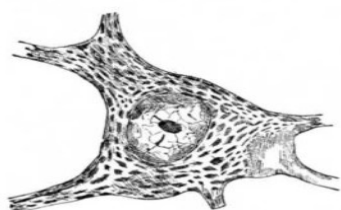


Smyslová a evoluční neurobiologie obratlovců

Smyslová a evoluční neurobiologie obratlovců

Pavel Němec
pgnemec@natur.cuni.cz

Katedra zoologie
Univerzita Karlova v Praze
Přírodovědecká fakulta
Viničná 7, 128 43 Praha 2
www.natur.cuni.cz





PŘÍRODOVĚDECKÁ
FAKULTA
Univerzita Karlova

Smyslová a evoluční neurobiologie obratlovců

habilitační práce

Mgr. Pavel Němec, Ph.D.

2022

Why do we *need* a brain?

One's first thought, of course, is that we need it for the magical activities and feelings it confers: art, music, love . . . consciousness. But although these features arouse intense curiosity — as Pavlov emphasized — we shall see that they are merely baroque decorations on the brain's fundamental purpose and should not be mistaken for the purpose itself. What we identify here as the brain's purpose, especially because we are seeking principles, should apply not only to humans but as well to the nematode worm, *C. elegans*, and to flies...

The brain's purposes reduce to regulating the internal milieu and helping the organism to survive and reproduce. All complex behavior and mental experience — work and play, music and art, politics and prayer — are but strategies to accomplish these functions.

Peter Sterling and Simon Laughlin, 2015

Nothing in biology makes sense except in the light of evolution.

Theodosius Dobzhansky, 1973



Všichni stojíme na ramenou obrů. Santiago Ramón y Cajal, autoportrét pořízený v jeho laboratoři ve Valencii, když mu bylo něco přes třicet let, 1885. Credit: Cajal Institute (CSIC), Madrid.

Obsah

Poděkování	4
Seznam publikací zařazených do habilitační práce.....	5
Úvod a komentář k článkům zařazeným do habilitační práce.....	8
Evoluce velikosti, complexity a procesní kapacity mozku.....	9
Mechanismy magnetické orientace a navigace.....	15
Neurobiologie podzemního vidění.....	21
Citovaná literatura.....	26
Přílohy.....	43

Poděkování

Odevzdání habilitační práce je příležitostí k poděkování všem, kteří mi na dlouhé cestě za touto metou pomohli. V první řadě bych chtěl poděkovat svým školitelům, kterými v různých údobích byli doc. Leo Sigmund, prof. Ivan Horáček a prof. Hynek Burda. Každý z nich mi otevřel dveře k jinému typu výzkumných otázek. Tito pánové se však nepodíleli jen na mém vědeckém zrání, ale ovlivnili mě v mnohém i lidsky. To, co jsem se od nich naučil, se nyní snažím předávat svým studentům. Dále chci poděkovat prof. Rastislavu Drugovi, který byl mým konzultantem, zdrojem cenných rad a literatury v dobách, kdy přístup k ní ještě nebyl samozřejmostí. Velký dík patří prof. Janu Zimovi, který mezi námi již bohužel není. V pozdních devadesátých letech přišel na katedru zoologie PŘF UK s grantem MŠMT na posílení výzkumu na vysokých školách, čímž vytvořil několik nových pracovních míst, a umožnil tak mé setrvání na fakultě.

Neméně jsem vděčný svým studentům, v přibližně chronologickém sledu především následujícím: Haně Skálové, Marcelu Lucové, Pavle Cvekové, Tomášovi Burgerovi, Adamovi Bajgarovi, Ondřejovi Černému, Tereze Bělíkové, Zuzaně Pavelkové, Zuzaně Vondráčkové, Veronice Bláhové, Martinovi Kocourkovi, Sewerynu Olkowiczovi, Lucii Štefanské, Kristině Kverkové, Barboře Strakové, Yichengu Zhangovi, Lucii Marhounové, Francescovi Dionigimu, Rahulovi Avarothovi Bhaskaranovi, Patrikovi Stehlíkovi a Alexandře Polonyiové. Bez nich by bylo shromáždění výsledků, které jsou podkladem publikací zařazených do této habilitační práce, zcela nemožné. Objem laboratorní práce, kterou odvedli, je úctyhodný. Ale nejen to, díky nim je výzkumná činnost zábavou a laboratoř místem setkávání s inspirativními mladými lidmi. Mnozí z nich si osvojili dovednosti a schopnosti, kterými nedisponuji. Řada použitých metodických postupů byla možná jen díky jejich entuziasmu a inovativnímu přístupu. Mnohé vnímám jako zcela rovnocenné kolegy, se kterými je radost spolupracovat. Doufám, že také oni mě tak vnímají a budou i v letech příštích.

Děkuji zahraničním i tuzemským spolupracovníkům a spoluautorům zařazených publikací. Bez široké spolupráce, sdílení know-how, zvířat a materiálu by většina publikací nemohla vzniknout. Velmi oceňuji také sdílnou, přátelskou a inspirativní atmosféru na pracovišti. S mnohými kolegy je prostě radost se zastavit a nezávazně poklábosit o zásadních i zcela marginálních otázkách vědy a života vůbec.

Dík patří také grantovým agenturám, které podpořily náš výzkum, jmenovitě to byly Grantová agentura České republiky, Grantová agentura Univerzity Karlovy, Fond rozvoje vysokých škol, Deutsche Forschungsgemeinschaft a Swedish Research Council.

Nakonec bych rád poděkoval svým blízkým. Mým rodičům, kteří mě vždy a ve všem podporovali. Mým dětem, které mi dělají jen samou radost. Mé ženě, která je učiněným andělem a celé roky se o mě láskyplně stará, pročež se jednou dostane rovnýma nohama přímo do nebe (a to říkám s plnou vážností zarputilého ateisty).

Seznam publikací zařazených do habilitační práce

- I. Zoltán Molnár, Jon H. Kaas, Juan A. de Carlos, Robert F. Hevner, Ed Lein & Pavel Němec (2014) Evolution and Development of the Mammalian Cerebral Cortex. *Brain Behaviour and Evolution* 83(2):126–139
- II. Rafael Yuste, Michael Hawrylycz, Nadia Aalling et al. (2020) A community-based transcriptomics classification and nomenclature of neocortical cell types. *Nature Neuroscience* 23:1456–1468.
- III. Pavel Němec & Pavel Osten (2020) The evolution of brain structure captured in stereotyped cell count and cell type distributions. *Current Opinion in Neurobiology* 60:176–183.
- IV. Seweryn Olkowicz, Martin Kocourek, Radek K. Lučan, Michal Porteš, W. Tecumseh Fitch, Suzana Herculano-Houzel & Pavel Němec (2016) Birds have primate-like numbers of neurons in the forebrain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 113: 7255–7260.
- V. Kristina Kverková, Lucie Marhounová, Alexandra Polonyiová, Martin Kocourek, Yicheng Zhang, Seweryn Olkowicz, Barbora Straková, Zuzana Pavelková, Roman Vodička, Daniel Frynta & Pavel Němec (2022) The evolution of brain neuron numbers in amniotes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 119 (11), e2121624119.
- VI. Daniel Sol, Seweryn Olkowicz, Ferran Sayol, Martin Kocourek, Yicheng Zhang, Lucie Marhounová, Christin Osadnik, Eva Corssmit, Joan Garcia-Porta, Thomas E. Martin, Louis Lefebvre & Pavel Němec (2022) Neuron numbers link innovativeness with both absolute and relative brain size in birds. *Nature Ecology & Evolution* 6, 1381– 1389.
- VII. Kristina Kverková, Alexandra Polonyiová, Lukáš Kubička & Pavel Němec (2020) Individual and age-related variation of cellular brain composition in a squamate reptile. *Biology Letters* 16: 20200280.
- VIII. Lucie Marhounová, Alexander Kotrschal, Kristina Kverková, Niclas Kolm, & Pavel Němec (2019) Artificial selection on brain size leads to matching changes in overall number of neurons. *Evolution* 73(9): 2003–2012.
- IX. Kristina Kverková, Tereza Bělíková, Seweryn Olkowicz, Zuzana Pavelková, M. Justin O'Riain, Radim Šumbera, Hynek Burda, Nigel C. Bennett & Pavel Němec (2018) Sociality does not drive the evolution of large brains in eusocial African mole-rats. *Scientific Reports* 8: 9203.
- X. Jan Matějů, Lukáš Kratochvíl, Zuzana Pavelková, Věra Pavelková-Říčánková, Vladimír Vohralík & Pavel Němec (2016) Absolute, not relative brain size correlates with sociality in ground squirrels. *Proceedings of the Royal Society B* 283: 20152725.
- XI. Pavel Němec, Hynek Burda & Helmut H. A. Oelschläger (2005) Towards the neural basis of magnetoreception: a neuroanatomical approach. *Naturwissenschaften* 92(4): 151–157.
- XII. Pavel Němec, Jens Altmann, Stephan Marhold, Hynek Burda & Helmut H. A. Oelschläger (2001) Neuroanatomy of Magnetoreception: The Superior Colliculus Involved in Magnetic Orientation in a Mammal. *Science* 294 (5541): 366–368.
- XIII. Tomáš Burger, Marcela Lucová, Regina E. Moritz, Helmut H. A. Oelschläger, Rastislav Druga, Hynek Burda, Wolfgang Wiltschko, Roswitha Wiltschko & Pavel Němec (2010)

Changing and shielded magnetic fields suppress c-Fos expression in the navigation circuit: input from the magnetosensory system contributes to the internal representation of space in a subterranean rodent. *Journal of the Royal Society Interface* 7: 1275–1292.

- XIV. Kai R. Caspar, Katrin Moldenhauer, Regina E. Moritz, Pavel Němec, E. Pascal Malkemper & Sabine Begall (2020) Eyes are essential for magnetoreception in a mammal. *Journal of the Royal Society Interface* 17: 20200513.
- XV. Paulo E. Jorge, John B. Phillips, Ana Gonçalves, Paulo A.M. Marques & Pavel Němec (2014) Odours stimulate neuronal activity in the dorsolateral area of the hippocampal formation during path integration. *Proceedings of the Royal Society B* 281 (1783): 20140025.
- XVI. Regina E. Moritz, Hynek Burda, Sabine Begall & Pavel Němec (2007) Magnetic compass: A useful tool underground. In: Begall S., Burda H., Schleich C. (eds) *Subterranean rodents - News from underground*. Springer, Heidelberg, pp. 161–174.
- XVII. Ludmila Oliveriusová, Pavel Němec, Zuzana Králová & František Sedláček (2012) Magnetic compass orientation in two strictly subterranean rodents: Learned or species-specific innate directional preference? *Journal of Experimental Biology* 215: 3649–3654.
- XVIII. Ludmila Oliveriusová, Pavel Němec, Zuzana Pavelková & František Sedláček (2014) Spontaneous expression of magnetic compass orientation in an epigeic rodent: the bank vole, *Clethrionomys glareolus*. *Naturwissenschaften* 101(7): 557–563.
- XIX. Sabine Begall, E. Pascal Malkemper, Jaroslav Červený, Pavel Němec & Hynek Burda (2013) Magnetic alignment in mammals and other animals. *Mammalian Biology* 78 (1):10–20.
- XX. Hynek Burda, Sabine Begall, Jaroslav Červený, Julia Neef & Pavel Němec (2009) Extremely low-frequency electromagnetic fields disrupt magnetic alignment of ruminants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 106 (14): 5708–5713.
- XXI. Sabine Begall, Hynek Burda, Jaroslav Červený, Olga Gerter, Julia Neef-Weisse & Pavel Němec (2011) Further support for the alignment of cattle along magnetic field lines. *Journal of Comparative Physiology A* 197: 1127–1133 (2011).
- XXII. Vlastimil Hart, Tomáš Kušta, Pavel Němec, Veronika Bláhová, Miloš Ježek, Petra Nováková, Sabine Begall, Jaroslav Červený, Vladimír Hanzal, Erich Pascal Malkemper, Kamil Štípek, Christiane Vole & Hynek Burda (2012) Magnetic alignment in carps: Evidence from the Czech Christmas fish market. *PLoS ONE* 7(12): e51100.
- XXIII. Pavel Němec, Pavla Cveková, Hynek Burda, Oldřich Benada & Leo Peichl (2007) Visual Systems and the role of vision in subterranean rodents: Diversity of retinal properties and visual system designs. In: Begall S., Burda H., Schleich C. (eds) *Subterranean rodents - News from underground*. Springer, Heidelberg, pp. 129–160.
- XXIV. Pavel Němec, Pavla Cveková, Oldřich Benada, Ewa Wielkopolska, Seweryn Olkowicz, Kris Turlejski, Hynek Burda, Nigel C. Bennett & Leo Peichl (2008) The visual system in subterranean African mole-rats (Rodentia, Bathyergidae): Retina, subcortical visual nuclei and primary visual cortex. *Brain Research Bulletin* 75: 356–364.

