exprimující *Hox* geny 2. skupiny utváří menší počet skeletálních prvků, přispívajících do středního ucha a jazylky, a neurální lišta z třetího žaberního oblouku exprimuje 2. a 3. skupinu *Hox* genů, což se projevuje značně sníženou skeletogenní činností v krční oblasti. Co se týče buněk trupové neurální lišty, které exprimují navíc ještě několik dodatečných *Hox* genů, neutváří skelet vůbec (Santagati & Rijli, 2003).



Skeletální tkáně, kterými přispívá neurální lišta do těla obratlovců, jsou: (1) chrupavka – u neobratlovčích živočichů nacházíme také chrupavku, u ptáků a savců dochází navíc i k tvorbě tzv. sekundární chrupavky, jež je evoluční novinkou; (2) kost – inovativní tkáň obratlovců vznikající buďto z neurální lišty či jiných struktur; (3) zubovina – nový znak obratlovců utvářený pouze buňkami neurální lišty (Hall, 2005).

3.4. Odontogeneze hlavové neurální lišty

Na vzniku zubů savců se podílí dva odlišné buněčné typy. Ameloblasty vznikající z buněk ektodermu, a odontoblasty, jež jsou deriváty neurální lišty (Sharpe, 2001). Činností ameloblastů dochází ke vzniku skloviny, zatímco zubovina vzniká vlivem aktivity odontoblastů. Dodatečné buněčné typy a tkáně v chrupu savců, jakými jsou dřeň, cement, periodontální membrána a alveolární kost, jsou také odvozeny od buněk neurální lišty (Hall, 2009). Vývoj zubů probíhá ve třech fázích: zahajovací, morfogenetické a diferenciační. Během zahajovací fáze se z určitých

buněk neurální lišty stávají buňky zubního mezenchymu, a z epiteliální tkáně se zakládá zubní lamina. V morfogenetické fázi vývoje zubů dochází ke stanovení tvaru budoucích zubů. Rozhraní epitelu s mezenchymem se ohýbá a tvaruje, čímž se vymezuje patrnost budoucí hranice mezi sklovinou a zubovinou. Při závěrečné diferenciační fázi se buňky mezenchymu polarizují, a jako odontoblasty začínají produkovat před-zubovinu, která slouží jako matrice pro zubovinu. Poté, co je před-zubovina sekretována, dochází také k polarizaci epitelu a vzniku ameloblastů. Ameloblasty sekretují sklovinu, a to v době, kdy dochází již k mineralizaci zuboviny (Thesleff & Hurmerinta, 1981). Od kritických a na sebe navazujících interakcí mezi ústním epitelem a mezenchymem neurální lišty se poté odvíjí také výsledný tvar, velikost a počet zubů (Chai et al. 2000).

Zuby jsou však jen specifitější pojem pro obecnější odontody, které jsou složeny z příchytné kosti, zuboviny, a někdy také povrchové vrstvy skloviny (enamel/enameloid). Mezi odontody patří také dentikuly (denticles) dermálního skeletu. Podobnost zubů s dentikulami a ostatními odontodami vedla ke vzniku několika teorií o jejich původu. Podle jedné z nich jsou zuby modifikované odontody, jež vznikají v orofaryngeální dutině namísto povrchu kůže. Další z hypotéz předkládá pravý opak, tedy že zuby vznikly v entodermu a poté došlo v kontaktu s ektodermem ke vzniku povrchových dentikul (Fraser et al., 2010).

Jak již bylo zmíněno, hlavová neurální se od trupové odlišuje svojí skeletogenní schopností. Navíc tedy utváří chrupavku, kost a spolu s epitelem ektodermu či entodermu se podílí na vzniku zubů. Jestliže jsou však zuby utvářené buňkami hlavové neurální lišty homologické s odontodami, které se vyskytují i v záhlavní oblasti (např. v podobě plakoidních šupin paryb), může se jednat o případ skeletogenní činnosti buněk trupové neurální lišty, nebo buňky hlavové neurální lišty migrují také do trupové oblasti, kde utváří dermální skelet.

Tabulka 2.1.: Srovnání hlavních derivátů hlavové a trupové neurální lišty.
Převzato od Santagati & Rijli, 2003.

	Hlavová neurální lišta	Trupová neurální lišta
Senzorický nervový systém	Ganglia hlavových nervů	Spinální ganglia
Autonomní nervový systém	Enterická nervová soustava Parasympatická ganglia: ciliární, pterygopalatická, ušní a submandibulární	Enterická nervová soustava Parasympatická ganglia: pelvic plexus. Sympatická ganglia: superior cervical, stellate, celiac, superior and inferior mesenteric, aorticorenal
Buňky ne-neurální povahy	Satelitní buňky ganglií, Schwannovy buňky hlavových nervů	Satelitní buňky ganglií, Schwannovy buňky periferních nervů
Pigmentové buňky	Melanocyty	Melanocyty
Endokrinní a paraendokrinní buňky	Buňky produkující kalcitonin, karotidové tělísko I. typu, parafolikulární buňky štítné žlázy	Dřeň nadledvin
Kostra	Kosti obličeje a lebky, chrupavky obličeje	Žádná
Pojivová tkáň	Škára, tuková tkáň a hladké svalstvo kůže, ciliární svalstvo, rohovka, stroma žláz hlavy a krku, dentální papila, stěny aortálních a od oblouků odvozených tepen, meningy předního mozku a části středního mozku	Žádná

