

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Lenka Píchová

Embryonální vývoj faryngeální oblasti u obratlovců

The embryonic development of the pharyngeal region in vertebrates

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Robert Černý, Ph.D.

Praha, 2019

Prohlášení:

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

V Praze, 9.5.2019

Podpis

Poděkování

Tímto bych ráda poděkovala mému školiteli Mgr. Robertovi Černému, Ph.D., za ochotu, vstřícnost, rady a hlavně čas, který se mnou strávil při psaní této bakalářské práce.

Abstrakt

Plně vytvořený farynx u dospělého obratlovce je životně nepostradatelná struktura. Zajišťuje dvě hlavní funkce – příjem potravy a dýchání. Farynx je během embryonálního vývoje poprvé viditelný na laterální straně budoucí hlavy jako série vyvýšenin. Vývoj faryngeální oblasti u obratlovců začíná evaginací endodermu do podoby endodermálních výchlípek, naproti nimž se invaginuje ektoderm v podobě ektodermálních vchlípenin. Po střetnutí těchto dvou epiteliálních vrstev dochází k vytvoření faryngeálních oblouků, které jsou ohraničeny ektodermem z vnitřní strany a ektodermem ze strany vnější. Každý oblouk obsahuje mesenchymální jádro, které je tvořeno z buněk mesodermu a z mesenchymálních buněk neurální lišty. Obratlovci procházejí v rané embryogenezi fylogenetickým stádiem tzv. farynguly, definované právě faryngeálními oblouky, a tudíž se obecně předpokládá, že vývoj faryngeální oblasti bude u všech obratlovců značně konzervativní. Díky srovnávací analýze vývoje faryngeální oblasti u různých druhů obratlovců jsem ale zjistila, že konzervativní je pouze spíše časný embryonální vývoj do podoby faryngeálních oblouků, jelikož v pozdějším vývoji se oblouky začnou lišit a tvoří značně odlišné deriváty.

Klíčová slova: obratlovci, ektodermální vchlípenina, endodermální výchlípka, faryngeální oblouk, neurální lišta

Abstract

The fully-formed pharynx is for adult vertebrates indeed a vital structure. The pharynx provides two main functions – dealing with food and breathing. During embryonic development, pharynx is visible like a series of bulges on the lateral surface of the head. Embryonic development of the pharyngeal region starts with evagination of the endoderm to form the pouches, opposite to that the ectoderm invaginates to form the ectodermal clefts. Pharyngeal arches are formed after fusion of these epithelial layers, and pharynx is thus bordered by ectoderm from the inner, and endoderm from the outer side. Each pharyngeal arch consists of mesenchymal core of mesodermal and neural crest derived cells. All vertebrates develop through the so called phylotypic stage, being represented by the – pharyngula with the present pharyngeal arches. Accordingly, it was generally believed that development of the pharyngeal region is rather conservative in all vertebrates. My comparative analysis of pharyngeal development in different vertebrates species reveals that - only early embryonic formation of pharyngeal arches seems conserved, however, that later in development pharyngeal arches form various and diverse derivatives.

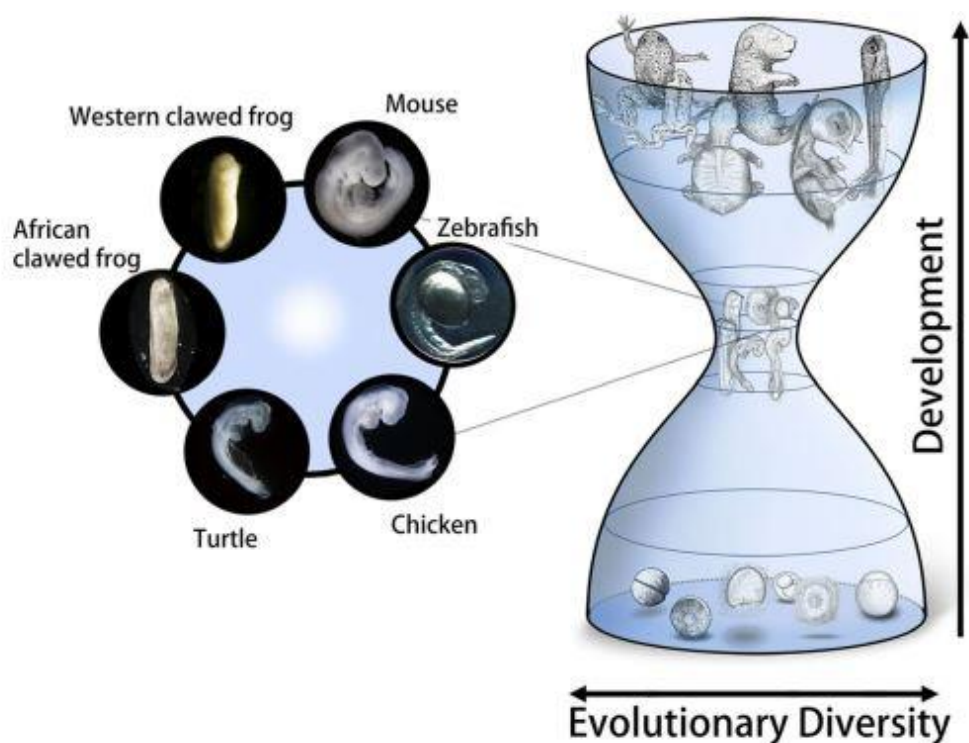
Key words: Vertebrates, ectodermal cleft, endodermal pouch, pharyngeal arches, neural crest

Osnova:

1. Úvod	1
2. Vznik a vývoj faryngeální oblasti u obratlovců	3
2.1. Primární role při vývoji faryngu – neurální lišta versus endoderm	6
2.1.1. Neurální lišta	6
2.1.2. Endoderm	10
3. Porovnání vzniku a vývoje faryngeální oblasti u různých druhů obratlovců spolu s porovnáním v rámci celé skupiny Deuterostomata	11
3.1. Kopínatec	12
3.2. Kruhoústí – mihule	13
3.3. Ryby – danio pruhované (zebrafish)	16
3.4. Savci – myš	18
4. Závěr	20
5. Zdroje	22

1. Úvod

Obratlovci (Vertebrata), kopinatci (Cephalochordata) a pláštěnci (Tunicata) patří mezi kmen strunatců (Chordata) (Delsuc, 2006, Satoh, 2016). První použil označení obratlovci – Vertebrata - Ernst Haeckel v roce 1886. Mezi společné znaky obratlovců patří komplexní hlava, dále vytvoření endoskeletu, neurální lišty a plakod (Satoh a kol., 2014). Neurální lišta a plakody jsou u obratlovců označovány jako čtvrtá zárodečná vrstva, díky níž vznikají skeletogenní deriváty, neurony, gliové buňky, pigmentové buňky a buňky hladkého svalstva a šlach (Mayor, Theveneau, 2013). Jedním z definičních znaků obratlovců je také přítomnost faryngeálních oblouků (Graham, Richardson, 2012, Frisdal, Trainor, 2014, Irie a kol., 2018), které nalezneme v embryogenezi ve vývojovém stádiu, jenž nazýváme faryngula. Toto stádium, je vysoce konzervované a průchod tímto tzv. fylogenetickým stádiem je společný pro všechny obratlovce (obr.1) (Irie a kol., 2018).



Obr. 1. Model přesýpacích hodin s embryi reprezentující fylogenetická stádía obratlovců. Převzato a upraveno podle Irie a kol. 2018.

Jak vyplývá z názvu mé bakalářské práce, rozhodla jsem se věnovat embryonálnímu vzniku faryngeální oblasti u obratlovců. Doposud se obecně předpokládalo, že vývoj faryngeální oblasti u obratlovců je konzervativní, jelikož všichni obratlovci procházejí fylogenetickým stádiem farynguly, v němž jsou u všech obratlovců přítomny faryngeální oblouky. Pomocí srovnávací analýzy bych ráda poukázala na rozdílnosti ve vývoji faryngeální oblasti u různých druhů obratlovců a způsob vývoje faryngeální oblasti pomocí zárodečných vrstev, které jsou za tento vývoj zodpovědné.

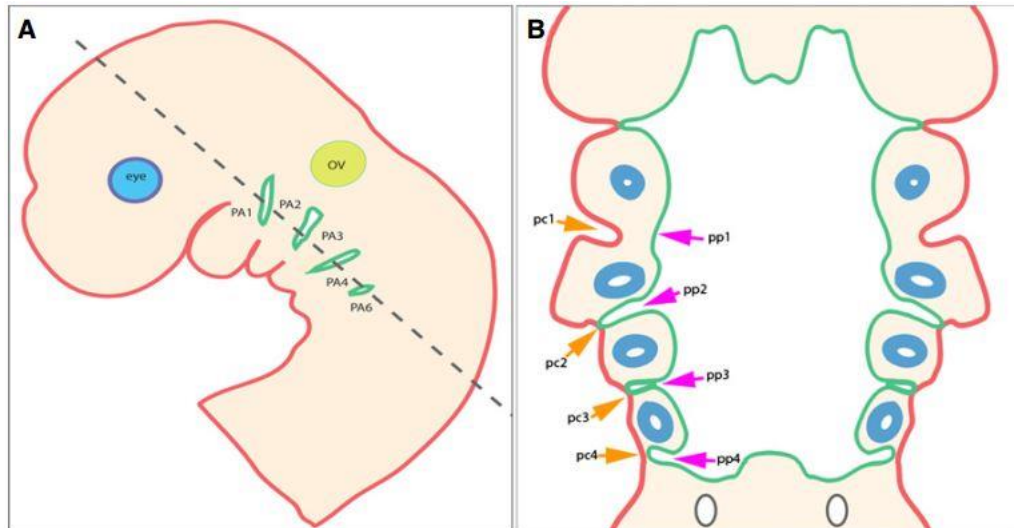
Dále bych ráda analyzovala zásadní úlohu endodermu, který je pro vývoj faryngu velmi důležitý. Doposud se obecně myslelo, že hlavní úlohu při vývoji faryngu hraje neurální lišta, nově ale přibývají důkazy o tom, že klíčovou roli hraje právě endoderm (*Graham, 2001*). V první části se také věnuji zbývajícím dvěma zárodečným vrstvám ektodermu a mesodermu, které mají stejně jako endoderm velmi důležitou roli, jelikož z mesodermu vznikají svaly a endotelové buňky obloukových artérií. Role ektodermu je hlavně krycí, jelikož z ektodermu se vyvíjí epidermis, která, jakožto nejsvrchnější část kůže, kryje faryngeální oblast obratlovců (*Frisdal, Trainor, 2014*).