- XXV. Leo Peichl, Pavel Němec & Hynek Burda (2004) Unusual cone and rod properties in subterranean African mole-rats (Rodentia, Bathyergidae). *European Journal of Neuroscience* 19(6): 1545–58.
- XXVI. Pavel Němec, Hynek Burda & Leo Peichl (2004) Subcortical visual system of the African mole-rat *Cryptomys anselli*: to see or not to see? *European Journal of Neuroscience* 20(3): 757–68.
- XXVII. Tomas Vega-Zuniga, Felipe S. Medina, Gonzalo Marin, Juan C. Letelier, Adrian G. Palacios, Pavel Němec P., Cristian E. Schleich & Jorge Mpodozis (2017) Selective binocular vision loss in two subterranean caviomorph rodents: *Spalacopus cyanus* and *Ctenomys talarum*. *Scientific Reports* 7: 41704.
- XXVIII. Ondřej Kott, Radim Šumbera, Pavel Němec (2010) Light Perception in Two Strictly Subterranean Rodents: Life in the Dark or Blue? *PLoS ONE* 5(7): e11810.
- XXIX. Ondřej Kott, Pavel Němec, Aneta Fremlová, Vladimír Mazoch & Radim Šumbera (2016) Behavioural tests reveal severe visual deficits in the strictly subterranean African mole-rats (Bathyergidae) but efficient vision in the fossorial rodent *coruro* (*Spalacopus cyanus*, Octodontidae). *Ethology* 122 (8): 682–694.
- XXX. Ondřej Kott., Regina E. Moritz, Radim Šumbera, Hynek Burda & Pavel Němec (2014) Light propagation in burrows of subterranean rodents: tunnel system architecture but not photoreceptor sensitivity limits light sensation range. *Journal of Zoology* 294: 68–76.

Úvod a komentář k článkům zařazeným do habilitační práce / Introduction and Commentary to the Papers Included to the Habilitation Thesis

Předložená habilitační práce sestává ze 30 prací, které jsou založeny na různých modelech (hlodavci, kopytníci, pěvci, papoušci, holubi, kapři, živorodky), různých metodologických přístupech (histologické a imunocytochemické metody, značení nervových drah, mapování neuronální aktivace pomocí exprese indukovatelných transkripčních faktorů, počítání neuronů a gliových buněk pomocí izotropní frakcionace, behaviorální experimenty a fylogenetické analýzy) a zabývají se třemi zdánlivě velmi odlišnými tématy (evolucí velikosti, komplexity a procesní kapacity mozku u savců, ptáků, plazů a ryb; mechanismy magnetické orientace a navigace, neurobiologií vidění striktně podzemních hlodavců). Společným leitmotivem všech těchto prací je evoluce smyslů a nervového systému. Jednotlivé práce tedy představují výpady do různých oblastí srovnávací a evoluční neurobiologie. Jejich cílem není jen popsat diverzitu možných evolučních řešení téhož problému, ale také pochopit tato disparátní řešení na úrovni proximálních mechanismů, dynamiky a plasticity evolučních změn, selekčních tlaků a evolučních a vývojových omezení.

Vždy se snažím na konkrétním modelu a tématu vyjádřit k obecnějším problémům. Pokud se například ve třetí části habilitační práce zabývám zrakovým systémem striktně podzemních hlodavců, nekladu si jen otázku, co vlastně tyto „slepi“ tvorové vidí. Zajímá mě mnohem širší okruh otázek: Je mikroftalmie výsledkem degenerativního procesu, v jehož pozadí jsou mechanismy neselektivního charakteru? Nebo je mikroftalmie extrémní smyslovou adaptací a evoluční regrese zrakového systému je výsledkem působení antagonistických selekčních tlaků (metabolická úspora dosažená regresí systému vs. specifické požadavky kladené na zrakový systém specifickým způsobem života)? Jaký má periferní redukce vliv na uspořádání centrálních mozkových center? Jaký má vliv senzorická deprivace na utváření funkčních korových oblastí? Je ztráta zraku kompenzována rozvojem jiných smyslových modalit? Jaké jsou mechanismy kros-modální kompenzace? Je zřejmé, že na mnoho z těchto hloubavých otázek nenachází předložené publikace jednoznačné odpovědi, a to z mnoha důvodů. Poznání se ubírá křivolakými cestičkami, z nichž mnohé slepě končí, jiné nás dovedou jinam, než jsme si předem vytyčili, někdy se octneme napůl cesty. Studie zařazené do předložené habilitační práce jsou střípky mozaiky, jakýmsi nesmělým vykročením za odpověďmi na obecné otázky.

V předloženém souboru prací je sedm přehledových článků ([I](#), [III](#), [XI](#), [XVI](#), [XIX](#), [XXIII](#), [XXIV](#)), z nichž minimálně jeden se dotýká každého z řešených tematických okruhů. Série prací na dané téma je tedy vždy uvedena přehledovým článkem. Považuji proto za zbytečné zatěžovat laskavého čtenáře opakováním těchto informací v úvodu habilitační práce. Omezím se zde proto na stručný obecný úvod k jednotlivým tématům a komentář ke článkům zařazeným do předloženého spisu. Témata jsou zařazena retrospektivně. Práce tedy začíná tématy, kterým se věnuji nyní, a pokračuje proti proudu času k tématům, která byla hlavní náplní mé výzkumné činnosti v minulosti.

1. Evoluce velikosti, komplexity a procesní kapacity mozku / Evolution of brain complexity and processing capacity

Evoluce velikosti a komplexity mozku a její vztah k evoluci kognitivních schopností je tradičně centrálním tématem srovnávací neurobiologie, kognitivních věd a srovnávací psychologie. O to překvapivější je, jak málo o tématu vlastně víme a jak zjednodušující, někdy i zaujaté jsou naše interpretace pozorovaných jevů, především dojde-li na srovnání savec versus ostatní obratlovci, primát versus ostatní savci a člověk versus ostatní primáti. V tomto ohledu však došlo v posledních dvou dekádách k výraznému posunu, který je výsledkem systematictějšího zkoumání nervového systému (viz přehledové studie¹⁻⁵) a kognice (viz přehledové studie⁶⁻¹¹) u nesavčích modelů. Zvláště překvapivé jsou studie demonstrující komplexní chování u druhů, které mají malé mozky, a nebyly proto tradičně považovány za inteligentní. Někteří ptáci zhotovují a používají nástroje¹²⁻¹⁴, řeší problémy vzhledem¹⁵, rozpoznají se v zrcadle¹⁶, plánují své budoucí potřeby¹⁷, na základě zkušeností anticipují budoucí chování příslušníků svého i jiných druhů¹⁸, jsou schopni komunikovat s lidmi¹⁹. Ryby rovněž vykazují neočekávané kognitivní výkony, například si hrají²⁰, používají nástroje^{21,22}, učí se od svých soudruhů (příslušníků téhož druhu)²³⁻²⁵, kooperují, manipulují i podvádí²⁶⁻³¹, a dokonce se poznají v zrcadle^{32,33}. Živorodka duhová *Poecilia reticulata*, jejíž mozek má přibližně 5 mg a obsahuje méně než 5 milionů neuronů³⁴, je schopna reverzního učení³⁵, inovativního řešení problémů³⁶ a efektivní kontroly exekutivních funkcí³⁷. Tyto studie jednoznačně dokládají, že ani mozková kůra, ani velký savčí mozek nejsou nutným předpokladem komplexního chování. Nedostatek kvantitativních dat však znemožňuje analyzovat neuronální koreláty komplexního chování na druhové úrovni.

Obratlovci vykazují obrovskou mezidruhovou variabilitu ve velikosti mozku a těla³⁸. Zatímco mozek extrémně miniaturizované kaprovité ryby *Danionella translucida* z Barmy váží pouhých 0,6 mg³⁹, mozek vorvaně obrovského *Physeter macrocephalus* váží 7,2 kg (u některých samců dokonce 9,2 kg)⁴⁰. Fakt, že se mozek zvětšuje pomaleji než tělo, tj. roste negativně alometricky s velikostí těla, rozpoznali srovnávací neurobiologové před více než 150 lety. Od té doby se relativní velikost těla, odvozená z alometrického vztahu mezi hmotností těla a mozku, stala nejpoužívanějším zástupným měřítkem funkční kapacity mozku⁴¹⁻⁴³. Ačkoli byl tento zjednodušující přístup z mnoha důvodů kritizován⁴⁴⁻⁴⁶, je stále běžně používán ve studiích analyzujících kognitivní schopnosti, vliv rozličných ekologických faktorů, fyziologických omezení a životních strategií na evoluci mozku (viz např. ⁴⁷⁻⁵³). Existují však zcela zásadní důvody, proč může být relativní velikost mozku zavádějícím proxy pro kognitivní kapacitu. Použití relativní velikosti mozku je založeno na několika kritických předpokladech: (i) neurální substrát zabezpečující „bazální tělesné funkce“ nepřispívá ke kognitivním funkcím a adaptivnímu chování, (ii) počet neuronů potřebných pro zajištění těchto vitálních, viscerálních a motorických funkcí je těsně korelován s tělesnou velikostí a (iii) počet neuronů a jejich spojení je napříč druhy univerzálně škálován s velikostí mozku⁴². Zatímco druhý předpoklad zůstává téměř netestovaný, zbývající dva jsou ve světle dnešních znalostí neobhájitelné. Zaprvé, neexistuje jasné oddělení mezi neuromodulačními, senzomotorickými a kognitivními procesy, které zajišťují adaptivní chování^{54,55}. Zadruhé, mozky vzdáleně příbuzných druhů se liší

v mnoha aspektech jejich stavby, buněčné složení nevyjímaje, tj. podobně velké mozky se mohou dramaticky lišit v počtu neuronů, hustotách neuronů a distribuci neuronů do různých částí mozku^{56–59}. Stejně velké mozky nepříbuzných druhů mohou tedy mít velmi různou procesní kapacitu, a proto nemohou být přímo srovnány. Navíc se zdá, že škálování je taxonově specifické i v případě mozkového kmene^{57,60}, který zabezpečuje mnoho vitálních a homeostatických funkcí, což naznačuje neexistenci těsné korelace mezi velikostí těla a počtem neuronů nutných pro „základní tělesní funkce“.