4. Migrace buněk trupové neurální lišty

Jak neurulace probíhá od anteriorního k posteriornímu konci těla, buňky neurální lišty v trupové oblasti delaminují později než v hlavě. V jednom okamžiku se tak buňky neurální lišty rozdílných axiálních úrovní nachází v různých fázích migrace (Bronner-Fraser, 1986). Z tohoto důvodu také vznikají její deriváty v antero-posteriorním sledu (Serbedzija et al., 1989). Buňky trupové neurální lišty delaminují z neuroektodermu postupně, na rozdíl od buněk hlavové neurální lišty, které se uvolňují najednou (Theveneau & Mayor, 2012). Zproštěny své epiteliální formace počínají buňky neurální lišty migrovat. Rozlišují se dvě hlavní migrační cesty buněk trupové neurální lišty: (1) ventrální cesta (někdy označovaná také jako ventromediální), při níž buňky prochází přední polovinou sklerotomů; a (2) dorzolaterální cesta vedoucí pod pokožkou a okolo dermamyotomů (Bronner-Fraser, 1985; Serbedzija et al., 1989; Juarez et al., 2013). Z buněk migrujících ventrální cestou vznikají senzorická ganglia a jiné tkáně, zatímco z buněk migrujících dorzolaterální cestou vznikají melanocyty (Juarez et al., 2013). Dalšími deriváty odvozenými od buněk trupové neurální lišty jsou neurony a satelitní gliové buňky zadních kořenů míšních, sympatická ganglia, buňky dřene nadledvin, Schwannovy buňky aj. (Bronner-Fraser & Fraser, 1989).

4.1. Somitomerie

Migrace buněk neurální lišty v trupu je v úzkém spojení s vývojem somitů. Odehrává se v mimobuněčném prostoru mezi nervovou trubicí a epiteliálními somity. V čas, kdy buňky neurální lišty opouští neurální trubice, somity se člení na specifikovanější jednotky. Z jejich dorzolaterální části se stávají dermomyotomy, buňky ventromediální části podstupují epiteliálně-mezenchymální přeměnu a utváří sklerotomy (Krull et al., 1995). V okamžiku dělení somitů na dermatom, myotom a sklerotom, pronikají buňky neurální lišty migrující ventrální cestou do přední části sklerotomů. Od zadní části sklerotomů jsou odpuzovány, stejně tak jako od jiných struktur ve vyvíjejícím se embryu, např. od struny hřbetní (Bronner-Fraser, 1986). Jak předkládá Bronner-Fraser (Bronner-Fraser, 1995) v přístupu do zadní části sklerotomů je buňkám bráněno některými inhibujícími molekulami, zahrnující např. T-kadherin, chondroitin sulfát aj. V přední části sklerotomů se naopak mohou vyskytovat látky, jež jsou pro buňky trupové neurální lišty atraktivní, např. butylcholinesteráza či tenascin (Bronner-Fraser, 1995). Vlastnost buněk neurální lišty migrovat přes přední část somitů byla pozorována také u mihulí a sliznatek. Pravděpodobně se jedná o velmi starý mechanismus, který je zapříčiněný konzervativní strukturou somitů (Juarez et al., 2013).

Segmentalita v trupu se odráží od metamerického uspořádání somitů, tzv. somitomerismu. Vlivem přítomnosti somitů a paraxiálního mezodermu se také proudy migrujících buněk trupové neurální lišty pravidelně metamerizují (Kuratani, 2018). Buňky migrující dorzolaterální cestou však neprojevují metamerní uspořádání, na rozdíl od buněk migrujících ventrální cestou (Serbedzija et al., 1989). Pravidelné uspořádání derivátů buněk neurální lišty tedy nepramení z vlastností neurální lišty jako takové (Kuratani, 2018). Výzkum provedený na myším embryu (Gammil et al., 2006) ukázal, že pro segmentální migraci buněk trupové neurální lišty přes přední části sklerotomů je stěžejní signalizace mezi receptorem neuropilinem 2 (*Npn2*) a ligandem semaforinem 3F (*Sema3f*). *Npn2* je produkován buňkami neurální lišty před a během migrace, a vyskytuje se též v přední části sklerotomů. V zadní části sklerotomů je přítomný *Sema3f*, na který se váže právě *Npn2*. U myši s poruchou v této signalizaci migrovaly buňky trupové neurální lišty jak přední, tak zadní částí sklerotomů. Navíc forma migrace měla podobu masy buněk, namísto segmentálně uspořádaných proudů (Gammill et al., 2006). Dlouho dobu se předpokládalo, že segmentální migrace buněk neurální lišty skrze somity předem vymezuje segmentální organizaci ganglií periferního nervového systému, jež jsou původem z neurální lišty. Porucha v segmentaci buněk neurální lišty se však nijak zvlášť nepromítla na segmentaci periferního nervového systému. Ačkoli migrační patrnost buněk neurální lišty je důležitá pro segmentalitu periferního nervového systému, není pro ni nezbytná (Gammill et al., 2006).

Při vystavění embryí látce PNA (lectin peanut agglutinin) byly buňky trupové neurální lišty pozorovány jak v přední, tak zadní části sklerotomů. Vliv PNA se také promítl na morfologii buněk neurální lišty. Některé z nich měly kulatý tvar s nejasnou orientací, oproti běžně se vyskytujícím protáhlým buňkám. Také migrační chování buněk trupové neurální lišty se zdálo být více chaotičtější, dokonce nebyly pozorovány ani buněčné proudy. Dalším testováním však Krull et al., 1995 nezjistili přímý vliv PNA na buňky neurální lišty. PNA působí převážně na vlastnosti somitů, které následně ovlivňují patrnost buněk trupové neurální lišty. PNA-vázající molekuly vyskytující se v zadní části somitů ovlivňují tak patrnost buněk trupové neurální lišty v somitech (Krull et al., 1995).

