

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



Agáta Horáčková

Trabekula a její význam pro vývoj a evoluci přední
části hlavy obratlovců

Bakalářská práce

Školitel: Mgr. Robert Černý, PhD.
Praha, 2017

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, 15. 5. 2017

Podpis

Poděkování

Děkuji svému školiteli, Mgr. Robertu Černému, PhD., za milý přístup a zajímavé téma bakalářské práce, jehož zpracování bylo pro mě velikým přínosem. Také děkuji rodičům, bratrovi a kamarádům za trpělivost a podporu během celého studia.

Abstrakt

Embryonální základ přední části lebky obratlovců je tvořen párem chrupavčitých tyčinek zvaných *trabeculae cranii*. Uspořádání trabekul se odráží ve výsledném tvaru lebky čelistnatých obratlovců, dají se podle toho rozdělit na obratlovce s tvarem lebky platybazickým, který je nejspíš původnější, a tropibazickým, který nejspíše vznikl nezávisle u ptáků, kostnatých ryb a savců. Kruhoústí bezčelistnatí obratlovci (mihule a sliznatky) také mají chrupavčité elementy zvané trabekuly, panuje však značná nejistota ohledně homologie tohoto elementu napříč všemi obratlovci. V evolučních teoriích vzniku obratlovců představují trabekuly enigmatickou chrupavku. Klasické teorie viděly trabekuly jako bývalou žaberní výztuhu premandibulárního segmentu. Dvě současné teorie, které nepředpokládají přítomnost žádného žaberního oblouku před mandibulárním, se v otázce původu *trabeculae cranii* zásadně liší.

klíčová slova: trabeculae cranii, anteriorní část lebky, evoluční vznik čelistí, neurální lišta, kruhoústí

Abstract

Anterior part of the skull is in embryos composed of two rod-like cartilages called *trabeculae cranii*. The final shape of the skull of jawed vertebrates is affected by the manner of composition of trabeculae. There are two types of arrangement of vertebrate skull: the platybasic, which is probably the original one, and the tropibasic, which has developed independently in birds, bony fishes and mammals. Jawless vertebrates (lampreys and hagfishes) also have cartilaginous elements called trabeculae, but there are doubts about homology of these structures between groups of jawed and jawless vertebrates. The trabeculae initially became interesting elements because of their possible position in premandibular segment as a former premandibular branchial arch. The two theories of origin of jaws, which do not assume there ever were any branchial arches before the mandibular, strictly disagree in the question of the nature of the *trabeculae cranii*.

key words: trabeculae cranii, anterior cranium, evolutionary origin of jaws, neural crest, jawless vertebrates

Obsah

ÚVOD	1
1. TRABEKULY JAKO SOUČÁST METAMERICKY USPOŘÁDANÝCH STRUKTUR	3
1.2 Trabekula jako premandibulární somit	3
1.2 Žaberní oblouk I	4
1.3 Žaberní oblouk II	7
2. TRABEKULY ČELISTNATCŮ	10
2.1 Ryby	11
2.2 Obojživelníci a dvojdyšní	13
2.2.1 Ocasatí obojživelníci	13
2.2.2 Bezocasí obojživelníci	14
2.2.3 Dvojdyšní	15
3. Ptáci a plazi	16
3. TRABEKULY U BEZČELISTNATÝCH OBRATLOVCŮ	18
3.1 Mihule	18
3.1.1 Buněčný původ	19
3.1.2 Pozice vůči chordě a vztah k parachordaliím	22
3.2 Mají mihule trabekuly?	23
3.3 Sliznatky	24
3.4 Srovnání mihulí a sliznatek	25
4. TEORIE HETEROTOPNÍHO ZVRATU A NEOKLASICKÁ TEORIE	27
4.1 Neoklasická teorie	27
4.2 Teorie heterotopního zvratu	29
ZÁVĚR	32
LITERATURA	34

Úvod

Evoluce a vývoj jsou jedním z nejzajímavějších předmětů k bádání, protože se přímo dotýkají otázky, co jsme vlastně zač. Hlava je asi nejsložitější strukturou na nás obratlovcích a pochopení jejího vzniku by bylo velikou výzvou. Porozumět významu pro vývoj a evoluci byť jen jedné malé součásti lebky, jako je trabekula, je výzvou o nic menší.

Základ lebky tvoří dva páry tyčinkovitých chrupavek: parachordalia – nacházející se podél struny hřbetní (*chorda dorsalis*) a *trabeculae cranii**, také zvané praechordalia – situované před chordou. Tyto elementy srůstají a propojují se se základy tří párů smyslových pouzder: otickými, optickými a nasálními. Tvoří tak základ lebky zvaný *chondrocranium* (také *neurocranium*). Střevní endoderm se v oblasti hltanu na několik místech laterálně vychlipuje, dotýká se povrchového ektodermu, kde se tak vytváří žaberní štěrbin. Zpevňuje je branchiální skelet – soubor tyčinkovitých chrupavek řazený seriálně za sebou, podél střeva, mezi jednotlivými žaberními otvory. První dva ze žaberních oblouků (mandibulární a hyoidní) se inkorporovaly lebky jako čelisti a jejich artikulace, tvoří *viscerocranium* (též *splanchnocranium*). Taková je situace u žraloků. U obratlovců s vyvinutou kostí, všechny části lebky mohou osifikovat. Navíc jsou postupem evoluce nahrazovány dermálním exoskeletem odvozeným z kostěných pancířů tvořícím *dermatocranium*.

Počáteční uspořádání trupu probíhá s jistou pravidelností. Z budoucího endodermu se odděluje chorda a mezoderm dělený do tří částí. Souvislý laterální plát dává vzniknout tělním dutinám. Z intermediálního mezodermu se vytváří vylučovací orgány. Paraxiální mezoderm se antero-posteriorně segmentuje do somitů, které se rozdělují na myotomy (základ příčně pruhovaných svalů), dermatomy (základ dermis, škáry) a sklerotomy (základy obratlů). Chorda indukuje tvorbu neurální trubice vznikající jako valy v dorzálním ektodermu. Po jejím uzavření zůstává populace ektodermálních buněk, která není součástí nervové trubice ani povrchové vrstvy ektodermu. Tyto buňky nazvané buňky neurální lišty migrují po těle a diferencují do různých typů tkání.

S trabekulami je spojeno několik otázek: Jsou součástí nějakého pravidelného systému těla, tak jako jsou čelisti modifikovaným žaberním obloukem? Jsou skutečně u všech obratlovců, tedy i kruhoústých – mihulí a sliznatek? Souvisí jejich evoluční vznik se vznikem čelistí?

Tato práce se pokusí ukázat, jak se evoluční význam trabekul mění se získáváním nových poznatků o vývoji obratlovců. Nejdříve bude rozebráno několik historických prací, na kterých

* *Trabeculae cranii* je celý název těchto struktur. Plurál zdůrazňuje jejich párovost. *Trabecula communis* je označení pro chrupavku vzniklou jejich srůstem. V této práci budou pojmy „trabekuly“ i „trabekula“ používány jako počestlé synonyma párových *trabeculae cranii*.

bude ukázáno, jak se trabekuly staly „enigmatickou“ chrupavkou lebky. V další části bude předvedeno, jak vypadají trabekuly zástupců různých skupin čelistnatců a jak se u nich vyvíjejí, ve snaze ukázat jejich konzervativnost nebo proměnlivost. Zvláštní kapitola bude věnována skupině kruhoústých a homologii jejich trabekul. Nakonec budou ukázány i dvě novější teorie evolučního vzniku čelistí, na kterých bude ukázáno, že otázka podstaty *trabeculae cranii* je stále zajímavá.

1. Trabekuly jako součást metamericky uspořádaných struktur

V této kapitole bude ukázán prvotní zájem o evoluční význam trabekul, který započal článek sira Gavina R. de Beera: *On the Nature of Trabeculae Cranii* (de Beer, 1931a). Nejprve bude popsáno, za jaké situace de Beerova hypotéza vznikla. Na konci bude ukázána novější verze této teorie založená na poznatcích o expresi homeotických genů.

1.2 Trabekula jako premandibulární somit

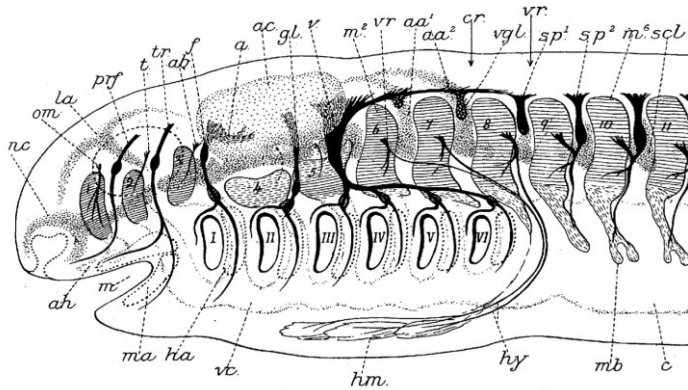
Studium morfologie hlavy paryb, jakožto bazální skupiny čelistnatých obratlovců, bylo na přelomu minulého a předminulého století s oblibou využíváno pro hledání původního uspořádání hlavy obratlovců a jejího evolučního vzniku (ku příkladu: Allis, 1923; Balfour, 1878; de Beer, 1931b; Goodrich, 1918). Velký zájem budily seriálně řazené žaberní štěrby a výztuhy mezi nimi, hlavové nervy a hlavové dutiny. Balfour (Balfour, 1878) na máčce rodu *Scyliorhinus* prozkoumal vztahy těchto struktur a rozdělil hlavu do osmi segmentů, kde každému odpovídá jeden žaberní oblouk, jedna hlavová dutina a více méně jeden hlavový nerv (Obr. 1; Balfour, 1878).

Segments.	Nerves.	Visceral Arches.	Head-Cavities or Cranial Muscle-Plates.
Preoral 1	3rd and 4th and ? 6th nerves (perhaps representing more than one segment)	(?)	1st head-cavity (in my figures 1 pp.)
Postoral 2	5th nerve	Mandibular	2nd head-cavity (in my figures 2 pp.)
— 3	7th nerve	Hyoid	3rd head-cavity
— 4	Glossopharyngeal nerve	1st branchial arch	4th head-cavity
— 5	1st branch of vagus	2nd branchial arch	5th head-cavity
— 6	2nd branch of vagus	3rd branchial arch	6th head-cavity
— 7	3rd branch of vagus	4th branchial arch	7th head-cavity
— 8	4th branch of vagus	5th branchial arch	8th head-cavity

Obr. 1

Balfourovo rozdělení hlavy do segmentů. První (preoral) je rozpoznávatelný jako segment jen díky přítomnosti hlavové dutiny. Nemá přítomný typický žaberní oblouk (otazník ve třetím sloupci), ale zároveň je tato oblast inervována více hlavovými nervy, což by naznačovalo přítomnost více předmandibulárních segmentů. Z Balfour, 1878.

Goodrich (Goodrich, 1918) segmentaci hlavy přezkoumal a na základě svých pozorování hlavových struktur také na rodě *Scyliorhinus*, vypracoval známé schéma segmentace hlavy (Obr. 2). Hlavové nervy, které odpovídají dorzálním kořenům míšních nervů, probíhají mezi segmenty a ty, které odpovídají ventrálním kořenům vznikají intrasegmentově. Čelisti jsou modifikované žaberní výztuhy druhého segmentu. Za nimi se nacházející druhý žaberní oblouk (hyoidní) je také upravený a podílí se na artikulaci čelistí. První žaberní štěrbina nacházející se mezi těmito dvěma nestandardními oblouky je u žraloků zachována ve formě spirakula. Párové hlavové



Obr. 2

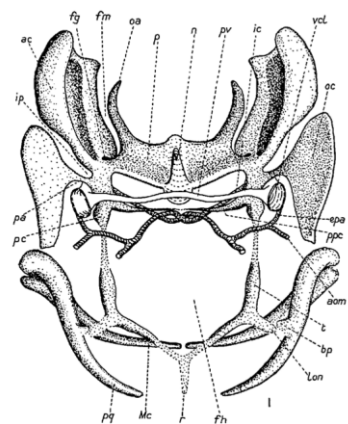
Goodrichovo schéma segmentace hlavy. Žaberní štěrby jsou značeny římskými číslicemi, hlavové dutiny (somity) jsou značeny arabskými, jejich myotomy jsou zvýrazněny šrafovane, sklerotomy tečkované. Nervi (černě): a – sluchový n., ab – odtahovací f. – lícní, gl – jazykohltanový, hy – podjazykový, t – kladkový, tr – trojklanný, v – bloudivý

dutiny odpovídají somitům trupu. Myotomy tvoří svaly (např. okohybné) a sklerotomy přispívají k tvorbě lebky. Somity 3 až 8 leží nad každou z šesti žaberních štěrbin. První somit se nachází před mandibulárním obloukem, druhý somit (mandibulární) nad ním (Goodrich, 1918). Chrupavky tvořící lebku jsou tedy dvojího původu: 1) somatického = ze segmentů paraxiálního mezodermu (tvořící neurocranium) a 2) viscerálního = z chrupavčitých výztuh hltanu (tvořící viscerocranium). Trabekuly, jakožto součásti neurocrania, jsou tvořeny sklerotomy prvního páru hlavových somitů, na obr. 2 vyznačeny tečkovanou oblastí pod myotomy 1 a 2 (Goodrich, 1918).

1.2 Žaberní oblouk I

Je-li lebka takhle pravidelně členěná a každému somitu odpovídá jeden žaberní oblouk, mohl by i premandibulární segment mít někde zachovanou svou žaberní výztuhu (podezřelý otazník v Obr. Xseg1). *Trabeculae cranii* se nacházejí v odpovídající pozici před mandibulárním obloukem a jejich podoba páru podlouhlých tyčinek připomíná žaberní výztuhu (de Beer, 1931a). Navíc trabekuly nepřiléhají těsně k tvrdé plně mozkové (*dura mater*), ale je mezi nimi prostor (subhypofyzární), který naznačuje, že trabekuly nejsou původní součástí mozkovny (Allis, 1923).

U máčky *Scyliorhinus canicula* mezenchym kondenzuje nejprve podél chordy od přední části sluchového váčku po úroveň první žaberní štěrby. Chrupavky takto vzniklé jsou parachordalia. K jejich tvorbě přispívají sklerotomy somitu 3 a 4 (možná i 1 a 2) (Goodrich, 1918). Postoticky kondenzují



Obr. 3:

Dorzální pohled na rekonstrukci formování báze lebky máčky *Scyliorhinus canicula* (rostrum směřuje dolů). Trabekuly (t) srůstají posteriorně s polárními chrupavkami (pc) a anteriorně vytváří rostrální chrupavku (r), čímž vzniká hypofyzární okénko (fh). *Lamina orbitonasalis* (lon) vyrůstá z trabekul antero-laterálně.

samostatně sklerotomy posteriornějších segmentů, které později vytváří okcipitální část lebky (Goodrich, 1918). Trabekuly vznikají před chordou, laterálně od Rathkeho výchlipky (vnořeného ektodermu ústní dutiny dávající vznik adenohipofýze, obr. 4A-B). Posteriorně navazují na polární chrupavky,* které se u rodu *Scyliorhinus* nezakládají samostatně, ale jsou spojeny s parachordalií (de Beer, 1931b). Trabekuly anteriorně srůstají a přispívají k tvorbě rostrální chrupavky†. (obr. 3; de Beer, 1931b).

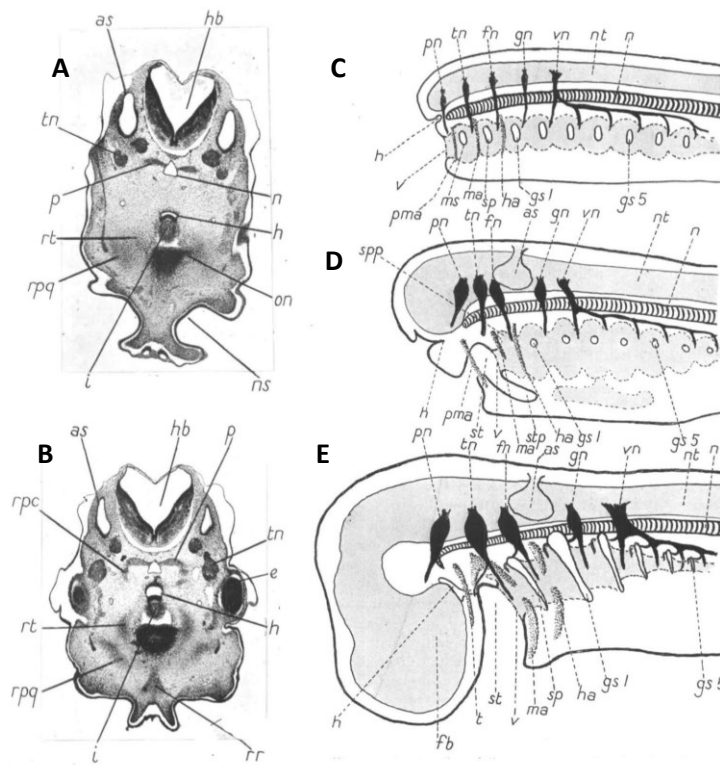
Problém původu *trabeculae cranii* de Beer shrnuje do dvou otázek: 1) Jsou trabekuly součástí chordálního skeletu vznikajícího ze somitů, a tedy svou podstatou podobné parachordaliím? a pokud ne: 2) Jsou součástí viscerálního skeletu vznikajícího z mezenchymu žaberních oblouků, a tedy jsou součástí viscerocrania? (de Beer, 1931a)

Na embryích čtyř zástupců anamniot (máčka *Scyliorhinus canicula*, pstruh *Salmo fario*, skokan *Rana temporaria* a axolotl *Ambystoma tigrinum*) ukazuje, že trabekula vzniká jako kondenzace mezenchymu nezávislá na somitech (hlavových dutinách). U žraloka se trabekula objevuje v maxilárním výběžku mandibulárního oblouku spolu s palantinním výrůstkem takzvaného pterygokvadráta (chrupavky vzniklé přeměnou dorzální částí mandibulárního oblouku), který u žraloků tvoří horní čelist (obr. 4A-B). V případě *Salmo* je situace podobná, základem trabekuly je „mesenchymatous plaque“ mezi okem a hypofýzou, který je také spojený s tvorbou horní čelisti. V obou případech zpočátku nejsou trabekuly v těsném spojení s mozkem, k *dura mater* se připojují až později. U *Rana* se nepodařilo zjistit přesný zdroj trabekul, ale jejich základ je propojen s kondenzací pterygokvadráta. Pterygokvadratum *Ambystoma* netvoří palantinní výběžek a trabekuly jsou jedinou chrupavčitou strukturou horního patra vznikající z mezenchymu, který „těžko může být jiného původu než viscerálního.“ (de Beer, 1931a).