Neurální substrát kognitivních funkcí tvoří neurony a jejich spoje. Celkový počet neuronů, základních výpočetních jednotek nervového systému, a celkový počet synapsí, základních stavebních bloků paměťových stop, tedy determinuje výpočetní kapacitu mozku, která je nutným předpokladem a limitujícím faktorem inteligence^{58,60,61}. Výpočetní kapacita mozku je rovněž ovlivněna faktory ovlivňujícími rychlost zpracování informace, specificky hustotou neuronů, průměrnou vzdáleností mezi neurony a průměrnou rychlostí vedení vzruchu axonem⁶². Empirická data naznačují, že hlavním korelátem inteligence je počet palliálních/korových neuronů^{57,58,60,62}. To však neznamená, že by kognitivní funkce zabezpečovalo pouze pallium, respektive mozková kůra. Funkční a anatomické studie jednoznačně dokládají, že exekutivní funkce (tj. kognitivní kontrola chování) jsou založeny na těsné součinnosti pallia, subpallia a thalamu⁶³. U savců hraje v kognitivních funkcích důležitou roli také mozeček^{55,64–66}. Laterální část mozečkových hemisfér se nezávisle zvětšila u lidoopů a lidí, delfínů a ploutvonožců. Zrychlená evoluce hemisfér mozečku je dávána do souvislosti s rozvojem kognitivních funkcí u těchto skupin savců^{67,68}. U primátů je velikost mozečku dokonce lepším prediktorem obecné inteligence (G) než velikost koncového mozku⁶⁹. Jak významně se podílí mozeček na kognitivních funkcích u ostatních obratlovců, zůstává nejasné.

Přes značné pokroky v automatizované seriální elektronové, konfokální a superrozlišovací mikroskopii zůstávají naše odhady celkového počtu synapsí ve velkých částech mozku, nebo dokonce celých mozcích velmi nepřesné, neřkuli nespolehlivé. Například odhad počtu synapsí v lidské mozkové kůře se pohybuje od 10^{13} (viz např.⁷⁰) po $1,5 \times 10^{15}$ (viz např.⁷¹). Tyto odhady jsou většinou založeny na detailní, časově náročné analýze malého objemu nervové tkáně, nebo stereologických metodách spjatých se systematickým, nicméně hrubým vzorkováním napříč studovanou strukturou^{72–74}. Kvůli značné nehomogenitě (anizotropii) nervové tkáně oba přístupy selhávají, pokud jsou použity k odhadu počtu synapsí ve velkých oblastech CNS nebo v celých mozcích. Není proto překvapivé, že jediným v současné době prozkoumaným modelem je laboratorní myš, u které známe distribuci mnohých typů synapsí⁷⁵. Paradoxně ani u tohoto modelu však neznáme přesný celkový počet synapsí. Široké srovnávací studie zcela chybí, výjimkou je recentní práce srovnávající hustoty synapsí ve dvou korových oblastech napříč 25 druhy primátů⁷⁶. Data umožňující srovnávat počet a distribuci synapsí napříč druhy tedy nejsou v současnosti k dispozici.

Počet neuronů je proto považován za nejlepší dostupnou aproximaci výpočetní kapacity mozku. Historicky se k počítání neuronů ve specifických oblastech mozku používaly stereologické techniky, jako je optická frakcionace⁷⁷. Jejich použití k odhadu počtu neuronů ve velkých částech

mozku nebo v celých mozcích je však problematické, protože vyžaduje velice pracné vzorkování napříč strukturami, které mají velmi odlišnou cytoarchitekturu a neuronální hustoty. Tyto technické problémy byly vyřešeny vyvinutím nestereologické metody počítání buněk – izotropní frakcionace^{78,79}. Tato metoda je založena na mechanické disociaci tkáně v homogenát buněčných jader, která jsou následně počítána a imunocytochemicky značena za účelem stanovení poměru neuronů a non-neuronálních (gliových a endoteliálních) buněk. Počty buněk jsou stanovovány v malých objemech a jejich celkový počet je následně odhadnut na základě objemu homogenátu. Co se týče přesnosti a opakovatelnosti, je izotropní frakcionace srovnatelná (typická chyba mezi opakovanými měřeními se pohybuje mezi 5–10 %) se stereologickými metodami^{80–83}, je však levnější a výrazně méně časově náročná. Izotropní frakcionace byla použita k odhadu počtu neuronů, gliových buněk a jejich poměrů (glia to neuron ratio) v celých mozcích i jeho částech napříč různými obratlovčími skupinami. Data byla dosud získána pro 81 druhů savců^{84–96}, 215 druhů ptáků^{57,59,97,98}, 110 druhů plazů^{99,100}, 77 druhů obojživelníků (Zhang et al., v přípravě), více než 163 druhů ryb³⁴ (Dionigi et al., v přípravě) a 13 druhů paryb (nepublikovaná data).

Osobně jsem se vnořil do výzkumu evoluce complexity a procesní kapacity mozku obratlovců v roce 2011. Tehdy jsem se věnoval výzkumu neurální podstaty magnetorecepce a prožíval období frustrace z toho, že až příliš často nejsme schopni zopakovat své vlastní výsledky. Poohlížel jsem se proto po doplňkovém (pojistném) výzkumném programu, který bude spolehlivě přinášet výsledky. A právě v té době se mi dostal do rukou článek od Federica Azeveda a Suzany Herculano-Houzel¹⁰¹, který pomocí izotropní frakcionace odhadl počet neuronů a gliových buněk v lidském mozku. Okamžitě jsem pochopil potenciál metody pro srovnávací studie, a když jsem po krátkém pátrání zjistil, že metoda byla dosud aplikována jen u tří skupin savců – hmyzožravců, hlodavců a primátů – rozhodl jsem se ji využít pro studium buněčného složení ptačích mozků. Po několikaměsíčním metodickém tápání jsme začali spolupracovat s objevitelkou metody – Suzanou Herculano-Houzel – a zjistili, že veškerý dosavadní nezdar spočívá v použití nesprávných homogenizátorů. Poté už šlo vše hladce, tedy až na můj pracovní vztah s výše jmenovanou dámou, který se záhy zkomplikoval natolik, že naše spolupráce krátce po publikaci prvního článku skončila. Situace, kdy množství vložené energie těsně koreluje s množstvím výstupů, se mi zalíbila natolik, že jsem výzkum mechanismů magnetorecepce postupně zcela opustil. V průběhu posledních 11 let jsem se s kolektivem studentů postupně zabýval buněčným složením mozků ptáků, plazů, obojživelníků, ryb a paryb a podařilo se nám shromáždit naprostou většinu známých dat o počtech neuronů a gliových buněk u nesavčích obratlovců (566 z 578 druhů bylo vyšetřeno v naší laboratoři). Krátce po čtyřicítce jsem si tedy začal plnit svůj studentský sen zabývat se „velkou“ evolucí mozku obratlovců.

První zařazený příspěvek (Molnár et al., 2014) je přehledovým článkem, který stručně shrnuje soudobé znalosti o evoluci a ontogenetickém vývoji mozkové kůry savců s důrazem na několik v té době intenzivně řešených témat. Článek se zabývá například hypotetickou rekonstrukcí stavby mozkové kůry u raných savců a její pravděpodobnou diverzifikací a specializací spjatou s nástupem moderních savců, rolí tangenciální migrace ve vývoji čichových laloků a mozkové kůry, příspěvkem různých typů progenitorových buněk k formování jednotlivých vrstev mozkové kůry a

jejich vlivu na gyrifikaci a plochu mozkové kůry, potenciálem srovnávacích transkriptomických dat k porozumění genové regulace vývoje a funkční organizace neokortexu a vlivem senzorické deprivace na utváření funkčních korových oblastí.

Druhý zařazený článek (Yuste et al. 2020) je shrnutím komunitní diskuze věnované klasifikaci buněk neokortexu na základě transkriptomických dat, která proběhla na konferenci The Necessity of cell types for brain function pořádané Edem Leinem a Rafaelem Yustem v Kodani v říjnu roku 2018. Výsledkem této diskuze je návrh metodického postupu a analytických nástrojů pro klasifikaci jednotlivých buněčných typů. Mým příspěvkem do diskuze byl argument, že (i) není třeba vymýšlet vlastní postupy, ale naopak kooptovat vyzkoušené metodiky používané pro fylogenetickou klasifikaci organismů, a (ii) neomezit analýzu pouze na savce, ale použít transkriptomická data pro analýzu homologie a evoluce jednotlivých buněčných typů napříč různými skupinami obratlovců a v budoucnu i bilaterálních živočichů.

Třetí zařazený příspěvek (Němec & Osten 2020) je přehledovým článkem o počtech neuronů a kvantitativní distribuci jednotlivých typů neuronů u obratlovců. Shrnujeme v něm existující poznatky a argumentujeme, že izotropní frakcionace může být použita ke kvantitativní analýze distribuce neuronů u stovek druhů, a přinést tak bezprecedentní množství informací o evoluci komplexity a procesní kapacity mozku. Tato metoda navíc umožní vytipování modelových druhů, které si zaslouží detailní kvantitativní analýzu distribuce jednotlivých buněčných typů pomocí stále se zdokonalujících metod umožňujících jejich specifické značení a zobrazování v celých mozcích. Tyto metodické přístupy a jejich možnosti jsou rovněž stručně shrnuty.

Čtvrtý článek (Olkowicz et al. 2016) přináší důkazy, že mozky ptáků obsahují velmi vysoké počty neuronů, jejichž hustoty značně převyšují hustoty neuronů pozorované u savců. U velkých papoušků a krkavcovitých ptáků je navíc nezvykle vysoké procento neuronů alokováno do koncového mozku, především pallia. Tento objev umožnil přímočaře vysvětlit letité mystérium srovnávací a výpočetní neurobiologie: Jak je možné, že ptáci jsou vysoce inteligentní a repertoár jejich chování je v mnohých doménách srovnatelný s tímtež u opic a lidoopů^{7,11,102,103}, když mají malé mozky? Pallium těchto ptáků obsahuje srovnatelné nebo vyšší počty neuronů než podstatně větší mozky primátů. Procesní kapacita mozku ptáků je pravděpodobně dále zvýšena díky krátkým vzdálenostem mezi neurony, které jsou přímým důsledkem vysoké hustoty neuronů. Ptačí mozek tedy poskytuje „vyšší výpočetní výkon“ na jednotku hmoty než mozek savčí. Dále jsme demonstrovali, že krkavcovití ptáci mají relativně (vůči tělu) větší mozky než jiní pěvci, a proto i vyšší absolutní počty neuronů v palliu koncového mozku než jiní pěvci stejné velikosti. Recentně bylo navíc ukázáno, že počty neuronů jsou zvýšené především v asociačních oblastech koncového mozku, jmenovitě v nidopalliu a mesopalliu¹⁰⁴. V následné studii jsme prokázali, že vysoké počty neuronů jsou sdíleným znakem charakterizujícím koncový mozek ptáků náležících do skupiny core landbirds (Telluraves), zahrnující v našem datasetu dravce, sovy, sokoly, pěvce a papoušky¹⁰⁰.