4.2. Konkrétní cesty migrace

Pro výzkum migrace buněk trupové neurální lišty použili Juarez et al. (Juarez et al., 2013) jako modelový organismus žraloka (*Chiloscyllium punctatum*). Metoda spočívala v injikování značící látky Dil do nervové trubice embrya s následnou čtyřadvaceti hodinovou inkubací. Buňky neurální lišty označené Dil jevíly během migrace klasickou segmentovanou patrnost, a migrační

trasa těchto buněk vedla ventromediální cestou. Navíc byla pozorována migrace buněk neurální lišty do postranní čáry, čímž se vyznačují pouze kostnaté ryby a příčnoústé paryby. Jak dále Juarez et al. (Juarez et al., 2013) uvádí, na rozdíl od vysokého množství migrujících buněk trupové neurální lišty v ptačím embryu, bylo v žraloku pozorováno snížené množství migrujících buněk. Tento trend je charakteristický pro obratlovce vázané na vodu, jakými jsou ryby a obojživelníci (Juarez et al., 2013).

Honjo & Eisen (Honjo & Eisen, 2005) použili dánío pruhované (*Danio rerio*) pro studium migračních tras buněk trupové neurální lišty. Ukázali, že tyto buňky prostupují při ventromediální migraci střední částí somitů. Většinu těchto somitů však tvoří myotomy, na rozdíl od sklerotomů tvořící většinu somitů u blanatých obratlovců. Vývoj sklerotomů nekoreluje se segmentální patrností a migrací buněk trupové neurální lišty, a sklerotomy také nejsou potřebné pro formaci spinálních ganglií. Z toho důvodu Honjo & Eisen (Honjo & Eisen, 2005) vzali v potaz myotomy jakožto hlavní iniciátory segmentální migrace buněk trupové neurální lišty. Ukázalo se, že pomalá svalová vlákna (či jejich prekurzory – adaxiální buňky) jsou tím, co paternuje segmentovanou migraci buněk trupové neurální lišty u dánía pruhovaného (Honjo & Eisen, 2005).

Migrace buněk trupové neurální lišty byla pozorována i u žáby drápatky vodní (*Xenopus laevis*). Buňky z přední a střední části trupu opouštěly nervovou trubici a migrovaly: (1) dorzální cestou do ploutve a pigmentového pruhu, a (2) ventrální cestou okolo nervové trubice a struny hřbetní, z nichž následně vnikala spinální ganglia. V malé míře byla také pozorována migrace laterální cestou mezi ventrální částí somitů a žloutkem, kterou putovaly presumptivní pigmentové buňky. Buňky ze zadní části trupové neurální lišty migrovaly stejnými cestami a utvářely téměř ty samé deriváty, jako buňky z přední a střední části, avšak navíc putovaly do břišní oblasti ploutve, a to dvěma možnými cestami: (1) přes špičku ocasu do břišního úseku ploutve, nebo (2) přímou cestou k řitnímu otvoru, kde taktéž vstupovaly do břišní části ploutve. Vznikající deriváty neurální lišty se liší podle toho, z jaké axiální úrovně pochází její buňky. Jak přední, tak i zadní oblast trupové neurální lišty drápatky utváří pigmentové buňky, senzorické a sympatické neurony, gliové buňky a buňky hřbetní ploutve. Z buněk přední části navíc vznikají buňky dřeně nadledvin a pronefrického kanálku, zatímco z buněk zadní části dorzální aorta, buňky břišní části ploutve a enterické deriváty (Collazo et al., 1993).

Epperlein et al. (Epperlein et al., 2007) použili pro změnu modelové zvíře axolotla (*Ambystoma mexicanum*). Pozorované cesty migrace odpovídaly obecnému schématu. Kupříkladu, buňky trupové neurální lišty migrovaly laterálně mezi pokožkou a dermomyotomem, srovnatelné s obecnou migrací dorzolaterální cestou. Pozorována byla také migrace skrze sklerotomy. Jak odhalilo DiI označení buněk trupové neurální lišty v předmigrační či časné migrační fázi, první cestou, kterou tyto buňky migrují, je dorzolaterální cesta. Následně migrují

ventromediální cestou, a to v mnohem menší míře než při dorzolaterální migraci. Dále také testovali možnou rozdílnost buněk neurální lišty na základě jejich medio-laterálního umístění. Rozdíly v cestách migrace, ураžené vzdálenosti či formovaných derivátech však žádné neshledali (Epperlein et al., 2007).

Buňky trupové neurální lišty hada (*Lampropeltis getula californica*), jak ukázali Reyes et al. (Reyes et al., 2010), migrují taktéž ventromediální cestou. Vyhýbají se zadní části somitů, a poté, co prostoupí jejich přední částí, migrují ventromediálním směrem až k oblasti dorzální aorty. Druhá velká masa později migrujících buněk byla pozorována jako úzký pruh mezi somity. Ve větší míře migrovaly buňky trupové neurální lišty v ocasní oblasti trupu než ve střední části. (Reyes et al., 2010).

Poté, co DiI označené buňky trupové neurální lišty kuřete zahájily migraci do mezi-somitického prostoru, vstoupily do přední části sklerotomů. Nikdy však nebyly pozorovány v zadní části sklerotomů. Migrace těchto buněk probíhala v málo zřetelných třech až čtyřech proudech. Buňky migrovaly často ve shlucích po dvou až čtyřech. Většina buněk trupové neurální lišty migrovala nepřímou cestou, často klikatě do předu a vzadu, pouze malé procento mířilo přímou cestou. Rychlost pohybu sledovaných buněk byla v rozmezí 10-14 μm za hodinu (Krull et al., 1995).

