

ЭМБРИОГЕНЕЗ ВЕРХНЕЙ КОНЕЧНОСТИ: ОТ БУГОРКА ДО СЛОЖНЕЙШЕГО МЕХАНИЗМА

ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Клиника высоких
медицинских технологий им. Н.И. Пирогова, г. Санкт-Петербург

V.I. Zavarukhin

EMBRYOGENESIS OF UPPER LIMB: FROM TUBERCLE TO INCREASINGLY COMPLEX MECHANISM

St. Petersburg State University's Clinic of High Medical Technologies named after N.I. Pirogov,
St. Petersburg, Russian Federation

На протяжении всего своего существования человечество сталкивается с врожденными аномалиями развития конечностей. Однако именно в последние несколько десятков лет за счет успехов в развитии генетики и эмбриологии, понимание причин и механизмов появления врожденных пороков значительно продвинулось вперед. В статье освещены основные механизмы, отвечающие за развитие верхней конечности в норме, нарушения в работе которых ведут к рождению детей с деформациями конечностей.

Ключевые слова: генетика, эмбриология, пороки кисти, врожденные пороки, синдактилия, полидактилия, косорукость, брахидактилия.

Throughout the existence of human race, people face congenital malformations of limbs. However, in the last few decades, owing to the progress achieved in genetics and embryology, the understanding of causes and mechanisms of formation of congenital defects has become much better. The paper considers main mechanisms responsible for the normal development of upper limb, whose malfunctioning leads to the births of children with congenital hand defects.

Key words: genetics, embryology, hand deficiency, congenital defects, syndactyly, polydactyly, clubhand, brachydactyly.

УДК 611.97.013:575.16
doi 10.17223/1814147/67/07

ВВЕДЕНИЕ

Эмбриогенез верхней конечности представляет собой сложную цепочку взаимосвязанных реакций и процессов, понимание которых значительно продвинулось вперед в последние несколько десятилетий и приоткрыло завесу тайны на причины и механизмы образования врожденных пороков развития (ВПР). Хотя тератология (от греч. тератос – чудовище) – наука, изучающая врожденные аномалии, стала зарождаться еще до нашей эры, а в России исследование пороков развития началось с 1718 г., когда императором Петром I был подписан указ о создании «Музея уродливостей», или Кунсткамеры, основные открытия и первые серьезные шаги были сделаны только в XX в.

В 1941 г. австралийский офтальмолог Н.М. Грегг высказал предположение о тесной связи некоторых пороков развития ребенка с перенесенной его матерью краснухой. Это был первый выявленный тератогенный (приводящий

к развитию уродств) фактор [1]. Прошло немногим более десяти лет, и по Европе прокатилась ужасная трагедия, получившая название талидомидной катастрофы, которая стала мощным толчком к изучению причин появления врожденных пороков и пониманию механизмов нормального развития конечности [2, 3], современный взгляд на которые представлен в данной статье. Более подробная информация о талидомидной катастрофе описана в этом номере в статье, посвященной истории развития хирургии врожденных пороков развития кисти.

РАЗВИТИЕ ВЕРХНЕЙ КОНЕЧНОСТИ

Развитие верхней конечности начинается на 4-й нед эмбриогенеза, когда длина эмбриона составляет около 4 мм, а его размеры сопоставимы с рисовым зернышком [4]. Уже на этом этапе на его поверхности путем последовательных процессов – индукции, инициации и роста в форме небольшого бугорка появляется зачаток (или почка) будущей руки. Позиция зачатка конечностей

на поверхности тела эмбриона определяется экспрессией *HOX* генов – ключевых регуляторов эмбриологического развития, действующих через транскрипционные факторы *Tbx5* для верхней и *Tbx4* – для нижней конечности. Опыты, проведенные на куриных эмбрионах, подтвердили влияние данных морфогенов на определение позиции и типа конечности (рис. 1) [5–9]. Зачаток конечности представляет собой скопление недифференцированных клеток мезенхимы (мезодермы), покрытых тонким эпителиальным слоем (эктодермой). В течение последующих 4 нед происходит быстрое развитие зачатка, и к концу 8-й нед, когда длина эмбриона достигает 22 мм, развитие завершается, и маленькая рука имеет все отделы, представленные у новорожденного

ребенка. Именно период с 4-й по 8-ю нед принято считать критическим в эмбриогенезе верхней конечности, ведь именно в нем любое влияние извне способно нарушить тонко настроенный механизм, отвечающий за создание столь сложной и совершенной части человеческого тела [10].