Pátý článek (Kverková et al., 2022) je rekonstrukcí evoluce komplexity mozku u blanatých obratlovců (Amniota). Na základě unikátního datasetu, zahrnujícího data o počtech a distribuci neuronů u 251 druhů amniot (data pro 107 druhů plazů a 37 druhů ptáků byla nově získána) a data

o hmotnosti mozku pro téměř 4000 druhů amniot, jsme prokázali, že ptáci a savci konvergentně zvýšili procesní kapacitu mozku. Relativní velikost mozku se u ptáků a savců zvětšila 6x, respektive 8x. Důležité je, že ruku v ruce se zvětšením mozku došlo i ke zvýšení hustoty neuronů. Výsledkem je, že v průměru obsahují ptačí a savčí mozky 21x, respektive 20x více neuronů než mozky obdobně velkých plazů. Ačkoli je obecně za centrum vyšších kognitivních funkcí považován koncový mozek, k nejvýraznějšímu zvýšení počtu neuronů došlo v mozečku, který prošel poměrně komplikovanou evolucí. U šupinatých plazů (Squamata) je mozeček malý a obsahuje malou část neuronů mozku. Trend k jeho zvětšení lze pozorovat u želv a krokodýlů a kulminuje u bazálních ptáků, u kterých neurony mozečku tvoří většinu neuronů mozku. U ptáků ze skupiny core landbirds se však tento trend otáčí v důsledku evoluce velkého koncového mozku s vysokými hustotami neuronů. U savců obsahuje mozeček 70–90 % všech neuronů⁵⁶. Fylogenetická analýza překvapivě naznačuje, že během více než 300 milionů let evoluce blanatých obratlovců došlo pouze ke čtyřem velkým změnám ve škálování počtu neuronů s velikostí mozku. Největší nárůst počtu neuronů je spjat se vznikem ptáků a savců a je pravděpodobně důsledkem uvolnění energetických omezení při přechodu k endotermii. K dalším dvěma výrazným zvýšením počtu neuronů došlo u ptáků ze skupiny core landbirds a u vyšších primátů (Anthropoidea), tedy dvou skupin amniot, které jsou známé pro svou kognitivní zdatnost. Tato data naznačují, že evoluce inteligence je u ptáků a savců spjata s velmi omezeným počtem výrazných změn v hustotě, distribuci a počtu neuronů.

Šestý článek (Sol et al., 2022) demonstruje na základě dat pro 111 druhů ptáků, že počet neuronů v palliu koncového mozku a v menší míře také počet neuronů v mozečku predikuje jeden z hlavních projevů inteligence – inovativnost. V tomto článku dále ukazujeme, že největší počet palliálních neuronů mají ptáci, jejichž mozky jsou velké jak absolutně, tak relativně vůči tělesné velikosti. Jinými slovy, nejvyšší počty neuronů a tendenci k inovativnosti mají velcí ptáci náležící do skupin charakterizovaných vysokou encefalizací, velkým koncovým mozkem a vysokou hustotou neuronů v koncovém mozku. Tyto znaky jsou pozitivně asociovány s prodlouženou rodičovskou péčí po vylíhnutí mláďat – vyskytují se tedy výhradně u krmivých ptáků. Počty neuronů tedy spojují kognitivní zdatnost s absolutní i relativní velikostí mozku skrze úpravy módu a délky ontogenetického vývoje.

Články číslo sedm a osm se zabývají vnitrodruhovou variabilitou v počtu neuronů. Kverková et al., 2020 analyzuje počty neuronů u dvou v zajetí chovaných populací gekonů druhu *Paroedura picta* a u jedné populace porovnává počty neuronů napříč třemi věkovými kohortami. Ačkoli plazí mozky charakterizuje vysoká míra neurogeneze v dospělosti, intrapopulační variabilita v počtu neuronů je srovnatelná s tímtéž u laboratorní myši¹⁰⁵. Fakt, že se nové neurony rodí a diferencují v mnoha oblastech mozku plazů po celý život, tedy výrazně nezhoršuje reprezentativnost odhadů počtu neuronů pro druh založených na limitovaném množství jedinců. Naopak dvě studované populace se v počtu neuronů signifikantně lišily. Použití jediné populace pro charakterizaci druhu může tedy vést k podcenění vnitrodruhové variability v počtech neuronů. Sexuálně dospělá šestiměsíční zvířata měla signifikantně nižší počty neuronů v koncovém mozku než plně vzrostlá roční zvířata. Toto pozorování je dokladem faktu, že neurogeneze v dospělosti nejen nahrazuje

opotřebované neurony, ale vede ke zvýšení počtu neuronů, a tedy ke zvyšování procesní kapacity mozku v dospělosti.

Marhounová et al. 2019 analyzuje vnitrodruhovou variabilitu v počtu neuronů u živorodky duhové (*Poecilia reticulata*). Ukazujeme v něm, že umělá selekce na velikost mozku vede k adekvátnímu zvýšení počtu neuronů. Během pouhých pěti generací, ve kterých bylo vždy selektováno pro další chov 20 % ryb s největšími a 20 % ryb s nejmenšími mozky, vznikly linie ryb, které se lišily ve velikosti mozku o 15 % a v počtu neuronů o 12 %, a to přes značné individuální rozdíly v neuronálních hustotách (velikost mozku vysvětlovala pouze 47 % pozorované variability v počtu neuronů). Toto pozorování naznačuje, že evoluční změny ve velikosti a procesní kapacitě mozku mohou být velmi rychlé, pokud existuje adekvátní a setrvalý selekční tlak. V tomto smyslu je zajímavé zmínit, že živorodky duhové mohou mít v přírodě dvě až tři generace za jediný rok^{106,107}. Spolu s předešlými pracemi srovnávajícími kognitivní schopnosti těchto linií ryb^{35,108–111} přináší tato studie první přímý důkaz o asociaci mezi velikostí mozku, počtem neuronů a kognitivními schopnostmi na vnitrodruhové úrovni.

Ve dvou dalších studiích jsme testovali hypotézu sociálního mozku^{112,113}. V devátém zařazeném článku (**Kverková et al. 2018**) jsme tuto hypotézu testovali na modelu rypošů čeledi Bathyergidae, kteří vykazují široké spektrum sociálních uspořádání s odlišným stupněm komplexity, od striktně solitérních přes sociální po eusociální, ačkoliv mají velmi podobné ekologické nároky a životní strategie. U jedenácti druhů rypošů jsme vyšetřili velikost mozku, objem 14 mozkových oblastí a počet neuronů v šesti částech mozku a tento bezprecedentně komplexní dataset neuroanatomických dat jsme korelovali s mírou sociality jednotlivých druhů. Žádný ze studovaných korelátů výpočetní kapacity mozku nebyl pozitivně asociován s komplexitou sociálního systému. Solitérní druhy mají ovšem tendenci být větší, mít absolutně větší mozek a větší počet neuronů než druhy sociální. Relativní velikost neokortexu a počty neuronů v celém mozku a v mozkové kůře navíc negativně korelují s velikostí sociální skupiny. Tyto výsledky silně naznačují, že život ve skupině nebo v trvalém páru nevedou ke zvýšení komplexity mozku, pokud nejsou spjaty s machiavelistickými interakcemi ovlivňujícími reprodukční úspěch jednotlivců (což u eusociálních zvířat žijících v koloniích s jedním reprodukcujícím se párem obvykle nejsou).

V desátém článku (**Matějů et al., 2016**) jsme hypotézu sociálního mozku testovali na syslech a svištích z tribu Marmotini. Tito hlodavci jsou ideální skupinou pro testování hypotézy, protože mají, stejně jako rypoši, uniformní ekologické nároky a životní strategie, ale vykazují široké spektrum sociálních uspořádání s rostoucí mírou komplexity od solitérních druhů přes druhy žijící v malých rodinných skupinách příbuzných samic, harémy s dominantním samcem po velké rovnostářské polygynní skupiny. Vztah mezi mírou sociality a relativní velikostí mozku jsme nenašli. Avšak s mírou sociality signifikantně rostla velikost těla a absolutní velikost mozku. Není jasné, zda socialita přímo ovlivňuje velikost mozku, či je velký mozek sociálních druhů vedlejším produktem selekce na velikost těla, která je asociovaná s nutností přežít dlouhá období nedostatku potravy. Oba scénáře však vedou k absolutnímu zvětšení mozku, a tedy ke zvýšení jeho procesí kapacity na úroveň nutnou pro život ve stabilních sociálních skupinách.

2. Mechanizmy magnetické orientace a navigace / Mechanisms of Magnetic Orientation and Navigation

Magnetorecepce je široce rozšířeným, ale enigmatickým smyslem. Schopnost používat magnetické pole Země jako vodítko pro orientaci v prostoru byla demonstrována u řady živočichů, včetně mnoha obratlovců^{114–122}. Fyziologické mechanismy magnetické orientace však zůstávají neobjasněny: biofyzikální mechanismy transdukce magnetických parametrů v elektrický signál jsou nejasné, magnetoreceptor nebyl dosud spolehlivě identifikován u žádného organismu a naše znalosti neurálních korelátů magnetorecepce a magnetické orientace jsou kusé^{116,123–131}. Podstata magnetorecepce tak zůstává velkou nerozřešenou záhadou smyslové biologie.

Teoretické modely, stejně jako experimentální data naznačují, že mohou existovat tři fundamentálně odlišné způsoby detekce magnetického pole Země: (i) mechanismus založený na součinnosti feromagnetických částic – jednodoménových nebo superparamagnetických krystalků biogenního magnetitu – a mechanoreceptorů^{132–139}; (ii) mechanismus založený na magnetickým polem modulovaných reakcích radikálových párů, tento mechanismus je spřažen s fotorecepcí a patrně k němu dochází ve specializovaných fotoreceptorech^{128,140–143} a (iii) mechanismus založený na elektromagnetické indukci, magnetické pole je vnímáno elektroreceptory nebo specializovanými napěťově vrátkovanými iontovými kanály^{144–149}.

Evidenci pro „magnetitovou hypotézu“ přinesly experimenty s pulzní magnetizací¹⁵⁰. Krátký, silný magnetický pulz (~ 5 ms, 0,5 T), postup designovaný pro změnu magnetizace magnetitu, má výrazný a často dlouhotrvající efekt na orientaci hmyzu^{151,152}, korýšů¹⁵³, plazů¹⁵⁴, ptáků^{155–160} a savců^{161,162}. Snahy o identifikaci magnetitových magnetoreceptorů však zatím nebyly úspěšné^{139,149}. Kandidátní na magnetitu založené recepční struktury byly identifikovány v čichovém epitelu pstruha duhového, *Oncorhynchus mykiss*^{163–165}, a ve škáře patra horní poloviny zobáku ptáků^{166–168}. Tyto slibné studie však byly recentně výrazně zpochybněny. V případě pstruhů se pravděpodobně jednalo o kontaminace z laboratorního prostředí¹⁶⁹, v případě holubů byly Fe³⁺ obsahující makrofágy mylně interpretovány jako magnetoreceptory^{170,171}. Dalším problémem je, že dostupná sekvenční data naznačují absenci homologů Mam proteinů (které jsou nezbytné pro syntézu magnetitu u magnetotaktických bakterií) u magneticky se orientujících eukaryot^{149,172–174}.