5. Skeletogeneze trupové neurální lišty

Obecné rozdíly odlišující hlavovou neurální lištu od trupové jsou: (1) rostro-kaudální umístění – hlavová neurální lišta vystávající přibližně z oblasti mozku a trupová neurální lišta z oblasti míchy (Hall, 2009); (2) cesty migrace a množství migrujících buněk – srov. kapitola 3. a 4.; a (3) utvářené deriváty – viz. tabulka 2.1.

5.1. Potenciál trupové neurální lišty tvořit skelet

Zásadním a dlouhodobě přijímaným rozdílem mezi těmito dvěma oblastmi je však schopnost skeletogeneze. Hlavová neurální lišta na rozdíl od trupové lišty utváří také ektomezenchymální deriváty, mezi které mimo svalstvo a pojivovou tkáň patří také skeletální tkáně – kost, chrupavka a zubovina (Graham et al., 2004). Rozlišení neurální lišty na skeletogenní hlavovou a neskeletogenní trupovou vyplynulo z klasických transplantačních pokusů prováděných na kuřecím embryu. Buňky hlavové neurální lišty byly přeneseny do oblasti trupové lišty, a v dané úrovni utvářely tytéž deriváty, jaké vznikají z buněk trupové lišty, nadto utvářely i shluky chrupavčité tkáně. Zato buňky trupové neurální lišty přenesené do hlavové oblasti dávaly vznik senzorickým neuronům a gliovým buňkám, leč neformovaly kosti, ani chrupavky obličej. Tato schopnost tvořit skelet je dána genetickým programem, jenž se liší mezi hlavovou a trupovou oblastí neurální lišty (Green et al., 2015).

Soudobé poznatky však ukazují, že výsada hlavové neurální lišty ve schopnosti tvořit skelet není omezena jen na tuto oblast. Buňky neurální lišty ze všech úrovní po axiální ose sdílí stejný diferenciační potenciál, nicméně jejich skeletogenní projev je omezen podmínkami vnějšího prostředí (Graham et al., 2004). Pro srovnání nechali McGonnell & Graham vyvíjet oblasti ptačí hlavové a trupové neurální lišty v médiu, používaném k růstu kostěné a chrupavčité tkáně. Po uplynutí přibližně čtyř týdnů se ve vzorcích jak s hlavovou – tak trupovou neurální lištou detekovala přítomnost chrupavky (alcianovou modří) i kosti (alizarinovou červení). V obou případech byly přítomny i melanocyty, další buněčný derivát neurální lišty. K molekulárnímu ověření těchto výsledků byly dále zkoumány trupová i hlavová neurální lišta na přítomnost kolagenu I a II, jakožto markerů kosti a chrupavky. Vzorky hlavové i trupové neurální lišty projevovaly po cirka čtyřech týdnech v médiu expresi kolagenu I, značící přítomnost osteoblastů, buněk tvořící kost. Procentuální zastoupeních těchto buněk v obou vzorcích bylo 20-30 %. Kolagen II, marker chrupavky, byl po zhruba třech týdnech v médiu přítomný s 50 % přítomností ve vzorku s hlavovou i trupovou neurální lištou. Z výsledků pro ptačí model vyplývá, že v *in vitro* podmínkách projevují buňky hlavové i trupové oblasti neurální lišty tentýž skeletogenní potenciál

(McGonnell & Graham, 2002). Epperlein et al. testoval možnost skeletogeneze buněk trupové neurální lišty v *in vivo* podmínkách. Heterotopickou transplantací axolotlí trupové neurální lišty do hlavové oblasti ukázal, že ačkoli buňky migrují z nervové trubice pryč, nepřipojují se k tradičním migračním proudům vedoucím do žaberních oblouků. Potvrdil však skeletogenní schopnost trupové neurální lišty. Označené buňky se nacházely ve shlucích chupavky s 5-10% zastoupením (Epperlein et al., 2000). McGonnell & Graham pro změnu vložili křepelčí buňky trupové neurální lišty přímo do mandibulárního a maxilárního primordia kuřete, čímž eliminovali problémy spojené s migrací buněk trupové neurální lišty v hlavě embrya. Výsledky ukázaly, že mimo předpokládané deriváty – Schwannovy buňky a melanocyty – tvořily buňky trupové neurální lišty také skeletální struktury. Příspěvky byly patrné v Meckelově chrupavce a sklerální chrupavce (McGonnell & Graham, 2002). Dříve se myslelo, že charakteristické deriváty neurální lišty náležejí pouze té dané axiální oblasti, ze které pochází buňky tvořící tyto deriváty – např. trupová neurální lišta formující sympatické neurony, vagální a lumbosakrální lišta dávající vznik enterickým neuronům, hlavová lišta tvořící chrupavku a kost. Ukázalo se však, že celá neurální lišta má schopnost tvořit sympatické i enterické neurony. Všechny oblasti neurální lišty tudíž sdílí stejný diferenciační potenciál. Osud jednotlivých populací neurální lišty je tak nejspíš dán faktory vnějšího prostředí nežli vnitřním předurčením (McGonnell & Graham, 2002). Redukce či ztráta skeletogeneze trupové neurální lišty může být vysvětlena třemi hypotézami: (1) první předkládá, že ke ztrátě mohlo dojít během evoluce. (2) Podle druhé hypotézy jsou v hlavové neurální liště přítomny regulační mechanismy, jež se v trupové oblasti nevyskytují, a mohly být nabyty na počátku evoluce obratlovců. (3) Třetím možným vysvětlením je časná segregace buněčných populací neurální lišty s rozdílnou genovou signalizací v průběhu evoluce (Green et al., 2015).

