

*На правах рукописи*

Меркулова Ксения Михайловна

РАЗВИТИЕ ЧЕРЕПА ХВОСТАТЫХ АМФИБИЙ И РОЛЬ ТИРЕОИДНЫХ  
ГОРМОНОВ В ЕГО РЕГУЛЯЦИИ

03.02.04 – зоология

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Москва-2011

Работа выполнена в лаборатории проблем эволюционной морфологии  
Учреждения Российской академии наук Института проблем экологии и  
эволюции им. А.Н. Северцова РАН

Научный руководитель: доктор биологических наук  
Смирнов Сергей Васильевич

Официальные оппоненты: доктор биологических наук,  
профессор Васильев Борис Дмитриевич

кандидат биологических наук  
Смирина Элла Моисеевна

Ведущая организация: Учреждение Российской академии наук  
Зоологический институт РАН

Защита состоится 25 октября 2011г. в 14.00 на заседании диссертационного  
совета Д 002.213.01 при Учреждении Российской академии наук Институте  
проблем экологии и эволюции им. А.Н. Северцова РАН по адресу: 119071,  
Москва, Ленинский проспект, д. 33, тел./факс: 8 (495) 952 35 84, [www.sevin.ru](http://www.sevin.ru),  
e-mail: [zashita@sevin.ru](mailto:zashita@sevin.ru)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ОБН РАН по адресу:  
119071, Москва, Ленинский проспект, д. 33.

Автореферат разослан 23 сентября 2011г.

Ученый секретарь совета по защите  
докторских и кандидатских диссертаций

кандидат биологических наук



Е.А. Кацман

## Общая характеристика работы

### Актуальность работы.

Череп хвостатых амфибий – традиционный объект исследования, привлекающий внимание морфологов, палеонтологов, систематиков и эволюционистов. Данные по строению и развитию черепа используются для анализа закономерностей эволюционных преобразований (Лебебкина, 1979), изучения механизмов регуляции онтогенеза (Медведева, 1975; Devillers, Corsin, 1968), диагностики видов (Wake, 1966) и реконструкции филогенетических связей (Шмальгаузен, 1964; Trueb, Cloutier, 1993). Развитие черепа у хвостатых амфибий – видоспецифический процесс: краниальные окостенения появляются в строгой, присущей данному виду, последовательности. Порядок появления костей настолько постоянен, что используется в филогенетическом анализе (Wake, 1999) и при реконструкции эволюционного становления отряда Urodela (Schoch, Carroll, 2009). Регуляторные механизмы, ответственные за поддержание этой последовательности, не ясны. Экспериментальными методами показано, что время появления костей может зависеть от времени появления структур, индуцирующих их развитие (Медведева, 1975; Лебебкина, 1985 и др.), т.е., имеют место межтканевые индукционные взаимодействия. Однако, этот механизм регуляции присущ лишь отдельным краниальным элементам, и степень индукционной зависимости варьирует у представителей разных форм (Лебебкина, 1979, 1985; Медведева, 1975, 1985). Другим механизмом, принимающим участие в регуляции краниогенеза, является эндокринная индукция, ведущую роль в которой играет тиреоидная ось, в том числе – гормоны щитовидной железы (тиреоидные гормоны, ТГ). ТГ играют важную роль в онтогенезе хвостатых амфибий, индуцируя многие онтогенетические события. Изменения в активности тиреоидной оси влияют на сроки и темпы морфогенетических процессов и вызывают гетерохронии, являющиеся одним из ведущих механизмов эволюционных преобразований амфибий (Рэфф, Кофмен, 1986). Эти изменения сыграли важную роль в эволюции Urodela, в том числе – в становлении неотенических семейств хвостатых амфибий (Dent, 1968) и в переходе к прямому развитию (Смирнов, 2008) – эволюционных событиях, сопровождавшихся изменениями в краниогенезе и дефинитивном строении черепа. Экспериментальными методами показано, что в краниогенезе Urodela ТГ индуцируют метаморфные преобразования черепа и появление некоторых окостенений (Смирнов, Васильева, 2002, 2005; Dundee, 1957; Rose, 1995). Как гипотеза, выдвинута модель эндокринной регуляции развития черепа Urodela (Rose, 1996, 2004), согласно которой, последовательность появления костей задается взаимодействием двух факторов – уровнем гормона и

чувствительностью кости к нему. При этом предполагается, что чувствительность кости к гормону в целом одинакова у разных саламандр и не изменяется в эволюции Urodela, тогда как изменяется гормональный профиль, и различия в нем ответственны за различия в развитии и строении черепа хвостатых амфибий.