Ačkoli vlastní magnetoreceptory zůstávají neznámé, řada experimentů dokládá, že jsou inervovány oftalmickou větví trigeminálního nervu. V té byly identifikovány magneto-responzivní jednotky, u nichž je frekvence akčních potenciálů modulována změnami v intenzitě magnetického pole^{163,175}. Aktivace trigeminálního systému ptáků po magnetické stimulaci byla detekována rovněž pomocí indukovatelných transkripčních faktorů (ITFs) jako markerů neurální odpovědi^{176–179}. Neuroetologické experimenty vyřazující senzitivitu z *nervus ophthalmicus* pomocí lokální anestézie nebo bilaterální transektce nervu rovněž dokládají, že tento nerv přivádí magnetickou informaci do mozku^{159,180–183}. Jak elektrofyziologické studie^{163,175}, tak experimenty založené na operantním podmiňování^{163,181} naznačují, že magnetoreceptory asociované s trigeminálním systémem jsou sensory intenzity magnetického pole. Recentní experimenty navíc prokázaly, že rákosníci obecní

(*Acrocephalus scirpaceus*) s oboustranně přetátným *nervus ophthalmicus* nejsou schopni na rozdíl od ptáků s intaktním nervem při svém tahu kompenzovat reálné přemístění o 1000 km východně¹⁸⁴ ani reagovat na změnu magnetických podmínek, která přemístění simuluje (tzv. virtuální přemístění)¹⁸⁵. Všeobecně se proto předpokládá, že magnetoreceptory založené na biogenním magnetitu a inervované trigeminálním nervem hrají roli v magnetickém mapovém smyslu, tj. poskytují informace o geografické poloze^{121,127,186}.

Magnetický materiál byl rovněž nalezen v otokoniích lageny vnitřního ucha ryb a ptáků¹⁸⁷. Následná studie prokázala, že ablace lageny vede u holubů ke ztrátě schopnosti navracet se po přemístění do domovského holubníku¹⁸⁸ a že vestibulární systém holubů obsahuje množství magnetoresponzivních neuronů, které specificky reagují na změnu magnetického směru, intenzity nebo polarity^{177,189}. Tyto velice slibné studie se však nepodařilo replikovat (a to ani autorům samotným). Recentní studie kombinující synchrotronovou rengenofluorescenční mikroskopii s transmisí elektronovou mikroskopií navíc demonstrovala, že železo se v otokoniích lageny vyskytuje spolu s chromem, jedná se tedy velmi pravděpodobně o laboratorní kontaminaci; jednodoménový magnetit nebyl ve vláskových buňkách lageny nalezen¹⁹⁰. Magnetický materiál je ve vnitřním uchu lokalizován ve specifických, feritin obsahujících organelách (kutikulozomech), které jsou lokalizovány v kutikulární destičce vláskových buněk; nejvíce kutikulozomů je v bazilární membráně, nikoli lageně. Jedná se převážně o nanokrystaly ferrihydritu ($(\text{Fe}^{3+})_2\text{O}_3 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$), které obsahují zpravidla více než jednu magnetickou doménu a jejich interakce s magnetickým polem Země je příliš slabá na to, aby mohly mechanickou silou otvírat mechanicky vrátkované iontové kanály^{191,192}. Role kutikulozomů v magnetoreceptci však není zcela vyloučena^{192,193} (viz níže).

Naopak existuje rozsáhlá evidence, že magnetický kompasový smysl je založen na mechanismu radikálových párů^{128,143,194,195}. Zaprvé, magnetická kompasová orientace ptáků a obojživelníků je komplexním způsobem závislá na intenzitě a vlnové délce světla (viz např.^{196–203}). Zadruhé, experimenty používající jako diagnostický nástroj oscilující radiofrekvenční pole o frekvenci 0,1–10 MHz, které specificky ruší reakce radikálových párů (resp. interkonverze mezi singletovými a tripletovými stavy volných elektronů), opakovaně demonstrovaly rušivý vliv na magnetoreceptci ptáků^{204–211}, hlodavců²¹² a hmyzu²¹³. Za třetí, elektrofyziologické^{214,215} (negativní data viz²¹⁶), neuroanatomické^{217–220} a neuroetologické studie²²¹ potvrdily klíčovou roli zrakového systému v magnetické orientaci ptáků.

Kryptochromy jsou dosud jedinými známými fotopigmenty vyskytujícími se v sítnici ptáků^{217,222–231}, které generují radikálové páry^{232,233}. Vskutku bylo experimentálně prokázáno, že kinetika a výtěžek radikálových párů vznikajících mezi flavinem a tryptofanem kryptochromů jsou závislé na podmínkách okolního magnetického pole¹⁴². Z pochopitelných důvodů se tedy kryptochromy staly horkými kandidáty na hledané magnetotransdukční molekuly, avšak nezpochybnitelné důkazy o jejich roli v transdukcii magnetického pole v receptorový potenciál stále chybí. Na základě různých nepřímých důkazů byly jako ptačí magnetoreceptory postupně navrženy Cry1²¹⁷, Cry1b²²⁶, Cry1a^{227,234} a Cry4^{230,231}. Podobně nejasná je identita konkrétního z kryptochromu derivovaného radikálového páru, který by měl fungovat jako magnetický senzor. Navrženo bylo

hned několik možných radikálových párů (viz přehledové studie^{128,235}), žádný z nich se však nezdá být dostatečně citlivý k magnetickému poli za nízkých hladin světla odpovídajících bezměsíčné noci, tedy za podmínek běžných při noční migraci pěvců²³⁶. Nicméně existují hypotetické mechanismy, které mohou zvýšit citlivost uvažovaných radikálových párů na předpokládanou úroveň^{128,236,237}.

Prozatím nejpřesvědčivější evidenci pro roli kryptochromů v magnetorecepci přinesly experimenty s hmyzem. Nejprve bylo prokázáno, že magnetosenzitivita je u octomilek *Drosophila melanogaster* závislá na přítomnosti funkčního genu pro Cry1^{202,238}. Zatímco wild-type octomilky vykazují v T labyrintu jasnou reakci vůči experimentálnímu magnetickému poli, Cry1 deficientní kmeny nikoli. Magnetosenzitivitu Cry1 deficientních kmenů lze navíc obnovit experimentální manipulací – transgenní octomilky exprimující lidský cry2 (cry1 knock-out, cry2 knock-in) jsou magnetoresponzivní²³⁹. Recentní studie navíc prokázala s použitím technologie RNA interference, že Cry2 je nezbytný pro magnetorecepci u dvou druhů švábů (*Periplaneta americana*, *Blattella germanica*)²⁰³. Magnetické pole ovlivňuje u octomilek také cirkadiánní rytmy^{240,241}, geotaxi²⁴² a senzitivitu k elektrickým šokům²⁴³. Kryptochromy tedy velmi pravděpodobně hrají klíčovou roli nejen v magnetické kompasové orientaci, ale i v magnetosenzitivě živočichů.

Přímé experimentální důkazy, že živočichové vnímají magnetické pole mechanismem elektromagnetické indukce, stále chybí. Nicméně schopnost magnetorecepce byla opakovaně demonstrována u paryb^{144,145,148}, tedy živočichů žijících ve vodivém médiu (tj. oceánu), jejichž elektroreceptory (Lorenziniho ampuly) disponují dostatečnou citlivostí pro vnímání elektromotorického napětí indukovaného pohybem v magnetickém poli Země^{145,147}. Ranné elektrofyzilogické studie potvrdily přítomnost magnetoresponzivních neuronů v oktovolaterálním systému prodloužené míchy a magnetoresponzivních jednotek v *nervus lateralis anterior* (nerv inervující Lorenziniho ampuly) u rejnoků druhů *Dasyatis pastinaca* a *Raja clavata*^{244–247}. Efektivními stimuly byly proměnlivé magnetické pole a pohyb ve statickém magnetickém poli, výsledky tedy dobře odpovídaly předpokladům testované hypotézy. Za předpokladu, že napětově vrátkované kanály vláskových buněk fungují jako elektroreceptory, může k elektromagnetické indukci teoreticky docházet také v endolymfě vnitřního ucha suchozemských obratlovců¹⁴⁶. V tomto kontextu je poznamenáníhodné, že recentně objevené kutikulozomy – feritin obsahující organely lokalizované v kutikulární destičce vláskových buněk vnitřního ucha – mohou hypoteticky ovlivňovat koncentrace kationtů a tím vodivost endolymfy^{191,192}. Je proto představitelné, že se tyto organely nepřímo účastní magnetorecepce založené na principu elektromagnetické indukce.

O procesování magnetické informace v CNS mnoho nevíme. Magnetoresponzivní neurony byly identifikovány v trigeminálním, zrakovém a vestibulárním systému (viz výše). U ptáků dále v hipokampu^{177,248,249}, u hlodavců v colliculus superior, hipokampu, subikulu, entorhinální kůře a korových i podkorových centrech, která obsahují buňky směru hlavy (head direction cells)^{250,251}.

Osobně jsem se vnořil do výzkumu magnetorecepce v roce 1998. Jako všichni mí vrstevníci jsem i já hledal v devadesátých letech možnost zahraniční stáže. V té době jsem se zabýval zrakovým systémem netopýrů a rejšků, a oslovil jsem proto profesora Hynka Burdu s prosbou, zda by u něj nebylo možné studovat zrakový systém striktně podzemních rypošů čeledi Bathyergidae.

Hynek Burda odpověděl obratem. Sdělil mi, že by to možné samozřejmě bylo, ale že ho daleko více zajímá neurální substrát magnetické orientace, a právě hledá (neuro)anatomy, který by se takového úkolu ujal. Neváhal jsem ani chvíli a nabízenou výzvu přijal. V letech 1998–2005 jsem pobýval v rámci několika stáží nejprve v Essenu (Department of General Zoology, University of Essen) a poté ve Frankfurtu nad Mohanem (Institute for Anatomy, J.W. Goethe University, Frankfurt am Main), kde jsme ve spolupráci s Hynkem Burdou a profesorem Helmutem H. A. Oelschlägerem poprvé v magnetorecepčním výzkumu použili indukovatelný transkripční faktor c-Fos jako marker neurální odpovědi za účelem identifikace mozkových center procesujících magnetickou informaci. Potenciál tohoto přístupu shrnuje jedenáctá práce zařazená do tohoto spisu (**Němec et al. 2005**). Hlavní devizou této metody je, že umožňuje screening neuronální aktivity v celém mozku u volně se pohybujících zvířat orientujících se v různých podmínkách magnetického pole nebo u zvířat vystavených proměnlivým magnetickým polím. Je proto nástrojem vhodným pro hledání populací magnetoresponzivních neuronů v CNS a v kombinaci s retrográdním značením nervových drah i pro lokalizaci magnetoreceptorů. Jednoznačným limitem této metody je nedostatečné časové rozlišení (v řádu desítek minut). Metoda tedy nutně vede jen ke korelativním výsledkům a neumožňuje studium dynamiky magnetický stimul – neuronální odpověď. Je velmi potěšující, že námi navržený scénář se ukázal být velmi úspěšný. V podstatě veškeré recentní znalosti o neurální bázi magnetorecepce a magnetické orientace se minimálně v počátcích opíraly o neuroanatomické mapování používající ITFs pro identifikaci magnetoresponzivních neuronů (zrakový systém^{217–220,252}, trigeminální systém^{176–179} vestibulární systém¹⁷⁷; asociační nervová centra^{177,248–251}).