V druhé části bakalářské práce budu srovnávací analýzou doklázat rozdílnosti embryologického vývoje faryngeální oblasti u různých druhů obratlovců. Z řad savců uvedu myš, z kruhoústých mihuli a z ryb danio pruhované, spolu s porovnáním vývoje faryngeální oblasti u kopinatce.

2. Vznik a vývoj faryngeální oblasti u obratlovců

Farynx je u všech skupin obratlovců poprvé zevně viditelný na laterální straně vznikající hlavy v podobě sérií vyvýšenin (Obr. 5. A) (Graham, 2001). Ontogenetický vývoj faryngeální oblasti probíhá chronologicky od prvního (nejrostrálnějšího) oblouku k nejvíce kaudálnímu (Shone, Graham 2014), za což jsou zodpovědné Hox geny (Gordon, 2018). V prvním faryngeálním oblouku nedochází k expresi Hox genů. Za druhý až čtvrtý oblouk zodpovídá Hox2, Hox2/3 (třetí oblouk), Hox2/3/4 (čtvrtý oblouk). Od čtvrtého oblouku dochází ke kombinacím posteriorně exprimovaných hox homologů (DeLauriel, 2018). Naopak, za dorso-ventrální diferenciaci faryngeální oblasti jsou zodpovědné Dlx geny (Kuraku a kol., 2010), kdy ventrálně dochází k expresi DLX5,6 a dorsálně k expresi Dlx1,2 (Yao a kol., 2011).

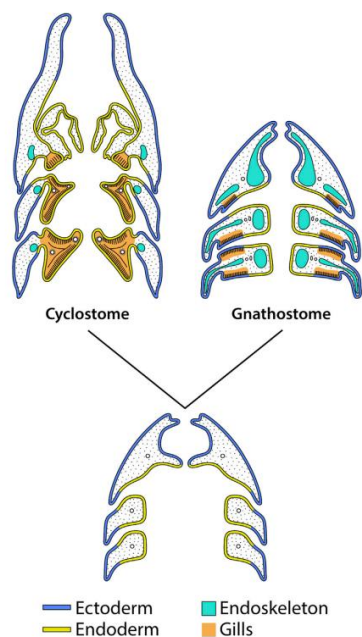
Farynx je tvořen značným množstvím typů buněk, které pocházejí ze všech čtyřech zárodečných vrstev - endodermu, mesodermu, ektodermu a neurální lišty (Trainor, Krumlauf, 2001). Všechny tyto buňky musí být výborně zkoordinované, aby mohlo dojít k správnému vytvoření celé faryngeální oblasti (Graham, 2001). Celý proces faryngogeneze začíná evaginací, tedy bočním vychlípáním vrstvy endodermu a vytvořením endodermálních výchlípek, naproti nimž se začne vchlipovat ektoderm do podoby ektodermálních vchlípenin (Trokovic a kol., 2003). V místě, kde se obě epiteliální vrstvy setkají, dochází k protržení obou epiteliálních vrstev a vzniku faryngeálních štěrbin (Quinlan a kol., 2004). Díky endodermálním výchlípkám a ektodermálních vchlípeninám vzniká ohraničení každého faryngeálního oblouku. Každý faryngeální oblouk je tedy zvenčí kryt ektodermem a z vnitřní strany endodermem, mezi nimi se nachází mesenchymální jádro, které je tvořené z buněk mesodermu a z mesenchymálních buněk neurální lišty (obr. 5. B) (Graham, Smith 2001).



Obr. 2. – Schema faryngeálních oblouků. A) schema kuřecího embrya z laterální strany. ov – otická kapsule, PA1-PA6 – faryngeální oblouky. Černá tečkovaná čára označuje koronální rovinu ze které pochází obrázek B. B) Schema z ventrálního pohledu na embryo, horizontální řez. Faryngeální vchlípeniny jsou označeny oranžovými šipkami. Faryngeální výchlípky jsou označeny růžovými šipkami. Bílé otvory v rámci oblouků představují oblouky artérií. Převzato a upraveno podle Graham, Shone, 2014.

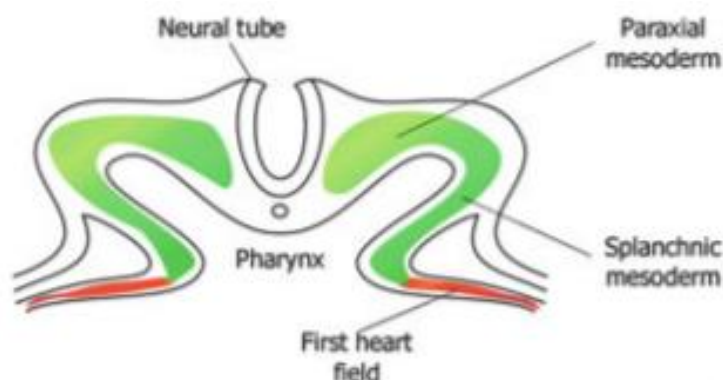
Endoderm tedy nejenom že začíná celý proces vývinu faryngeální oblasti, ale také později vystylá a chrání hltan. V neposlední řadě je endoderm velmi důležitý, jelikož vytváří různé deriváty a exprimuje signální molekuly, které jsou odpovědné za formování komponentů faryngeálních oblouků (Graham, Smith, 2001).

Ektoderm je důležitý nejenom prvotní evaginací a krycí funkcí, dává ale také vzniknout pokožce či sensorickým neuronům epibranchiálních plakod (obr. 5. B) (Frisdal, Trainor, 2014). Hraje také velmi důležitou roli kupř. při vývoji dentice, jelikož ektoderm indukuje odontogenezi (Graham, Smith, 2001). Ektoderm a endoderm jsou klíčové struktury pro vytvoření žaber. Zajímavé je, že ačkoliv u všech obratlovců žábra vznikají ze stejné faryngální oblasti, tak poměr zastoupení ektodermu a endodermu se liší u kruhoústých a čelistnatých obratlovců (obr. 3.) (Gillis, Tidswell, 2017).

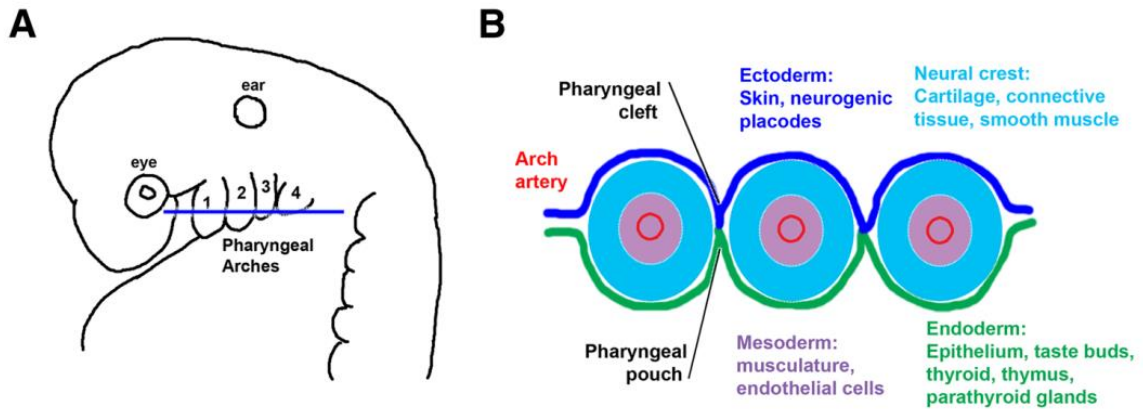


Obr. 3.: Schema žaber u kruhoústých (Cyclostomata) a čelistnanců (Gnathostomata) na základě rozdílného zastoupení buněk ektodermu a endodermu. Převzato od Gillis a Tidswell, 2017.

Mesoderm faryngeálních oblouků pochází ze dvou subdomén (obr. 4), když se zdá, že mezi nimi není jasná hranice: paraxiální mesoderm a mediální splachnický mesoderm. Obě tyto subdomény se sbíhají do faryngeálních oblouků a pomáhají tvořit jádro (Tzahor, Evans, 2011). Faryngeální mesoderm exprimuje geny jako *Tbx1* a *Twist* jako naváděcí podněty pro migrující buňky neurální lišty (Soo a kol, 2002). Z mesodermu faryngeálních oblouků později vznikají svaly jednotlivých oblouků a endotelové buňky obloukových artérií (obr. 5.B) (Schilling, Kimmel, 1994).



Obr.: 4. Schema faryngeálního mesodermu u 1,5 až 3 dny starého embrya kuřete. Zeleně je označený faryngeální mesoderm. Upraveno a převzato podle Tzahor a Evans, 2011.



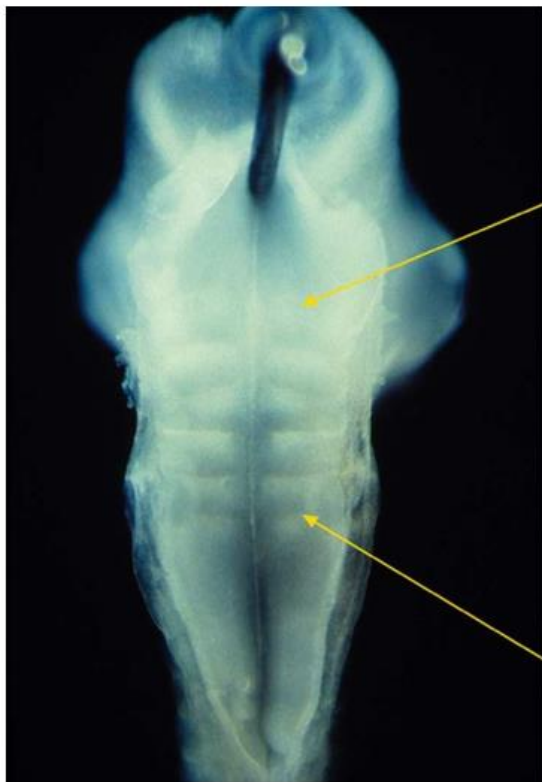
Obr. 5. A) Laterální pohled na amniotní embryo, čísla 1-4 zobrazují laterální vyvýšeniny, díky nimž je farynx poprvé zevně viditelný. B) Schema složení zárodečných vrstev a struktur, které díky daným zárodečným vrstvám vznikají. Tmavě modrá označuje endoderm, zelená ektoderm, světle modrá buňky neurální lišty, růžová mesoderm a červená obloukové artérie. Převzato od Graham, Richardson, 2012.