Современный уровень развития молекулярной биологии и эмбриологии пролил свет на многие процессы, управляющие развитием верхней конечности на молекулярном уровне. В ходе исследований было установлено, что за ростом конечности в каждом направлении трехмерного пространства отвечают отдельные механизмы, управляемые сигнальным центром (рис. 2, таблица), которые будут рассмотрены более подробно ниже.

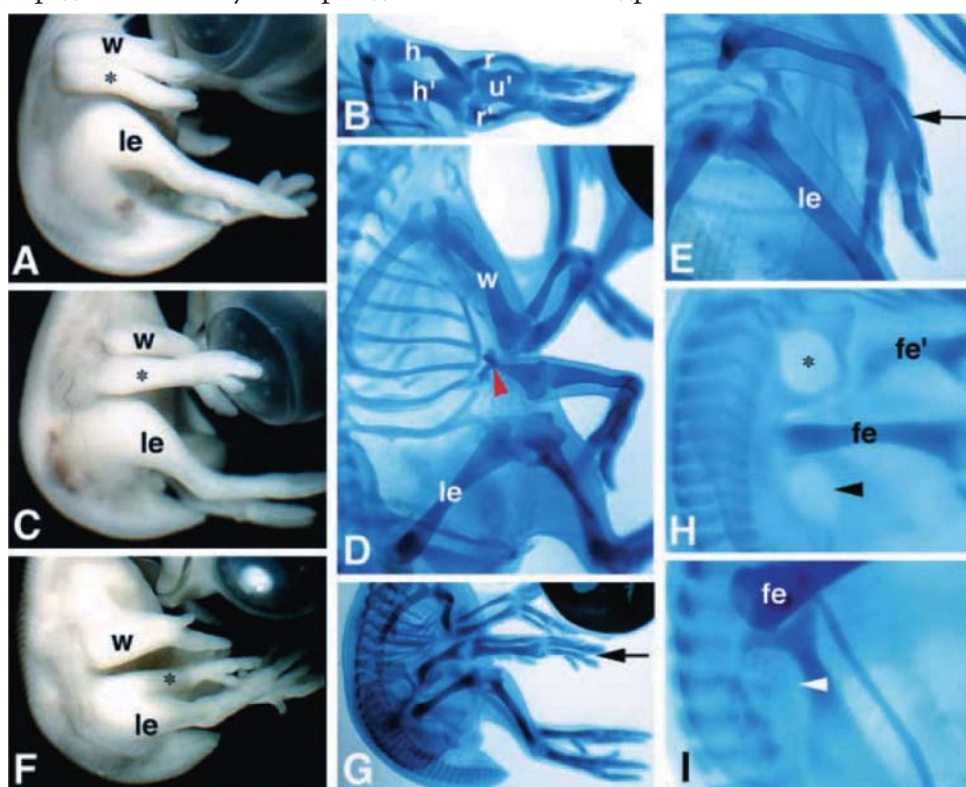


Рис. 1. Опыты с индуцированной фактором роста фибробластов эктопической конечностью у куриного эмбриона: А, В, Е – индуцированная эктопическая конечность находится в зоне экспрессии *Tbx5*, ее строение имеет основные черты крыла, рядом с которым она располагается; С, D, H – эктопическая конечность, находящаяся посередине туловища, в зоне перехода экспрессии *Tbx5*–*Tbx4* и имеет черты, присущие как крылу, так и ноге эмбриона; F, G, I – эктопическая конечность, расположенная рядом с ногой эмбриона, в зоне экспрессии *Tbx4* приобретает черты задней конечности; w – wing (крыло); le – leg (нога); * – эктопическая конечность; h – humerus (плечо); r – radius (лучевая кость); u – ulna (лучевая кость); fe – femur (бедро). Фотографии из статьи Н. Ohuchi et al., 1998 [8]