Je-li trabekula premandibulární výztuha hltanu, tak střevo předchůdců čelistnatců muselo dosahovat dále anteriorně. Chorda také dosahovala rostrálního konce hlavy, jak je tomu u kopinatců (obr. 4C). Rozvoj mozku by se udál tak, že by jeho dorzální aspekt přerostl místo, kde se uzavírá nervová trubice (neuropór) a kde se napojuje ektodermální adenohipofýza k infundibulum hypotalamu. Mozek by zatlačil ústní otvor na ventrální stranu trávicí trubice takovým způsobem, že by první žaberní oblouk neležel obkročmo k ústnímu otvoru, ale před ním, čímž by se zakomponoval do neurocrania v podobě trabekul. Zbytek nejantieriornější části trávicí trubice by se u dnešních čelistnatců zachoval v podobě Sesselovy výchlipky – předústního střeva (de Beer, 1931a).

* Polární chrupavky jsou dalším záhadným elementem lebeční báze. Nacházejí se mezi parachordalií a trabekulami. Jako srolišitelné elementy se však vyskytují jen u některých druhů, např.: *Squalus*, *Scyliorhinus*, *Scymnus*, *Acipenser*, *Lepidosteus*, *Anas*, *Echidna* (de Beer, 1937).

† spolu s *lamina orbitonasalis* (Miyake et al., 1992)



Obr. 4

(A-B) Na transverzálních řezech embryí žraloka *Scyliorhinus canicula* (A: 23 mm, B: 25 mm) jsou vidět zakládající se trabekuly (rt) v blízkosti budoucího palakvadrata (rpq). (C) hypotetický předek obratlovců (D) schéma mihule ukazující její domnělým předmandibulárním obloukem (pma) ve „správné“ vertikální pozici kolem úst (E) schéma žraločí hlavy, kde trabekula tvoří anteriorní neurocranium
 další zkratky: as – sluchové pouzdro, gs1-5 – žaberní štěrby 1-5, h – hypofýza, ha – hyoidní oblouk, hb – zádňní mozek, i – infundibulum hypotalamu, ma – mandibulární oblouk, ms – mandibulární žab. štěrba, n – struna hřbetní, ns – čichové pozdro, nt – nervová trubice, p – parachordalia, rr – základ rostrální chrupavky, spp – spirakulum, st – stomodeum
 Podle de Beer, 1931a.

Tato hypotéza vysvětluje původ podivných struktur, jako je Rathkeho a Sesslova výchlipka, také navrhuje, jak se mohlo stát, že původní žaberní výztuha se dostala do tak zvláštní pozice, jako je báze anteriorní lebky. Ale problém je s jejím vztahem k bezčelistnatým obratlovcům. Podle současného druhotného otevření trávicí trubice ventrálně, vzniku čelistí, Rathkeho výchlipky a napojení premandibulárního žaberního oblouku na bázi lebky, by kruhohústí měli mít anteriorní ústní otvor, neměli by tedy mít předústní střevo ani trabekuly a jejich premandibulární oblouk by měl být stále v pozici podobné ostatním žaberním obloukům (obr. 4D). Homologem trabekuly u larev mihulí by měla být vertikální muko-chrupavka horního rtu (de Beer, 1931a).

Holmgren (Holmgren, 1943) na zástupcích paryb - *Squalus acanthias*, ryb - *Salmo salar*, chrupavčitých ryb - *Acipenser* a *Amia* přezkoumal de Beerův (de Beer, 1931a) závěr o původu trabekul. Došel však k úsudku, že trabekuly vznikají z premandibulárního somitu (s. 1) a polární chrupavky ze somitu mandibulárního (s. 2). Základem trabekul je tedy podle něj paraxiální mezoderm, nikoliv mezenchym žaberních oblouků (Holmgren, 1943).

Jak bude ukázáno dále trabekula většiny obratlovců skutečně není tvořena paraxiálním mezodermem (≈somity), ale migrujícími buňkami neurální lišty (≈mezenchymem žaberních oblouků), a tedy by měla být součástí viscerocrania podle de Beerových kritérií viscerocrania a chondrocrania.

Diskuze, jestli je trabekula odvozená od výztuh žaberních oblouků, nebo od premandibulárního somitu, je založená na předpokladu, že hlavový mezoderm je dělený stejně

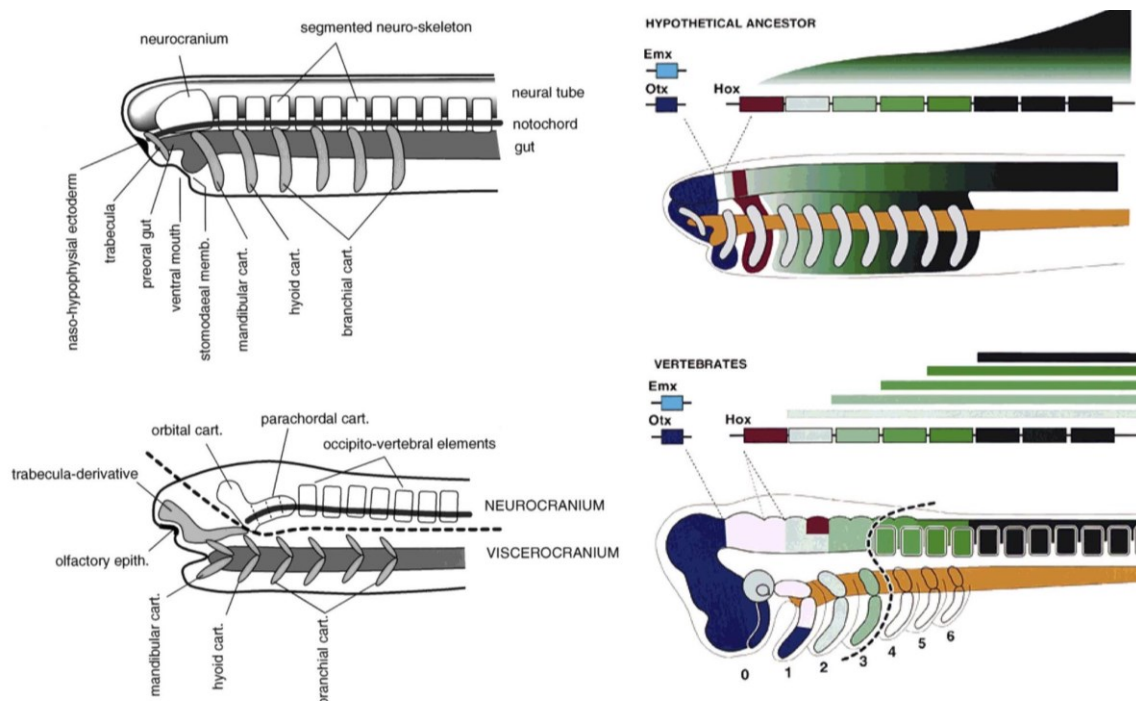
jako somatický a každému somitu odpovídá jeden žaberní oblouk. Tato představa je problematická už z důvodu, že u velké části obratlovců není stejný počet žaberních oblouků a hlavových dutin (de Beer, 1937).

Argumenty odpůrců segmentalismu se soustředí na odlišnou podstatu hlavových dutin (≈mezodermu hlavy) a somitů (≈mezodermu těla): 1) Preotický mezoderm je jasně morfologicky rozdílný od postotického mezodermu. 2) Tvary hlavových dutin jsou různé na rozdíl od pravidelných somitů. 3) Nelze vždy rozlišit předěl mezi hlavovými dutinami a faryngiálním mezodermem. 4) Hlavové dutiny se nedělí na sklerotom, myotom, dermatom jako klasický somit. 5) Hlavové dutiny na rozdíl od somitů nedávají vzniknout stejným strukturám (shrnutí v Kuratani and Adachi, 2016).

Obecně uznávaný je dnes názor, že příčinou nalezení hlavové segmentace v předminulém století bylo nejspíš přílišné studium žraloků, jako modelů primitivních obratlovců, a ovlivnění transcendentálními morfologií a jejich obratlovým archetypem.

1.3 Žaberní oblouk II

Zájem o trabekuly jako potenciální viscerální element byl motivovaný přítomností premandibulárního somitu. Hlava však nemusí být antero-posteriorně segmentována jen na základě členění mezodermu. Na obrázku 5 je model vzniku čelistnadců, u kterého je hlava segmentována expresí homeotických genů a trabekula také představuje premandibulární oblouk



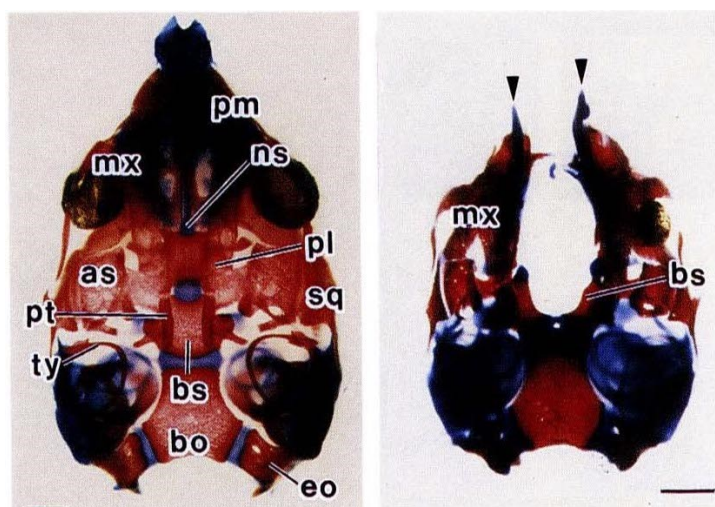
Obr. 5

Schéma inkorporace viscerálního oblouku do neurocrania (vlevo) a exprese *Otx* a *Hox* genů u předpokládaného předka obratlovců (vpravo nahoře) a u myšího embrya (vpravo dole)

(Kuratani et al., 1997).

Sít' *Hox* genů v těle hraje roli v antero-posteriorní specifikaci, její narušení vede například ke změně typu obratlů v páteři (Suemori et al., 1995). V oblasti zadního mozku (rhomboccephalu) je exprese *Hox* genů uspořádána tak, že počet exprimovaných *Hox* paralogů roste se vzdáleností posteriorním směrem od rhombomery 3 takovým způsobem, že anteriorní hranice exprese každého *Hox* paralogu odpovídá anteriorní hranici liché rhombomery (r3, r5, r7). Stejný vzorec exprese je také přítomen v žaberních obloucích (Hunt et al., 1991). V prvním (mandibulárním) oblouku se *Hox* geny neexprimují, při narušení exprese *Hoxa-2* (jediného *Hox* genu druhého žaberního oblouku) dojde k přeměně hyoidního oblouku v mandibulární (Rijli et al., 1993).

Exprese genu *Otx2* je v nervové trubici posteriorně limitovaná hranicí středního a zadního mozku, *Otx2* je také přítomen v mandibulárním oblouku a frontonasální oblasti (Ang et al., 1994). Myši s heterozygotně nefunkční alelou *Otx2* měly vyvinuté kůstky vnitřního ucha (u savců odvozené od výztuh prvního a druhého žaberního oblouku), ale chyběla jim čelistní kost a lebeční báze rostrálně od *sella turcica* (odvozená od trabekul) byla redukována, v některých případech na dvě tyčinky podobné trabekulám jiných obratlovců než savců* (Obr. 6; Matsuo et al., 1995).



Obr. 6
ventrální pohledy na lebky (spodní čelisti odstraněny) novorozených myši barvené modře na chrupavky a červeně na kosti
vlevo: normálně utvořená lebka nemutované myši
vpravo: heterozygotní *Otx2* mutant s redukovanou anteriorní částí lebky, šipky ukazují tyčinky podobné trabekulám jiných obratlovců
z Matsuo et al., 1995

Viscerocranium, včetně trabekul, je tedy metamericky členěno expresí *Otx2* anteriorně a *Hox* kódem posteriorně od mandibulárního oblouku (obr. 5), v posteriorní části mandibulárního oblouku se tyto geny neobjevují a představuje tak jakýsi defaultní stav. Na rozdíl od de Beerovy hypotézy (de Beer, 1931a) by zde došlo k inkorporaci trabekul do neurocrania při utvoření

* Vývoj neurocrania savců se liší od ostatních obratlovců. Zatímco u ostatních se vyvíjejí trabekuly jako tyčinkovité struktury, které se napojují posteriorně na parachordalia, mezi sebou uzavírají vnitřní karotidy a až později se spojují hypofyzární komisurou. U savců se tvoří jen jedna chrupavka mediálně mezi karotidami a představuje tak nejspíš hypofyzární komisuru mezi ještě neexistujícími trabekulami, které se tvoří až později v podobě alicochleární komisury (de Beer, 1937).

ventrálních úst ještě před párových čelistí. Trabekula by se „nepřehoupla“ rostrálně, ale spíše přerostla do předu a vytvořila prechordální část lebky (obr. 5; Kuratani et al., 1997).

2. Trabekuly čelistnatců

Neurální lišta (NL) v hlavě tvoří mimo jiné mezenchym, ze kterého vznikají chrupavky žaberních oblouků a obličejové části lebky, u většiny obratlovců nahrazované kostí (Hall, 2009). U všech studovaných obratlovců se skletogenní buňky NL rozdělují na tři proudy: mandibulární (také zvaný trigeminální), hyoidní a branchiální (proudy NL u obojživelníků: Epperlein et al., 2000; Kurth et al., 2010; Sadaghiani and Thiébaud, 1987; Stone, 1926, 1929; ptáků: Noden, 1975; Wada et al., 2011; ryb: Wada, 2005; paryb: Adachi and Kuratani, 2012; mihulí: Horigome et al., 1999).

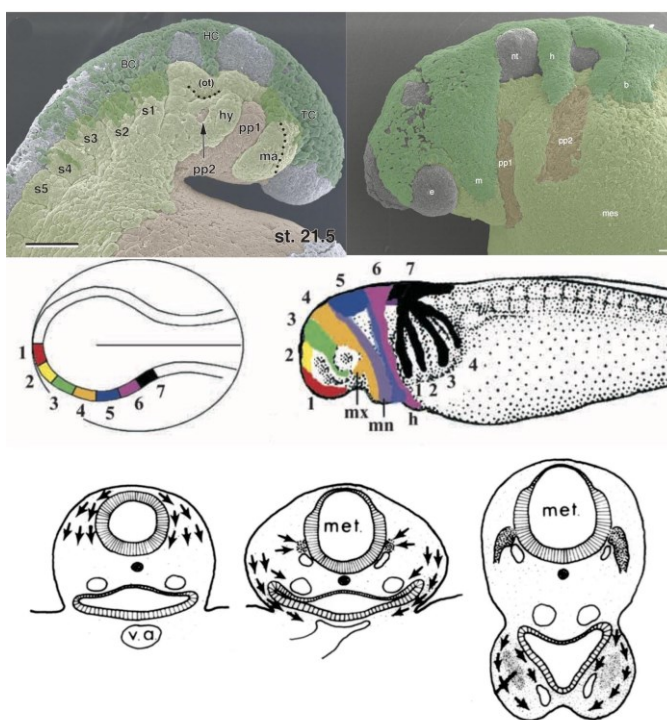
Výztuhy žaberních oblouků jsou tvořené jediným branchiálním proudem, který putuje za otickou kapsulí. Dva preotické proudy NL, hyoidní a mandibulární, tvoří chrupavky prvních dvou žaberních oblouků a struktury od nich odvozené, mandibulární (trigeminální) proud navíc přispívá k tvorbě anteriorní části lebky (obr. 7; shrnuto v Hall, 2009)

Obr. 7

(A-B) Snímky z skenovacího elektronového mikroskopu ukazující hlavu vyvíjejícího se embrya mihule (A) a axolotla (B) po odstranění povrchového ektodermu. Buňky NL (zeleně) jsou rozděleny na tři proudy: trigeminální (TC), hyoidní (HC) a branchiální (BC), které překrývají hlavový mezoderm (žlutě). Endoderm je přebarven oranžově. (A) Horigome et al., 1999. (B) Kurth et al., 2010

(B) Schéma neuruly axolotla (v levo) ukazující mapu proudů NL založené na vitálním barvení a exprese transkripčního faktoru AP-2. První obklopuje oko a podílí se na tvorbě maxilárního a mandibulárního oblouku (mx, mn), druhý směřuje do hyoidního (h) a třetí do žaberních oblouků (1-4). Z Epperlein et al., 2000.

(C) Schéma pozorování migrace buněk NL ortotopicky (ze stejné oblasti) transplantované z ³H-thymidinem značeného embrya kuřete na neznačené embryo. Schéma je na úrovni ganglia trojklaného nervu, které vzniká z buněk NL. Buňky dále putují ventrolaterálně do mandibulárního oblouku (mand). Z Noden, 1975.