2.1. Primární role při vývoji faryngu – neurální lišta versus endoderm

2.1.1. Neurální lišta

Neurální lišta vzniká jako populace multipotentních buněk, které delaminují z místa mezi neurální destičkou a ektodermu po celé délce antero-posteriorní osy embrya (*Theveneau, Mayor, 2012*). Po delaminaci se buňky neurální lišty oddělují od sousedních neuroepiteliálních buněk a migrují v proudech po celém těle embrya (*Ahlstrom, Erickson, 2009*). U obratlovců jsou specifické geny v neurální liště jako *Twist*, *Pax3/7* nebo *SoxE*, které jsou zodpovědné za diferenciaci neurální lišty a jsou exprimované v před migračních a migrujících buňkách neurální lišty (*DeLauriel, 2018*). Po migraci do faryngeálních oblouků se buňky neurální lišty diferencují do skeletogenních chondrocytů a osteoblastů, které proliferují a sekretují matrix za vzniku kostní tkáně a chrupavky (*DeLauriel, 2018*). V tomto bodě jsou pod regulací morfogenických proteinů BMPs, *SoxE* faktorů a genů jako jsou kupř. *Pax* a *Twist* (*DeLauriel, 2018*). Neurální lišta dává vzniknout i většině neuronů, gliových buněk, pigmentovým buňkám a buňkám hladkého svalstva a šlach (*Dupin et al., 2006*).

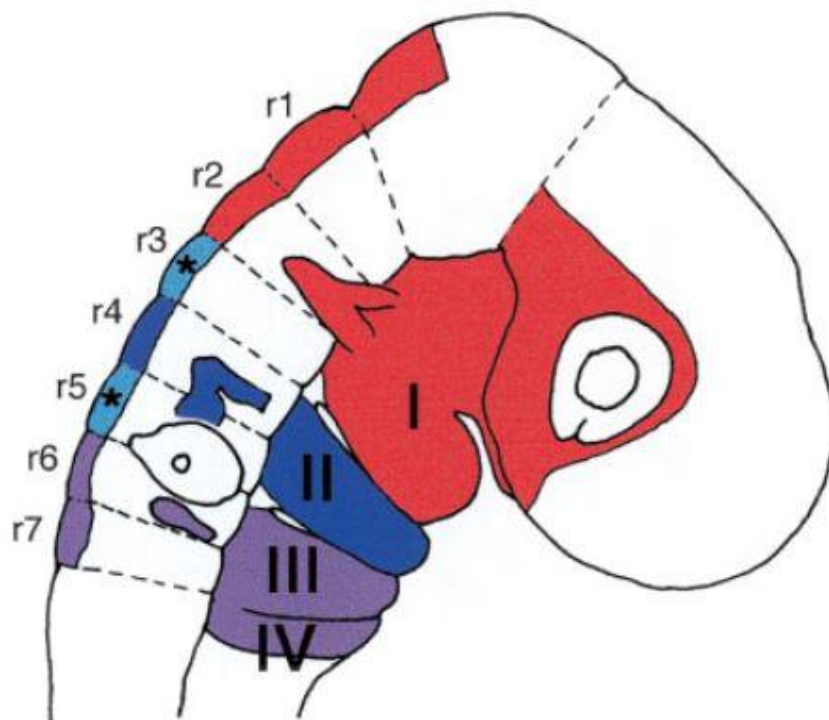
Buňky neurální lišty migrují do faryngeálních oblouků ze zadního mozku. Jako zadní mozek, neboli rhombencephalon, je označena kaudální část embryonálního mozku (obr. 6.). Rhombencephalon u obratlovců je povětšinou segmentován do sedmi částí, které nazýváme rhombomery a označujeme je jako r1 až r7 (*Trainor, Krumlauf, 2001*). Segmentace mateřského



neuroepitelu do rhombomer hraje klíčovou roli při stanovení funkční organizaci zadního mozku. Mezi zjevně segmentovaným zadním mozkem a nerozdělenou míchou je místo, které popisujeme jako pseudorhombomerní a označujeme ho jako r8 (*Lumsden, 2004*)

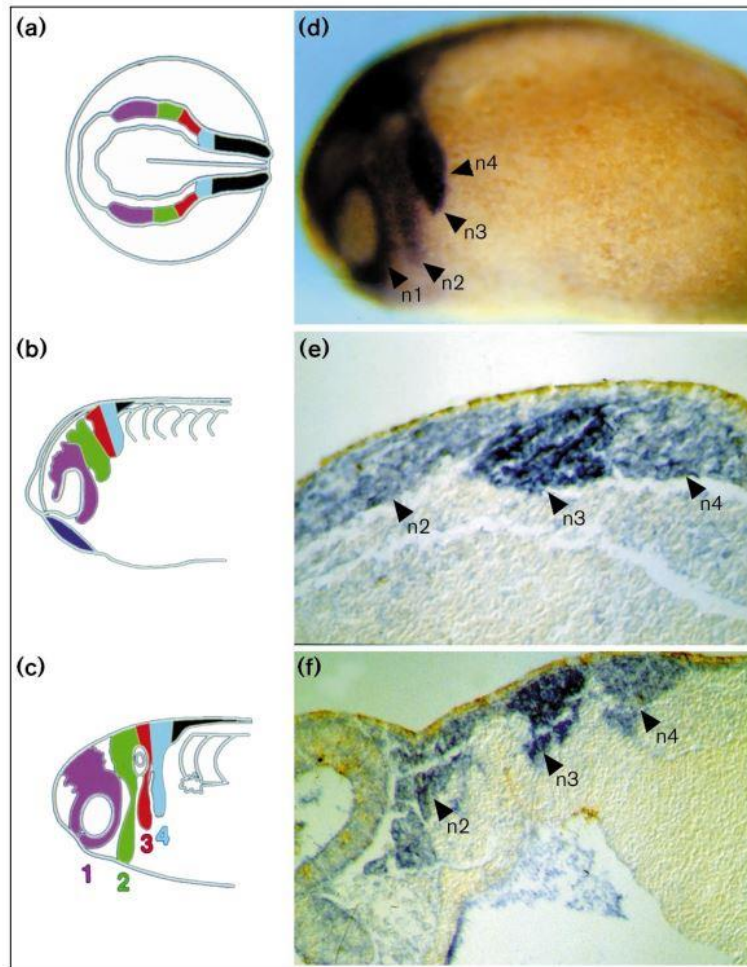
Obr. 6. – zadní mozek kuřecího embrya třetí den v inkubaci. Horní šipka směřuje k hranici r1/r2, dolní šipka k hranici r6/r7. Převzato a opraveno podle Lumsden, 2004.

Z takto segmentovaného zadního mozku migrují buňky neurální lišty ve třech proudech: trigeminální, hyoidní a post otický. První – trigeminální neboli mandibulární proud buněk naplňuje první, mandibulární faryngeální oblouk. Tento proud buněk migruje z anteriorní části zadního mozku a z rhombomer 1. a 2. Druhý proud buněk, hyoidní, naplňuje druhý oblouk a generuje jeho skeletální a pojivové tkáně, migruje z centrální části zadního mozku, primárně z rhombomery 4. (*Minoux a kol., 2009*). Z rhombomer 3 a 5 jsou generovány buňky neurální lišty, které však později převážně procházejí apoptózou a tudíž separují dané proudy od sebe (obr. 7.) (*Lumsden a kol., 1991*). Poslední, postotický či branchiální proud buněk neurální lišty naplňuje zbylé kaudální oblouky. Tento proud migruje z rhombomer 6 a 7. Proud, který tvoří kaudální oblouky, vystupují a migrují ze zadního mozku jako jediný proud (*Graham, Smith, 2001*).



Obr. 7. – Schema proudů neurální lišty. Proud označený červeně pochází ze zadního mozku rhombomer 1. a 2. a naplňuje první oblouk. Proud označený modře pochází ze 4. rhombomeru a naplňuje druhý oblouk. Proud označený fialově pochází z rhombomer 6 a 7 a naplňuje zadní oblouky. Světle modré rhombomery 3 a 5 označené hvězdičkou produkují buňky neurální lišty, které podstupují apoptózu, díky tomu dochází k separaci předešlých buněčných proudů. Převzato a upraveno od Graham, 2003)

Pomocí mapování buněk neurální lišty se zjistilo, že mezi segregovanými proudy buněk neurální lišty jsou další centra buněk, které nejčastěji leží u rhombomer 3 a 5. Tato centra produkují také buňky neurální lišty, které se posléze připojují k ostatním proudům buněk. Po připojení buněk, které pocházejí z těchto center k ostatním proudům buněk neurální lišty, dojde k masové odumření buněk apoptózou. Celý proces migrace, a tudíž i apoptózy, je pod kontrolou zadního mozku - nejedná se tedy o plně autonomní děj (Graham, 2001). Buňky neurální lišty, které uniknou apoptóze a migrují dál v jednotlivých proudech se příliš nemísí díky systému tyrosinkinázových receptorů a ephrinových ligandů, jejichž aktivita tak udržuje proudy od sebe (Klymkowsky a kol., 2010). I když proudy buněk neurální lišty, které obsazují druhý, třetí a čtvrtý oblouk jsou v kontaktu, díky pokusech na *Xenopus* bylo objeveno (obr. 8.), že mezi buňkami neurální lišty jsou z rhombocephalonu exprimovány právě receptory EphA4 a EphB1, které zabraňují mixování buněk neurální lišty v průběhu migrace. Ligand ephrin-B2 pro tyto receptory je umístěn v mesodermu druhého faryngeálního oblouku (Smith a kol. 1997).