5.2. Projev skeletogeneze trupové neurální lišty

Mimo hlavu se dermální skelet nachází jen u několika současně žijících skupin čelistnatců. Je patrný ve formě dentikul, kostěných štítků či šupin, nicméně ve zredukované formě, než jaký byl výchozí stav u kmenových skupin (Gillis et al. 2017). Dermální skelet vyhynulých bazálních obratlovců sestával z kostěné bazální vrstvy a povrchové zuboviny, a byl přítomný také v postkraniální oblasti (McGonnell & Graham, 2002). Následkem suchozemského stylu žití došlo u blanatých obratlovců (Amniota) k postupné redukci vnějšího skeletu, a vnitřní kostra se tak stala hlavní oporou těla. V trupu tak převládla aktivita mezodermy při tvorbě skeletální tkáně nad aktivitou neurální lišty (McGonnell & Graham, 2002).

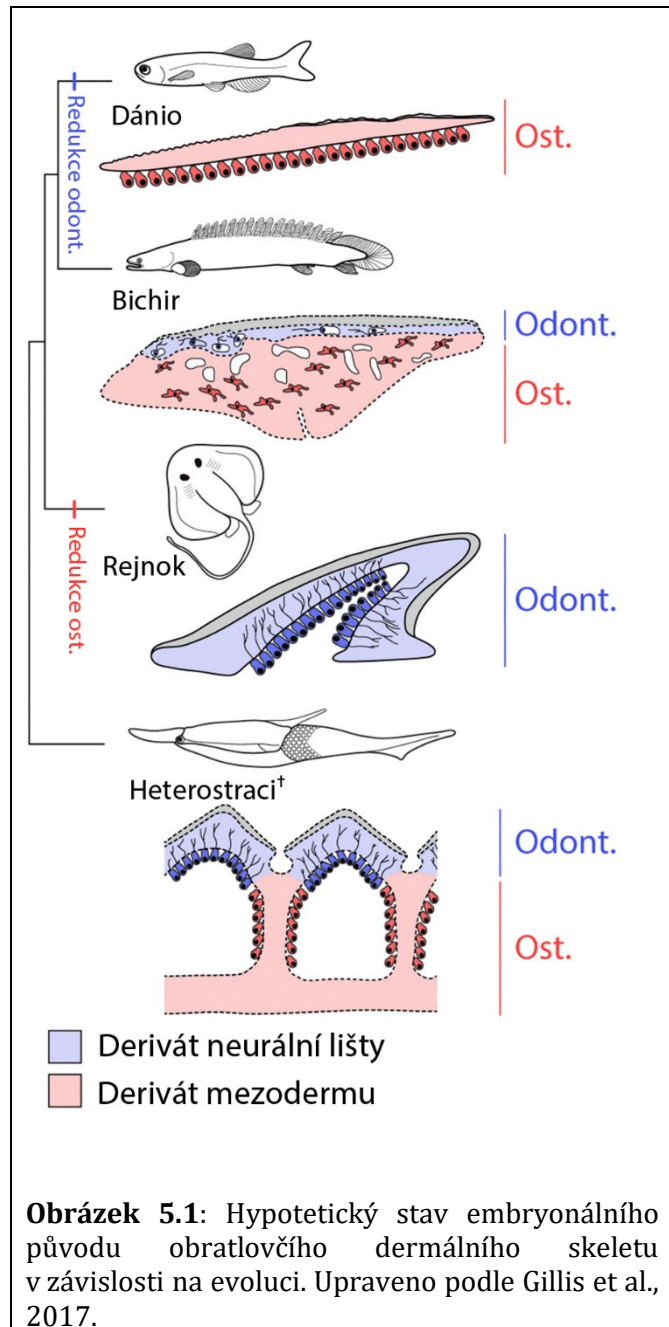
Zuby současných obratlovců jsou svou histologickou stavbou a vývojem podobné zubům vyhynulých bazálních obratlovců. Z tohoto důvodu se předpokládalo, že šupiny a paprsky ploutví – tvořící postkraniální skelet – pravděpodobně odvozené od šupin bazálních obratlovců jsou

taktéž jako ony neurálně-lištového původu. Pro ověření hypotézy byly v rané fázi vývoje dánia pruhovaného (*Danio rerio*) buňky neurální lišty trvale označeny, a následně se sledovala jejich přítomnost v šupinách. Až na malé procento se buňky neurální lišty v elasmoidních šupinách trupové oblasti dánia nevyskytovaly, na rozdíl od buněk odvozených od mezodermu, jež tvořily většinový podíl těchto šupin (Mongera & Nüsslein-Volhard, 2013). Ke stejnému závěru dospěli také Lee et al. (Lee et al., 2013) rovněž na dániu pruhovaném. Navíc ukázali, že také osteoblasty ploutevních paprsků nejsou odvozeny od neurální lišty, nýbrž od paraxiálního mezodermu. Na druhé straně Kague et al. (Kague et al., 2012) při svém výzkumu trvale označili buňky trupové neurální lišty a sledovali, v jakých tkáních se objeví během vývinu jedince. K překvapivému zjištění se buňky neurální lišty objevily v blízkosti dutých lepidotrichií a vnějšího povrchu, a navíc projevovaly markery osteoblastů tvořících kosti.