Сигнальные центры, отвечающие за направления развития верхней конечности в эмбриогенезе

Направление роста	Сигнальный центр	Ответственная субстанция	Аномалии
Проксимально-дистальное	Апикальный эктодермальный гребень (AER)	Фактор роста фибробластов (FGF)	Поперечные дефекты
Передне-заднее	Зона поляризующей активности (ZPA)	Протеин Sonic hedgehog (<i>Shh</i>)	Зеркальная кисть, полидактилии
Дорсально-вентральное	Путь Wnt	Транскрипционный фактор	Patella-nail синдром, дорсальная димелия

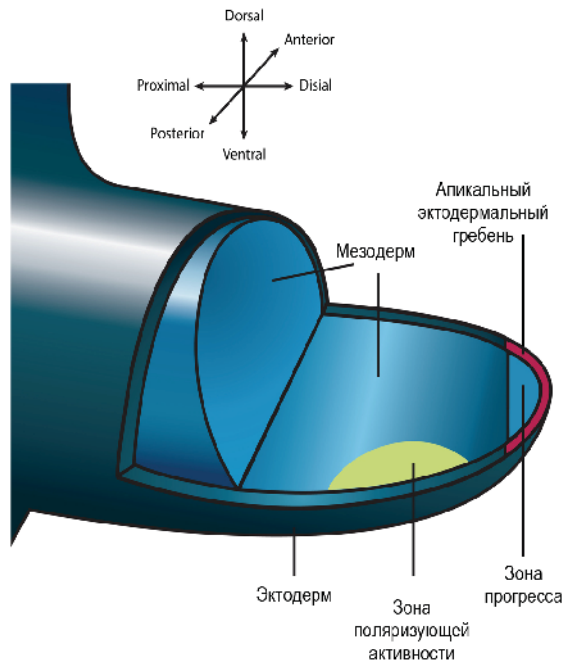


Рис. 2. Схематическое изображение зачатка конечности с обозначенными на нем апикальным эктодермальным гребнем (AER) и зоной прогресса (PZ), отвечающими за развитие в проксимально-дистальном направлении. Зона поляризующей активности (ZPA), находящаяся по задней (ульнарной) поверхности, отвечает за дифференциацию в передне-заднем направлении

Развитие в проксимально-дистальном направлении, или продольный рост конечности, является результатом работы апикального эктодермального гребня (apical ectodermal ridge – AER), представляющего собой тонкий слой эктодермы (рис. 3), покрывающий край зачатка будущей верхней конечности на стыке дорсальной и вентральной эктодермы [11]. Рост AER приводит к последовательному формированию отделов, называемых у эмбриона стилоподом (будущее плечо), зигоподом (предплечье) и аутоподом (кисть). Реализация действия AER происходит за счет вырабатываемого им фактора роста фибробластов (Fibroblast Growth Factor – FGF), сигналы которого передаются в подлежащую мезодерму и поддерживают ее клетки в недифференцированном состоянии, стимулируют пролиферацию и защищают от апоптоза. Проведенные в лабораторных условиях опыты по удалению AER приводили к остановке роста конечности и образованию поперечных дефектов.

При образовании таких пороков у детей, причина кроется не в отсутствии AER как такового, а в нарушении его работы, чаще всего вследствие ишемии. Данные виды поперечных дефектов в подавляющем большинстве случаев являются спорадическими и не передаются по наследству.

Частичные дефекты AER во время формирования аутопода приводят к расщеплению на кистях (и стопах), например при мутации в гене *TP63*, кодирующем протеин, необходимый для сохранения целостности AER [3].