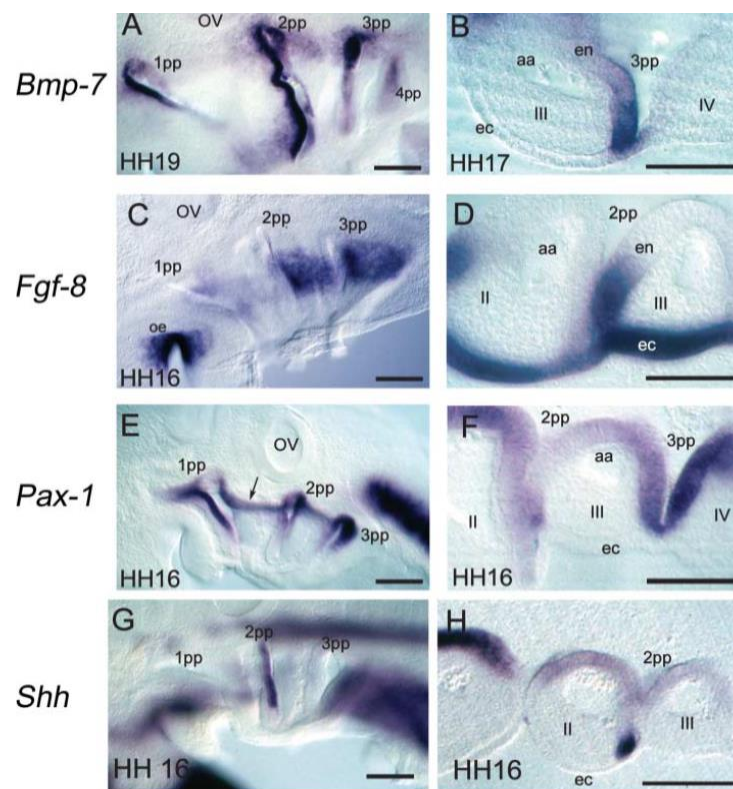


Obr.8. Omezení migrace branchiálních buněk neurální lišty u drápatky (*Xenopus*). a) počáteční segmentace, b,c,d) migrace proudů buněk neurální lišty do specifických faryngeálních oblouků. e) dorzální oblast migrujících buněk neurální lišty. Buňky neurální lišty určené pro druhý, třetí a čtvrtý faryngeální oblouk jsou v kontaktu. f) ventrální oblast, kde dochází k oddělení daných proudů. Převzato od Smith a kol., 1997.

Důležitá je i pozice samotných premigračních buněk neurální lišty. Anteriorně posteriorní pozice předpovídá segmentaci, zatímco mediálně laterální pozice u premigračních buněk předpovídá vznik určitého derivátu, který dané buňky neurální lišty vytvoří (*Schilling, Kimmel, 1994*).

2.2. Endoderm

I když neurální lišta je bezesporu velmi důležitá, je to právě endoderm, který zřejmě hraje primární roli při vývoji faryngu. Pro zjištění vývoje oblouků za nepřítomnosti neurální lišty, byl u kuřat provedený tzv. ablatační pokus, při němž byla kuřatům odstraněna neurální trubice, a to ještě před vytvořením buněk neurální lišty. Po 24 hodinách byla neurální trubice znovu inkubována (Veitch a kol., 1999). I přes toto odstranění ablatační embrya exprimovala normálně geny, které jsou zodpovědné za vývoj faryngeálního endodermu jako Shh, v rostrální polovině každé výchlípky byl exprimován Bmp-7, v kaudální polovině FGF-8 a na dorsální straně každého oblouku byl exprimován Pax-1 (obr. 9.) (Graham a kol., 2005). Díky těmto pokusům se ukázalo, že faryngeální oblouky se vytvoří správně i za nepřítomnosti neurální lišty, díky nezměněné expresi genů v endodermu (Veitch a kol., 1999).



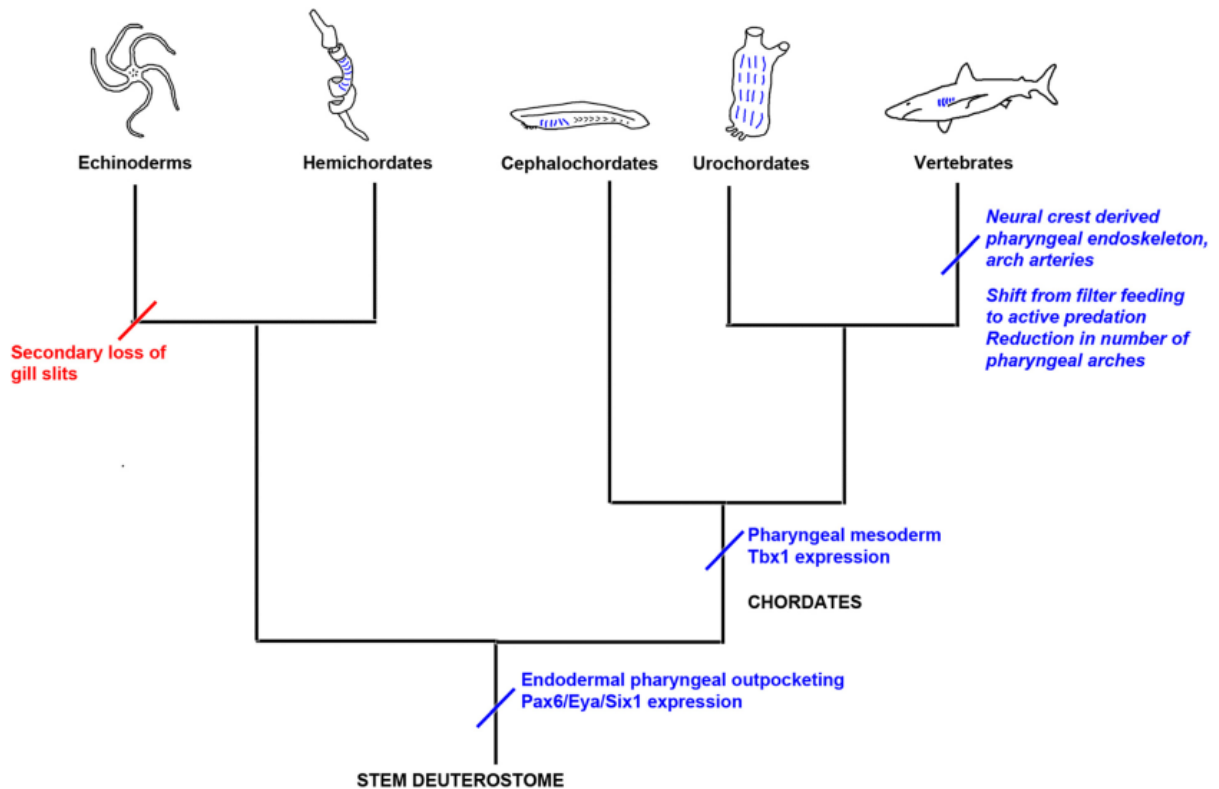
Obr.9.: Schema exprese genů v endodermu. A,B) exprese Bmp-7. C,D) exprese Fgf-8. E,F) exprese Pax-1. G,H) exprese shh. Převzato od Graham a kol., 2005.

Buňky uvnitř endodermu mají aktinová vlákna, které jsou propojeny do sítě a umístěny na apikální straně. Při narušení těchto sítí dochází ke špatnému vytvoření faryngeálních výchlipek. Díky fluorescenčnímu barvení se ukázalo, že jde o f-aktiny propojené pomocí N-kadherinu a leží pod apikální membránou endodermálních buněk. Při tvorbě výchlipek endodermem se aktinová vlákna nahromadila přesně tam, kde docházelo k morfologické změně endodermu, aby mohl vytvořit výchlipky (*Quinlal a kol., 2004*).

3. Porovnání vzniku a vývoje faryngeální oblasti u různých druhů obratlovců spolu s porovnáním v rámci celé skupiny Deuterostomata

Faryngotremie, tedy protržení faryngu v rámci vývoje faryngeální oblasti, je přítomna u všech druhoústých živočichů (*Gillis kol., 2011*). Pouze u ostnokožců (Echinodermata) zřejmě dochází k jejich druhotné ztrátě (*Graham, Richardson, 2012*). Všichni druhoústí živočichové tedy vytvářejí faryngeální endodermální výchlipky a exprimují v nich stejné geny – Pax6, Eya a Six1. Pro všechny strunatce (Chordata) je také typická exprese genu Tbx1 v mesodermu faryngeální oblasti (*Gillis a kol., 2011*). U obratlovců dochází k vytvoření buněk neurální lišty a tedy k tvorbě skeletálních derivátů, jenž slouží jako podpora plně vytvořených faryngeálních oblouků (*Graham, Richardson, 2012*) (obr. 10).

I když všechny faryngeální oblouky vypadají během svého formování značně podobně, v průběhu embryologického vývoje se postupně rozlišují, jelikož každý oblouk nakonec vytváří jiné struktury krku a hlavy obratlovců (*Kuratani a kol., 2013*). Počty faryngeálních oblouků jsou v rámci skupiny obratlovců velmi různorodé a pohybují od čtyř u myši až po šestnáct u sliznatek (*Choe a kol., 2013*). U amniot se faryngeální oblouky označují jako 1,2,3,4,6, jelikož pátý oblouk zaniká při časném formování (*Okabe, Graham, 2005*). U rybovitých obratlovců pak často nazýváme třetí a více posteriorní žaberní oblouky jako oblouky branchiální, jelikož tyto oblouky nesou branchiální epitel k dýchání – žábra. (*Frisdal, Trainor, 2014*). Z epiteliálních vrstev faryngeálních oblouků vznikají různé deriváty, jako parathyroidní žlázy, thymus, kůstky vnitřního ucha a mnoho dalších (*Gordon a kol., 2001*).

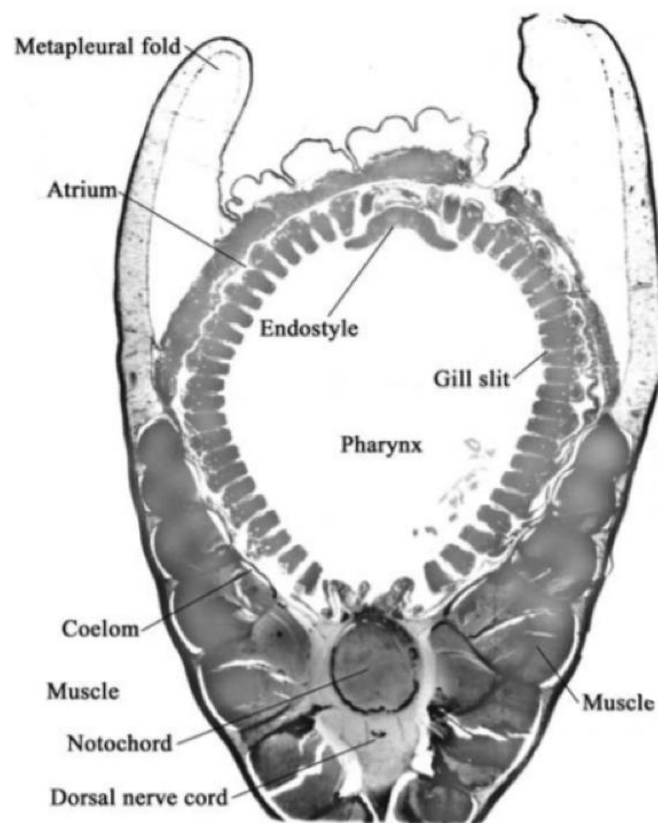


Obr.10. Schema evolučních novinek u vývoje faryngeální oblasti v rámci druhoústých živočichů. Faryngotremie (značena modře) u všech druhoústých (Deuterostomata) živočichů a její druhotná ztráta u ostnokožců (Echinodermata). Převzato od Graham, Richardson, 2012.