Ačkoli přítomnost buněk neurální lišty v elasmoidních šupinách nebyla potvrzena, zůstávalo otázkou, zda mohou šupiny jiného typu být odvozeny od neurální lišty. Zatímco šupiny většiny kostnatých ryb obsahují pouze málo mineralizovanou kost, plakoidní šupiny paryb sestávají ze silně zmineralizované dentikuly složené ze zuboviny a skloviny. Podobnost se zuby, na jejichž vývoji se podílí buňky neurální lišty, je zřejmá. Pro ověření embryonálního původu těchto šupin označili Gillis et al. (Gillis et al., 2017) buňky trupové neurální lišty rejnoka (*Leucoraja erinacea*), a během vývoje sledovali jejich přítomnost v plakoidních šupinách. Sedm z osmi pozorovaných embryí vykazovalo označené buňky v odontoblastech těchto šupin. Pro ověření otestovali dentikuly ještě na přítomnost paraxiálního mezodermu, jehož výskyt se nepotvrdil (Gillis et al. 2017).

Obecně se předpokládá, že vnější kostra raných obratlovců – kupříkladu štítnatců (Ostracodermi) – byla odvozená od trupové neurální lišty. Ta byla pravděpodobně obdařena ektomezenchymálním potenciálem, jakým se vyznačuje hlavová neurální lišta u současně žijících

obratlovců. Pro hypotézu značí hlavně fakt, že kosterní pláty tvořící vnější kostru šitnatců byly složeny ze zuboviny (Green et al. 2015). Během evoluce se skeletogenní schopnost buněk neurální lišty různě redukovala společně s exoskeletem a intramembranozními kostmi v trupové oblasti (Kague et al., 2012). Výchozí struktura exoskeletu byla složena z bazální, od mezodermu odvozené kostěné vrstvy, a povrchové odontogenní vrstvy vzniklé z neurální lišty, jak se domnívá Gillis et al., 2017. U paryb (Chondrostei) došlo ke ztrátě osteogenní vrstvy, kdežto u kostnatých ryb (Teleostei) vymizela vrstva odontogenní. Předpokládá se, že u některých ne-kostnatých ryb, jakými jsou např. bichiři (Polypteriformes), zůstaly zachovány obě vrstvy (Gillis et al., 2017).

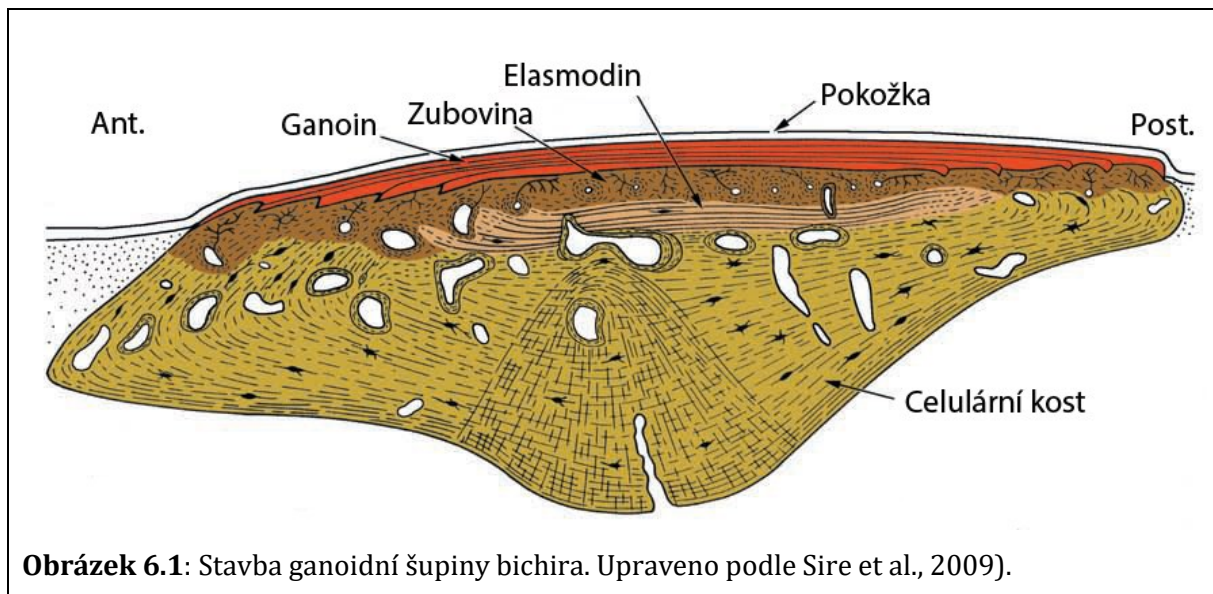


6. Závěr

Trupová neurální lišta se nachází v záhlavní oblasti embryí obratlovců, která je charakteristická přítomností mezoderálních somitů. Buňky trupové neurální lišty migrující z neuroektodermu napříč vyvíjejícím se jedince jsou tak ovlivněny právě přítomností těchto somitů. Ty mohou tvořit buď neprůstupnou bariéru migrujícím buňkám, či naopak, mohou být jejich důležitým vodítkem při migraci. Buňky trupové neurální lišty, stejně tak jako buňky hlavové neurální lišty, mohou migrovat několika různými cestami. Jednou z těchto migračních cest buněk trupové neurální lišty je ventromediální cesta, při níž tyto buňky prostupují pouze přední polovinou daných somitů, kdežto od zadní poloviny jsou odpuzovány signálními molekulami. To má za následek metamerní uspořádání migrujících buněk, což v důsledku vede také k metamerizaci derivátů těchto buněk. Metamerní uspořádání zapříčiněné somity se nazývá somitomerie, v hlavové oblasti je poté obdobná situace způsobená přítomností žaberních oblouků nazývána branchiomerií.