Ve dvanácté (**Němec et al. 2001**) a třinácté práci (**Burger et al. 2010**) jsme použili změnami v magnetickém poli indukovanou expresi c-Fos k identifikaci neuronů reagujících na magnetické stimuly u striktně podzemního rypaše druhu *Fukomys anselli* (Rodentia, Bathyergidae). V první jmenované studii jsme identifikovali populaci magnetoresponzivních neuronů v *colliculus superior*, tj. prominentním podkorovém senzomotorickém integračním centru, které hraje zásadní roli v orientaci vůči různým stimulům²⁵³. S výjimkou klasické, avšak nikdy nereplikované studie²⁵⁴ se jednalo o první práci identifikující magnetoresponzivní neurony v savčím mozku a také o první demonstraci konkrétní oblasti savčího mozku integrující magnetickou informaci s multimodální senzory a motorickou informací. V druhé jmenované práci jsme demonstrovali magnetoresponzivní neurony v oblastech mozku, o kterých je známo, že hrají zásadní roli při orientaci v prostoru^{255,256}, konkrétně v hipokampu, subikulu, entorhinální kůře a v některých mozkových centrech obsahujících buňky směru hlavy. Tyto prioritní studie však bohužel nevyvolaly, nejspíše kvůli exotičnosti a omezené dostupnosti modelového druhu, vlnu návazných fyziologických studií. V současnosti provádí obdobné studie na myším modelu několik laboratoří, výsledky však zatím zůstávají nepublikované.

Ve čtrnácté zařazené práci (**Caspar et al. 2020**) jsme testovali hypotézu, že rypaši druhu *Fukomys anselli* mají magnetoreceptory v oku, respektive v rohovce²⁵⁷. Rypaši používají spontánně magnetický kompasový smysl pro orientaci v kruhové aréně a jejich směrovou preferenci lze určit podle polohy hnízda²⁵⁸. Magnetická kompasová orientace rypošů je funkční v trvalé tmě (tzn. je na světle nezávislá) a reaguje na změnu polarity, nikoli inklinace magnetického pole¹⁶², dlouhodobě ji

ovlivňují magnetické pulsy²⁵⁹, naopak není rušena oscilujícími radiofrekvenčními poli o frekvenci 0,1–10 MHz²⁶⁰. Všechny tyto charakteristiky mluví pro magnetoreceptor založený na magnetitu a v podstatě vylučují mechanismus radikálových párů (viz výše). Lokální anestezie rohovky pomocí lidokainu vedla k náhodné směrové orientaci zvířat v kruhové aréně. Toto překvapivé pozorování vyústilo v hypotézu, že na magnetitu založený magnetoreceptor by mohl být v rohovce²⁵⁷. Interpretace výsledku je však nejistá, protože (i) lidokainová anestezie zpravidla není efektivní déle než 15 minut²⁶¹ a (ii) lidokain je lipofilní, a může tedy ovlivnit i tkáň v okolí cílové tkáně; navíc se váže na proteiny krevního séra, a může tak překonat hematoencefalickou bariéru a indukovat nespecifické efekty přímo v CNS²⁶². Proto jsme provedli experimenty s enukleovanými zvířaty. Chirurgické odstranění očí nijak nenarušovalo běžné činnosti zvířat, jakými jsou pohyb v domovském prostředí, přijímání potravy, sociální interakce či rozmnožování. Na rozdíl od kontrolních zvířat ale enukleovaná zvířata nebyla schopna magnetické směrové orientace. Tyto výsledky jsou ve shodě s hypotézou, že magnetoreceptor rýpošů je opravdu v oku, nejpravděpodobněji v rohovce²⁵⁷, a umožňují zacílit budoucí strukturní studie zaměřené na hledání magnetitových magnetoreceptorů.

Ve patnácté zařazené práci ([Jorge et al. 2014](#)) jsme s pomocí detekce exprese c-Fos analyzovali vzory neuronální aktivity ve vybraných oblastech mozku (čichový lalok, pyramidální kůra, dorzální talamické jádro, vestibulární systém a hipokampus) u holubů vystavených různým čichovým stimulům buď během přesunu na místo vypuštění, nebo v domovském holubníku. Cílem studie bylo testovat dvě alternativní hypotézy: (i) holubi používají čichová vodítka jako informaci pro orientaci/navigaci v prostoru^{263,264}; (ii) čichová vodítka neposkytují informaci pro orientaci v prostoru, neznámý pach však signalizuje přemístění a aktivuje navigační systém, který však využívá jiných vodítek než čichových (tzv. aktivací hypotéza^{265,266}). Tato studie přinesla poněkud rozporuplná data. Dorzolaterální část hipokampu byla aktivována jak pachem přirozeným (vzduch nasávaný během převozu), tak pachem arteficiálním, ve shodě s druhou hypotézou tedy aktivace nezávisela na tom, zda pach obsahoval potenciální informaci o poloze. Naproti tomu dorzomedální a triangulární (hipokampus sensu stricto) část hipokampu byly aktivovány pouze přirozeným pachem, tedy pachem nesoucím potenciální informaci o poloze. Tyto nálezy byly naopak ve shodě s predikcemi první hypotézy. Vzhledem k tomu, že navigace k domovskému holubníku (homing) indukuje aktivaci čichového systému holubů²⁶⁷ a přetětí čichových nervů vede k podstatně nižší efektivitě návratu do domovského holubníku^{268,269}, osobně se (na rozdíl od spoluautorů článku) přikláním k roli čichových vodítek ve směrové orientaci a prostorové navigaci pomocí pachových gradientů²⁶⁴.

Šestnáctá zařazená práce ([Moritz et al. 2007](#)) shrnuje naše znalosti o magnetické orientaci a jejích mechanismech u podzemních a fossoriálních savců. Hlavní tezí této práce je hypotéza, že se savci mohou v systémech tunelů pohybovat pomocí relativně jednoduchých mechanismů, jako je integrace dráhy. Nicméně v případě stavby nových tunelových systémů a navigace mimo existující tunelový systém potřebují vnější směrovou referenci, která umožní minimalizovat kumulativní chybu vzniklou při integraci dráhy. Mikroftalmickým savcům poskytuje takovou směrovou referenci magnetická informace²⁷⁰, ve shodě s touto hypotézou je rovněž spontánní magnetická směrová

preference těchto savců^{258,271,272}. Ve dvou následujících studiích jsme demonstrovali magnetickou kompasovou orientaci u dvou striktně podzemních druhů rypošů čeledi Bathyergidae – *Fukomys mechowii* a *Heliophobius argenteocinereus* (Oliveriusová et al. 2012) a u fossoriálního norníka rudého, *Clethrionomys glareolus* (Oliveriusová et al. 2014). Vzhledem k tomu, že byla magnetická kompasová orientace doposud popsána pouze u pěti jiných druhů hlodavců^{212,258,271,273–275}, představují tyto práce významné rozšíření našich znalostí o magnetické kompasové orientaci u této skupiny savců. Prvně jmenovaná práce navíc dokládá, že spontánní magnetická směrová preference není u striktně podzemních hlodavců jednotná, jak se původně předpokládalo, ale buď vrozená a druhově specifická, nebo naučená.

Devatenáctá zařazená práce (Begall et al. 2013) je přehledovým článkem shrnujícím naše soudobé znalosti o magnetickém alignmentu (natáčení těla do specifického magnetického směru) u savců a jiných živočichů. Práce se rovněž zabývá konceptem alignmentu obecně, jeho odlišnostmi od kompasové orientace, potenciálními funkcemi a metodickými aspekty jeho demonstrace. Magnetickým alignmentem se zabývají rovněž tři následující práce. První z nich (Burda et al. 2009) demonstruje, že je magnetický alignment u skotu a srnce obecného *Capreolus capreolus* narušen v blízkosti vedení vysokého napětí. Tato studie je jednou z mála, která demonstruje (statisticky) viditelnou změnu chování v reakci na magnetická pole o nízkých frekvencích (50 Hz, tzv. extremely low-frequency magnetic fields). Tato studie má poměrně zajímavou genezi a vyvolala značnou odezvu v řadách laické i odborné veřejnosti. Experimentálně demonstrovat magnetický smysl u velkých obratlovců je obecně těžké (vyžaduje to experimenty s velkým počtem velkých jedinců, které není snadné přenést do laboratoře). Tento problém vyřešila velmi elegantním způsobem skupina prof. Hynka Burdy tak, že začala systematicky vyhledávat stáda dobytka pomocí Google Earth a měřit osovou orientaci jejich těl na rovných pastvinách bez rušivých vlivů (cest, elektrických ohradníků, napajedel a podobně). Podařilo se jim prokázat, že skot na pastvinách celého světa statisticky významně preferuje severo-jížní orientaci těla, obdobnou směrovou preferenci prokázala měření orientace zálehů ve sněhu u jelena evropského, *Cervus elaphus*, a přímým pozorováním u srnce obecného, *Capreolus capreolus*²⁷⁶. Již tato první studie prokázala, že poloha magnetického severu je lepším prediktorem orientace těla skotu než poloha zeměpisného severu. Nicméně skeptici se dožadovali přesvědčivějších testů. Právě za tímto účelem byla provedena naše výše zmíněná návazná studie, demonstrující rušivý vliv magnetických polí generovaných vedením vysokého napětí na orientaci skotu a srnců. Tento náš nález vyvolal poměrně razantní kritiku ze strany některých členů klubu skeptiků Sisýfos, kterážto byla vedena z notně ideologických a mnohdy i naivních pozic. Tato polemika se nakonec přenesla i na pole odborných časopisů²⁷⁷. Dvacátý první zařazený článek (Begall et al. 2011) je naší odpovědí na tuto kritiku. Magnetický alignment skotu byl nezávisle potvrzen brněnskou skupinou soustředěnou okolo doc. Martina Váchy²⁷⁸. Zajímavé je, že alignment se dle této analýzy manifestuje především v rozvolněných stádech (tj. ve stádech s nízkou hustotou jedinců na plochu).

Dvacátý druhý zařazený článek (Hart et al. 2012) demonstruje magnetický alignment u kapra obecného *Cyprinus carpio*. Tato studie byla jakousi revitalizací zapomenutých článků o magnetickém alignmentu úhořů, kaprovitých a lososovitých ryb publikovaných v sedmdesátých a

osmdesátých letech^{279–281}. K měření orientace těl kaprů jsme využili českých vánočních trhů (měření ale většinou probíhala v noci). Nezamýšleným, avšak zábavným průvodním jevem této publikace bylo, že článek vyšel v prosinci následujícího roku, protože byly doprovodné popularizační články uveřejněné v běžném tisku všeobecně považovány za hoaxy.

3. Neurobiologie podzemního vidění / Neurobiology of Subterranean Vision

Savci vyvinuli nepřeberné množství různých životních stylů, které jsou spjaty s různými světelnými podmínkami a nároky na zrakový systém^{282,283}. Okolo 300 druhů savců se přizpůsobilo k trvalému životu v podzemí^{284–286}. Tito savci žijí, shánějí potravu a rozmnožují se v systémech podzemních nor a jsou zřídka, pokud vůbec, vystaveni světelným podnětům. Tento stabilní, na kyslík chudý a proti predaci dobře ochráněný biotop má velmi specifické nároky na jejich smyslovou výbavu. Striktně podzemní savci jsou bez výjimky kongenitálně mikroftalmičtí a mají silně redukovaný zrakový systém^{287–289}. Studium zrakového systému podzemních savců nám poskytuje jedinečnou příležitost ke studiu adaptivního významu smyslové redukce a vlivu redukce oka na uspořádání centrálních mozkových center. Recentní studie vskutku výrazně zpochybnily degenerativní charakter redukce zrakového aparátu u podzemních savců (viz přehledová studie²⁸⁹). Jak na úrovni fotoreceptorů, tak na úrovni centrálních zrakových center dochází k řadě druhově specifických přestaveb, které mají velmi pravděpodobně adaptivní význam^{290–295}. Jiné modality, především somatosenzitivní čítí (viz přehledová studie²⁹⁶) a magnetická kompasová orientace (viz přehledová studie²⁹⁷) kompenzují ztrátu zraku.