Obratlovce lze rozdělit do dvou skupin podle tvaru jejich lebky. Platybazická (platytrabická) lebka je charakteristická trabekulami zakládajícími se daleko od sebe, mají ji například paryby a obojživelníci. Je možné, že je evolučně původnější (de Beer, 1937). U plazů (včetně ptáků) a kostnatých ryb se vyvinuly trabekuly posazené relativně blízko u sebe a do velké míry srostlé, tento stav se označuje jako tropibazický (tropitrabický).

„Platytrabická nebo tropibazická forma lebky koreluje s relativní velikostí očí a mozku na úrovni očí. Ukázalo se, že je možné indukovat tvorbu tropibazické lebky u embryí, která by si

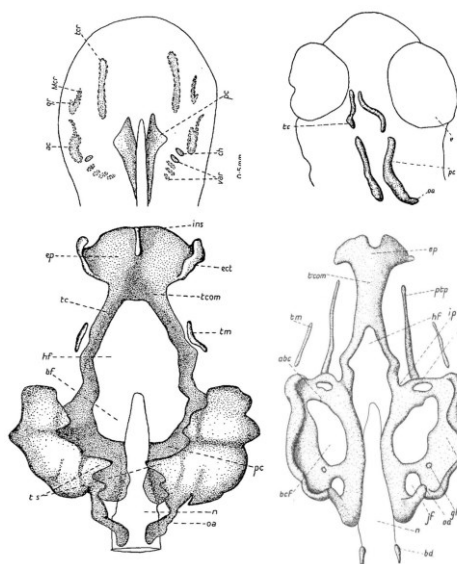
normálně vyvinula platybazickou, pomocí chemických agens kyklopsie. Je tedy pravděpodobné, že korelace mezi tímto stavem trabekul a velikostí mozku je dána tím, že obě tyto struktury jsou závislé na „organizátoru“ ve formě rostrálního konce střeva.” (de Beer, 1937) Jeden takový „organizátor“ byl ukázán v minulé kapitole (obr. 6), další bude ukázán na zebříčkách. Oba tyto organizátory vycházejí však z mozku, nikoliv z rostrálního střeva.

Na následujících stranách bude ukázán vývoj trabekul několika zástupců čelistnatých obratlovců. Savci mají chrupavčitou složku značně redukovanou a trabekulu také. Rozhodla jsem se je proto záměrně vynechat i přesto, že na myších se často sleduje vývojová exprese genů. Původ trabekul z neurální lišty byl prvotní příčinou nahlížení na trabekuly jako součást viscerocrania, bude mu proto věnována větší pozornost.

2.1 Ryby

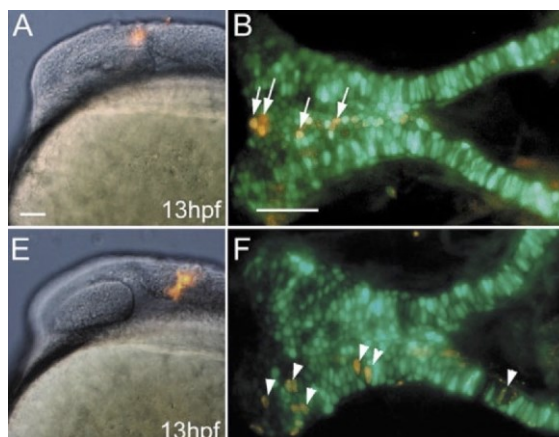
Trabekuly kostnatých ryb (Teleostei) jsou dlouhé protáhlé tyčinky, které na anteriorním konci srůstají a tvoří *trabecula communis*. Ta se na rostrálním konci se rozšiřuje v ethmoidní destičku (de Beer, 1927). Představují tedy skupinu s tropibazickou lebkou. U ostatní zástupců paprskoploutvých ryb (kostlíni, bichiři, kaprouni, jeseteři) se zachovalo uspořádání platybazické (obr. 8; de Beer, 1926; Moy-Thomas, 1934).

Experimenty s ablací ektodermu, který dává vzniknout neurální liště, na medace (*Oryzias latipes*) naznačily roli buněk hlavové NL ve tvorbě lebky kostnatých ryb (Langille and Hall, 1988a). Rybičkám, kterým chyběla neurální lišta v oblasti odpovídající budoucímu mesencephalu, se nevyvinuly trabekuly v osmi z deseti případů, stejně jako všechny elementy lebky anteriorně od polárních chrupavek a jako chrupavky odvozené od mandibulárního žaberního oblouku. Ablace v oblasti postotického rhombocephalu způsobila ztrátu výztuh žaberních oblouků. Buňky NL z posteriornějších oblastí a z oblasti prosencephalu neměly na tvorbu lebky ani branchialíí vliv. Chrupavky posteriorní lebeční bázi (parachordalia, hypofyzialní chrupavka a polární chrupavky) nebyly ovlivněny v žádném případě (Langille and Hall, 1988a).



Obr. 8
vlevo: schéma vývoje platybazického chondrocrania bichira *Polypterus senegalus*, z Moy-Thomas, 1934
vpravo: schéma vývoje tropibazického chondrocrania lososa *Salmo salar*, z de Beer,

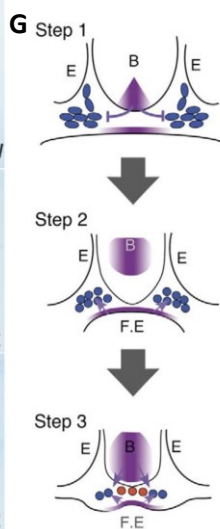
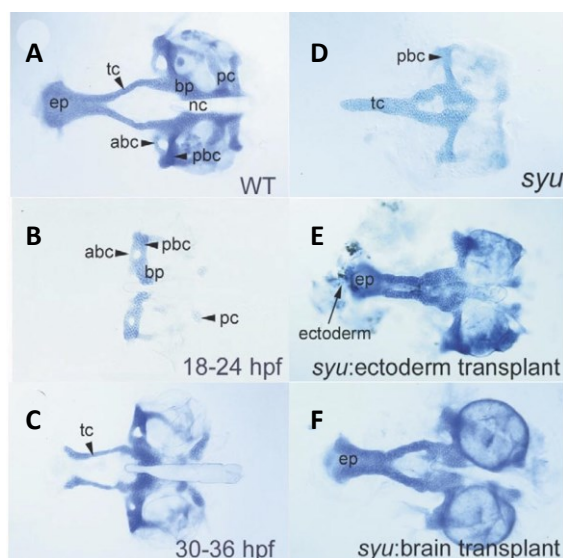
Transkripty genu *Sox10* hrají roli při vzniku buněk NL, při udržování multipotence buněk NL, při specializaci jednotlivých linií a při zahájení diferenciace. Dají se proto v brzkých fázích vývoje použít k vizualizaci buněk NL (Hall, 2009). Původ trabekul z NL je vidět na transgenních zebříčkách (*Danio rerio*), které exprimují mRNA pro zelený fluorescenční protein pod stejným promotorem jako *Sox10* (Eberhart, 2006; Kague et al., 2012; Wada, 2005). I když je možné, že k posteriorní části trabekul přispívá i mezoderm (Kague et al., 2012).



Obr. 9
Buňky NL posteriorně k oku (E) dávají vzniknout laterálním trabekulám (F), buňky NL dorzálně k oku (A) přispívají k tvorbě ethmoidní destičky (B). Sox10 exprimující buňky svítí zeleně. Z Wada et al., 2005

Předpokládá se, že ethmoidní destička vzniká srůstem trabekul (de Beer, 1937). Injekce takzvaných vitálních barviv do skupinek premigratorních buněk NL dorzálně a posteriorně k oku ukázalo, že k tvorbě ethmoidní destičky přispívá anteriorní linie mesencefalových buněk NL oddělená od linie dávající vzniknout trabekulám (Obr. 9; Wada, 2005).

Signalizační dráha Hedgehog (Hh) je důležitá pro správné vytvoření chrupavek anteriorního neurocrania (trabekul a ethmoidní destičky), mutace v genech této dráhy vedou k jejich redukcí (Brand et al., 1996; Eberhart, 2006; Jeong, 2004). Při aplikaci steroidního alkaloidu cyklopamin (antagonisty jedné z molekul Hh signalizace) v brzkém embryonálním vývoji zebříček (mezi 4 a 24 hodinami po fertilizaci) se nevyvine žádné anteriorní neurocranium (obr. 10B). Embrya, která jsou ošetřena cyklopaminem později (30-36 hpf), mají přítomné trabekuly, ale chybí jim ethmoidní destička a trabekuly nesrůstají (obr. 10C; Wada, 2005).



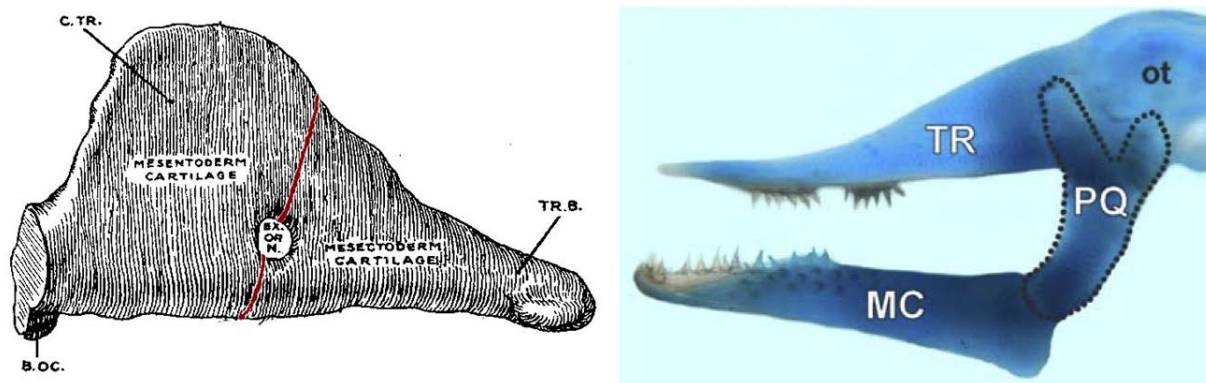
Obr. 10
(A) normální chondrocranium zebříčky, barvené Alcainovou modří
(B) chondrocranium po aplikaci cyclopaminu v brzké fázi vývoje
(C) po aplikaci cyc. v pozdější fázi
(D) *syu* mutant
(E) *syu* mut. s transplantovaným nemutovaným ektodermem
(F) *syu* mut. s transplantovaným nemutovaným mozkem
(G) hypotetické schéma signalizace shh při formování trabekul
zkratky: abc – anteriorní bazikapsulární komisura, B – bazální destička, e – oko, ep – ethmoidní destička, F.E. – obličejový ektoderm, pc – parachordalia, tc –trabekuly
Z Wada, 2005

Zebříčkám s mutací *syu* (*sonic you*), která narušuje funkci *Shh* (*sonic hedgehog*), se namísto normálních trabekul vyvíjí jedna spojená tyčinka (obr. 10D; Wada, 2005). Tento stav je možné částečně zachránit pomocí transplantací mozku a hlavového ektodermu (obr. 10E-F; Wada, 2005). Wada (Wada, 2005) z těchto a dalších experimentů s Hh signalizací vyvozuje, že signalizace *Shh* z ventrální části mozku zpočátku brání mediálnímu spojení buněk NL, které dávají vzniknout trabekulám. Poté *Shh* produkovaný hlavovým ektodermem dává signál ke chondrogenezi trabekul. Tvorba ethmoidní destičky je nakonec indukována signálem z ektodermu i z ventrálního hypotalamu (obr. 10G; Wada, 2005).

2.2 Obojživelníci a dvojdyšní

2.2.1 Ocasatí obojživelníci

Sledování migrace buněk NL u ocasatých obojživelníků (Urodela) má dlouhou historii (viz Hall, 2009). Stone (Stone, 1926) na základě odlišné histologie buněk NL* rozlišil dvojí původ trabekul u axolotla *Ambystoma punctatum*: jen část trabekul anteriorně od otvoru pro optický nerv je původem z NL, posteriorní část a dorzální hřeben (*crista trabeculae*) jsou z mezodermu (obr. 11). Novější transplantační experimenty na axolotlovi *A. mexicanum*, kde dárce je transgenní embryo, jehož všechny jeho buňky exprimují gen pro fluorescenční protein, potvrdily Stoneovo pozorování o dvojím původu trabekul (Davidian and Malashichev, 2013)†. Transplantovaná byla celá neurální lišta, tak jediné informace o tom, jakými cestami přispívá NL



Obr. 11

vlevo: trabekula axolotla s vyznačenou hranice mezi mezodermální posteriorní částí a částí z NL, podle Stone, 1926
vpravo: trabekula (TR), palatokvadratu (PQ) a Meckelova chrupavka (MC) axolotla barvené Alcainovou modří, ot – otická kapsule, z Cerny et al., 2004

* Rozdílnost buněk NL od buněk ostatních zárodečných zárodečných objevila Julia Platt (Platt, 1893) na ocasatém obojživelníkovi rodu *Necturus*. Buňky odvozené od ektodermu, tedy i buňky NL, jsou menší, mají malá jádra a obsahují méně žlutkových než buňky endodermu a tudíž i mezodermu od něj odvozeného (Platt, 1893).

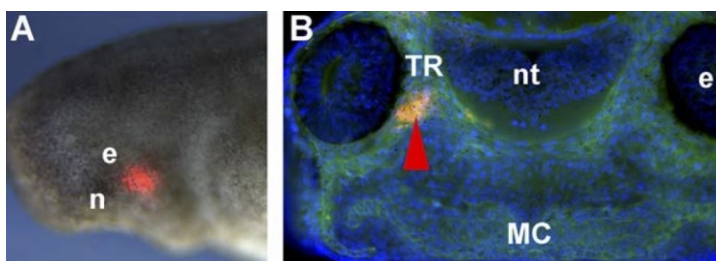
† Tato a další studie buněčných původů kostí axolotlů (Davidian and Malashichev, 2013; Sefton et al., 2015) jsou zaměřené na mezodermální původ druhé basibranchiální kosti, o anteriorní části lebky se zmiňují jen okrajově, proto bez obrázků.

k chrupavkám lebky a žaberních oblouků, jsou z experimentů pomocí vitálního barvení (Cerny et al., 2004; Epperlein et al., 2000; Hall, 2009). Hörstadius a Sellman (Hörstadius and Sellman, 1946 podle Hall, 2009) pomocí kombinace dvou vitálních barev přišli na to, že tvorbě anteriorních trabekul přispívají buňky NL z oblasti 3 (Hall, 2009). Další barvicí experimenty ukázaly, že buňky NL z této oblasti migrují dorzálně k oku (Epperlein et al., 2000, obr. XncC), tedy nejspíše v proudu odděleném od postoptického, který putuje do mandibulárního oblouku.

Vitální barvení postmigratorních buněk NL zaměřené na ventrální a dorzální kondenzace buněk v mandibulárním oblouku (Cerny et al., 2004) ukázalo, že i buňky NL migrující přes mandibulární oblouk přispívají k tvorbě trabekul u axolotla *Ambystoma mexicanum*. Z ventrální kondenzace vzniká Mecklova chrupavka (prekurzor spodní čelisti) i palatokvadratum (původní horní čelist, u obojživelníků má artikulační funkci, obr. 11). Při obarvení dorzální kondenzace mandibulárního oblouku byl nalezen signál v trabekulách (obr. 12; Cerny et al., 2004).

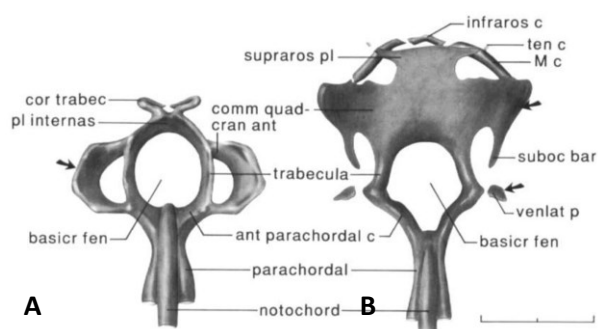
Obr. 12

Vitální barvení buněk NL. Buňky NL z dorzální části mandibulárního oblouku (A) přispívají k tvorbě trabekul (B)
zkratky: e – oko, MC – Meckelova chrupavka, n – struna hřbetní, nt – nervová trubice
Z Cerny et al., 2004



2.2.2 Bezocasí obojživelníci

Anteriorní část lebky pulců žab (Anura) je rozdílná od ostatních obratlovců přítomností suprarostrálních a infrarostrálních chrupavek, suprarostrální se připojují na rostrální výběžky trabekul (*cornua trabeculae*, obr. 13A), infrarostrální jsou napojeny na Meckelovy chrupavky (Sokol, 1981). Tvoří tak u pulců „zobáček“, který během metamorfózy mizí. Čeď



A

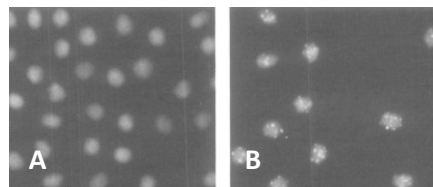
Obr. 13
Chondrocranium skokana (A) a drápatky (B).
Z Trueb and Hanken, 1992.

Pipidae (kam patří mimo jiné modelový organismus drápatka *Xenopus laevis*) samostatné suprarostrální chrupavky nemá, jejich trabekuly anteriorně končí rozsáhlou suprarostrální destičkou (někdy též zvanou etmoidální, obr 13B) která nejspíš obsahuje základ suprarostrálních chrupavek (Trueb and Hanken, 1992).