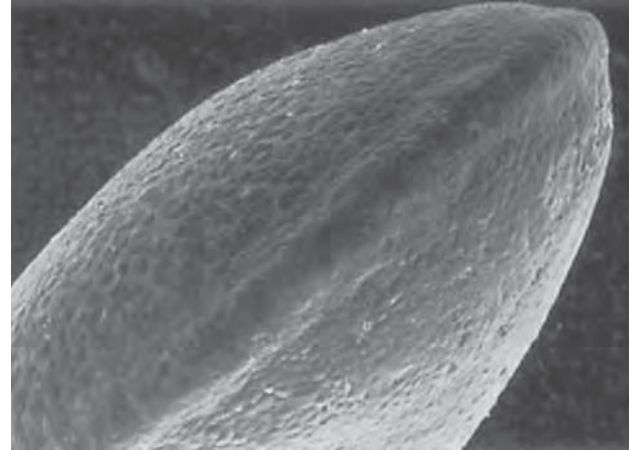


Рис. 3. Электронная микрофотография зачатка конечности. Визуализируется апикальный эктодермальный гребень, проходящий в виде «вала» по стыку дорсальной и вентральной поверхности зачатка (R.O. Kelley, J.F. Fallon, 1976) [12]

Передне-заднее (радио-ульнарное, или пре-аксиально-постаксиальное) направление развития контролируется зоной поляризующей активности (ZPA) и морфогеном, называемым Sonic hedgehog (*Shh*). Позднее в механизме дифференциации радио-ульнарного направления был выявлен антагонист *Shh* – глиома связанный онкоген *GLI3*. Зона поляризационной активности локализуется по локтевому краю формирующейся конечности, и развитие структур в радио-ульнарном направлении идет соответственно принципу концентрации: чем она меньше, тем более радиальный характер дифференциации присутствует у растущих структур.

Опыты с пересадкой донорского участка *Shh* на радиальную поверхность зачатка конечности приводили к порочному формированию с образованием центральной продольной оси симметрии, с двух сторон от которой располагалась локтевая кость и трехфаланговые пальцы [13]. Радиальные структуры, такие как первый палец и лучевая кость, в этой ситуации не развивались вовсе в связи с равномерно высокой концентрацией морфогена по всей конечности (рис. 4). Проведенные исследования дают все основания предполагать, что именно с нарушением указанного механизма связано образование редкого порока развития, называемого «ульнарной димелией», или «зеркальной кистью» [5].

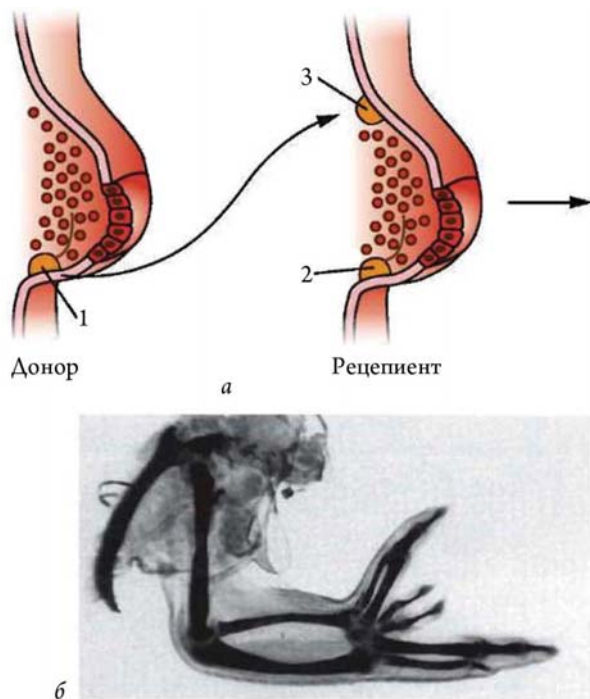


Рис. 4. Схема эксперимента (а) с пересадкой донорского участка зоны поляризующей активности (1) на переднюю (радиальную) часть (3) зачатка конечности приводит к формированию продольно симметричной конечности (б) с недоразвитием радиальных структур