3.1. Kopínatec

Kopínatec, stejně jako obratlovci, patří do kmenu strunatců (obr.10) (Graham, Richardson 2012). Disponují společnými znaky jako nervová trubice na dorsální straně těla, mají faryngeální štěrbinu, postanální ocas a segmentované svaly (Holland a kol. 2008). Farynx kopínatců na rozdíl od obratlovců nevzniká ze všech čtyřech zárodečných vrstev, ale pouze z vnějšího ektodermu, vnitřního endodermu a mesodermu (Liu a kol., 2015). Endoderm se evaginuje směrem k ektodermu díky čemuž dochází při kontaktu k protržení faryngeální stěny, tedy faryngotremii (Frisdal, Trainor, 2014). Na rozdíl od obratlovců ale u kopínatců nenajdeme buňky neurální lišty (Holland a kol. 2008). Nemůže tedy docházet k migraci a naplňování faryngeální oblasti buňkami neurální lišty a posléze k tvorbě skeletálních derivátů. Branchiální podpora je tedy vytvořena ze skeletoproteinů a mukopolysacharidů a buněk kolagenu, které

jsou vylučovány z buněk endodermu (Koop a kol., 2008). Tvorba štěrbin postupuje chronologicky od anterioru k posterioru (Koop a kol., 2014). Na rozdíl od obratlovců dochází k překrytí žebních štěrbin pomocí metapleurálních záhybů (obr. 11), díky čemuž se vytvoří atrium s vyústěním tzv. atrioporem (Willey, 1897). Je zajímavé, že ačkoliv vývoj faryngeální oblasti není stejný jako u obratlovců, tak dochází v endodermu k exprimaci stejných genů jako u obratlovců (Liu a kol., 2015).

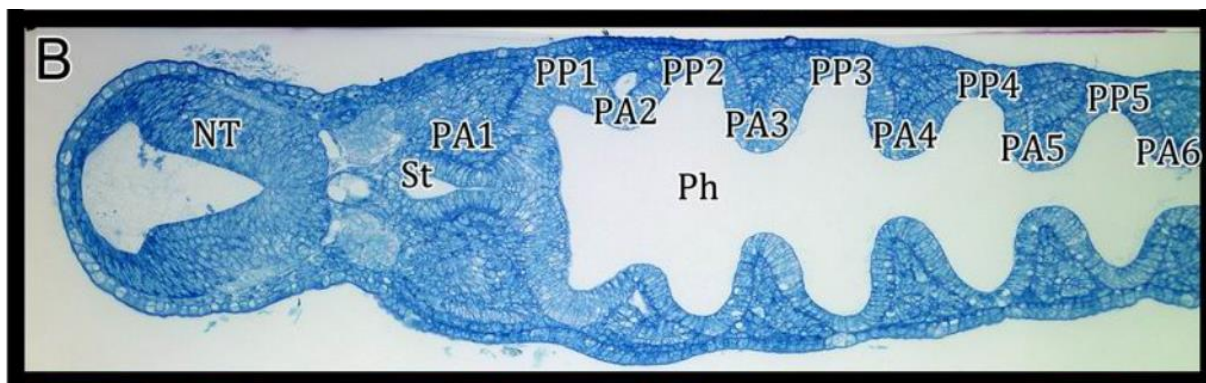


Obr. 11. Příčný řez tělem kopinatce, kde jsou již vyvinuté faryngeální štěrbin přetaženy metapleurálními záhyby a uzavřeny v dutině atria. Upraveno a převzato podle Ruppert, 2005.

3.2. Kruhoústí – mihule

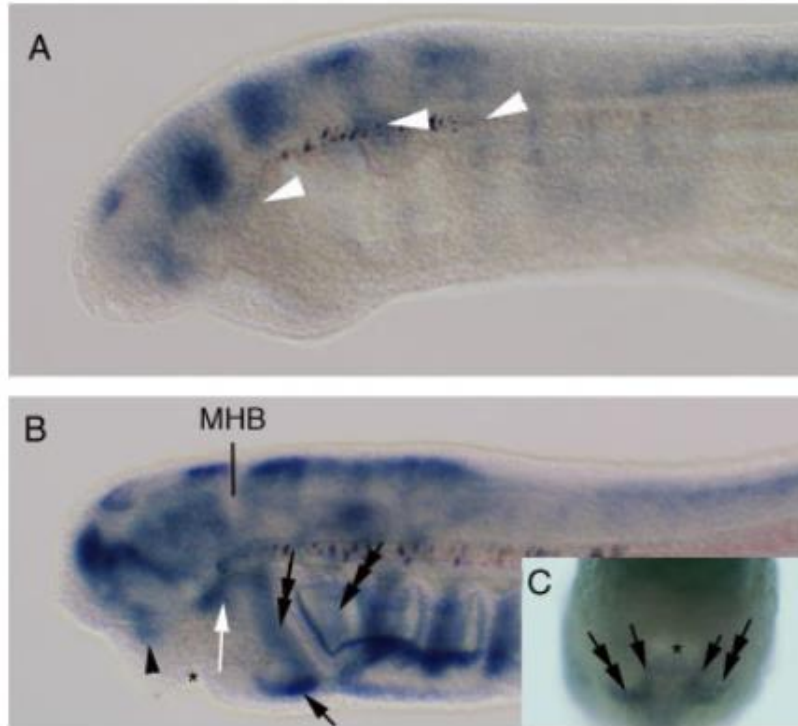
U mihulí dochází k vytvoření osmi faryngeálních výchlípek a devíti faryngeálních oblouků. Stejně jako u všech obratlovců dochází ke konzervativnímu vytvoření faryngeálních oblouků jenž je uveden v kapitole 2. (obr.: 12.) (Richardson a kol., 2010). První dva oblouky se

specializují do podoby přísavného aparátu a tvorby plachetky (velum) (Miyashita, 2016). Plachetka zajišťuje rytmickými kontrakcemi dostatečný průtok vody skrz hltan (Green, Bronner, 2015). Od třetího oblouku začnou chrupavčité elementy pocházející z faryngeálních oblouků fúzovat a vytváří tzv. branchiální koš (Martin a kol., 2009).



Obr. 12. Horizontální řez tělem embrya mihule, kde dochází k vývoji faryngu (Ph) pomocí faryngeálních oblouků (PA) a endodermálních výchlipek (PP). Upraveno a převzato podle Romáška, 2012.

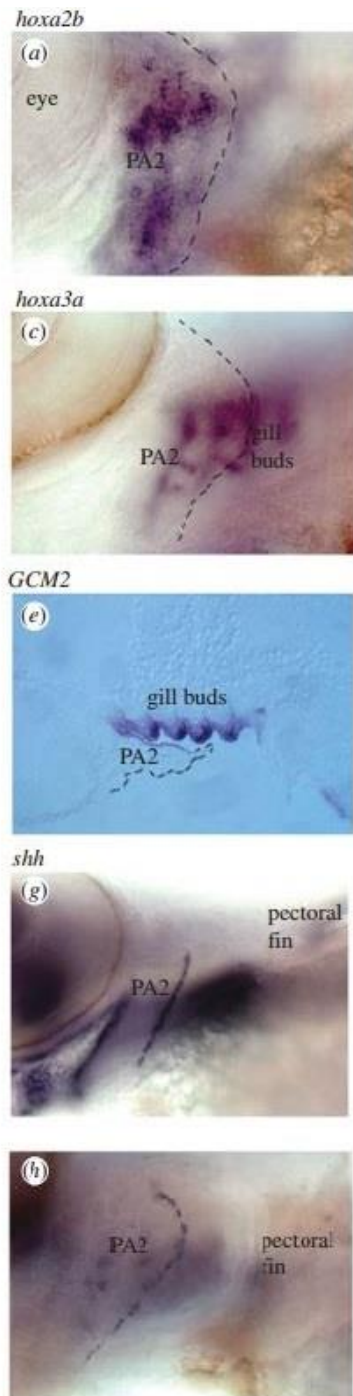
Na rozdíl od kopinatců, u kruhoústých se nachází neurální lišta a tudíž stejně jako u čelistnatců se u kruhoústých vyvíjejí chrupavky branchiálních oblouků z materiálu neurální lišty (Green, Bronner, 2015). Migrace buněk neurální lišty probíhá v zřetelných proudech stejně jako tomu je u čelistnatců (DeLauriel, 2018). Podpůrné chrupavky čelistnatců a mihulí se velmi liší. U mihulí jsou chrupavky prvních dvou oblouků odlišné od ostatních, nejsou typicky chrupavčité, mají hvězdicovité buňky namísto kulatých chondrocytů a jejich matrix je více rozvolněná. Tyto chrupavky jsou často nazývány jako mukochrupavky (Yao a kol. 2011). Rozdílný je také začátek vývoje chrupavek, kdy u mihulí se chrupavka začíná vyvíjet z laterální strany, zatímco u čelistnatců spíše ve střední části oblouků (Ota, Kuratani, 2007). Chrupavky, které slouží jako výztuha oblouků u mihulí jsou odlišné od chrupavek čelistnatců, např.: hyalinní chrupavka obsahuje mnoho elastinu (lamprin) a kolagen je obsažen v mnohem menší míře. Vývoj chrupavek u mihulí předurčuje exprese genu SoxE geny. Pro oblouky 3 až 8 začíná exprese v dorsální části neurální trubice a pokračuje v expresi i při migraci buněk neurální lišty do oblouků. Exprese pro první a druhý faryngeální oblouk začíná ve přední části zadního mozku a pokračuje i v obloucích samotných (Obr. 13) (Yao a kol. 2011).