Míra redukce oka a zrakového systému se u různých skupin podzemních savců liší (viz přehledová studie²⁸⁷). Vakokrti rodu *Notoryctes* (Marsupialia), slepci čeledi Spalacidae (Rodentia), zlatokrti čeledi Chrysochloridae (Afrosoricida) a někteří krtci čeledi Talpidae (Eulipotyphla) mají miniaturní podkožní oči s degenerovaným optickým aparátem a silně redukovaný zrakový systém, jehož jedinou zbytkovou funkcí je detekce vnější fotoperiody. Naproti tomu rypoši čeledi Bathyergidae (Rodentia), kokoři podčeledi Myospalacinae (Rodentia) a někteří krtci čeledi Talpidae (Eulipotyphla) mají velikostně redukované, ale strukturně normální oči a pravděpodobně zachovanou schopnost obrazového vidění. Role zraku u těchto savců je o poznání méně zřejmá. Dostupná anatomická data silně naznačují, že zrakový systém těchto zvířat není vhodný pro zrakovou orientaci na povrchu ani adaptován na vidění za nízkých intenzit světla (viz přehledová studie²⁸⁹). Bylo proto navrženo, že jeho hlavní funkcí je, kromě synchronizace cirkadiánních rytmů s vnější fotoperiodou, detekce poškození systému tunelů, přesněji řečeno detekce míst, kudy do podzemních tunelů vniká světlo^{289,295,298,299}. Zrakový systém těchto zvířat tedy pravděpodobně funguje jako systém včasného varování, který umožňuje podzemním savcům vyhnout se včas predátorům. Laboratorní experimenty vskutku demonstrovaly světlem indukované averzivní chování u tří druhů rypošů čeledi Bathyergidae^{298,300} a u pytlonošů čeledi Geomyidae³⁰¹. Fossoriální hlodavci s převážně podzemní aktivitou mohou mít oči velikostně redukované i srovnatelně velké

s hlodavci žijícími na povrchu^{287,302}. Zrakový systém byl však studován jen u několika málo fossoriálních druhů, konkrétně u slepušek rodu *Ellobius*³⁰³, u kurura druhu *Spalacopus cyanus* a u tukotuka druhu *Ctenomys talarum*³⁰⁴.

Zdaleka nejdetailněji byl prozkoumán zrakový systém u slepce druhu *Spalax ehrenberi* a, rovněž díky našemu přispění, u afrických rypošů čeledi Bathyergidae. Oko slepce je menší než 1 mm, je překryté kůží a má degenerovaný optický aparát, ztratilo tedy schopnost vytváření obrazu, ale může detekovat intenzitu okolního světla^{305,306}. Dominantním fotoreceptorem jsou tyčinky³⁰⁶, čípky exprimují pouze L-opsin³⁰⁷, který je spektrálně posunut výrazně směrem k červené ($\lambda_{\max} = 534 \text{ nm}$), což je pravděpodobně spjaté s podkožním umístěním oka (světlo prochází k sítnici skrze tkáň bohatou na hemoglobin^{308,309}). Optický nerv slepce obsahuje méně než 1000 nemyelinizovaných axonů³¹⁰. Gangliové buňky jsou rovnoměrně rozmístěny po sítnici²⁹⁰ a přibližně 20 % (!) z nich exprimuje melanopsin³¹¹. Melanopsin-exprimující gangliové buňky jsou vnitřně fotosenzitivní, typicky tvoří 1–2 % gangliových buněk^{312,313} a jsou zapojeny do regulace cirkadiálních a cirkanuálních cyklů, pupilárního reflexu, jakož i do kódování intenzity světla pro obrazové vidění^{314–316}. Neobyčejně vysoký podíl melanopsin-pozitivních gangliových buněk u slepce je bezpochyby spjat na jedné straně s hypertrofií zrakových drah zabezpečujících synchronizaci cirkadiálních rytmů s vnější fotoperiodou a regulaci sezónního rozmnožování, na straně druhé se silnou redukcí zrakových drah zodpovědných za obrazové vidění, detekci zrakových stimulů v prostoru a stabilizaci obrazu na sítnici při pohybu^{290,291,317,318}. Primární zraková kůra je silně redukována, ale jasně identifikovatelná; genikulo-striátní dráha vedoucí zrakové informace z talamu vykazuje znaky hrubého topografického uspořádání²⁹¹. Tyto anatomické výsledky jsou však v ostrém rozporu s fyziologickými daty: zrakově evokované potenciály nebyly v okcipitální kůře zaznamenány^{319,320}. Naopak experimenty používající jako marker aktivace spotřebu radioaktivní 2-deoxilukózy odhalily, že okcipitální kortex, kde je lokalizována u vidících savců primární zraková kůra, je aktivován taktilními³²⁰ a akustickými stimuly^{292,321,322}. Abych se vyhnul redundanci, popis zrakového systému rypošů odkládám až na komentář k jednotlivým studiím zařazeným do této části habilitačního spisu.

Temnota podzemního biotopu nejen uvolňuje selekční tlaky na zrakový systém, ale skrze metabolický zisk spojený s redukcí zrakového systému vyvíjí selekční tlak na jeho redukcii^{284,291}. O proximálních mechanismech regrese zrakového systému víme však překvapivě velmi málo. Fakt, že celá pětina gangliových buněk slepce exprimuje melanopsin (viz výše), dokládá, že redukce oka je u tohoto druhu spřažena se selektivní eliminací gangliových buněk zodpovědných za obrazové vidění. Do jaké míry je však možno tento fakt zobecnit, je nejisté. U zrakově se orientujících savců bylo spolehlivě identifikováno kolem 15–20 typů gangliových buněk, nicméně se předpokládá, že jich je okolo 30 (viz přehledová studie³²³). Různé typy gangliových buněk v analýze obrazu vykonávají rozličné úkoly, např. detekci pohybu, barevné vidění, rozlišení tvaru, detekci intenzity světla, a představují tak různé kanály pro zpracování obrazu^{323,324}. U podzemních savců se strukturně normálníma, ale velikostně redukovanými očima je absolutní počet gangliových buněk silně redukován (u studovaných druhů optický nerv obsahuje 2–6 tisíc axonů, viz přehledová studie²⁸⁹; pro srovnání optický nerv myši obsahuje 45–65 tisíc axonů^{325,326}; optický nerv potkana 100–120 tisíc axonů^{327,328}). Vzhledem k tomu, že dosud nebyly gangliové buňky detailně studovány u žádného

podzemního savce (tři typy gangliových buněk byly popsány u rypoše druhu *Heterocephalus glaber*³²⁹), není v současné době možné posoudit, zda je redukce oka spojena se selektivní redukcí určitých typů gangliových buněk a do jaké míry koreluje případná eliminace definovaných typů gangliových buněk se selektivní redukcí jednotlivých funkčních zrakových subsystémů na centrální úrovni. Námi provedená studie (Miklušová et al., v přípravě) naznačuje, že u podzemních savců může být problematická již samotná typizace gliových buněk.

Podobně nejasné jsou mechanismy evolučně fixované kros-modální kompenzace ztráty zraku u podzemních savců. Jak již bylo uvedeno výše, u slepce druhu *Spalax ehrenbergii* byla anatomicky jednoznačně demonstrována existence primární zrakové kůry a její topografické spojení se zrakovými centry talamu²⁹¹. Fyziologické studie však dokládají, že je tato oblast aktivována taktilními³²⁰ a akustickými^{292,321,322}, nikoli zrakovými stimuly^{319,320}. Obdobně jsme jednoznačně anatomicky prokázali existenci primární zrakové kůry u rypošů čeledi Bathyergidae^{295,330} (Miklušová et al. v přípravě). Výsledky funkčních studií jsou nejednoznačné. Zatímco elektrofyziologické studie neodhalily aktivaci okcipitální kůry zrakovými stimuly^{331,332}, s použitím detekce exprese c-Fos jakožto markeru neuronální aktivace bylo demonstrováno, že světelná stimulace po periodě adaptace na tmu vede k aktivaci okcipitální kůry³³³. Tyto zdánlivé rozpory, živící ve své době ostrou kontroverzi (existence vs. neexistence zrakové kůry, somatosenzitivní vs. akustická kompenzace ztráty zraku), se ukázaly být ve shodě s dnešními znalostmi o mechanismu fenotypové plasticity vyvolané smyslovou deprivací (viz přehledová studie např.³³⁴). V rozporu s běžnou představou, že primární senzoričné korové oblasti jsou unimodální, se ukazuje, že v jejich povrchových vrstvách (L2/3) končí kortiko-kortikální projekce z primárních (i vyšších) korových oblastí procesujících jiné smyslové modality (např. A1 → V1, S1 → V1) a tyto modulují jejich aktivitu; k multimodální integraci tedy do jisté míry dochází již na úrovni časného zpracování senzoričné informace (viz např.^{335–337}). Rostoucí množství důkazů naznačuje, že zraková deprivace vede k posílení synapsí vstupů z akustické a somatosenzitivní kůry cestou dlouhodobé potenciace a naopak k oslabení synapsí zrakových vstupů z talamu cestou dlouhodobé deprese (viz přehledová studie³³⁴). Výsledkem je, že zraková kůra procesuje akustickou a somatosenzitivní informaci, zatímco zrakové stimuly mají na její aktivitu minimální vliv, i když anatomicky zůstává zraková dráha (dorzální kolénkové jádro talamu → V1) zachována, tedy přesně situace, kterou pozorujeme u striktně podzemních savců s degenerovaným optickým aparátem. U striktně podzemních savců s normální stavbou oka, u kterých není zraková deprivace úplná, pravděpodobně dochází ve zrakové kůře k multimodálnímu procesování akustické, somatosenzitivní a zrakové informace. Nicméně je třeba zdůraznit, že krom synaptické plasticity dochází u podzemních savců i k výrazné redukci zrakového systému na všech úrovních (sítnice → V1) cestou apoptózy³¹⁷.

Jako student jsem byl přímo fascinován výše uvedenými pracemi o zrakovém systému slepce druhu *Spalax ehrenbergii*. Práce z pera Howarda M. Coopera a Eviatara Neva, podrobně diskutující selekční tlaky zodpovědné za redukci zrakového systému u mikroftalmických savců, mozaikovitou redukci a hypertrofii jednotlivých funkčních subsystémů zrakového systému, efekt redukce periferního senzoričného orgánu na dráhy CNS, kompetitivní interakce mezi populacemi senzoričných neuronů a kros-modální kompenzaci ztráty zraku, ovlivnily mé myšlení na mnoho let.

Nebojím se říci, že pro mne měly přímo iniciační charakter. O to smutnější je fakt, že se, jak už to s nosnými myšlenkami bývá, s postupným opakováním a čím dál větším zobecňováním staly svými vlastními karikaturami. Vskutku Eviatar Nevo si v některých svých pozdějších pracích na téma, co nám říká „celoplanetární přírodní experiment s konvergentní evolucí“ o senzorických adaptacích podzemních savců vystačí s popisem jediného druhu, nepřekvapivě slepce druhu *Spalax ehrenbergii*, a vyvozuje z popsaného obecné závěry^{284,338}. Jedním z důsledků bylo všeobecné přesvědčení, že mikroftalmičtí podzemní savci jsou slepí a používají zbytkový zrak pouze k regulaci cirkadiánních rytmů a sezónní reprodukce.