Развитие в дорсально-вентральном направлении контролируется сигнальным путем Wnt. Данный механизм имеет важное значение в дифференциации скелетной мускулатуры конечности на вентральные мышцы – сгибатели и дорсальные мышцы – разгибатели. Небольшие нарушения в работе этого механизма проявляются редкими пороками развития – синдромом nail-patella и дорсальной димелией, характеризующейся отсутствием ладонной поверхности пальца с замещением ее удвоенной тыльной поверхностью. При этом палец с двух сторон выглядит одинаково – и по тылу и по ладони имеется ногтевая пластинка. У взрослых сигнальный путь Wnt принимает участие в развитии онкологических заболеваний [3, 10].

ФОРМИРОВАНИЕ СКЕЛЕТА КОНЕЧНОСТИ

Вскоре после формирования зачатка конечности клетки-предшественники образующих хрящ клеток скапливаются в центре конечности, формируя центр окостенения, а другие клетки, формирующие соединительную ткань, располагаются по периферии. Данный механизм управляется факторами FGF и Wnt. С дальнейшей дифференциацией этих клеток в хондроциты и остеобласты, начинается процесс образования

скелета конечности. Процесс образования хрящевой модели конечности идет в проксимально-дистальном направлении, начинаясь с плечевой кости на 36-й день и заканчиваясь фалангами пальцев на 50-й. Формирование суставов происходит в результате локального угнетения процессов хондрогенеза в местах образования будущих суставов. Ведущим процессом в разграничении формирующейся кости на два участка с образованием сустава является физиологически запрограммированная гибель клеток. Процесс образования полости сустава называется кавитацией, после нее следует этап формирования синовиальных оболочек сустава [14]. Именно с нарушениями процессов кавитации связано появление различных вариантов врожденных синостозов (радио-ульнарный, плече-лучевой, симфалангизм и др.). Первым, на 36-й день, формируется плечевой сустав, последними – на 47-й день – мелкие суставы кисти [5].

МЫШЕЧНЫЙ ЭМБРИОГЕНЕЗ

Мышечный эмбриогенез верхней конечности является результатом скоординированных усилий между сегмент-специфичным зачатком сухожилий, мигрирующими миоцитами и мигрирующими мотонейронами. Развитие мускулатуры проходит три стадии. Эмбриональный миогенез формирует основные мышечные массивы и основные мышечные слои. Вторая волна миогенеза наступает со вторичными миофибриллами, окружающими первичные мышечные волокна, и формирует основную мышечную массу, представленную при рождении. И, наконец, сателлитные клетки, которые поселяются в базальной мембране, окружающей миофибриллы, будут способствовать постнатальному росту и регенерации. В раннем периоде формирования зачатка конечности мезодерма конденсируется с образованием проксимального зачатка сухожилия, который в дальнейшем будет служить каркасом для миграции миоцитов. Мышцы формируются в проксимально-дистальном направлении, а на предплечье дифференциации глубоких слоев предшествует дифференциация поверхностных мышечных слоев [5, 15].

РАЗВИТИЕ СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

Одним из первых заметных изменений является развитие большого кровеносного сосуда (маргинальной вены), который проходит как раз под утолщением эктодермы на кончике зачатка конечности, называемого апикальным эктодермальным гребнем. В дальнейшем при росте конечности в длину ее дистальный отдел разделит маргинальную вену на *v. cefalica* и *v. basilica*.

Постепенное формирование примитивной капиллярной сети начинается практически сразу после начала роста зачатка верхней конечности (рис. 5).