Obr.13.: Expres SoxE3 v přední části faryngu larvy mihule. A) exprese v neurální trubici a migrujících buňkách neurální lišty (bílé šipky). B) exprese rozmístěná jako příčná tyč v prvním oblouku (dvojitě šipky) a anteriorní prodloužení exprese z dorsální (bílá šipka) a ventrální (černá šipka) části tyče. Expres genu ve druhém faryngeálním oblouku (trojitá šipka). Buňky, které sousedí s anteriorní částí nervové trubice a vykazují expresi genu (šipka na ventrální straně hlavy), MHB – ukazatel hranice středního a zadního mozku. C) ventrální pohled. Bilaterální exprese v boční části ústního talíře (šipka), a velárních sloupcích (dvojitě šipky). Upraveno a převzato od Yao a kol., 2011.

Za antero-posteriorní identitu u mihulí jsou zodpovědné Hox geny. První faryngeální oblouk neexprimuje Hox homolog stejně jako je tomu u čelistnadců. Druhý oblouk exprimuje homology Hox2, třetí Hox3d. Homolog Hox6w je exprimován ve zbývajících endodermálních výchlípkách (*Takio et al., 2004*).

3.3. Ryby – danio pruhoané (zebrafish)

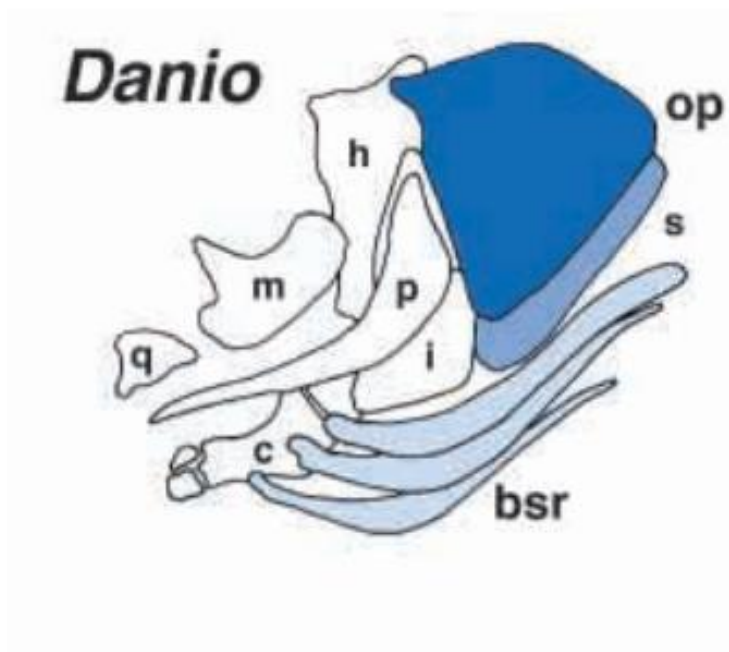


U dania pruhoané dochází k vytvoření 7 faryngeálních oblouků (Piotrowski, Volhard, 2000). Stejně jako u všech obratlovců začíná vývoj faryngeální oblasti u dania konzervativním způsobem, a to vchlípnutím endodermu a vychlípnutím ektodermu. První a druhá endodermální vychlípka se začíná tvořit ve stejný čas, zhruba po 18. hodině od fertilizace. Následují vychlípky kaudální zhruba s odstupem dvou hodin po fertilizaci (Choe a kol. 2013). Všechny vychlípky jsou vytvořené do 36 hodin od fertilizace (Gillis a kol., 2017). V místě dotyku endodermálních vychlípek s ektodermálními vchlípnutími dotyku dochází k protržení faryngeální stěny a k vytvoření faryngeálních štěrbin (Graham, Richardson, 2012).

Stejně jako u všech čelistnaticů, první faryngeální oblouk přispívá ke vzniku čelistí (DeLauriel, 2018). Z druhého oblouku této ryby vzniká hyomandibula a klapka žaber zvaná operkulum (obr. 14.). Při vývoji druhého oblouku dochází k jeho expanzi kaudálním směrem a přerývají se více kaudální oblouky, které nesou žaberní epitel (Graham, Richardson, 2012). Operkulum je tvořeno několika kostmi (Richardson a kol. 2011) a jeho pohyby hrají hlavní roli v dýchání (obr. 15.). Ventrálně leží 3 malé a štíhlé branchiální paprsky, které podporují dolní část hltanu a umožňují jeho expanzi během žaberního dýchání (Kimmel a kol. 2003).

Obr. 14. – Schema vývoje a exprese genů druhého oblouku u dania pruhoané a) exprese *Hoxa2b* u dania pruhoané ve vyvíjejícím se operkulární vychlípce. c) *Hoxa3a* je exprimováno u dania pruhoané ve vyvíjejících se obloucích od 3 kaudálně, ale ne v druhém oblouku - operkulu, které bude překrývat oblouky kaudální. e) embrya dania pruhoané vykazují expresi *gcm2* ve vyvíjejících se žaberních pupenech a vnitřní straně vyvíjejícího se operkula. g) exprese *shh* na kaudálním konci druhého oblouku v embryu dania pruhoané. h) exprese *shh* na předním konci druhého oblouku u embrya dania pruhoané. Převzato od Richardson a kol. 2011.

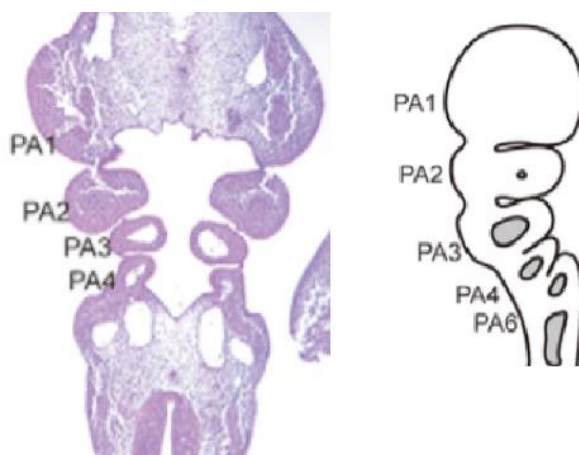
Za vývoj operkula jsou zodpovědné dva Hox geny – *Hoxa2b* a *hoxb2a*, které jsou exprimovány přímo v druhém oblouku. Utlumení exprese těchto genů způsobuje defekty na prvním i druhém oblouku. Nejčastěji dochází k vytvoření struktur prvního oblouku na oblouku druhém (DeLauriel, 2018). Se vznikem kostěných elementů z prvního a druhého oblouku pomáhá protein endothelin 1 (End1) (Gillis a kol., 2017), který je exprimován ve ventrálním epitelu a mesodermálních jádrech prvního a druhého oblouku (Talbot a kol., 2010). Edn1 pravděpodobně působí přímo na ekto-mezenchymové buňky odvozené od migračních buněk neurální lišty, které diferencují do ventrálních chrupavek v prvním i druhém oblouku (Gillis a kol., 2017). Signalizace Edn1 indukuje expresi dalších genů jako *Dlx* a *hand2*, které jsou stejně jako End1 zodpovědné za dorso-ventrální identitu čelistí a kostní podpory čelistí (Miller a kol., 2003). Třetí až sedmý faryngeální oblouk neboli branchiální tvoří žaberní oblouky, které nesou žaberní epitel (Hunter, Prince 2002).



Obr. 15. Schema operkulární oblasti u *Dania* pruhozaného. op – operkulum, bsr – branchiální paprsky, s – suboperculum, h – hyomandibula, m – metapterigium, p – preoperculum, i – interoperculum, q – quadrate. Převzato a upraveno podle Kimmel a kol. 2003.

3.4. Savci – myš

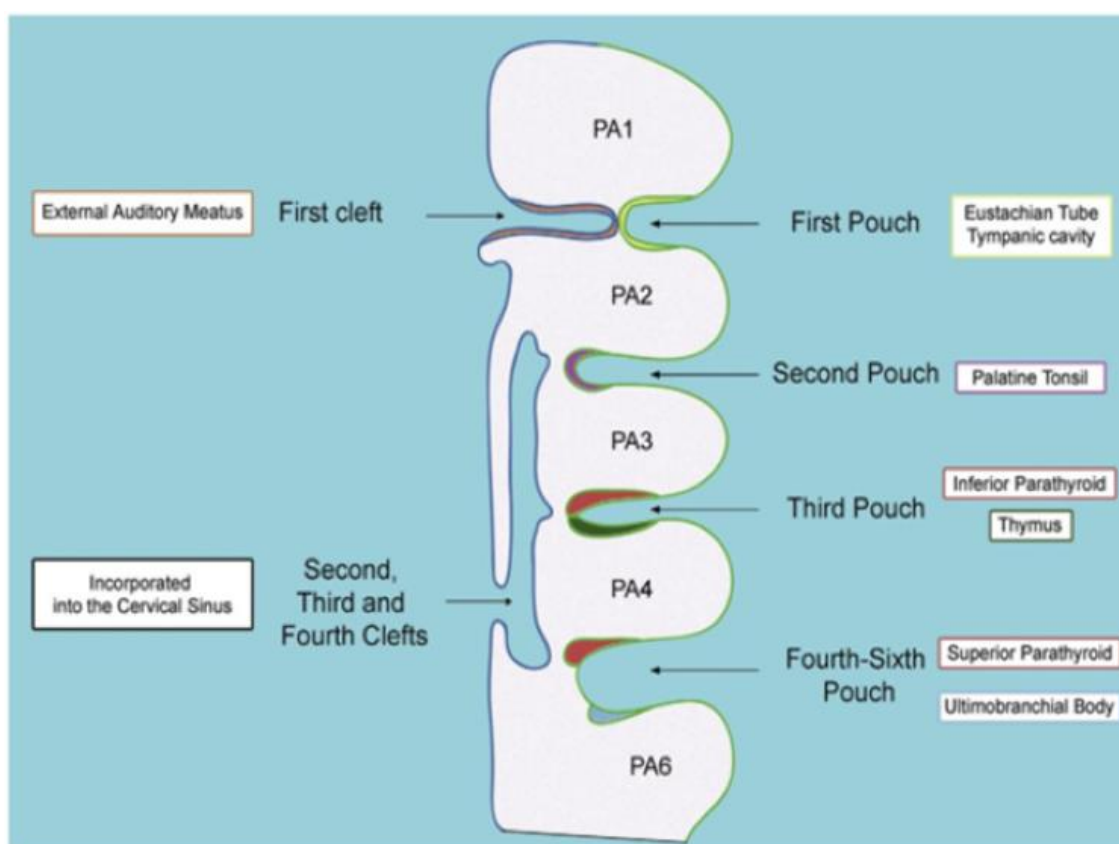
Ve faryngu savců dochází k několika morfologickým změnám. Především k přemístění funkce dýchání z žaberních oblouků na plíce, uzavření štěrbin mezi jednotlivými oblouky, k redukci oblouků ze 7 na 5 (obr. 16.) (Shone a kol., 2016) a k vytvoření několika derivátů z epiteliálních vrstev faryngu (Gravellec, Tucker, 2010).