Trabekuly ocasatky *Ascaphus truei* jsou složeny ze dvou částí, posteriorních vyrůstající z parachordalií a anteriorních zakládajících se samostatně, které srůstají a tvoří základ

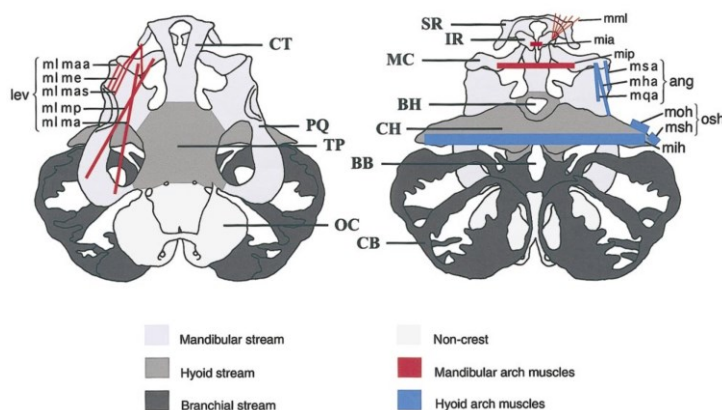
anteriorního chondrocrania (Reiss, 1997). Podle rozdílné histologie buněk NL a mezodermu, byla část anteriorní identifikována jako ektomezenchymální a část posteriorní jako mezodermální (Reiss, 1997). Dvojí původ trabekul souhlasí se Stoneovým pozorováním na skokanu *Rana palustris* kombinovaným s extirpačními experimenty (Stone, 1929).

Buněčná jádra drápatek *Xenopus laevis* a *X. borealis* se liší po barvení chinakrinem, jádra *X. laevis* se barví homogenně, zatímco jádra *X. borealis* mají 17-21 jasných teček (obr. 14; Thiébaud, 1983). Transplantace mezi těmito dvěma druhy naznačily, že k tvorbě ethmoidní-trabekulární destičky přispívá proud buněk NL dorzální k oku (Sadaghiani and Thiébaud, 1987).



Obr. 14
Rozdílný vzhled jader *X. laevis* (A) a *X. borealis* (B) po barvení chinakrinem. Z Thiébaud, 1983

Pomocí extirpace neurální lišty a vitálních barvení Olsson et al. (Olsson et al., 2001) zmapovali cílové struktury lebky pro jednotlivé proudy hlavové NL (obr. 15). Mandibulární proud se podílí na tvorbě Meckelovy chrupavky, palatokvadrata, infra- a suprarostrálních chrupavek a *cornue trabeculae*. Posteriorní trabekuly, srostlé v destičku, by měly být tvořeny hyoidním proudem (Olsson et al., 2001).



Obr. 15
Schéma, které ukazuje, jakými cestami přispívá NL k formování lebky kuňky *Bombina orientalis*. Z Olsson et al., 2001

2.2.3 Dvojdyšní

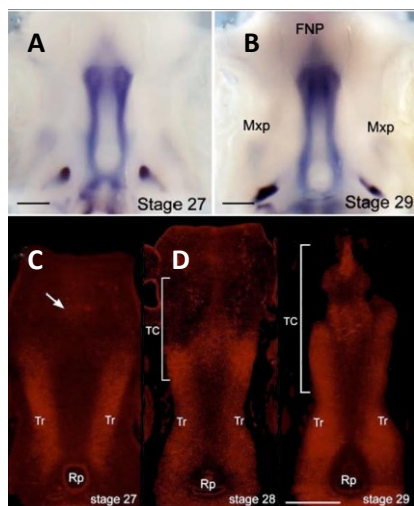
U dvojdyšných (Dipnoi) se na anteriorním konci trabekul vytváří rohy, *cornua trabecularis* (Kemp, 1999), podobné trabekulárním rohům žab. U bahníka *Neoceratodus forsteri* bylo pomocí vitálního barvení ukázáno, že k tvorbě trabekul přispívá NL (Ericsson et al., 2008; Kunderát et al., 2008). Mandibulární proud přispívá k tvorbě trabekul a hyoidní k tvorbě trabekulární destičky (Ericsson et al., 2008).

3. Ptáci a plazi

Ptáci a plazi (Sauropsida) mají až na výjimky (např. hadi) tropibazickou lebku (de Beer, 1937). Jejich trabekuly jsou blízko u sebe a jsou po většinu jejich délky spojeny v *trabecula communis*. U želv a některých ptáků byla navíc zaznamenána potenciální přítomnost nepárové chrupavky, takzvaná intertrabekula, která se samostatně zakládá mezi ještě volnými trabekulami a následně je spojuje v *trabecula communis* (Bellairs, 1949, 1958). Trabekula u skupiny Sauropsida přispívají k tvorbě internasálního a introrbitálního septa (Bellairs, 1958).

Ke sledování osudů buněčných linií u ptáků lze použít transplantací kousků tkáně (např. proužku neuroektodermu) z dárcovského embrya křepelky japonské (*Coturnix coturnix japonica*) do hostitelských embryí kuřete (*Gallus gallus*) (Le Lievre, 1974). Tato metoda je založená na rozdílné stavbě jader obou druhů. Zatímco u kuřat je chromatin homogenní jen s malými kondenzacemi (jako u většiny obratlovců) jádra křepelčích buněk obsahují objemnou masu heterochromatinu. Tato vlastnost je zviditelněná Feulgen-Rossenbeckovým barvením (Le Lievre, 1974).

Couly et al. (Couly et al., 1993) provedli izotopické transplantace jednak proužků neuroektodermu, ale i částí hlavového mezodermu a prvních několika somitů. Určili tak přesnou hranici mezi částmi lebky tvořenými mezodermem a buňkami NL. Toto rozmezí se nachází na úrovni anteriorní špičky struny hřbetní. Kostí anteriorně od ní, tedy i kostí odvozené od trabekul, jsou původu ektomezenchymálního (Couly et al., 1993)*.

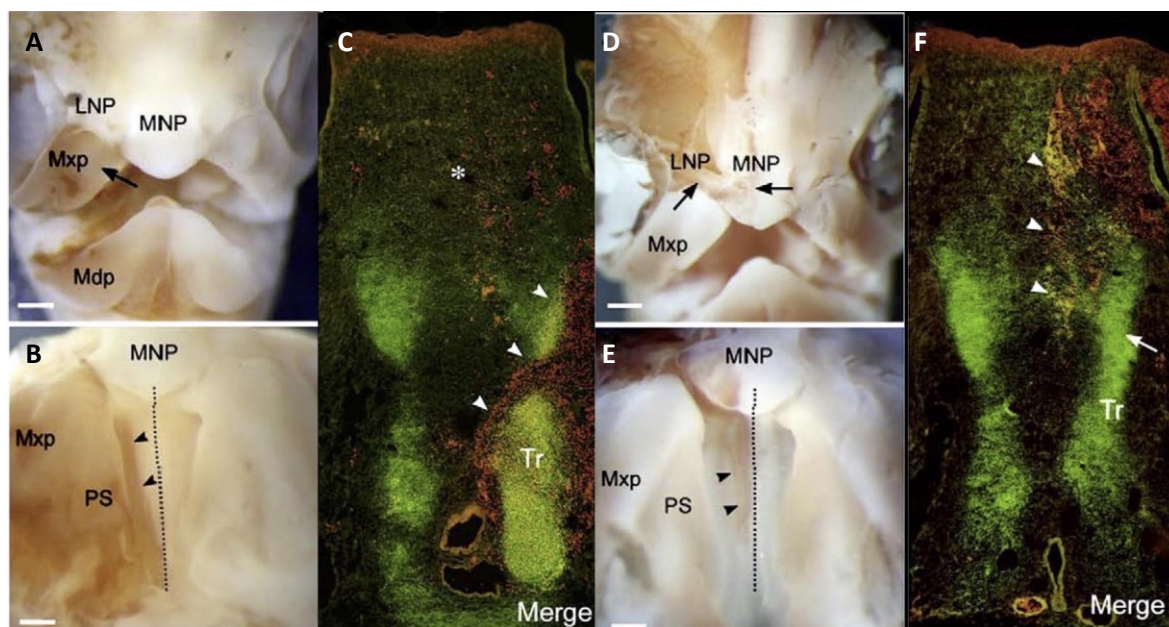


Obr. 16

(A-B) Expresse genu pro protein *Aggrecan* ukazuje srůstající trabekuly na jejich anteriorním konci. Intertrabekula (bílá šipka) jako samostatný elementy je rozpoznatelná na preparátech (C-E) imunohistochemicky značených na kolagen II. Zkratky: frontonasální výběžek (FNP), maxilární výběžek (Mxp), *trabecula communis* (TC) trabekula (Tr). Z Wada et al., 2011.

* Tímto faktem Couly et al. (Couly et al., 1993) podporují teorii *nové hlavy* (Gans and Northcutt, 1983) založenou na tom, že hlavní znaky odlišující obratlovce od ostatních strunatců se vyvinuly z jednoho ze tří základů: neurální lišty, epidermálních plakod nebo mezodermu laterálního plátu (hypomera). Epidermální (neurogenní) plakody dávají vznik smyslovým orgánům a jsou primárně koncentrovány v hlavě. Hlavová NL zastává zastupuje mnoho funkcí, které jsou v trupu realizovány mezodermem. Odlišnost hlavy od těla založená vlastnostech spojených se smysly a nervovou tkání, jedinečných pro obratlovce naznačuje, že hlava vznikla jako nový orgán uzpůsobený k přechodu od pasivního k aktivnímu způsobu lovu (Gans and Northcutt, 1983).

Wada et al. (Wada et al., 2011) prozkoumali vznik *trabecula communis* pomocí protilátek proti kolagenu II a přítomnosti mRNA *Aggrecanu* – značky tvorby chrupavek. Výsledky ukázaly přítomnost oddělené kondenzace buněk mezi trabekulami, tedy přítomnost dalšího, nepárového elementu (intertrabekuly) tvořícího *trabecula communis* (obr. 16). Autoři vytvořili křepelko kuřecí chiméry, u kterých rozlišili mandibulární proud NL na buňky odvozené od hranice diencephalu-mesencephalu, které putují anteriorně kolem optického váčku (preoptický proud), a na buňky odvozené od středního mesencephalu, které migrují posteriorně kolem budoucího oka (postoptický proud). Cílovými strukturami preoptického proudu jsou tři čelní výběžky (prostřední nasální a párové laterální) a pod nimi se nacházející intertrabekula. Oproti tomu postoptický proud migruje do párových mandibulárních a maxilárních výběžků a budoucího horního patra, ve kterém jsou základy párových trabekul (Wada et al., 2011) (obr 17)



Obr. 17

Kuřecí embryo s izotopicky a izochoricky transplantovanou neurální lištou z křepelky na hranici budoucího diencephalu-mesencephalu (A-C) a na úrovni budoucího středního mesencephalu (D-F). Na pohledech na celá embryo (A, B frontální; D, E ventrální) imunologicky barvená na antigeny specifické pro křepelky jsou vidět dva proudy buněk NL: postoptický (B,D) a preoptický (D,E). (C,F) jsou překryvy fluorescenčních snímků, kde je zeleně značená protilátka proti kolagenu II a červeně křepelčím specifické antigeny, jejich překryv se tedy jeví žlutě. Na (C) je vidět, že postoptický proud přispívá k párové trabekule (bílé hlavičky šipek), zatímco v místě intertrabekuly (hvězdička) se křepelčí antigeny téměř nevyskytují. Oproti tomu na (F) jsou buňky preoptického proudu NL koncentrovány v intertrabekule (bílé hlavičky šipek), nikoliv v párových trabekulách (bílá celá šipka). Zkratky: laterální nasální výběžek (LNP), budoucí horní patro (PS), zbylé jako v obr. Xitrichick1. Z Wada et al., 2011.

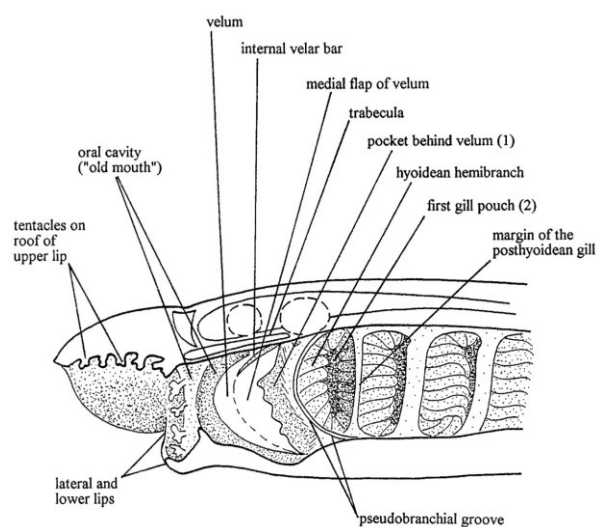
3. Trabekuly u bezčelistnatých obratlovců

Existují dvě skupiny dodnes žijících bezčelistnatých obratlovců: mihule a sliznatky, dohromady nazývané kruhoústí (Cyclostomata, jejich vzájemný vztah bude zmíněn dále). Kvůli obtížné dostupnosti vajíček sliznatek, byl donedávna podrobně znám jen vývoj mihulí.

3.1 Mihule

Mihule mají nepřímý vývoj. Jejich larvy se živí filtrací a mají k tomu uspořádané ústní ústrojí, po prodělení metamorfózy přecházejí na parazitický způsob života (ze zde probíraných: *Lampetra fluviatilis*, *Lethenteron japonicum*, *Petromyzon marinus*), většina známých mihulí je však neparazitická, mají proto prodloužené larvální stádium a v dospělosti se nekrmí (Potter, 1980). Jelikož trabekula je struktura důležitá při embryonálním vývoji, budou zde probírány jen larvy mihulí.

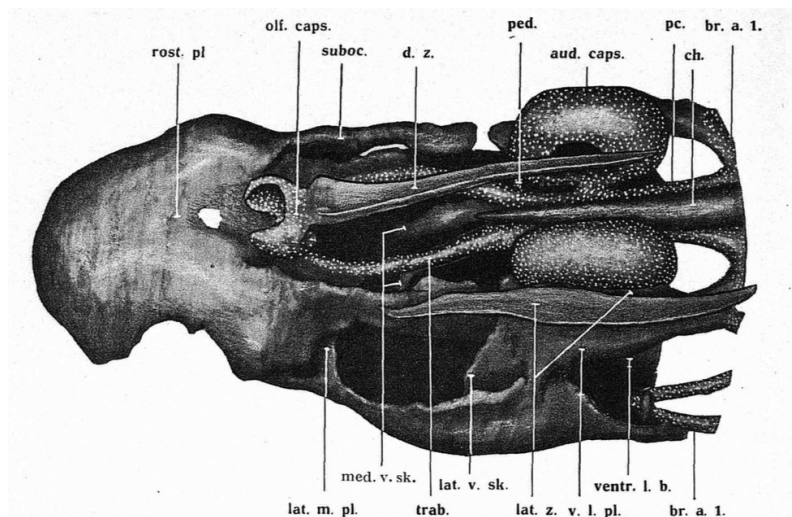
Larvy mihulí k posunu vody do oblasti hltanu používají takzvané vélum, které vzniká z membrány (bukální membrány) mezi anteriorním endodermem a ústním ektodermem, který sahá hluboko do ústního otvoru. Jejich ústní aparát je anteriorně zakončen horním a dolním rtem (Damas, 1944; Mallat, 1996).



Obr. 18
Stavba hlavy mihule.
Z Mallat, 1996.

Lebka larev mihulí je složena ze dvou typů chrupavek. Pouze trabekuly, parachordalia, sluchové pouzdra a čichové pouzdro jsou tvořeny chrupavkou podobnou hyalinním chrupavkám jiných obratlovců (obr. 19; Johnels, 1948). Vlákna mihulích chrupavek však nejsou tvořena vláknitým kolagenem, ale speciálním elastinu podobným proteinem lamprinem (McBurney and Wright, 1996; Yao et al., 2011). Masivní výztuhu orálního aparátu tvoří takzvaná mukochrupavka, jejíž extracelulární matrix je spíše tekutá. Liší se i tvarem buněk a jiným typem vláken (Johnels, 1948). Mozek podpírají chrupavky jen ventrálně, jinak je krytý schránkou z vláknité pojivové tkáně (Johnels, 1948).

Lebka larev mihulí obsahuje tyčinkovité útvary, nazývané trabekuly. Jejich totožnost s trabekulami čelistnatců byla a je silně zpochybňována. Jsou k tomu tři důvody: 1) pozici trabekul mihulí ke struně hřbetní (Johnels, 1948) 2) mezodermálnímu původu původ trabekul mihulí (Johnels, 1948; Kuratani et al., 2004) 3) nemožnost jejich přítomnosti u bezčelistnatých obratlovců v souladu s danou hypotézou vzniku čelistí (de Beer, 1931a; Kuratani, 2004). Prvním dvou bodům bude věnována tato kapitola.



Obr. 19
 lebka mihule, pravé chrupavky
 jsou zanečeny tečkovaně, trab =
 trabekuly
 Z Johnels, 1948

3.1.1 Buněčný původ

Damas (Damas, 1944) prozkoumal embryonální vývoj mihule *Lampetra fluviatis*. Přestože píše, že se mu nepodařilo používat experimentální metody sledování migrace buněk neurální lišty (jako jsou transplantační experimenty nebo vitální barvení), pomocí odlišné histologie buněk neurální lišty vytvořil schéma jejich migrace (Damas, 1944) velmi podobné tomu, které ukázaly snímky ze skenovací elektronové mikroskopie (Horigome et al., 1999). Nalezl velké množství buněk neurální lišty v oblasti kolem úst, konkrétně mezi stomodeem a anteriorní přepážkou hltanu, které nazývá „bande mésectodermique parabuccale“. Trabekuly se zakládají v dorzální části tohoto parabukálního pásu (obr. 20B). Břišní část dává vzniknout velu (Damas, 1944).