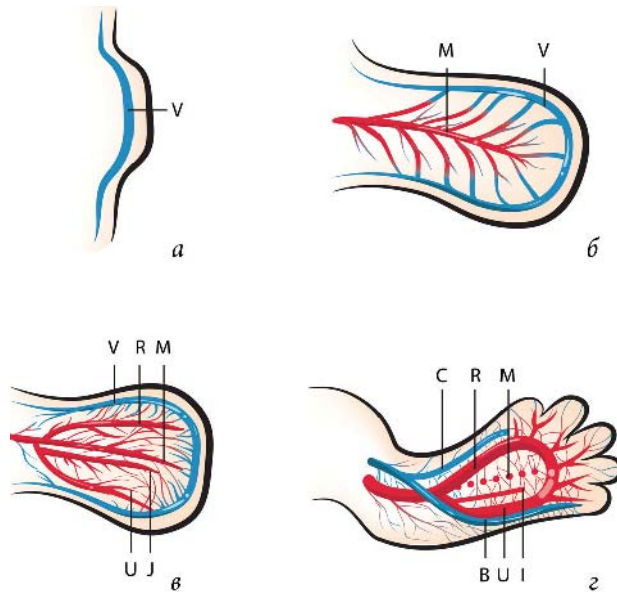


Рис. 5. Развитие сосудистой системы верхней конечности. V – маргинальная (краевая) вена, проходящая вдоль апикального эктодермального гребня (а–в). Из нее формируются C – *v. cefalica* и B – *v. basilica* (з). M – *a. mediana* (б, в) – основной осевой сосуд, который после развития – межкостной (I), локтевой (U) и лучевой артерии (R) редуцируется

К 32-му дню капилляры сливаются в проксимальном отделе в центральную артерию, которая впадает в дорсальную аорту эмбриона. В дальнейшем идет развитие артерии в проксимально-дистальном направлении с формированием подключичной, подмышечной, плечевой и срединной артерий. Развитие по локтевой стороне предшествует дифференциации по лучевому краю и, пока примитивная капиллярная сеть сливается в дистальном отделе с лучевой артерией, локтевая артерия уже образует на уровне кисти дугу, в которую затем включится лучевая артерия через капиллярную сеть. После этого происходит дегенерация срединного артериального сосуда, который в дальнейшем будет выполнять лишь роль коммитантной срединному нерву артерии [5, 15].

РАЗВИТИЕ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

Развитие нервной системы отстает от мышечной миграции и включает развитие чувствительных и двигательных нейронов. Моторные нейроны формируются рано во время развития спинного мозга под воздействием морфогена *Shh*. Моторные нейроны начинают секретировать целую комбинацию транскрипционных

факторов (например, *Hb9/Mnx1*, *Lhx3/4*), которые способствуют миграции мотонейронов в разные пучки в спинном мозге и направляют их аксоны к определенным мышечным группам.

Сенсорные отростки сопровождают аксоны моторных нейронов в развивающуюся конечность. Тело сенсорных нейронов располагается в спинномозговых ганглиях, которые развиваются из клеток нервного гребня [5, 15].

ФОРМИРОВАНИЕ СТРУКТУР КОНЕЧНОСТИ

После появления, на 27-й день эмбриогенеза, зачаток конечности постепенно удлиняется и уплощается, приобретая к 33–38-му дню веслообразную форму за счет механизмов дифференциации и апоптоза (рис. 6). С 39-х сут начинается постепенное разделение пальцев, которое завершается на 52-й день (рис. 7).