Dvacátý třetí text zařazený do tohoto spisu (Němec et al. 2007) je abreakcí na tuto situaci. Jde o přehledový článek shrnující naše soudobé znalosti o stavbě a funkci zrakového systému u podzemních savců. Zdůrazněna je značná diverzita uspořádání zrakového systému na všech úrovních organizace (od fotoreceptorů po zrakovou kůru), naznačující různé zrakové schopnosti a adaptace u různých podzemních savců. Zkrácenou verzí tohoto článku, zaměřenou pouze na rýpoše čeledi Bathyergidae, je dvacátá čtvrtá zařazená studie (Němec et al. 2008). Hlavní myšlenkou tohoto článku je, že zrakový systém rýpošů není, kvůli velmi nízké zrakové ostrosti, redukci struktur zodpovědných za lokalizaci zrakových stimulů v prostoru a stabilizaci obrazu na sítnici při pohybu, dobře uzpůsoben pro orientaci na povrchu. Paradoxně však není dobře adaptován ani na vidění za nízkých intenzit světla. Malá čočka, která je neefektivním kolektorem světla, tyčinky s konvenční strukturou jádra (srovnej³³⁹) a vysoký podíl čípků, z nichž většina je maximálně citlivá na modré světlo, to vše jsou znaky, které bychom nečekali u systému vyladěného na vidění za nízkých hladin světla. Navrhli jsme proto, že hlavním úkolem obrazového vidění je u rýpošů detekce poškození systému podzemních tunelů (viz výše). Jedná se také o první článek, ve kterém byla demonstrována přítomnost primární zrakové kůry u rýpošů.

Dvacátý pátý zařazený článek (Peichl et al. 2004) popisuje unikátní vlastnosti fotoreceptorů u tří druhů rýpošů, konkrétně *Fukomys anselli*, *Fukomys mechowii* a *Heterocephalus glaber*. Přibližně 90 % fotoreceptorů tvoří tyčinky, ty mají neobvykle nízké hustoty a velmi široké, avšak krátké vnější světločivé segmenty. Tento znak nenasvědčuje adaptaci na nízké hladiny světla (noční savci mají tyčinky těsně uspořádané a mají dlouhé vnější segmenty, viz např.^{326,340}). Oproti typicky nočním savcům mají rýpoši také nezvykle vysoký podíl čípků ≈ 10 %. Naprosto unikátním znakem rýpoších čípků je, že exprimují většinou tzv. krátkovlnný (SWS, short-wave sensitive) opsin. Přibližně 20 % čípků exprimuje pouze krátkovlnný opsin; 70 % duálních čípků exprimuje silně krátkovlnný a slabě dlouhovlnný (LWS, long-wave sensitive) opsin, jedná se tedy o širokospektrální fotoreceptory s maximem citlivosti v krátkovlnné oblasti; pouhých 10 % čípků exprimuje výlučně dlouhovlnný opsin. Takováto dominance krátkovlnného čípku na celé sítnici nebyla dosud zaznamenána u žádného jiného savce.

Dvacátý šestý zařazený článek (Němec et al. 2004) podrobně popisuje podkorový zrakový systém rýpoše druhu *Fukomys anselli* a odhaluje, že subsystémy zabezpečující různé funkce jsou různě redukovány. Suprachiasmatické jádro a retino-hypotalamická dráha zabezpečující synchronizaci cirkadiánních rytmů s vnější fotoperiodou zůstávají neredukované. Dorzální kolínkové

jádro talamu přepojující informaci ze sítnice do primární zrakové kůry a zabezpečující obrazové vidění (percepce tvaru, detekce pohybu a barevné vidění) je znatelně redukováno (na cca 10–15 % objemu u téhož jádra u myši). Totéž platí i o ventrálním kolénkatém jádru talamu a dvou pretektálních jádrech (tzv. olivary pretectal nucleus a nucleus of the optic tract) zabezpečujících percepci intenzity světla, pupilární reflex, sledování pohybujících se stimulů (tzv. smooth pursuit eye movements) a optokinetický nystagmus. Povrchové, sítnicí inervované vrstvy *colliculus superior* zabezpečující lokalizaci zrakových stimulů v prostoru a řadu optokinetických reflexů (sakadické a vyhledávací pohyby očí, sledování pohybujících se stimulů, fixace pohledu, konvergence očí při zaostření na blízko) a akcesorický optický systém stabilizující obraz na sítnici při pohybu očí a těla jsou téměř zcela redukovány. Při pohybu v systémech není mnoho z těchto funkcí nepotřebných. Zvířata si svým tělem zamezují výhledu dozadu a tunely omezují periferní vidění. Detekce a sledování zrakových stimulů v periferním zrakovém poli je tedy irelevantní. Při absenci orientačních bodů dostupných v otevřeném prostoru zvířata nezažívají vjem optického toku (optic flow) nutný pro stimulaci akcesorického optického systému. Všechny tyto znaky zrakového systému naznačují, že je optimalizován na „vidění v podzemí“. O to překvapivější je, že není uzpůsoben k vidění za nízkých intenzit světla (viz výše).

Dvacátý sedmý zařazený článek (Vega-Zuniga et al. 2017) mapuje podkorový zrakový systém u dvou druhů podzemních hlodavců, kteří pravidelně aktivují nad zemí a jejich zrakový systém není redukován, konkrétně u kurura druhu *Spalacopus cyanus* a u tukotuka druhu *Ctenomys talarum*. Tito hlodavci mají normálně velké oči a jejich zrakový systém je neredukovaný. Velmi překvapivým znakem zrakového systému obou druhů je silná redukce ipsilaterálních projekcí, která je v případě druhého jmenovaného druhu úplná. Na podkorové úrovni dochází tedy jen k minimální nebo žádné integraci informace z obou očí, což prakticky znemožňuje stereoskopické vidění. Tento fakt je o to překvapivější, že oba druhy mají široké binokulární zrakové pole ($\approx 50^\circ$). Tento náález je v rozporu s tradiční představou, že dorzální kolínkové jádro talamu zpracovává informaci z kontralaterální poloviny zrakového pole, a míra křížení retino-tektální dráhy je tak nepřímo úměrná frontalizaci očí. Mechanismus, kterým dochází k takovéto selektivní ztrátě ipsilaterálních projekcí, není jasný.

Dvacátý osmý zařazený článek (Kott et al. 2010) v sérii behaviorálních experimentů, založených na přirozené tendenci rypošů vyhýbat se světlu, demonstruje u dvou druhů, konkrétně *Fukomys mechowii* a *Heliophobius argenteocinereus*, vyhýbání se (photoavoidance) širokospektrému bílému světlu a schopnost rozpoznat modré a zelené, nikoli však ultrafialové a červené světlo. Studie nepřinesla důkazy o schopnosti barevného vidění. Naopak jsme byli schopni demonstrovat aktivní ucpávání tunelů, do kterých proniká světlo. Tento náález je ve shodě s výše zmíněnou hypotézou, že zrak hraje roli v antipredačním chování těchto podzemních hlodavců.

Dvacátý devátý zařazený článek (Kott et al. 2016) testuje funkčnost zraku s pomocí několika základních testů u tří druhů rypošů, konkrétně *Fukomys mechowii*, *Fukomys darlingi* a *Heliophobius argenteocinereus*, u kurura druhu *Spalacopus cyanus* a myši kmene C57L/J. První experiment testoval tzv. visual placing reflex, natažení tlapek těsně před kontaktem s podložkou u zvířat, která

jsou rychle přiblížena směrem k podložce. Zatímco u myši a kurura byl reflex přítomen u všech testovaných zvířat, žádný testovaný rypoš nevykazoval očividnou reakci. Podobně, v tzv. visual cliff experimentu založeném na tom, že je zvíře položeno na centrální plošinu (43 × 15 × 8) a může si vybrat, zda sestoupí do mělké, nebo hluboké poloviny terária, volili rypoši náhodně hlubokou a mělkou stranu, zatímco kururové a myši jednoznačně preferovali mělkou část. Experiment testující, zda směrovou preferenci rypoše obřího *Fukomys mechowii* v kruhové aréně ovlivní přítomnost výrazného zrakového vodítka (bílý obdélník zaujímající 70 úhlových stupňů), nepřinesl konkluzivní výsledky. V souhrnu tyto experimenty demonstrují výrazné zrakové deficity u rypošů (nefunkční obrazové vidění nebo visuo-motorická integrace a neschopnost percepce hloubky, tedy stereoskopického vidění) a normální zrak u kurura.

Třicátý zařazený článek (Kott et al. 2014) shrnuje naše měření propagace světla v arteficiálních a experimentálně otevřených tunelech rypoše druhu *Fukomys anselli*. Tato měření demonstrují, že do otevřeného tunelu proniká pouze 0,2–2,5 % okolního světla a toto světlo během šíření tunelem rychle slábne. Mezopické intenzity světla (tj. takové, kdy k vidění přispívají jak čípky, tak tyčinky) jsou dosaženy ve vzdálenosti několika centimetrů od otvoru, kterým do tunelu vniká světlo. Skotopické intenzity světla (tj. takové, kdy k vidění přispívají jen tyčinky, čípky jsou nefunkční) jsou dosaženy ve vzdálenosti několika metrů od otvoru. Detekce světla tyčinkami v rovných tunelech se zdá být možná na vzdálenosti delší než 100 metrů. Je tedy evidentní, že vzdálenost, na kterou je viditelné poškození tunelu, je limitováno architekturou systému tunelů (větvením, klikatostí), nikoli adaptacemi zrakového systému na nízké hladiny světla. To vysvětluje paradox, že zrakový systém podzemních hlodavců není adaptován na vidění za nízkých intenzit světla (viz výše). Čípky jsou nepostradatelné jen v bezprostředním okolí otvoru, kde jsou tyčinky saturovány a nepřispívají k vidění. Fakt, že modré světlo se šíří tunelem mnohem hůře než světlo delších vlnových délek, silně naznačuje, že dominance krátkovlnných, na modrou část světla citlivých čípků je neadaptivním znakem. Navrhli jsme, že dominance krátkovlnných čípků je mechanistickým důsledkem nízké exprese thyroidního hormonu u rypošů³⁴¹, který, skrze působení na receptor $\beta 2$, reguluje spektrální identitu čípků^{342–345}. Tato hypotéza byla recentně potvrzena³⁴⁶.

CITOVANÁ LITERATURA:

1. *The Oxford Handbook of Invertebrate Neurobiology*, Byrne, J. H. (Ed.), Oxford University Press: New York (2019).
2. *Structure & Evolution of Invertebrate Nervous Systems*, Schmidt-Rhaesa, A., Harzsch, S., Purschke, G. (Eds.), Oxford University Press: Oxford, New York (2016).
3. *Evolutionary Neuroscience*, Kaas, J. H. (Ed.), Elsevier: Waltham (2020).
4. *Evolution of Nervous Systems*, Kaas, J. H. (Ed.) Academic Press, Elsevier: Amsterdam, Boston, (2017).
5. Striedter, G. F.; Northcutt, R. G. *Brains through Time: A Natural History of Vertebrates*; Oxford University Press: New York, NY (2020).
6. Beran, M. J., Parrish, A. E., Perdue, B. M. & Washburn, D. A. Comparative Cognition: Past, Present, and Future. *Int J Comp Psychol* **27**, 3–30 (2014).
7. Güntürkün, O. & Bugnyar, T. Cognition without Cortex. *Trends Cogn Sci* **20**, 291–303 (2016).
8. Pouca, C. V. & Brown, C. Contemporary topics in fish cognition and behaviour. *Curr Opin Behav Sci* **16**, 46–52 (2017).