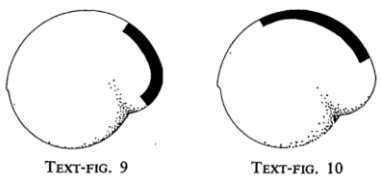
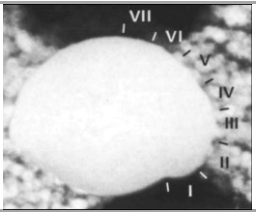
Johnels (Johnels, 1948) toto pozorování zpochybňuje a říká, že „trabekuly vznikají jako blastema v oblasti, kterou Damas označil scl. s. 2“ (obr. 20A a C; Johnels, 1948) Měly by tedy vznikat ze sklerotomu somitu 2* a být jen rostrálním protažením parachordalií, které jsou tvořeny třetím a čtvrtým somitem. Avšak připouští, že parabukální ektomezenchym může přispívat ke tvorbě anteriorní části trabekul, nebo alespoň k anteriorní komisuře mezi nimi, která vzniká jako samostatná struktura (Johnels, 1948).

* jestli mezoderm hlavy je segmentovný do somitů, jak je tomu v těle, nebo ne, není v tomhle případě tak důležité, somit 2 odpovídá mandibulárnímu mezodermu

Snímky mihule *Petromyzon marinus* z transmisní elektronové mikroskopie ukázaly, že trabekuly vznikají z populace buněk morfologicky odlišných od ostatního mezenchymu (McBurney and Wright, 1996). Tato oblast se nachází mezi očním primordiem a otickou kapsulí, ventrálně vymezená ústní dutinou a aortou carotis, dorzálně mozkem. Autoři ji pojmenovali trabekulární oblouk (TA = trabecular arch, obr. 20E-F). Buňky TA obsahují velké množství žloutku, což je znak, který u obojživelníků charakterizuje mezenchym odvozený od mezodermy (Platt, 1893). Buňky TA, které jsou v kontaktu s endodermem se stávají trabekulami (McBurney and Wright, 1996).

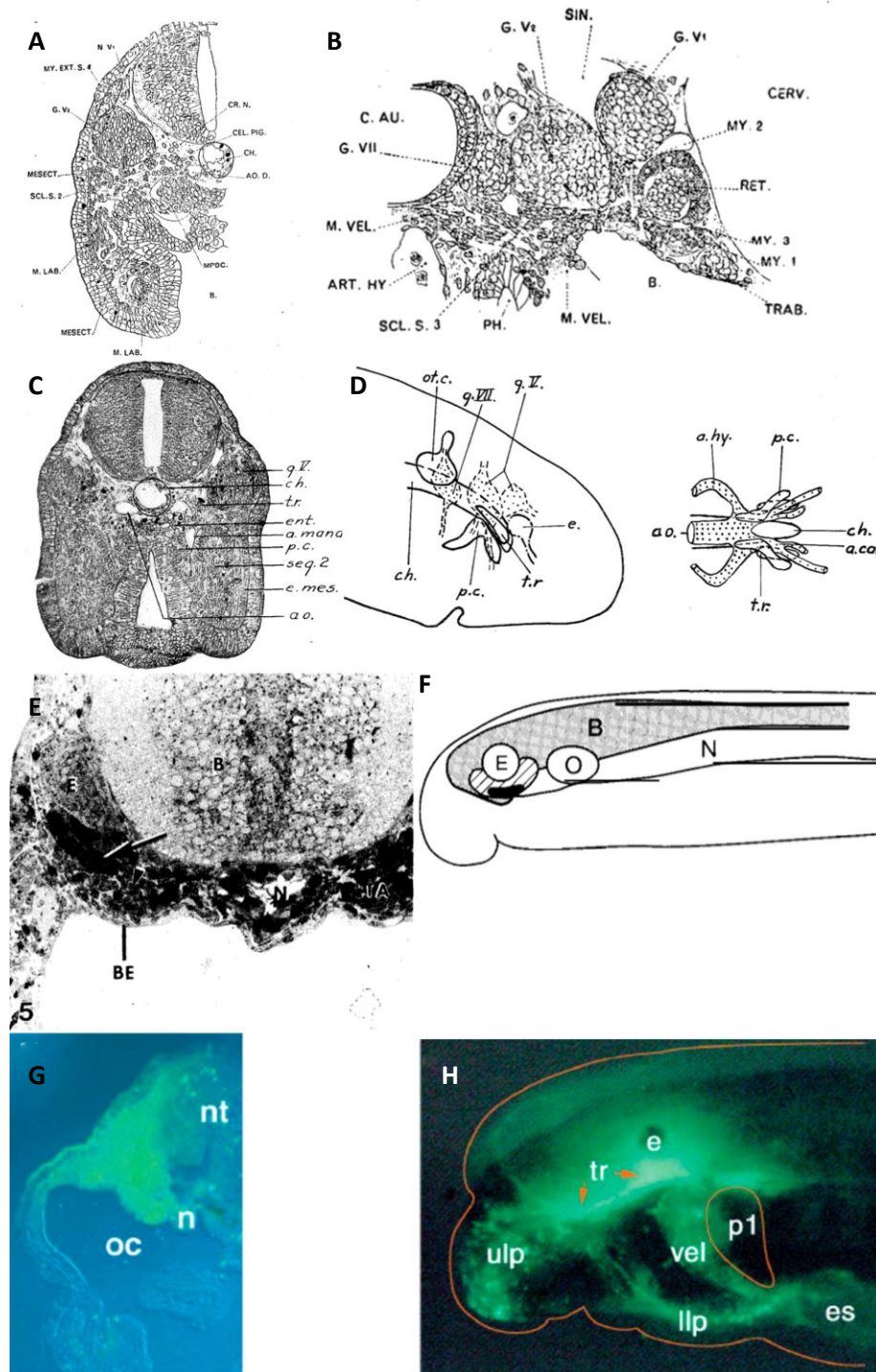
Experimenty s ablací ektodermy, který dává vzniknout migrujícím buňkám neurální lišty, přinesly rozdílné výsledky (tab. 1, Langille and Hall, 1988b; Newth, 1956).

Tab. 1: Srovnání dvou extirpačních experimentů s NL mihulí

	Newth, 1956	Langille & Hall, 1988																																		
druh	<i>Lampetra plynáři, L. fluviatis</i>	<i>Petromyzon marinus</i>																																		
stádium embrya	pozdní neuryla	brzká-střední neurula (stadium 12 podle Piavise)																																		
operované části																																				
přežití	18 %	46 %																																		
výsledky	<p>Anteriorní craniální NL: 21 jedinců, posteriorní část trabekul byla vždy zcela vyvinuta, anteriorní část byla pozměněna</p> <p>Posteriorní craniální NL: 26 jedinců, branchiální skelet u 6 zcela chybí, u 1 plně vyvinut, u zbylých neúplný</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th rowspan="2">Zone removed</th> <th rowspan="2">Total no. of ablations</th> <th colspan="2">No. (and %) of larvae with skeletal reductions/deletions</th> </tr> <tr> <th>Trabeculae</th> <th>Branchial arches</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>I</td> <td>6</td> <td>0 (0)</td> <td>0 (0)</td> </tr> <tr> <td>II</td> <td>9</td> <td>7 (78)</td> <td>0 (0)</td> </tr> <tr> <td>III</td> <td>10</td> <td>5 (50)</td> <td>7 (70)</td> </tr> <tr> <td>IV</td> <td>4</td> <td>1 (25)</td> <td>3 (75)</td> </tr> <tr> <td>V</td> <td>4</td> <td>3 (75)</td> <td>4 (100)</td> </tr> <tr> <td>VI</td> <td>10</td> <td>0 (0)</td> <td>7 (70)</td> </tr> <tr> <td>VII</td> <td>5</td> <td>0 (0)</td> <td>0 (0)</td> </tr> </tbody> </table>	Zone removed	Total no. of ablations	No. (and %) of larvae with skeletal reductions/deletions		Trabeculae	Branchial arches	I	6	0 (0)	0 (0)	II	9	7 (78)	0 (0)	III	10	5 (50)	7 (70)	IV	4	1 (25)	3 (75)	V	4	3 (75)	4 (100)	VI	10	0 (0)	7 (70)	VII	5	0 (0)	0 (0)
Zone removed	Total no. of ablations	No. (and %) of larvae with skeletal reductions/deletions																																		
		Trabeculae	Branchial arches																																	
I	6	0 (0)	0 (0)																																	
II	9	7 (78)	0 (0)																																	
III	10	5 (50)	7 (70)																																	
IV	4	1 (25)	3 (75)																																	
V	4	3 (75)	4 (100)																																	
VI	10	0 (0)	7 (70)																																	
VII	5	0 (0)	0 (0)																																	

Při obou experimentech došlo ke snížení pigmentace (melanocyty jsou z neurální lišty (Hall, 2009)) a absence či redukce žaberních oblouků. V experimentech Newtha (Newth, 1956) byly trabekuly z větší části normálně vyvinuty. V experimentech Langilla a Halla (Langille and Hall, 1988b) došlo k absenci trabekul ve většině případů. Autoři pozdějších experimentů vysvětlují svůj odlišný výsledek použitím ranějších embryonálních stádií. Je podle nich možné, že u Newthových embryí se vyvinul branchiální skelet a ne trabekula, protože k migraci buněk NL dochází od hlavy směrem k ocasu a tedy buňky NL posteriornější části hlavy nestihly uniknout ablací. Nepovažují za možné, že by porušili během řezů mezoderm, protože je od premigratorních buněk neurální lišty oddělen neurální trubicí (Langille and Hall, 1988b).

Kuratani et al. (Kuratani et al., 2004) pomocí vitálních barviv sledovali osud mezodermu ze struktury, kterou nazývají „cheek process“, což je laterální výrostek tvořený první vychlípeninou faryngiálního endodermu a přilehlým mandibulárním mezodermem. Po sedmi dnech pozorovali vysokou úroveň barvení v oblastech laterálně od chordy, tedy v místech, kde vzniká trabekula (obr. 20G-H; Kuratani et al., 2004).

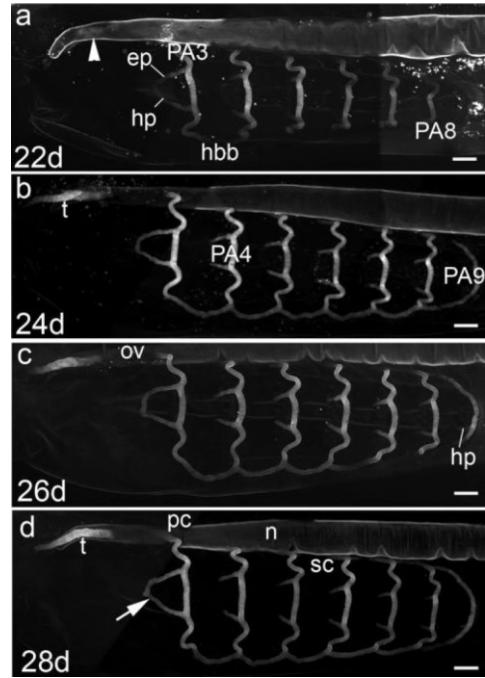


Obr. 20
 Srovnání rozdílných pozorování vzniku trabekul u mihulí
(A-B) Damovské nákresy *L. fluviatilis*, transverzální (A) a sagitální (B) řez. Některé zkratky: TRAB – trabekula, CERV – mozek, B – ústa, C. AU – sluchové pouzdro, MESECT – ektomezenchym, CH – struna hřbetní, SCL. S. 2 – sklerotom somitu 2
 Z Damas, 1944.
(C-D) Johnnelsův snímek transverzálního řezu (C) a schéma (D) vztahu trabekul (t.r.) a parachordalií (p.c.) u *P. marinus*, další zkratky: seg. 2 – druhý segment, e. mes. – ektomezenchym
 Z Johnels, 1948
(E-F) Trabekulární oblouk *P. marinus* na snímku z TEM (E), trabekula je ukázána šipkou, a na schématu jeho pozice vůči oku (F), trabekula černě, zkratky: B – mozek, E – oko, BE – žaberní ektoderm, N – chorda
 Z McBurney and Wright, 1996.
(G-H) Vitální barvení mandibulárního mezodermu *L. japonicum*, Transverzální řez (G) a pohled na celou hlavu embrya (H), tr – trabekula, vel – velum, ulp – horníret, llp – spodní ret, p1 – první vychlípka hltanu
 Z Kuratani et al., 2004

3.1.2 Pozice vůči chordě a vztah k parachordaliím

Posteriorní část trabekul u mihulí se nachází laterálně k chordě a navazuje na parachordalia, které se zakládají jako dvě primordia po obou stranách chordy. Přechod mezi trabekulou a parachordalií není u mihule *Petromyzon marinus* histologicky rozpoznatelný (Johnels, 1948). Jediné, co by je dalo odlišit, je pedikulární výběžek (jinými autory označovaný také jako basitrabekulární), který se na domnělé hranici nachází. Oddělená primordia parachordalií si Johnels (Johnels, 1948) vysvětluje zvětšením vzdálenosti mezi somity 3 a 4, které by měli dávat vzniknout parachordaliím, přítomností otických pouzder.

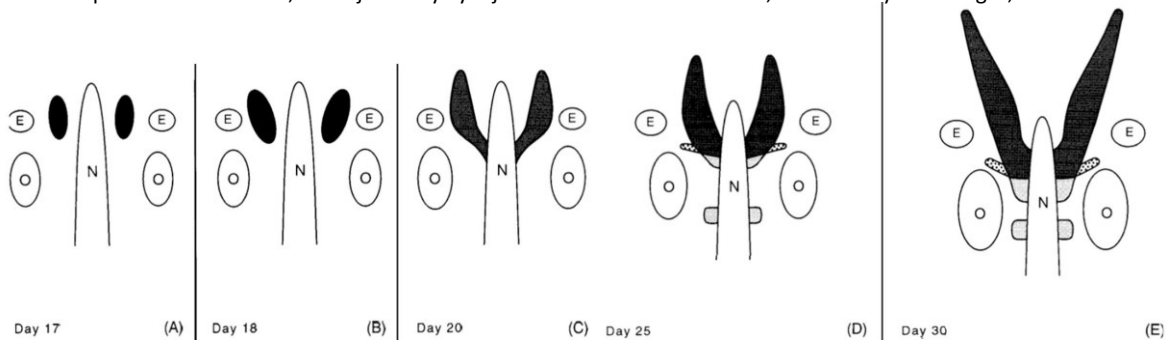
Avšak McBurney a Wright (McBurney and Wright, 1996) na stejném druhu mihule pozorovali samostatné základy trabekul na úrovni očí, laterálně od anteriorního konce chordy (obr. 22). Trabekuly se



Obr. 21
Snímky z fluorescenční mikroskopie vývoje branchiálního koše *P. marinus* mířící hlavou doleva, n – chorda, ov – otický váček, pc – parachordalia, t – trabekula. Z Martin et al., 2009.

Obr. 22

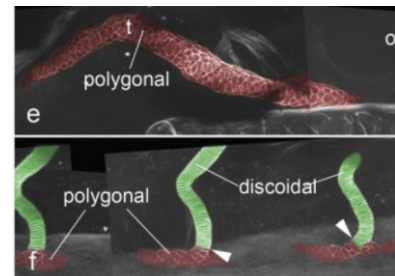
Schéma podle snímků z TEM, ukazující brzký vývoj trabekul mihule *P. marinus*, z McBurney and Wright, 1996.



k chordě a parachordaliím připojují až růstem posteriorně (McBurney and Wright, 1996).

Žaberní výztuhy mihulí tvoří spojitý koš a mají zvláštní strukturu, buňky v nich jsou placaté a uspořádané do sloupečku jako mince (Morrison et al., 2000). Oproti tomu buňky v chrupavkách, které se dostávají ke kontaktu s chordou (trabekuly, parachordalia a subchordalia) jsou polygonální a podle toho uspořádané (obr. 23; Martin et al., 2009).

Geny rodiny SoxE jsou mimo jiné důležité pro specifikaci a přežití buněk neurální lišty (Hall, 2009). Blokování



Obr. 23
Polygonální uspořádání buněk v trabekulách (červeně) a diskodální v branchiáliích (zeleně), z Martin et al. 2008

funkce těchto alternativ genů u mihulí (*SoxE1*, *SoxE2*, *SoxE3*) vede k deformaci jejich žaberního koše (McCauley and Bronner-Fraser, 2006). Vyřazení z funkce *SoxE1* a *SoxE2* způsobí ztrátu horizontálních struktur (trabekul, parachordalií a subchordalií) a různých částí žaberního koše podle toho, který z paralogů byl vyřazen (Lakiza et al., 2011). Při vyřazení *SoxE3* paralogu dochází ke změně struktury uspořádání buněk žaberních oblouků ze „sloupečku mincí“ na polygonální buňky, tedy na stejné uspořádání, jako je u buněk v trabekulách a parachordalií (Lakiza et al., 2011).

3.2 Mají mihule trabekuly?

Jednou z příčin pochybné homologie trabekuly čelistnatců a mihulí je její pozice k chordě. Trabekula se sice zakládá laterálně k chordě, ale jako samostatné primordium vzdálené od chordy, které je v kontaktu s endodermem (McBurney and Wright, 1996).

Dalším důvodem je její možný mezodermální původ. Nedá se jednoznačně říct, jestli je trabekula původem mezodermální, nebo ektomezenchymální. Vzhledem k tomu, že experimenty, které potvrzují jedno, či druhé, jsou buď ablace ektodermu, nebo barvení mezodermu, nelze vyloučit, že pro tvorbu trabekuly mihulí je důležité oboje. Dvojitý původ trabekul obojživelníků byl ukázán výše. Hledání původu trabekul z buněk neurální lišty bylo motivované teorií trabekuly jako premandibulárního žaberního oblouku, tedy součásti viscerocrania, pro něž je tento původ charakteristický (de Beer, 1931a). Původ elementů lebky z mezodermu, nebo z neurální lišty závisí na tom, jestli se nachází před anteriorní hranicí chordy, nebo za ní (Couly et al., 1993). Trabekuly jsou charakteristické svým postavením k hypofýze, mozku a stomodeu. Mohlo by tedy dávat větší smysl je homologizovat na základě jejich vztahu ke strukturám, které je obklopují, než na základě jejich původu z neurální lišty, který je už z podstaty schopnosti její migrace a všestrannosti více proměnlivý (Cerny et al., 2006)

Na druhou stranu, je možné, že funkce struktury zvané trabekula je odlišná u čelistnatců a mihulí. U čelistnatců se na její bázi vytváří chrupavčitá nebo kostěná mozkovna, chrání tedy mozek a zároveň vytváří okénko pro hypofýzu. U mihulí je mozek uzavřen do schránky z fibrózní pojivové schránky (Johnels, 1948) a adenohipofýza se nevnořuje skrz ústní dutinu (Uchida et al., 2003). Trabekuly u nich dostávají výslednou podobu v době, kdy se larvy začínají zahrabávat do dna (Piavis, 1971 podle McBurney and Wright, 1996), mohly by tedy sloužit hlavně jako výztuha v místě, kam nedosahuje chorda.