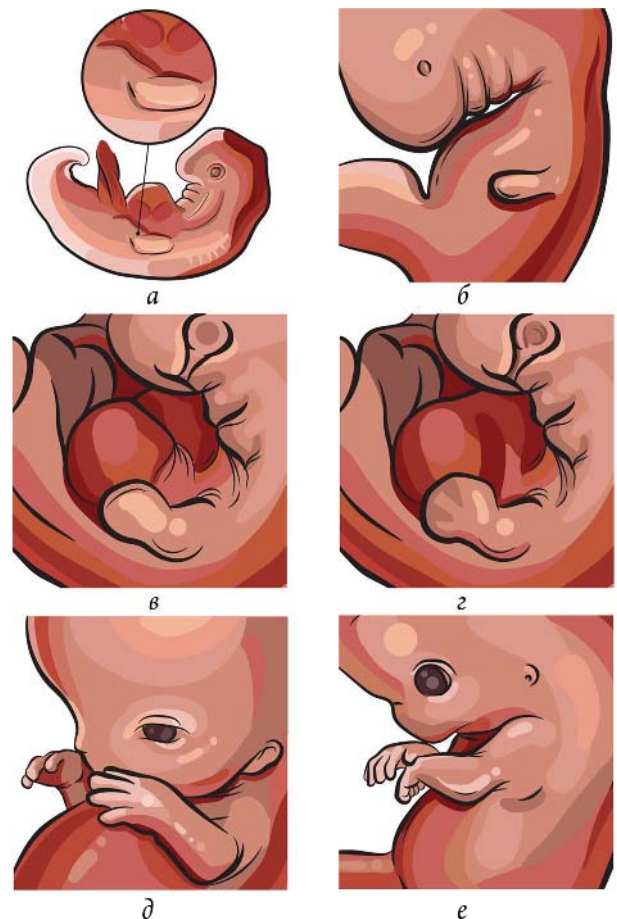


Рис. 6. Развитие верхней конечности эмбриона: а – 4-я нед эмбриогенеза, на поверхности тела эмбриона появляется зачаток будущей конечности; б – постепенное увеличение зачатка конечности, его уплощение; в, г – увеличение размеров будущей конечности, появление пластины кисти; д – формирование локтевых суставов и сгибание в них; е – переkreщенные руки ложатся на переднюю поверхность грудной клетки

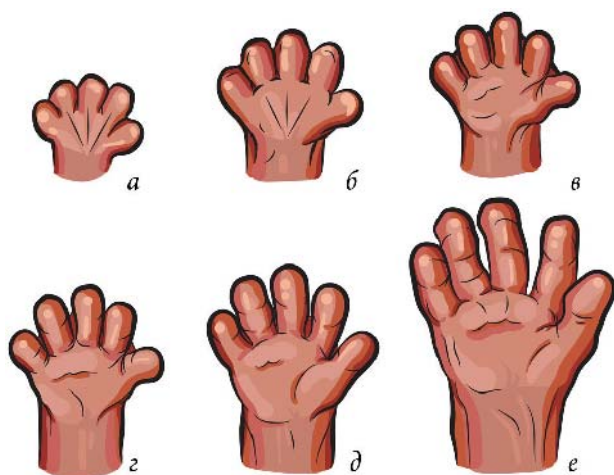


Рис. 7. Развитие кисти. Происходит за счет постепенного апоптоза клеток в пространстве между пальцами: а – внешний вид кисти эмбриона на 39-й день эмбриогенеза; б–д – постепенное разделение пальцев за счет продолжения продольного роста в сочетании с межпальцевым апоптозом; е – вид кисти к 52-му дню эмбриогенеза

При нарушении процессов апоптоза в этот период разделения пальцев не происходит, и образуется синдактилия. Доказанными факторами, приводящими к появлению синдактилии, являются курение матери на критическом для верхней конечности сроке (4–8-я нед), а также прием нестероидных противовоспалительных препаратов. На 49-й день происходит медиальный

поворот конечности на 90° и формируется изгиб в локтевом суставе, а к 8-й нед руки эмбриона, перекрещиваясь, встречаются на передней поверхности грудной клетки (рис. 6, е) [15].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нарушения в работе всех описанных механизмов приводят к появлению врожденных пороков развития. Основными причинами, вызывающими такие пороки, являются:

- спонтанные мутации генетического материала;
- наследование аномальных генов;
- инсульт разной степени выраженности при росте зачатка конечности;
- образование амниотических тяжей вокруг плода (синдром амниотических перетяжек).

Понимание механизмов развития пороков позволило в 2015 г. пересмотреть общепринятую в мире с 1976 г. классификацию врожденных аномалий развития верхних конечностей по Swanson и принять новую – классификацию ОМТ [16].