Obr.16. Faryngeální oblouky u embrya myši. Převzato a upraveno podle Okubo, 2011.

Také u myši dochází ke konzervovanému vývoji faryngeálních oblouků jako u předchozích živočichů s tím, že první dva oblouky jsou větší a dochází k vymizení 5. oblouku (Obr. 16.) (Gravellec, Tucker, 2010). V pozdějším vývoji se všechny faryngeální oblouky začínají přetvářet a dávají vzniknout mnoha derivátům (obr. 17.). Z endodermu první výchlípký vzniká dutinka středního ucha (Mallo, 2001) a Eustachova trubice, která spojuje tympanickou dutinu s nosohltanem. Eustachova trubice vyrovnává tlak mezi středním uchem a vnějším prostředím. Děje se tak pomocí odvádění vzduchu do kavit ve středním uchu. (Gravellec, Tucker, 2010). Z mesenchymu prvního faryngeálního oblouku vznikají dvě kůstky středního ucha: kladívko a kovádlíka. Z mesenchymu druhého faryngeálního oblouku vzniká třetí sluchová kůstka středního ucha – třmínek (Mallo, 2001). Z endodermu třetí a čtvrté výchlípký vznikají parathyroidní žlázy. Vznik těchto žláz je pod kontrolou klíčového genu *Gcm2*, který je exprimován ve třetí a čtvrté výchlípce (Gravellec, Tucker, 2010). Žlázy slouží k regulaci extracelulárního vápníku, který je důležitý pro mnoho fyziologických procesů, jako je např.: svalová kontrakce nebo srážení krve (Okabe, Graham, 2004). Jelikož ryby dokáží přijímat vápník z vody, usuzujeme, že právě parathyroidní žlázy měly zásadní roli při přechodu z vody

na souš, kde již nebylo možné vápník z vody přijímat. Hlavní funkcí žláz je sekrece parathyroidních hormonů (PTH) (Potts, 2005). Z třetí endodermální výchlípký se také vytváří thymus (Moore-Scott, Manley, 2005). V thymu dozrávají T-lymfocyty a je nezbytnou součástí autoimunity (Zou a kol., 2006). Pátá výchlípký se při vývoji redukuje a vytváří ultimobranchiální tělíska. Tyto tělíska mají hlavní úlohu v produkci kalcitoninu a slouží k homeostáze vápníku v těle. U většiny savců fúzíjí ultimobranchiální tělíska s folikulárními buňkami štítné žlázy (Nilsson, Fagman, 2017).



Obr. 17. Schema vzniku derivátů z faryngeální oblasti. Převzato od Grevellec, Tucker, 2010.

4. Závěr

V předchozím textu jsem shrnula některé charakteristiky vývoje faryngeální oblasti u obratlovců. Vývoj faryngeální oblasti můžeme díky tomu shrnout do dvou částí. První část, která bude zahrnovat vývoj faryngeálních oblouků konzervativním způsobem pro všechny obratlovce a část druhou, která bude zahrnovat diferenciaci oblouků do derivátů, které jsou specifické pro každý druh obratlovce zvlášť.

První část vývoje faryngeální oblasti je u všech druhů obratlovců stejná. Liší se pouze velikostí a počtem jednotlivých faryngeálních oblouků (*Choe a kol., 2013*). Díky vychlipování endoderm a vchlipování ektodermu vznikají faryngeální oblouky (*Graham, Smith 2001*), jejichž jádro je tvořeno buňkami mesodermu, který pochází ze dvou subdomén - paraxiální mesoderm a mediální splachnický mesoderm (*Tzahor, Evans, 2011*), a mesenchymálních buněk neurální lišty, které migrují do oblouků ve třech proudech z embryonálního zadního mozku (*Ahlstrom, Erickson, 2009*). Doposud se předpokládalo, že primární roli při vývoji faryngeální oblasti má neurální lišta. Díky ablatačním pokusům na kuřatech, kdy jim byla vyjmuta neurální trubice ještě před vytvořením neurální lišty se zjistilo, že i bez neurální lišty se faryngeální oblast vyvine správně díky endodermu. Tudíž primární roli při vývoji faryngeální oblasti nehraje neurální lišta ale endoderm (*Veitch a kol., 1999*).

V druhé části embryonálního vývoje faryngeální oblasti dochází k diferenciaci faryngeálních oblouků do různých derivátů v rámci druhů obratlovců (*Graham, Richardson, 2012*). Tudíž druhá část embryonálního vývoje už není pro obratlovce konzervativní.

Kopinatec, který patří stejně jako obratlovcem kmene strunatců (*Graham, Richardson 2012*), vytváří faryngeální oblast poněkud odlišným způsobem než obratlovcem. Sice dochází k vytvoření endodermálních výchlipků a ektodermálních vchlipků ale v jádře jsou obsaženy pouze mesenchymální buňky mesodermu (*Liu a kol., 2015*), jelikož kopinatci postrádají buňky neurální lišty. Tudíž nedochází ani k vytvoření skeletálních derivátů (*Holland a kol. 2008*). Kopinatci na rozdíl od obratlovců přetahují takto vytvořenou faryngeální oblast metapleurální výchlipkou, díky níž zůstane faryngeální oblast uzavřena a oddělena od vnějšího prostředí (*Willey, 1897*). Zajímavé je, že i když vývoj faryngu kopinatce a obratlovců je odlišný, tak exprimují v endodermu stejné geny (*Gillis a kol., 2011, Koop a kol., 2011, Liu a kol., 2015*).

U mihulí dochází ke konzervativnímu vývoji faryngeálních oblouků stejně jako u všech obratlovců. Tvoří 9 faryngeálních oblouků a všechny jsou stejně veliké. Mihule nemají čelisti, tudíž se první a druhý oblouk přeměňují na přísavný aparát a velum. (*Yao a kol., 2011*). U

mihulí dochází ke splývání faryngeálních oblouků (od třetího oblouku kaudálně) a tvoří tzv. branchiální koš (*Martin a kol., 2009*).

Danio pruhované je bohatě studováno a používáno jako modelový organismus. Stejně jako u všech ostatních obratlovců je první část vývoje konzervativní. Danio vytváří 7 faryngeálních oblouků (*Piotrowski, Volhard, 2000*). První faryngeální oblouk, stejně jako u všech čelistnatých obratlovců, přispívá ke vzniku čelistí (*DeLauriel, 2018*). Druhý oblouk se přetváří na tzv. operkulární klapku, která chrání žábra více kaudálních oblouků, jenž nesou žaberní epitel (*Graham, Richards, 2012*).

U tetrapod, jenž přešli z vodního do suchozemského prostředí, dochází z několika morfologickým změnám. Především k přemístění dýchání z žaberních oblouků na plíce a k redukci 7 oblouků na 5 (*Shone a kol., 2016*). Jako modelový organismus pro tuto skupinu jsem zvolila z řad savců myš. Je zajímavé, že přes veškeré morfologické změny dochází ke konzervativnímu vytvoření faryngeálních oblouků jako u všech ostatních obratlovců pouze s tím, že první dva oblouky jsou větší. V pozdějším embryologickém vývoji dochází k přetvoření faryngeálních výchlipek a vchlípenin do derivátů, které zajišťují správný chod těla každého savce, jako sluchové kůstky, thymus, parathyroidní žlázy a ultimobrachiální tělíska (*Grevellec, Tucker, 2010*).

5. Zdroje:

- Ahlstrom J. D., Erickson C. A. The neural crest epithelial-mesenchymal transition in 4D: a tail' of multiple non-obligatory cellular mechanisms. *Development*. 2009, 136(11), 1801-1812.
- Crump J. G., Swartz M. E. Kimmel Ch., Krumlauf R. An Integrin-Dependent Role of Pouch Endoderm in Hyoid Cartilage Development. *PLoS Biology*. 2004, 2(9).
- DeLauriel A. Evolution and development of the fish jaw skeleton. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology*. 2019, 8(2).
- Delsuc F., Brinkmann H., Chourrout D., Philippe H. Tunicates and not cephalochordates are the closest living relatives of vertebrates. *Nature*. 2006, 439(7079), 965-968
- Dupin E., Creuzet S., Le Douarin N. The contribution of the neural crest to the vertebrate body. *Advances in Experimental Medicine and Biology, Kluwer*. 2006, 589, 96-119
- Dworkin S., Boglev Y., Owens H., Goldie S. The Role of Sonic Hedgehog in Craniofacial Patterning, Morphogenesis and Cranial Neural Crest Survival. *Journal of Developmental Biology*. 2016, 4(3).
- Frisdal A., Trainor P., Development and evolution of the pharyngeal apparatus. *Developmental Biology*, 2014, 3(6), 403-418.
- Gillis J. A., Fritzenwanker J. H., Lowe C. J. A stem-deuterostome origin of the vertebrate pharyngeal transcriptional network. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2011, 279(1727), 237-246
- Gillis J., Tndswell A., Tindswell A. The Origin of Vertebrate Gills. *Current Biology*. 2017, 27(5), 729-732.
- Gordon J., Bennet R. A. Blackburn C. Manley R. N. *Gcm2* and *Foxn1* mark early parathyroid- and thymus-specific domains in the developing third pharyngeal pouch. *Mechanisms of Development*. 2001, 141-143.
- Gordon J.. Hox genes in the pharyngeal region: how *Hoxa3* controls early embryonic development of the pharyngeal organs. *The International Journal of Developmental Biology*. 2018, 62(11-12), 775-783
- Graham A. Development of the pharyngeal arches. *American Journal of Medical Genetics*. 2003, 119A(3), 251-256.
- Graham A. The development and evolution of the pharyngeal arches. *Journal of anatomy*. 2001, 199, 133-141.
- Graham A., Richardson J. Developmental and evolutionary origins of the pharyngeal apparatus. *EvoDevo*. 2012, 3(1).
- Graham A., Smith A., Patterning the pharyngeal arches. *BioEssays*. 2001, 23, 54 – 61
- Grevellec A., Tucker A. S. The pharyngeal pouches and clefts: Development, evolution, structure and derivatives. *Seminars in Cell & Developmental Biology*. 2010, 21(3), 325-332.
- Holland L. Z., Holland N., D., Gilland E. Amphioxus and the evolution of head segmentation. *Integrative and Comparative Biology*. 2008, 48(5), 630-646.