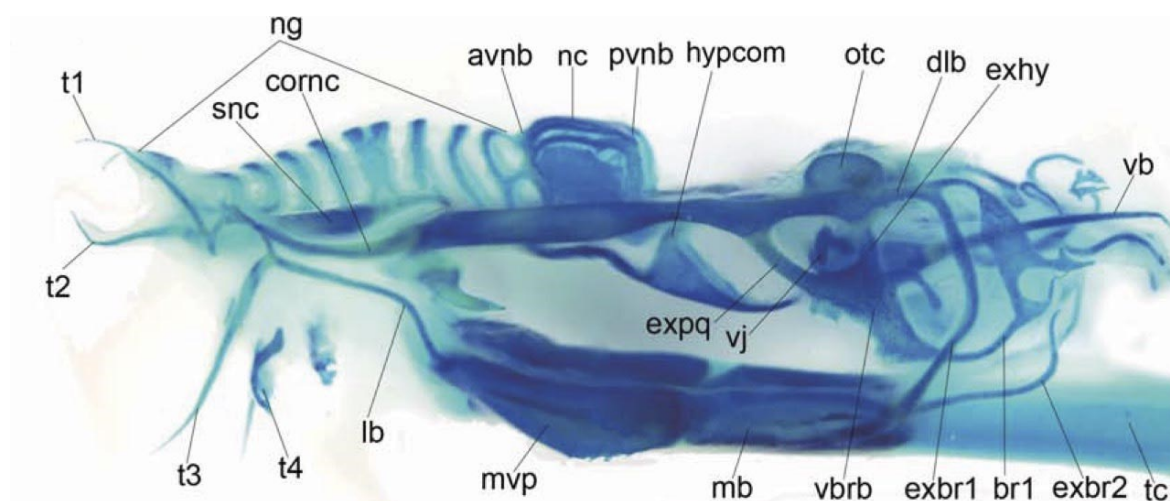
Na vyřazení *SoxE* trabekuly reagují podobně jako žaberní koš, přerušení signalizace *SoxE3* navíc změnilo tvar buněk žaberních tyčinek, že měly strukturu podobnou jako trabekuly (Lakiza et al., 2011). Ale stejný efekt byl i na parachordalia.

3.3 Sliznatky

Na rozdíl od mihulí, sliznatky byly do nedávné značně neprobádané. Poznatky o sliznatkách se omezovaly hlavně na jejich adultní morfologii (např.: Yalden, 1985). Sliznatky jsou hlubokomořští živočichové, získat tak jejich vajíčka, která by ještě obsahovala embrya, je téměř nemožné (Holmgren, 1946, práce se jmenuje *On the two embryos of Myxine glutinosa*). Před deseti lety se Kinya G. Otovi z laboratoře Shigeru Kurataniho podařilo získat dostatek dospělých zástupců druhu *Eptatretus burgeri*, který je příbřežní a žije v relativně mělkých vodách (méně než 200 m), a úspěšně je rozmnožit (Kuratani and Ota, 2008). Úspěch spočíval v dostatečné trpělivosti, protože embrya se začala ve vajíčkách objevovat až pět měsíců po nakladení, což bylo důvodem selhání předchozích pokusů (Kuratani and Ota, 2008).

Možnost sledovat vývoj sliznatek přinesla poznatky o znacích společných s ostatními obratlovci, které potvrzují jejich postavení s mihulemi v monofyletické skupině kruhoústí, sesterské skupině čelistnatci, které předtím ukázala molekulární data (Delarbre et al., 2002; Kuraku et al., 1999; Mallatt and Sullivan, 1998; Takezaki et al., 2003)*. Neurální lišta sliznatek vzniká delaminací (a je i podobně regulována) jako u ostatních obratlovců (Ota et al., 2007). Dokonce i základy obratlů byly nalezeny v ocasní části *Eptatretus burgeri* (Ota et al., 2011). Adenohypofýza vzniká z nasohypozárního plátu (tedy z ektodermu), stejně jako u mihulí, nikoliv z vychlípeniny endodermu, jak bylo předpokládáno (Oisi et al., 2012). Nasohypofyzární dukt, který je mihulí slepý a u sliznatek průchozí, se u sliznatek otevírá až sekundárně do hltanu (Oisi et al., 2012).

Základ trabekul sliznatek je v rostrálním protažení periotického mezenchymu, které směřuje k oku, ventrolaterálně k předním mozku. Spolu s trabekulami vznikají z toho základu i



Obr. 24

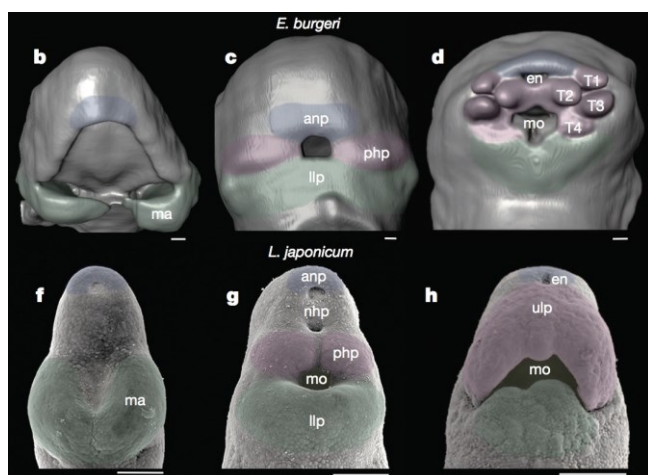
Chondrocranium dospělé sliznatky barvené Alcainovou modrou. Trabekuly se nachází mezi hypofyzární komisurou (hypcom) a sluchovou kapsulí (otc). Z Oisi et al., 2013.

* Alternativou je postavení sliznatek na bázi skupiny *Craniata*. Sliznatky by byly sesterskou skupinou obratlovcům: mihulím a čelistnatcům.

tzvané dorzální podélné chrupavky, spojené s trabekulami třemi „komisurami“, které nepředstavují spojení dvou původně oddělených chrupavek, ale zbytek po rozdělení těchto chrupavek ze společného základu dvěma fenestracemi (Oisi et al., 2013). Trabekuly se na úrovni adenohipofýzy vnořují pod nasohypofyzární dukt, lehce rostrálně k adenohipofýze srůstají mediálně a tvoří hypofyzární komisuru. Trabekuly dále pokračují rostrálně a napojují se na posteriorní vertikální nasální tyčinky (Oisi et al., 2013).

3.4 Srovnání mihulí a sliznatek

Ve stadiu střední farynguly jsou si mihule a sliznatky v hlavové části nejpodobnější (obr. 26; Oisi et al., 2012), mají tři srovnatelné struktury: spodní ret, anteriorní nasální výrůstek a dva posthypofyzární výrůstky (obr. 25; Oisi et al., 2012).



Obr. 25

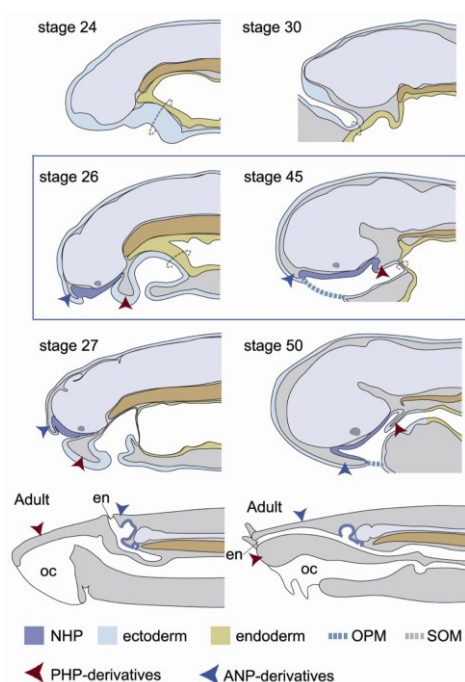
Snímky ze skenovacího mikroskopu vývoje farynguly sliznatky (nahore, sekundární orofaryngální membrána) a mihule (dole). Barevně jsou značeny homologické struktury, anteriorní nasální výrůstek (anp) modře, posthypofyzární výrůstek (php) růžově, spodní ret (llp) zeleně. Z Oisi et al., 2013. další zkratky: en – nozdra, mo – ústní otvor, T1-4 tentakule. Z Oisi et al., 2012.

U mihulí posthypofyzární výrůstky vyváří mohutný horní ret (Kuratani, 2012). Růst horního rtu zatlačuje společný vývod pro hypofýzu a nepárovou nozdru, tak že ve výsledku se nachází na hřbetu mihulí (Damas, 1944). U sliznatek dochází ke zvláštnímu jevu. Nejdříve se jim utvoří primární orofaryngální membrána (místo, kde dochází ke styku ektodermu a endodermu a tvoří se ústa) vchlípením dovnitř a vznikne tak oronasohypofyzární dutina. Tato dutina se později uzavírá ektodermálními valy, které se tvoří po stranách předního mozku a rostromediálně srůstají a vytváří tak sekundární orofaryngální membránu (Oisi et al., 2012). Hranice ektodermu je tak posunuta více posteriorně. Posthypofyzární výrůstek netvoří u sliznatek horní ret, jak je tomu u mihulí, ale roste anteriorně a posteriorně a vytváří dno nasohypofyzárního ductu, který se posteriorně otevírá do hltanu (obr. 25 a 26; Oisi et al., 2012).

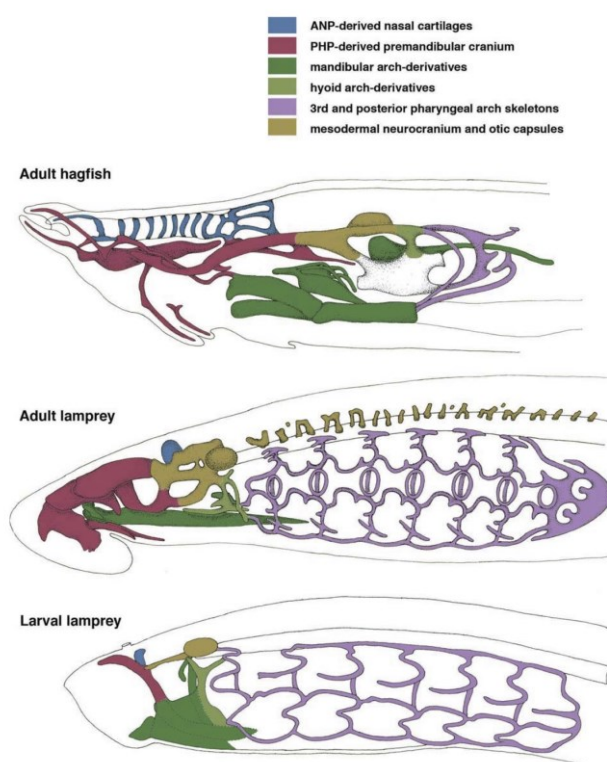
Jak neurální lišta přispívá k tvorbě chondrocrania sliznatek, sice ještě není známo, ale Oisi et al. (Oisi et al., 2013) závěr je, že alespoň anteriorní část trabekul sliznatek by mohla být „pravými“ trabekulami. Na rozdíl od trabekul mihulí, u kterých přijímají názor, že jsou jen protaženými parachordalii. Podporují to třemi fakty: 1) Trabekuly u sliznatek jsou vlastně komplex trabekul a dorzálních podélných chrupavek. Část toho komplexu tvořící trabekuly se

později ve vývoji nachází rostrálně od anteriorní špičky chordy, i když základ (periotický mezenchym) se nachází od chordy laterálně, takže posteriorní část trabekul sliznatek nejspíš bude odpovídat parachordální čelistnaticům. 2) Samotné trabekuly sliznatek se nacházejí daleko od sebe a jejich základ nejspíš nebude paraxiální mezoderm, ale posthypofyzární výrůstky (růžová v obr. 25). 3) Anteriorní spojení trabekul sliznatek (hypofyzární komisura) se podobá prechordální části lebky čelistnaticů (Oisi et al., 2013).

Na obr. 27 (Oisi et al., 2013) jsou znázorněny lebeční elementy sliznatek, mihulí a minoh, které jsou stejného embryonálního původu. Růžově vybarvené struktury jsou z posthypofyzárního mezenchymu, měly by tedy být původem stejného jako trabekuly čelistnaticů, jak bude popsáno v následující kapitole.



Obr. 26
schéma embryonálního vývoje mihule (vlevo) a sliznatky (vpravo), homologie struktur hlavy (šipky) je založená podobností struktur na stadiích v obdélníku, z Oisi et al., 2013
OPM – oropharyngeální membrána, SOM – sekundární OPM, oc – ústní dutina



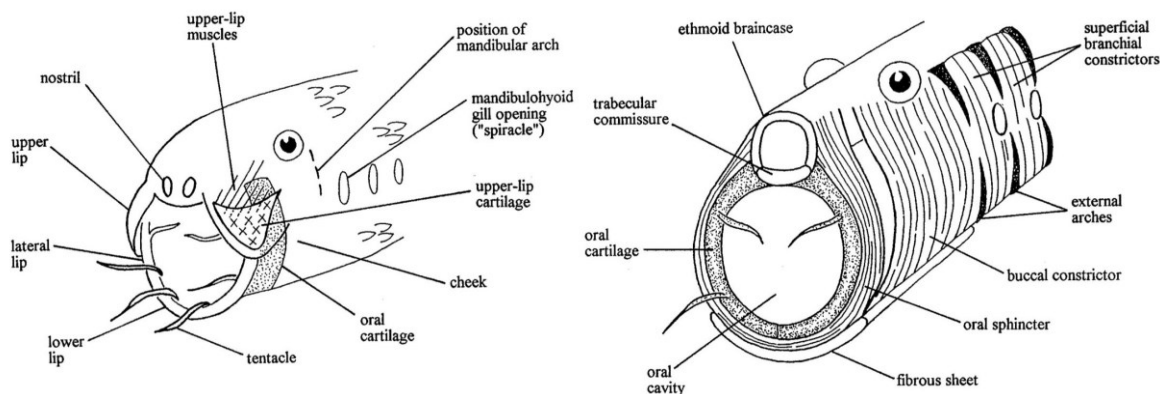
Obr. 27
Srovnání struktur lebky stejného původu od shora dolů: dospělé sliznatky, dospělé mihule, larvy mihule
Z Oisi et al., 2013.

4. Teorie heterotopního zvratu a neoklasická teorie

Teorie heterotopního zvratu (Shigetani et al., 2002) i neoklasická teorie (Mallatt, 1996) představují modely vzniku čelistí, které předpokládají, že nebyl žádný žaberní oblouk před mandibulárním. Trabekuly tedy podle obou těchto teorií nejsou součástí viscerocrania. Liší se však v postoji k přítomnosti trabekul u mihulí.

4.1 Neoklasická teorie

Jon Mallat (Mallatt, 1996) na základě detailního srovnání hltanu, úst, čelistí a věla mezi žraloky, chimérami a kruhoústými vypracoval podobu společného předchůdce čelistnatců a kruhoústých. Tito předci (obr. 28) aktivně exspirovali vodu přes žaberní štěrbinu pomocí peristaltických pohybů branchiálních svalů a inspirovali pasivně zpětným narovnaním vnějších a vnitřních žaberních výztuh. Při expiraci úniku vody z úst bránily slabé chlopně. Neměl sací aparát a pomocí úst, která přesahovala mandibulární oblouk lapal pomalou kořist mořského dna (Mallatt, 1996).

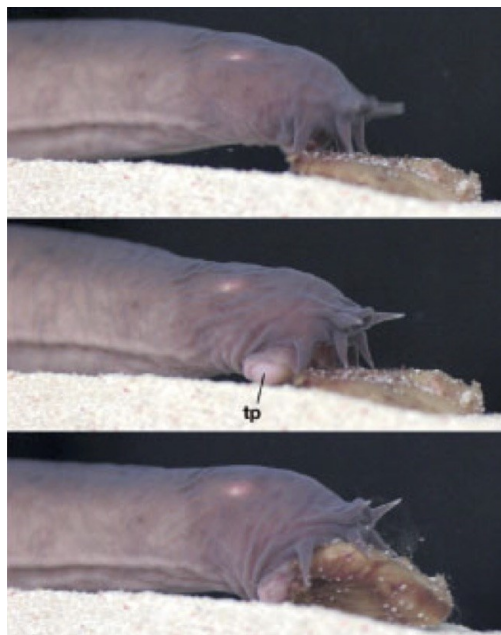


Obr. 28

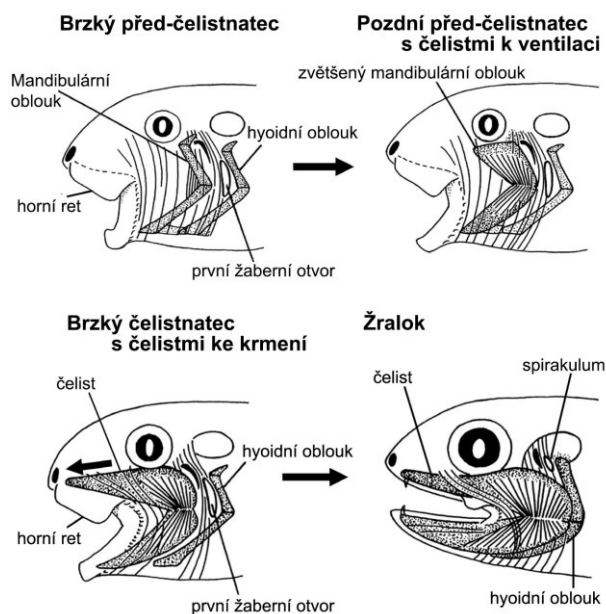
Znázornění společného předchůdce všech obratlovců podle neoklasické teorie, vpravo je zobrazen bez kůže. Trabekula by u toho předka byla přítomna. Vpravo je vyznačené anteriorní spojení trabekul. Z Mallat, 1996.