Конфликт интересов. Автор декларирует отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Источник финансирования. Автор заявляет об отсутствии финансирования при проведении исследования.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Webster W.S. Teratogen update: congenital rubella. *Teratology*. 1998; 58: 13–23.
2. Википедия – свободная энциклопедия [Электронный ресурс]. URL: <https://ru.wikipedia.org/wiki/Талидомид> (дата обращения: 03.01.2017).
3. Mundlos S., Horn D. *Limb malformations. An atlas of Genetic Disorders of Limb Development*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2014: 267 p.
4. Zaleske D.J. Development of the upper limb. *Hand Clin*. 1985; 1: 383–390.
5. Al-Qattan M., Al-Thunayan A., De Cordier M. et al. Classification of the mirror hand- multiple hand spectrum. *J. Hand Surg*. 1998; 23B (4): 534–536.
6. Minguillon C., Nishimoto S., Wood S. et al. Hox genes regulate the onset of Tbx5 expression in the forelimb. *Development*. 2012; 139: 3180–3188.
7. Nishimoto S., Wilde S.M., Wood S. RA Acts in a Coherent Feed-Forward Mechanism with Tbx5 to Control Limb Bud Induction and Initiation. *Cell Reports*. 2015; 12 (5): 879–891.
8. Ohuchi H. et al. Correlation of wing-leg identity in ectopic FGF-induced chimeric limbs with the differential expression of chick Tbx5 and Tbx4. *Development*. 1998; 125: 51–60.
9. Rodriguez-Esteban C., Tsukui T., Yonei S. et al. The T-box genes Tbx4 and Tbx5 regulate limb outgrowth and identity. *Belmonte Nature*. 1999; 398: 814–818.
10. Kozin S.H. Embryology of Congenital Differences. *J. Pediatr. Orthop*. 2010; 30 (2): S31–S34.
11. Johnson R.L., Tabin C.J. Molecular models for vertebrate limb development. *Cell*. 1997; 90: 979–990.
12. Kelley R.O., Fallon J.F. Ultrastructural analysis of the apical ectodermal ridge during vertebrate limb morphogenesis. II. Gap junctions as distinctive ridge structures common to birds and mammals. *Dev Biol*. 1976; 51: 241–256.
13. Saunders J.W., Gasseling M.T. Ectodermal-mesenchymal interactions in the origin of limb asymmetry. In: Fleischmeyer R., Billingham R.E., ed. *Epithelial mesenchymal interactions ed*. Baltimore: Williams & Wilkins. 1968: 78–97.

14. Moskaleski S., Нус А., Jankowska-Steifer E., Osiecka-Iwan A. Formation of synovial joints and articular cartilage. *Folia Morphol.* 2013; 72 (3): 181–187.
15. Mooney A.E.K., Editor C., Molnar J.A. *Hand Embryology: Gross Morphologic Overview of Upper Limb Development*. Medscape [Электронный ресурс]. URL: emedicine.medscape.com/article/1287982-overview. 2013: 1–7 (дата обращения: 03.01.2017).
16. Tonkin M.A., Oberg K.C. The OMT Classification of Congenital Anomalies of the Hand and Upper Limb. *Hand Surgery*. 2015; 20 (03): 336–342.

Поступила в редакцию 07.09.2018

Утверждена к печати 25.10.2018

Автор:

Заварухин Владимир Иванович – канд. мед. наук, врач травматолог-ортопед, пластический хирург, зав. отделением травматологии № 3 СПбГУ Клиники высоких медицинских технологий им. Н.И. Пирогова (г. Санкт-Петербург).

Контакты:

Заварухин Владимир Иванович

тел.: 8-921-882-03-32

e-mail: zavarukhin.md@gmail.com

Conflict of interest

The author declare the absence of obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this paper.

Source of financing

The author state that there is no funding for the study.

Information about author:

Zavarukhin Vladimir I., Cand. Med. Sci, Orthopedic Traumatologist, Plastic Surgeon, Head of Traumatology Department No. 3, St. Petersburg State University's Clinic of High Medical Technologies named after N.I. Pirogov, St. Petersburg, Russian Federation.

Corresponding author:

Zavarukhin Vladimir I.

Phone: +7-921-882-03-32

e-mail: zavarukhin.md@gmail.com