- Hunter M. P., Prince V. E. Zebrafish Hox Paralogue Group 2 Genes Function Redundantly as Selector Genes to Pattern the Second Pharyngeal Arch. *Developmental Biology*. 2002, 247(2), 367-389.
- Choe P. Ch., Collazo A., Trin Le A., Pan T., Moens B. C., Crump J. G. Wnt-Dependent Epithelial Transitions Drive Pharyngeal Pouch Formation. *Developmental Cell*. 2013, 24(3), 296-309.
- Choe P. Ch., Crump G. Dynamic epithelia of the developing vertebrate face. *Current Opinion in Genetics & Development*. 2015, 32, 66-72.
- Kimmel C. B. Endothelin 1-mediated regulation of pharyngeal bone development in zebrafish. *Development*. 130(7), 1339-1351.
- Klymkowsky M., Rossi C. Ch., Artinger B. K. Mechanisms driving neural crest induction and migration in the zebrafish and *Xenopus laevis*. *Cell Adhesion & Migration*. 2014, 4(4), 595-608.
- Koop D., Holland L. Z. The basal chordate amphioxus as a simple model for elucidating developmental mechanisms in vertebrates. *Birth Defects Research Part C: Embryo Today: Reviews*. 2008, 84(3), 175-187
- Koop D., Chen J., Theodosiou M., Carvalho J., Alvarez S., R De Lera A., Halland Z., Schubert M. L. Roles of retinoic acid and *Tbx1/10* in pharyngeal segmentation: amphioxus and the ancestral chordate condition. *EvoDevo*. 2014, 5(1)
- Kuraku S., Takio Y., Sugahara F., Takechi M., Kuratani S. Evolution of oropharyngeal patterning mechanisms involving *Dlx* and endothelins in vertebrates. *Developmental Biology*. 2010, 341(1), 315-323
- Kuratani S., Adachi N., Wada N., Oisi Y., Sugahara F. Developmental and evolutionary significance of the mandibular arch and prechordal/premandibular cranium in vertebrates: revising the heterotopy scenario of gnathostome jaw evolution. *Journal of Anatomy*. 2013, 222(1), 41-55.
- Liu X., Li G., Liu X., Wang Y. The Role of the *Pax1/9* Gene in the Early Development of Amphioxus Pharyngeal Gill Slits. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*. 2014, 324B, 30-40.
- Lumsden A., Segmentation and compartition in the early avian hindbrain. *Mechanisms of Development*, 2004, 121(9), 1081-108.
- Lumsden A., Sprawson N., Graham A. Segmental origin and migration of neural crest cells in the hindbrain region of the chick embryo. *Developmental*. 1991, 113, 1281-1291
- Mallo M., Formation of the Middle Ear: Recent Progress on the Developmental and Molecular Mechanisms. *Developmental Biology*. 2001, 231(2), 410-419.
- Marek Romášek. Morphogenesis of oral skeleton in lamprey with implications for jaw evolution. 2012, Mgr. thesis.
- Martin W. M., Bumm L. A., McCauley D. W. Development of the viscerocranial skeleton during embryogenesis of the sea lamprey, *Petromyzon marinus*. *Developmental Dynamics*. 2009, 238(12), 3126-3138.
- Mayor R., Theveneau E. The neural crest. *Development*. 2013, 140(11), 2247-2251.
- Miller T. C., Yelon D., Stainier Y. R. D., Kimmel B. Ch., Two endothelin 1 effectors, *hand2* and *bapx1*, pattern

ventral pharyngeal cartilage and the jaw joint. *Development*. 2003, 130(7), 1353-1365.

Minoux M., Antonarakis G. S., Kmita M., Duboule D., Rijli F. M. Rostral and caudal pharyngeal arches share a common neural crest ground pattern. *Development*. 2009, 136(4), 637-645.

Miyashita, Tetsuto. Fishing for jaws in early vertebrate evolution: a new hypothesis of mandibular confinement. *Biological Reviews*. 2016, 91(3), 611-657.

Moore-Scott A. B., Manley R. N. Differential expression of *Sonic hedgehog* along the anterior–posterior axis regulates patterning of pharyngeal pouch endoderm and pharyngeal endoderm-derived organs. *Developmental Biology*. 2005, 278(2), 323-335.

Nilsson, Fagman M., Fagman H. Development of the thyroid gland. *Development*. 2017, 144(12), 2123-2140.

Okabe M., Graham A. The origin of the parathyroid gland. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004. 101(51), 17716-17719.

Okubo T., Kawamura T., A., Takahashi J., Yagi H., Morishima M., Matsuoka R., Takada S. *Ripply3*, a *Tbx1* repressor, is required for development of the pharyngeal apparatus and its derivatives in mice. *Development*. 2010, 138(2), 339-348.

Ota K. G., Kuratani S. Cyclostome embryology and early evolutionary history of vertebrates. *Integrative and Comparative Biology*. 2007, 47(3), 329-337

Piotrowski T., Nuslein-Volhard. The Endoderm Plays an Important Role in Patterning the Segmented Pharyngeal Region in Zebrafish (*Danio*

rerio). *Developmental Biology*. 2000, 225(2), 339-356.

Potts J. T. Parathyroid hormone: past and present. *Journal of Endocrinology*. 2005, 187(3), 311-325.

Quinlan R., Martin P., Graham A. The role of actin cables in directing the morphogenesis of the pharyngeal pouches. *Development*. 2004, 131(3), 593-599.

Richardson J., Shono T., Okabe M., Graham A. The presence of an embryonic opercular flap in amniotes. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2011, 279(1727), 224-229.

Richardson K. M., Admiraal J., Wright M. G. Developmental anatomy of lampreys. *Biological reviews*. 2010, 85, 1-33

Ruppert E. Key characters uniting hemichordates and chordates: homologies or homoplasies?. *Canadian Journal of Zoology*. 2005, 83(1), 8-23

Satoh N. *Chordate origins and evolution: the molecular evolutionary road to vertebrates*. Boston: Academic Press is an imprint of Elsevier, 2016

Satoh N., Rokhsar D., Nishikawa T. Chordate evolution and the three-phylum system. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2014, 281(1794), 214-217.

Shone V., Graham A., Graham V. Endodermal/ectodermal interfaces during pharyngeal segmentation in vertebrates. *Journal of Anatomy*. 2014, 225(5), 479-491.

Shone V., Oulion S., Casane D., Laurenti P., Graham A. Mode of reduction in the number of pharyngeal segments within the sarcopterygians. *Zoological Letters*. 2016, 2(1).

- Schilling F. T., Kimmel B. C. Segment and cell type lineage restrictions during pharyngeal arch development in the zebrafish embryo. *Development*. 1994, 120, 483-494.
- Smith A., Robinson V., Patel K., Wilkinson G. D. The EphA4 and EphB1 receptor tyrosine kinases and ephrin-B2 ligand regulate targeted migration of branchial neural crest cells. *Current biology*. 1997, 7, 561-570.
- Soo K., O'Rourke P. M., Khoo P., Steiner A. K., Wong N., Behringer R. R., Tam P. L. P. Twist Function Is Required for the Morphogenesis of the Cephalic Neural Tube and the Differentiation of the Cranial Neural Crest Cells in the Mouse Embryo. *Developmental Biology*. 2002, 247(2), 251-270.
- Takio Y., Pasqualetti M., Kuraku S., Hirano S., Rijli F. M., Kuratani S. Lamprey Hox genes and the evolution of jaws. *Nature*. 2004, 429(6989), 622-622.
- Talbot J. C., Johnson S. L., Kimmel C. B. *Hand2* and *Dlx* genes specify dorsal, intermediate and ventral domains within zebrafish pharyngeal arches. *Development*. 2010, 137(15), 2507-2517.
- Theveneau E., Mayor R. Neural crest delamination and migration: From epithelium-to-mesenchyme transition to collective cell migration. *Developmental Biology*. 2012, 366(1), 34-54.
- Trainor P., Krumlauf R. Hox genes, neural crest cells and branchial arch patterning. *Current Opinion in Cell Biology*. 2001, 13, 698-705.
- Trokovic N., Trokovic R., Mai P., Partanen J. Fgfr1 regulates patterning of the pharyngeal region. *Genes and development*. 2003, 17, 141-153.
- Tucker S. A., Yamada G., Grigoriou M., Pachnis V., Sharpe T. P., Fgf-8 determines rostral-caudal polarity in the first branchial arch. *Development*. 1999, 126(6), 51-61.
- Tzahor E., Evans M. S. Pharyngeal mesoderm development during embryogenesis: implications for both heart and head myogenesis. *Cardiovascular Research*. 2011, 91(2), 196-202.
- Veitch E., Begbie J., Schilling F. T., Smith M. M., Graham A. Pharyngeal arch patterning in the absence of neural crest. *Current biology*. 1999, 9, 1481-1484.
- Willey A. *Amphioxus and the ancestry of the vertebrates*. London: Macmillan, 1897.
- Yao T., Ohtani K., Kuratani S., Wada H. Development of lamprey mucocartilage and its dorsal-ventral patterning by endothelin signaling, with insight into vertebrate jaw evolution. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*. 2011, 316B(5), 339-346.
- York J. R., Yuan T., Lakiza O., McCaulin D. W. An ancestral role for Semaphorin3F-Neuropilin signaling in patterning neural crest within the new vertebrate head. *Development*. 2018, 145(14).
- Zou D., Silviu D., Davenport J., Grifone R., Maire P., Xu P. Patterning of the third pharyngeal pouch into thymus/parathyroid by Six and Eya1. *Developmental Biology*. 2006, 293(2), 499-512.