Na rozdíl od hlavové neurální lišty, která se podílí výraznou měrou na tvorbě skeletu v hlavě, byla trupová neurální lišta po dlouhou dobu označována jako prosta skeletogenní schopnosti. Nedávno se však ukázalo, že také trupová neurální lišta dokáže tvořit skeletální tkáň, a to nejen v *in vitro* podmínkách, leč také *in vivo* v podobě plakoidních šupin u rejnoka.

Exoskelet nejstarších linií obratlovců (např. Pteraspidomorphi) sestával z odontogenní (enamel, enameloid, různé typy zuboviny) a osteogenní vrstvy (celulární a acelulární kosti). Během evoluce docházelo k redukci jedné či druhé vrstvy u různých druhů obratlovců. Bichiři si však ve stavbě své ganoidní šupiny zachovaly obě tyto komponenty (Sire et al., 2009). Povrchovou vrstvu šupiny u bichira (*Calamoichthys calabaricus*) tvoří mineralizovaný ganoin, střední vrstva je tvořena zubovinou, a podklad je tvořen ztloustlou kostní tkání (Sire et al., 1987).



Obrázek 6.1: Stavba ganoidní šupiny bichira. Upraveno podle Sire et al., 2009).

Těchto výsledků bylo dosaženo klasickými anatomicko-morfologickými metodami, nikoli molekulární analýzou. Jestliže by se i molekulárními metodami potvrdila přítomnost zuboviny, jednalo by se o jedinečnou stavbu šupin složenou jak z odontogenní, tak osteogenní vrstvy. Zubovina je také derivátem odvozeným pouze z neurální lišty (Hall, 2005). Vedle žraloků (Gillis et al., 2017) by tak bichiři byli dalším známým druhem obratlovce s dermálním skeletem v záhlavní oblasti odvozeným od neurální lišty. Tímto směrem bych se proto ubíral ve své diplomové práci. Ta by měla za cíl odhalit, zda buňky trupové neurální lišty bichira opravdu přispívají do postkraniálního skeletu.

7. Zdroje

- Bronner, M. E. & LeDouarin, N. M.** (2012). Development and evolution of the neural crest: An overview. *Developmental biology* **366**, 2-9.
- Bronner-Fraser, M.** (1986). Analysis of the early stages of trunk neural crest migration in avian embryos using monoclonal antibody HNK-1. *Developmental Biology* **115**, 44-55.
- Bronner-Fraser, M.** (1995). Patterning of the vertebrate neural crest. *Perspectives on Developmental Neurobiology* **3**, 53-62.
- Bronner-Fraser, M. & Fraser S.** (1989) Developmental potential of avian trunk neural crest cells in situ. *Neuron* **3**, 755-766.
- Collazo, A., Bronner-Fraser, M. & Fraser, S. E.** (1993). Vital dye labeling of *Xenopus laevis* trunk neural crest reveals multipotency and novel pathways of migration. *Development* **118**, 363-376.
- Cordero, D. R., Brugmann, S., Chu, Y., Bajpai, R., Jame, M. & Helms, J. A.** (2010). Cranial neural crest cells on the move: their roles in craniofacial development. *American Journal of medical genetics* **155**, 270-279.
- Epperlein, H., Meulemans, D., Bronner-Fraser, M., Steinbeisser, H. & Selleck, M. A. J.** (2000). Analysis of cranial neural crest migratory pathways in axolotl using cell markers and transplantation. *Development* **127**, 2751-2761.
- Epperlein, H., Selleck, M. A. J., 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.
- Fraser, G. J., Cerny, R., Soukup, V., Bronner-Fraser, M. & Strelma, J., T.** (2010). The odontode explosion: the origin of tooth-like structures in vertebrates. *Bioessays* **32**, 808-817.
- Gaisler, J. & Zima, J.** (2018). Zoologie obratlovcu. (3rd. Ed). Praha: Academia.
- Gammill, L. S., Gonzales, C., Gu, C. & Bronner-Fraser, M.** (2006). Guidance of trunk neural crest migration requires neuropilin 2/semaphorin 3F signaling. *Development* **133**, 99-106.
- Gilbert, S. F. & Barresi, M. J. F.** (2016). *Developmental biology*. (11th ed). Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Gillis, J. A., Alsema, E. C. & Criswell K. E.** (2017). Trunk neural crest origin of dermal denticles in a cartilaginous fish. *PNAS* **114**, 13200-13205.