Podle teorie *Nové hlavy* (New head theory; Gans and Northcutt, 1983) na počátku vzniku obratlovců byl přechod k aktivní predaci a s ním spojený rozvoj centrální nervové soustavy a struktur oblasti hlavy. Neoklasická teorie k tomu zdůrazňuje potřebu zdokonalení dýchacího aparátu při vyšší metabolické náročnosti. Zvětšování povrchu žaber větším počtem respiračních lamel by vyžadovalo i silnější ventilační aparát, který by přes ně zvládl hnát vodu (Mallatt, 1996).

Bezčelistnatí si vyvinuli pumpovací vélum, silný aparát, který jim umožňoval vyvíjet expirační tlak nejen proti žaberním lamelám, ale i proti jemnému sedimentu, ve kterém žijí. Toto uspořádání však kruhoustým neumožňuje posílit inspiraci – vcucnutí vody do úst (Mallatt, 1996). Oproti tomu u předchůdců čelistnatých obratlovců žijících ve volné vodě se vyvinuly nové silné branchiální svaly, které posilovaly pohyby hltanu při expiraci i inspiraci, upnuté na vnitřní výztuhy žaberních oblouků, které tím musely také zmožutnět. Mandibulární oblouk by zprvu sloužil k vyztužení ústního otvoru, který kdyby byl kryt jen slabými chlopněmi, takto silný ventilační tlak neudržel. Předchůdcům čelistnatců se tak umožnil nový způsob lovu pohybující se potravy ve vodním sloupci, který by bez silného influxu vody do úst byl nemožný (Mallatt, 1996). Nemuseli se omezovat na kořist se vyskytující na dně, kterou by lapali přitlačením premandibulárními ústy k povrchu, jak tomu je u bezčelistnatých obratlovců (obr. 29). Přejchod od těchto „dýchacích“ čelistí ke „kousacím“ byl posledním krokem ke vzniku dnešních čelistnatců (Mallatt, 1996).



Obr. 29
Záznam sliznatky *Eptatretus burgeri* pohlcující „kořist“ (rybí maso). Z Kuratani and Ota 2008



Obr. 30
Schéma vzniku čelistí podle neoklasické teorie. Upraveno z Mallat, 2008.

Čelisti by se tedy vytvořily růstem mandibulárního oblouku anteriorně, a zmenšováním premandibulární ústní dutiny (obr. 30), jejíž pozůstatek by byl u žraloků zachován v podobě prostoru mezi rty a bukální membránou (Mallatt, 1996).

Trabekuly by podle tohoto modelu byly přítomné u společného předka čelistnatců a kruhoustých a měly by být stále přítomny u obou skupin. Jedním ze základních předpokladů této teorie je homologie mezi horními rty mihulí a žraloků, která je odvozená od napojení jejich svalů k trabekulární části lebky (Mallatt, 1996). Problematičnost „trabekul“ mihulí byla popsána výše. I kdyby trabekuly mezi

čelistnatci a kruhoústými nebyly stejnými strukturami, svaly horních rtů mihulí a žraloků se upínají i k nasálním kapsulím a lze je homologizovat i podle toho (Mallatt, 2008).

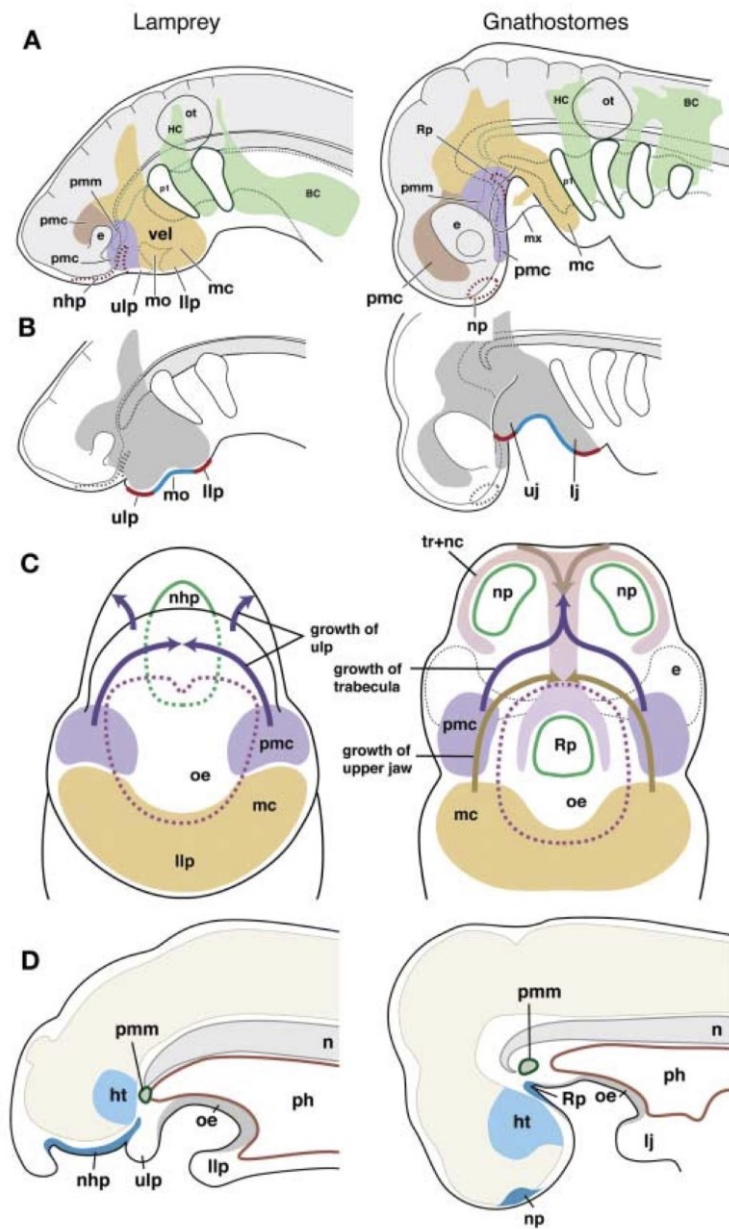
4.2 Teorie heterotopního zvratu

Teorie heterotopního zvratu (heterotopic shift theory) je založená na rozdílném vzorci exprese genů v mandibulární a premandibulární oblasti kuřete, jako modelu čelistnatých obratlovců, a mihule, jako zástupce bezčelistnatců. Raná migrace hlavových buněk neurální lišty, rozdělení mezodermu a dokonce i exprese některých regulačních genů jsou u obou skupin podobné (obr. 31A; Shigetani et al., 2002).

Pro teorii heterotopního zvratu je zásadní exprese genu *Dlx1*. Rodina genů *Dlx* vznikla podobně jako *Hox* geny homeotickou duplikací (Stock et al., 1996). Zatímco *Hox* geny se exprimují podél antero-posteriorní osy a v rámci žaberních oblouků hrají roli při jejich interobloukové specifikaci, *Dlx* geny určují jejich intra-obloukovou specifitu dorzoventrálně (Depew et al., 2002). U myši s nefunkčními *Dlx5* nebo *Dlx6*, které se exprimují ve ventrální části žaberních oblouků, dochází k přeměně spodní čelisti v horní (Depew et al., 2002).

Autoři heterotopní teorie se zaměřili na expresi růstových faktorů v epidermálních buňkách a genů jimi regulovaných v buňkách přilehlého mezenchymu v mandibulárním oblouku. V oblasti budoucích úst kuřete epidermální *cFgf8* ovlivňuje expresi mezodermálního *cDlx1*, v distálních částech spodní a horní čelisti zas růstový faktor *cBmp4* reguluje expresi *cMsx1* v mezenchymu (Shigetani et al., 2002). Izolovali jejich alternativy u mihule *Lampetra japonica* a zjistili, že jejich regulační vztah u mihulí funguje stejně a že se exprimují v oblasti budoucího horního a dolní rtu (obr. 31B; Shigetani et al., 2002). Role těchto genů při utváření orálního aparátu (ať už čelistí, nebo horního a dolního rtu) by tedy mohla evolučně stabilní. Co se mění je pole působení těchto růstových faktorů. U kuřete se *Dlx* geny exprimují jen v mandibulárním mezenchymu, u mihule je do jejich pole působení zahrnut i premandibulární mezenchym, tedy postoptický mezenchym trigeminálního proudu hlavové neurální lišty (Shigetani et al., 2002).

Hlavní událostí, která rozlišila čelistnatce od bezčelistnatců, byl posun pole působení stejného vývojového modulu na jiný morfologický modul, který je do té doby ve vývoji morfologicky homologický mezi oběma skupinami. Tento posun vyústil ve vznik struktur (horní čelisti a rtu), které nelze mezi sebou srovnat, mihule nemohou mít strukturu homologickou čelistím (Kuratani, 2009).



Obr. 31

Porovnání vývoje ústní oblasti mihulí (vlevo) a čelistnatců (vpravo).

(A) Rozdělení proudů hlavové neurální lišty: branchiální (BC) a hyoidní jsou značeny zeleně, trigeminální je barevně rozlišen na mandibulární část (mc) – žlutě, premandibulární (pmm) předoptickou – hnědě a postoptickou fialově.

(B) Expresse ektodermálních růstových faktorů *Fgf8* (modrá linie) a *Bmp4* (červená linie)

(C-D) Růst horního rtu mihulí ventrálně utváří nasohypofyzární dukt a anteriorně přerůstá nasohypofyzární destičku (nhp). U čelistnatců se hypofýza zakládá v podobě Rathkeho výchlípku (Rp), z orálního ektodermu (oe), odděleně od nasálních plakod (np), čímž je umožněn vznik čelistí a trabekul.

Další zkratky: e – oko, ht – hypotalamus, llp – spodní ret, mo – otevírání úst, mx – horní čelist, n – struna hřbetní, ot – sluchové pouzdro, ph – hltan, pmm – předmandibulární mezoderm, ulp – horní ret, vel – velum. Z Kuratani, 2004.

Rozšíření této teorie (Kuratani, 2004) o trabekulách říká, že jsou novotvarem čelistnatců. Shigeru Kuratani v několika svých pracích (Kuratani, 2004, 2004, 2005, 2012; Kuratani et al., 2013) věnoval prostor tomu, proč „trabekuly“ mihulí nejsou pravými trabekulami. Hlavní důvody pro to jsou:

1) Postoptický mezenchym trigeminálního proudy, který u čelistnatců dává vzniknout trabekulám vzniknout trabekulám je u mihulí pod vlivem exprese *Dlx* genů zahrnut do tvorby horního rtu (Kuratani, 2004).

2) „Trabekuly“ mihulí se zakládají laterálně k chordě (Johnels, 1948) na rozdíl od trabekul čelistnatců, které se zakládají před ní (de Beer, 1937).

3) Trabekuly čelistnatců jsou původem z neurální lišty (Couly et al., 1993), k formování „trabekul“ mihulí přispívá mandibulární mezoderm (Kuratani et al., 2004).

4) U mihulí se mezi společným ektodermální základem pro adenohypofýzu a čichovou plakodou (takzvanou nasohypofyzární destičkou) a ústním ektodermem nachází horní ret (obr. 26), který svým růstem zatlačuje nasohypofyzární destičku dorzálně a vytváří tak spodní stranu nasohypofyzární duktu. Aby došlo ke spojení adenohypofýzy a hypotalamu, musí základ adenohypofýzy růst posteriorně po úroveň optického chiasma (Uchida et al., 2003). Nasohypofyzární destička tak zabírá místo, ve kterém by se u čelistnatců vyskytovaly trabekuly (Kuratani, 2004).

5) Nepárová nozdra brání mediální migraci preoptických buněk NL, které dávají vzniku intertrabekuly u čelistnatců (Wada, 2005; Wada et al., 2011). Trabekula tedy mohla vzniknout až při vzniku diplorhinie (Kuratani et al., 2013).

Body 2 a 3 byly rozebrány v minulé kapitole. Spojení nozdry a hypofýzy v nasohypofyzární destičku se nedá použít za přímý důkaz nemožnosti vzniku trabekul, protože trabekuly jsou laterální struktury, mediální spojení není předpokladem jejich vzniku (Mallatt, 2008), čímž je zpochybněna i platnost důvodů 4 a 5 a zbývá jen první bod, který závisí od platnosti teorie heterotopního zvratu.

Přítomnost trabekul u mihulí zásadně rozděluje obě teorie vzniku čelistí. Zatímco teorie heterotopního zvratu mihulí trabekuly popírá, tak pro neoklasickou teorii je homologie trabekul mezi čelistnatci a kruhoústými důležitá.

Závěr

Trabekuly čelistnatců jsou do jisté míry stálou strukturou lebky. Zakládají se jako tyčinky laterálně k hypofýze, které anteriorně srůstají. U zebřičky a kuřete byl nalezen další element, intertrabekula, která vytváří jejich spojení na rostrálním konci. Za povšimnutí však stojí, že se jedná o trabekuly zástupců kostnatých ryb a ptáků, tedy zástupců skupin s tropibazickou lebkou. Než bude možný výskyt intertrabekuly zobecnit, bude třeba prozkoumat anteriorní srůst trabekul i u skupin z lebkou platybazickou (například samostatnost rostrálních chrupavek žraloků a suprarostrálních chrupavek pulců žab), aby se vyloučila možnost, že oddělené primordium intertrabekuly není nějakým důsledkem dlouhé plochy, která spojuje tropibazické trabekuly. Tento jev se ale nemusí vztahovat jen na intertrabekulu. Typická modelová zvířata, jako je zebřička, kuře a myš, mají tropibazickou lebku. Tropibazičnost se u nich s největší pravděpodobností objevila nezávisle a je tedy možné, že tato zvířata sdílejí některé mechanismy vývoje anteriorní části lebky (a možná i mozku), které nelze zobecnit na všechny čelistnaté obratlovce. Manipulace se signalizací *Otx2* například vedla k změnám uspořádání trabekul z tropibazické na jakoby platybazickou. Narušení signalizace Hedgehog, zase způsobí větší fúzi trabekul.

Embryonální původ trabekul je nejpřesněji určen u kuřete a axolotla, protože u nich byly provedeny experimenty s transplantací neurální lišty i mezodermu. Zajímavé je, že se u obou zvířat liší. U kuřete jsou tvořeny jen buňkami neurální lišty, ale u axolotla jsou jejich posteriorní části mezodermální. Možnost mezodermálního původu posteriorní části trabekul se ukázala i u jiných čelistnatců, hlavně u obojživelníků. Ektomezenchym, který tvoří trabekuly u všech studovaných obratlovců, je z (prvního) mandibulárního proudu neurální lišty. U kuřky a bahníka navíc k formování trabekulární destičky možná přispívá druhý proud – hyoidní.

Homologie trabekul kruhoústých a čelistnatců se mění podle hypotézy, kterou na vznik lebky pohlížíme. V de Beerově teorii, kde jsou trabekuly premandibulární žaberní oblouk, a v teorii heterotopního zvratu bezčelistnatí obratlovci trabekuly mít nemohou. Zajímavé je, že jak nová na genové expresi založená hypotéza tak i skoro sto let stará hypotéza založená na přítomnosti premandibulárního segmentu, vidí homologii trabekuly čelistnatců ve vertikální chrupavce horního rtu mihulí (obr. 27 a obr. 4). Neoklasická teorie je konzervativní, zachovává u žraloků většinu struktur mihulí. Představuje představu vzniku čelistnatců, kteří se stali úspěšnými vodními predátory díky schopnosti sát. Podle ní jsou trabekuly výztuhou mozku, která byla přítomna u společného předka obratlovců a tedy i mihulí.

Poznatky o vývoji sliznatek přinesly nový pohled na skupinu Cyclostomata. Diskuse, jestli společný předek obratlovců měl trabekuly, už není omezená jen na zvláštní uspořádání lebky mihulí, ale je obohacena o ještě zvláštnější lebku sliznatky, u které nejspíš trabekuly

v pravém slova smyslu jsou přítomny. Z poznatků o vývoji sliznatek vyplývá, že nejspíš chrupavka anteriorně k „trabekule“ mihule, je homologií trabekuly čelistnatců.