- Graham, A., Begbie, J. & McGonnell, I.** (2004). Significance of the Cranial Neural Crest. *Developmental dynamics* **229**, 5-13.
- Green, S. A., Simoes-Costa, M. & Bronner, M. E.** (2015). Evolution of vertebrates as viewed from the crest. *Nature* **250**, 474-482.
- 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.** (2005). Consideration of the neural crest and its skeletal derivaters in the context of novelty/innovation. *Journal of Experimental Zoology* **304B**, 548-557.
- Hall, B. K.** (2009). *The Neural Crest and Neural Crest Cells in Vertebrate Development and Evolution*. (2nd ed). New York: Springer.
- Honjo, Y. & Eisen, J. S.** (2005). Slow muscle regulates the pattern of trunk neural crest migration in zebrafish. *Development* **132**, 4461-4470.
- Horie, R., Hazbun, A., Chen, K., Cao, Ch., Levine, M. & Horie, T.** (2018). Shared evolutionary origin of vertebrate neural crest and cranial placodes. *Nature* **560**, 228-232.
- Chai, Y., Jiang, X., Ito, Y., Bringas, P. Jr., Han, J., Rowitch, D. H., Soriano, P., McMahon, A. P. & Sucov, H. M.** (2000). Fate of the mammalian cranial neural crest during tooth and mandibular morphogenesis. *Development* **127**, 1671-1679.
- Jeffery, W., R., Chiba, T., Krajka, F., R., Deyts, C., Satoh, N. & Joly, J.** (2008). Trunk lateral cells are neural crest-like cells in the ascidian *Ciona intestinalis*: Insights into the ancestry and evolution of the neural crest. *Developmental biology* **324**, 152-160.
- Juarez, M., Reyes, M., Coleman, T., Rotenstein, L., Sao, S., Martinez, D., Jones, M., Mackelprang, R. & De Bellard, M., E.** (2013). Characterization of the trunk neural crest in the bamboo shark, *Chiloscyllium punctatum*. *The Journal of Comparative Neurology* **521**, 3303-3320.
- Kague, E., Gallagher, M., Burke, S., Parsons, M., Franz-Odenaal, T. & Fisher, S.** (2012). Skeletogenic fate of zebrafish cranial and trunk neural crest. *PLoS One* **7**, 1-13.
- Krull, C., E., Collazo, A., Fraser, S., E. & Bronner-Fraser, M.** (1995). Segmental migration of trunk neural crest: time-lapse analysis reveals a role for PNA-binding molecules. *Development* **121**, 3733-3743.
- Kulesa, P. M., Bayiley, C. M., Kasemeier-Kulesa, J. C. & McLennan, R.** (2010). Cranial neural crest migration: New rules for an old road. *Developmental biology* **344**, 543-554.

Kuratani, S. (1997). Spatial distribution of postotic crest cells defines the head/trunk interface of the vertebrate body: embryological interpretation of peripheral nerve morphology and evolution of the vertebrate head. *Anatomy and Embryology* **195**, 1-13.

Kuratani, S., *Developmental Biology* (2018), <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.01.017>

LeDouarin, N., M. & Chaya Kalcheim. (1999). *The neural crest.* (2nd ed). Cambridge University Press.

Lee G., Chambers, S., M., Tomishima, M., J. & Studer, L. (2010). Derivation of neural crest cells from human pluripotent stem cells. *Nature protocols* **5**, 688-701.

Lee, R. T. H., Thiery, J. P. & Carney, T. J. (2013). Dermal fin rays and scales derive from mesoderm, not neural crest. *Current Biology* **23**, R336-R337.

Mayor, R. & Theveneau, E. (2013). The neural crest. *Development* **140**, 2247-2251.

Meulemans, D. & Bronner-Frasser, M. (2004). Gene-regulatory interactions in neural crest evolution and development. *Developmental cell* **7**, 291-299.

McGonnell, I. M. & Graham, A. (2002). Trunk neural crest has skeletogenic potential. *Current Biology* **12**, 767-771.

Minoux, M. & Rijli, F. M. (2010). Molecular mechanisms of cranial neural crest cell migration and patterning in craniofacial development. *Development* **137**, 2605-2621.

Mongera, A. & Nüsslein-Volhard, C. (2013). Scales of fish arise from mesoderm. *Current Biology* **23**, R338-R339.

Reyes, M., Zandberg, K., Desmawati, I. & de Bellard, M. E. (2010). Emergence and migration of trunk neural crest cells in a snake, the California Kingsnake (*Lampropeltis getula californiae*). *BMC Developmental biology* **10**, 1-14.

Santagati, F. & Rijli, F. M. (2003). Cranial neural crest and the building of the vertebrate head. *Nature* **4**, 806-818.

Sauka-Spengler, T. & Bronner-Fraser, M. (2008). A gene regulatory network orchestrates neural crest formation. *Nature* **9**, 557-568.

Serbedzija, G. N., Bronner-Fraser, M. & Frase, S. E. (1989). A vital dye analysis of the timing and pathways of avian trunk neural crest cell migration. *Development* **106**, 809-816.

Sharpe, P., T. (2001). Neural crest and tooth morphogenesis. *Advances in dental research* **15**, 4-7.

- Shoval, I. & Kalcheim, C.** (2012). Antagonistic activities of Rho and Rac GTPases underlie the transition from neural crest delamination to migration. *Developmental dynamics* **241**, 1155-1168.
- Sire, J.-Y., Donoghue, P. C. J. & Vickaryous, M. K.** (2009) Origin and evolution of the integumentary skeleton in non-tetrapod vertebrates. *Journal of anatomy* **214**, pp409-440.
- Sire, J.-Y., Geraudie, J., Meunier, F., J. & Zylberberg, L.** (1987). On the origin of ganoine: histological and ultrastructural data on the experimental regeneration of the scales of *Calamoichthys calabaricus* (Osteichthyes, Brachyopterygii, Polypteridae). *The american journal of anatomy* **180**, 391-402.
- Solnica-Krezel, K. & Sepich, D., S.** (2012). Gastrulation: Making and shaping germ layers. *Annual review of cell and developmental biology* **28**, 687-717.
- Thesleff, I. & Hurmerinta, K.** (1981). Tissue interactions in tooth development. *Differentiation* **18**, 75-88.
- Theveneau, E. & Mayor, R.** (2012). Neural crest delamination and migration: From epithelium-to-mesenchyme transition to collective cell migration. *Developmental Biology* **366**, 34-54.
- Vickaryous, M., K. & Hall, B., K.** (2006). Human cell type diversity, evolution, development, and classification with special reference to cells derived from the neural crest. *Biological reviews* **81**, 425-455.