Podstata *trabeculae cranii* se během této krátké práce změnila ze somatické chrupavky přes žaberní oblouk k úplnému novotvaru. Trabekula byla významná jen pro evoluční teorie popsané v první kapitole. V teoriích popsaných v kapitole poslední trabekula představuje problém, se kterým se různě vypořádávají, v těchto případech spíše nežli „Trabekula a její význam pro evoluci.“, tak zdá se nastává situace „Evoluční teorie a jejich význam pro trabekulu.“

Literatura

- Adachi, N., and Kuratani, S. (2012). Development of head and trunk mesoderm in the dogfish, *Scyliorhinus torazame*: I. Embryology and morphology of the head cavities and related structures: Development of head cavities. *Evol. Dev.* 14, 234–256.
- Allis, E.P. (1923). Are the Polar and Trabecular Cartilages of Vertebrate Embryos the Pharyngeal Elements of the Mandibular and Premandibular Arches? *J. Anat.* 58, 37–51.
- Ang, S.L., Conlon, R.A., Jin, O., and Rossant, J. (1994). Positive and negative signals from mesoderm regulate the expression of mouse *Otx2* in ectoderm explants. *Development* 120, 2979.
- Balfour, F.M. (1878). A monograph on the development of elasmobranch fishes. Macmillan and Co., London.
- de Beer, G.R. (1926). Studies on the Vertebrate Head. II. The Orbito-temporal Region of the Skull. *Q. J. Microsc. Sci.* s2-70, 263-370
- de Beer, G.R. (1927). The Early Development of the Chondrocranium of *Salmo fario*. *Q. J. Microsc. Sci.* s2-71, 259.
- de Beer, G.R. (1931a). On the Nature of the Trabecula Cranii. *Q. J. Microsc. Sci.* s2-74, 701.
- de Beer, G.R. (1931b). The Development of the Skull of *Scyllium* (*Scyliorhinus*) *canicula* L. *Q. J. Microsc. Sci.* s2-74, 591.
- de Beer, G.R. (1937). The development of the vertebrate skull (New York: Oxford University Press).
- Bellairs, A. d'A. (1949). The Anterior Brain-case and Interorbital Septum of Sauropsida, with a consideration of the Origin of Snakes. *J. Linn. Soc. Lond. Zool.* 41, 482–512.
- Bellairs, A.D. (1958). The Early Development of the Interorbital Septum and the Fate of the Anterior Orbital Cartilages in Birds. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 6, 68.
- Brand, M., Heisenberg, C.P., Warga, R.M., Pelegri, F., Karlstrom, R.O., Beuchle, D., Picker, A., Jiang, Y.J., Furutani-Seiki, M., van Eeden, F.J., et al. (1996). Mutations affecting development of the midline and general body shape during zebrafish embryogenesis. *Dev. Camb. Engl.* 123, 129–142.
- Cerny, R., Lwigale, P., Ericsson, R., Meulemans, D., Epperlein, H.-H., and Bronner-Fraser, M. (2004). Developmental origins and evolution of jaws: new interpretation of “maxillary” and “mandibular.” *Dev. Biol.* 276, 225–236.
- Cerny, R., Horáček, I., and Olsson, L. (2006). The Trabecula cranii: development and homology of an enigmatic vertebrate head structure. *Anim. Biol.* 56, 503–518.
- Couly, G.F., Coltey, P.M., and Le Douarin, N.M. (1993). The triple origin of skull in higher vertebrates: a study in quail-chick chimeras. *Development.* 117, 409–429.
- Damas (1944). Recherches sur le développement de *Lampetra fluviatilis* L. Contribution à l'étude de la céphalogenèse des Vertébrés. *Arch Biol Paris* 55, 1–289.
- Davidian, A., and Malashichev, Y. (2013). Dual embryonic origin of the hyobranchial apparatus in the Mexican axolotl (*Ambystoma mexicanum*). *Int. J. Dev. Biol.* 57, 821–828.
- Delarbre, C., Gallut, C., Barriol, V., Janvier, P., and Gachelin, G. (2002). Complete Mitochondrial DNA of the Hagfish, *Eptatretus burgeri*: The Comparative Analysis of Mitochondrial DNA Sequences Strongly Supports the Cyclostome Monophyly. *Mol. Phylogenet. Evol.* 22, 184–192.
- Depew, M.J., Lufkin, T., and Rubenstein, J.L.R. (2002). Specification of jaw subdivisions by *Dlx* genes. *Science* 298, 381–385.
- Eberhart, J.K. (2006). Early Hedgehog signaling from neural to oral epithelium organizes anterior craniofacial development. *Dev.* 133, 1069–1077.
- Epperlein, H., Meulemans, D., Bronner-Fraser, M., Steinbeisser, H., and Selleck, M.A. (2000). Analysis of cranial neural crest migratory pathways in axolotl using cell markers and transplantation. *Dev.* 127, 2751–2761.
- Ericsson, R., Joss, J., and Olsson, L. (2008). The fate of cranial neural crest cells in the Australian lungfish, *Neoceratodus forsteri*. *J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol.* 310B, 345–354.

- Gans, C., and Northcutt, R.G. (1983). Neural crest and the origin of vertebrates: a new head. *Science* 220, 268–273.
- Goodrich, E.S. (1918). On the Development of the Segments of the Head in Scyllium. *Q. J. Microsc. Sci.* s2-63, 1.
- Hall, B.K. (2009). *The Neural Crest and Neural Crest Cells in Vertebrate Development and Evolution* (Boston, MA: Springer US).
- Holmgren, N. (1943). Studies on the head of fishes. *Acta Zool.* 24, 1–188.
- Holmgren, N. (1946). On two embryos of *Myxine glutinosa*. *Acta Zool* 27:1–90.
- Horigome, N., Myojin, M., Ueki, T., Hirano, S., Aizawa, S., and Kuratani, S. (1999). Development of Cephalic Neural Crest Cells in Embryos of *Lampetra japonica*, with Special Reference to the Evolution of the Jaw. *Dev. Biol.* 207, 287–308.
- Hunt, P., Whiting, J., Muchamore, I., Marshall, H., and Krumlauf, R. (1991). Homeobox genes and models for patterning the hindbrain and branchial arches. *Development* 113, 187.
- Jeong, J. (2004). Hedgehog signaling in the neural crest cells regulates the patterning and growth of facial primordia. *Genes Dev.* 18, 937–951.
- Johnels, A.G. (1948). On the development and morphology of the skeleton of the head of *Petromyzon*. *Acta Zool. (Stockh.)* 29: 139-279.
- Kague, E., Gallagher, M., Burke, S., Parsons, M., Franz-Odenaal, T., and Fisher, S. (2012). Skeletogenic Fate of Zebrafish Cranial and Trunk Neural Crest. *PLoS ONE* 7, e47394.
- Kemp, A. (1999). Ontogeny of the skull of the Australian lungfish *Neoceratodus forsteri* (Osteichthyes: Dipnoi). *J. Zool.* 248, 97–137.
- Kundrát, M., Joss, J.M.P., and Smith, M.M. (2008). Fate mapping in embryos of *Neoceratodus forsteri* reveals cranial neural crest participation in tooth development is conserved from lungfish to tetrapods. *Evol. Dev.* 10, 531–536.
- Kuraku, S., Hoshiyama, D., Katoh, K., Suga, H., and Miyata, T. (1999). Monophyly of lampreys and hagfishes supported by nuclear DNA-coded genes. *J. Mol. Evol.* 49, 729–735.
- Kuratani, S. (2004). Evolution of the vertebrate jaw: comparative embryology and molecular developmental biology reveal the factors behind evolutionary novelty. *J. Anat.* 205, 335–347.
- Kuratani, S. (2005). Developmental studies of the lamprey and hierarchical evolutionary steps towards the acquisition of the jaw: Evolution and development of the jaw, S. Kuratani. *J. Anat.* 207, 489–499.
- Kuratani, S. (2009). Modularity, comparative embryology and evo-devo: Developmental dissection of evolving body plans. *Dev. Biol.* 332, 61–69.
- Kuratani, S. (2012). Evolution of the vertebrate jaw from developmental perspectives: Evolution of the vertebrate jaw. *Evol. Dev.* 14, 76–92.
- Kuratani, S., and Adachi, N. (2016). What are Head Cavities? — A History of Studies on Vertebrate Head Segmentation. *Zoolog. Sci.* 33, 213–228.
- Kuratani, S., and Ota, K.G. (2008). Hagfish (cyclostomata, vertebrata): searching for the ancestral developmental plan of vertebrates. *BioEssays News Rev. Mol. Cell. Dev. Biol.* 30, 167–172.
- Kuratani, S., Matsuo, I., and Aizawa, S. (1997). Developmental patterning and evolution of the mammalian viscerocranium: genetic insights into comparative morphology. *Dev. Dyn. Off. Publ. Am. Assoc. Anat.* 209, 139–155.
- Kuratani, S., Murakami, Y., Nobusada, Y., Kusakabe, R., and Hirano, S. (2004). Developmental fate of the mandibular mesoderm in the lamprey, *Lethenteron japonicum*: Comparative morphology and development of the gnathostome jaw with special reference to the nature of the trabecula cranii. *J. Exp. Zool.* 302B, 458–468.
- Kuratani, S., Adachi, N., Wada, N., Oisi, Y., and Sugahara, F. (2013). Developmental and evolutionary significance of the mandibular arch and prechordal/premandibular cranium in vertebrates: revising the heterotopy scenario of gnathostome jaw evolution: Evolution of the vertebrate premandibular region. *J. Anat.* 222, 41–55.
- Kurth, T., Berger, J., Wilsch-Bräuninger, M., Kretschmar, S., Cerny, R., Schwarz, H., Löfberg, J., Piendl, T., and Epperlein, H.H. (2010). Electron Microscopy of the Amphibian Model Systems *Xenopus laevis* and *Ambystoma mexicanum*. In *Methods in Cell Biology*, (Elsevier), pp. 395–423.

- Lakiza, O., Miller, S., Bunce, A., Lee, E.M.-J., and McCauley, D.W. (2011). SoxE gene duplication and development of the lamprey branchial skeleton: Insights into development and evolution of the neural crest. *Dev. Biol.* 359, 149–161.
- Langille, R.M., and Hall, B.K. (1988a). Role of the neural crest in development of the cartilaginous cranial and visceral skeleton of the medaka, *Oryzias latipes* (Teleostei). *Anat. Embryol. (Berl.)* 177, 297–305.
- Langille, R.M., and Hall, B.K. (1988b). Role of the neural crest in development of the trabeculae and branchial arches in embryonic sea lamprey, *Petromyzon marinus* (L). *Development* 102, 301.
- Le Lievre, C. (1974). Rôle des cellules méséctodermiques issues des crêtes neurales céphaliques dans la formation des arcs branchiaux et du squelette viscéral. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 31, 453.
- Mallatt, J. (1996). Ventilation and the origin of jawed vertebrates: a new mouth. *Zool. J. Linn. Soc.* 117, 329–404.
- Mallatt, J. (2008). The Origin of the Vertebrate Jaw: Neoclassical Ideas Versus Newer, Development-Based Ideas. *Zoolog. Sci.* 25, 990–998.
- Mallatt, J., and Sullivan, J. (1998). 28S and 18S rDNA sequences support the monophyly of lampreys and hagfishes. *Mol. Biol. Evol.* 15, 1706–1718.
- Martin, W.M., Bumm, L.A., and McCauley, D.W. (2009). Development of the viscerocranial skeleton during embryogenesis of the sea lamprey, *Petromyzon Marinus*. *Dev. Dyn.* 238, 3126–3138.
- Matsuo, I., Kuratani, S., Kimura, C., Takeda, N., and Aizawa, S. (1995). Mouse Otx2 functions in the formation and patterning of rostral head. *Genes Dev.* 9, 2646–2658.
- McBurney, K.M., and Wright, G.M. (1996). Chondrogenesis of a non-collagen-based cartilage in the sea lamprey, *Petromyzon marinus*. *Can. J. Zool.* 74, 2118–2130.
- McCauley, D.W., and Bronner-Fraser, M. (2006). Importance of SoxE in neural crest development and the evolution of the pharynx. *Nature* 441, 750–752.
- Miyake, T., McEACHRAN, J.D., Walton, P.J., and Hall, B.K. (1992). Development and morphology of rostral cartilages in batoid fishes (Chondrichthyes: Batoidea), with comments on homology within vertebrates. *Biol. J. Linn. Soc.* 46, 259–298.
- Morrison, S.L., Campbell, C.K., and Wright, G.M. (2000). Chondrogenesis of the branchial skeleton in embryonic sea lamprey, *Petromyzon marinus*. *Anat. Rec.* 260, 252–267.
- Moy-Thomas, J.A. (1934). Memoirs: Notes on the Development of the Chondrocranium of *Polypterus Senegalus*. *Q. J. Microsc. Sci.* s2-76, 209.
- Newth, D.R. (1956). On the Neural Crest of the Lamprey Embryo. *J. Embryol. Exp. Morphol.* 4, 358.
- Noden, D.M. (1975). An analysis of the migratory behavior of avian cephalic neural crest cells. *Dev. Biol.* 42, 106–130.
- Oisi, Y., Ota, K.G., Kuraku, S., Fujimoto, S., and Kuratani, S. (2012). Craniofacial development of hagfishes and the evolution of vertebrates. *Nature* 493, 175–180.
- Oisi, Y., Ota, K.G., Fujimoto, S., and Kuratani, S. (2013). Development of the Chondrocranium in Hagfishes, with Special Reference to the Early Evolution of Vertebrates. *Zoolog. Sci.* 30, 944–961.
- Olsson, L., Falck, P., Lopez, K., Cobb, J., and Hanken, J. (2001). Cranial Neural Crest Cells Contribute to Connective Tissue in Cranial Muscles in the Anuran Amphibian, *Bombina orientalis*. *Dev. Biol.* 237, 354–367.
- Ota, K.G., Kuraku, S., and Kuratani, S. (2007). Hagfish embryology with reference to the evolution of the neural crest. *Nature* 446, 672–675.
- Ota, K.G., Fujimoto, S., Oisi, Y., and Kuratani, S. (2011). Identification of vertebra-like elements and their possible differentiation from sclerotomes in the hagfish. *Nat. Commun.* 2, 373.
- Platt, J.B. (1893). Ectodermic origin of the cartilages of the head. *Anat. Anz.* 8, 506–509.
- Potter, I.C. (1980). The *Petromyzoniformes* with Particular Reference to Paired Species. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 37, 1595–1615.

- Reiss, J.O. (1997). Early development of chondrocranium in the tailed frog *Ascaphus truei* (Amphibia: Anura): implications for anuran palatoquadrate homologies. *J. Morphol.* *231*, 63–100.
- Rijli, F.M., Mark, M., Lakkaraju, S., Dierich, A., Dollé, P., and Chambon, P. (1993). A homeotic transformation is generated in the rostral branchial region of the head by disruption of *Hoxa-2*, which acts as a selector gene. *Cell* *75*, 1333–1349.
- Sadaghiani, B., and Thiébaud, C.H. (1987). Neural crest development in the *Xenopus laevis* embryo, studied by interspecific transplantation and scanning electron microscopy. *Dev. Biol.* *124*, 91–110.
- Sefton, E.M., Piekarski, N., and Hanken, J. (2015). Dual embryonic origin and patterning of the pharyngeal skeleton in the axolotl (*Ambystoma mexicanum*): Axolotl pharyngeal skeleton development. *Evol. Dev.* *17*, 175–184.
- Shigetani, Y., Sugahara, F., Kawakami, Y., Murakami, Y., Hirano, S., and Kuratani, S. (2002). Heterotopic shift of epithelial-mesenchymal interactions in vertebrate jaw evolution. *Science* *296*, 1316–1319.
- Sokol, O.M. (1981). The larval chondrocranium of *Pelodytes punctatus*, with a review of tadpole chondrocrania. *J. Morphol.* *169*, 161–183.
- Stock, D.W., Ellies, D.L., Zhao, Z., Ekker, M., Ruddle, F.H., and Weiss, K.M. (1996). The evolution of the vertebrate *Dlx* gene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *93*, 10858–10863.
- Stone, L.S. (1926). Further experiments on the extirpation and transplantation of mesectoderm in *Amblystoma punctatum*. *J. Exp. Zool.* *44*, 95–131.
- Stone, L.S. (1929). Experiments showing the role of migrating neural crest (mesectoderm) in the formation of head skeleton and loose connective tissue in *Rana palustris*. *Wilhelm Roux Arch. Für Entwicklungsmechanik Org.* *118*, 40–77.
- Suemori, H., Takahashi, N., and Noguchi, S. (1995). *Hoxc-9* mutant mice show anterior transformation of the vertebrae and malformation of the sternum and ribs. *Mech. Dev.* *51*, 265–273.
- Takezaki, N., Figueroa, F., Zaleska-Rutczynska, Z., and Klein, J. (2003). Molecular phylogeny of early vertebrates: monophyly of the agnathans as revealed by sequences of 35 genes. *Mol. Biol. Evol.* *20*, 287–292.
- Thiébaud, C.H. (1983). A reliable new cell marker in *Xenopus*. *Dev. Biol.* *98*, 245–249.
- Trueb, L., and Hanken, J. (1992). Skeletal development in *Xenopus laevis* (Anura: Pipidae). *J. Morphol.* *214*, 1–41.
- Uchida, K., Murakami, Y., Kuraku, S., Hirano, S., and Kuratani, S. (2003). Development of the adenohypophysis in the lamprey: evolution of epigenetic patterning programs in organogenesis. *J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol.* *300*, 32–47.
- Wada, N. (2005). Hedgehog signaling is required for cranial neural crest morphogenesis and chondrogenesis at the midline in the zebrafish skull. *Development* *132*, 3977–3988.
- Wada, N., Nohno, T., and Kuratani, S. (2011). Dual origins of the prechordal cranium in the chicken embryo. *Dev. Biol.* *356*, 529–540.
- Yalden, D.W. (1985). Feeding mechanisms as evidence for cyclostome monophyly. *Zool. J. Linn. Soc.* *84*, 291–300.
- Yao, T., Ohtani, K., Kuratani, S., and Wada, H. (2011). Development of lamprey mucocartilage and its dorsal-ventral patterning by endothelin signaling, with insight into vertebrate jaw evolution. *J. Exp. Zool. B Mol. Dev. Evol.* *316B*, 339–346.

Sekundární citace:

- Piavis, G.W. (1971). Embryology. In *The Biology of Lampreys*. Vol. 1, I.C. Potter, and M.W. Hardisty, eds. (London: Academic Press), pp. 361–399.
- Hörstadius, S., and Sellman, S. (1946). Experimentelle untersuchungen über die Determination des Knorpeligen Kopfskelettes bei Urodelen. (*Nova Acta R Soc Scient. Upsal Ser 4*).