Безоговорочному признанию этой модели препятствует ряд обстоятельств. Во-первых, модель основывается на априорном предположении, что все краниальные окостенения в своем развитии зависят от ТГ, тогда как, с одной стороны, неизвестна роль ТГ в регуляции раннего краниогенеза, в течение которого появляется большая часть костей черепа Urodela, а с другой - есть данные, указывающие на то, что некоторые краниальные окостенения в своем развитии могут не зависеть от ТГ (Smirnov, Vassilieva, 2002, 2005). Во-вторых, модель основывается на априорном предположении, что одинаковые окостенения у разных саламандр в равной степени зависят в своем развитии от ТГ и степень зависимости не меняется в эволюции Urodela, тогда как есть данные, указывающие на то, что одни и те же окостенения у разных форм хвостатых амфибий могут различаться по степени зависимости от ТГ (Smirnov, 2006). В-третьих, модель абсолютизирует роль ТГ и игнорирует данные об участии в регуляции краниогенеза других механизмов, в частности – межклеточных индукционных взаимодействий. И, наконец, модель недостаточно подтверждена экспериментальными данными, в частности – данными, показывающими влияние изменений активности тиреоидной оси на дефинитивную морфологию черепа хвостатых амфибий.

Таким образом, несмотря на несомненное участие ТГ в регуляции развития черепа хвостатых амфибий, роль ТГ в морфогенезе и эволюции черепа Urodela до настоящего времени оставалась малоизученной.

### **Цель и задачи исследования.**

Цель работы - экспериментальное исследование роли тиреоидных гормонов в регуляции краниогенеза в онто- и филогенезе Urodela. Для достижения этой цели были поставлены следующие **задачи**:

1. Сравнить последовательность и время появления костей черепа в онтогенезе представителя примитивного семейства Hynobiidae, *Salamandrella keyserlingi* при развитии в условиях нормального, повышенного и пониженного уровня ТГ.

2. Сравнить последовательность и время появления костей черепа в онтогенезе представителя эволюционно-продвинутого семейства Salamandridae, *Pleurodeles waltl*, при развитии в условиях нормального, повышенного и пониженного уровня ТГ.

3. На основе синтеза полученных результатов и литературных данных проанализировать роль ТГ в регуляции краниогенеза в индивидуальном развитии Urodela.

4. Сопоставить роль ТГ в регуляции краниогенеза у представителей семейств разного эволюционного уровня и проанализировать эволюцию регуляторной роли ТГ в филогенезе Urodela.

5. На основе оригинальных экспериментальных данных оценить возможное влияние изменений активности тиреоидной оси на краниогенез и дефинитивную морфологию черепа Urodela.

### **Научная новизна.**

Впервые изучена роль тиреоидных гормонов в регуляции раннего морфогенеза костного черепа хвостатых амфибий.

Впервые экспериментальным путем доказано, что наиболее ранние этапы развития костного черепа Urodela практически не зависят от тиреоидных (в том числе материнских) гормонов.

Впервые экспериментальным путем показано, что количество костей в дефинитивном черепе может изменяться в зависимости от уровня ТГ.

Выявлена динамика изменений механизмов регуляции морфогенеза краниальных окостенений в онтогенезе амфибий. Показано, что в ходе индивидуального развития уменьшается роль межтканевых взаимодействий в регуляции краниогенеза и возрастает роль эндокринной индукции.

Доказана практическая применимость амиодарона для экспериментального исследования роли ТГ в онтогенезе амфибий.

### **Теоретическое и практическое значение.**

Результаты работы имеют значение для понимания механизмов формообразования скелетных структур Urodela. Полученные данные могут быть использованы при подготовке лекционных курсов и пособий по сравнительной анатомии, биологии развития и зоологии позвоночных, а также при реконструкции филогенетических связей внутри отряда.

### **Апробация работы.**

Материалы исследований были представлены на конференциях молодых сотрудников и аспирантов ИПЭЭ РАН «Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых ученых» (Москва, 2008, 2010), на IV Съезде Герпетологического Общества им. А.М. Никольского (Казань, 2009), на Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» (Москва, 2011), VI Международной конференции

Украинского Герпетологического Общества (Киев, 2011) и на заседаниях морфологического семинара ИПЭЭ РАН (2010-2011).

### **Публикации.**

По теме работы опубликовано 5 статей, из них 2 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК и 2 статьи находится в печати.

### **Структура и объем работы.**

Диссертация общим объемом 236 страниц состоит из введения, четырех глав, выводов, списка цитированной литературы, включающего 154 работы, из которых 138 на иностранных языках, и приложения. Иллюстративный материал включает 58 рисунков и 24 таблицы.

### **Благодарности.**

Автор выражает глубокую благодарность своему научному руководителю С.В. Смирнову за всестороннюю помощь при выполнении данной работы, Э.И. Воробьевой, Н.Н. Иорданскому, Е.И. Наумовой, А.Б. Савинецкому, М.В. Холодовой, О.Ф. Черновой и М.И. Шатуновскому за внимательное ознакомление с моей работой, за консультации, ценные советы, замечания и рекомендации. Искренняя признательность Д.В. Щепоткину и В.Г. Петросяну за оказанную помощь в статистической обработке результатов и А.Б. Васильевой – за предоставленные материалы.

Настоящее исследование поддержано грантами РФФИ (07-04-00141а и 10-04-00787а) и Президента РФ для поддержки Ведущих Научных Школ НШ-2210.2008.4

## **Содержание работы**

### **Глава 1. Обзор литературных данных.**

Приводится информация по дефинитивному строению костного черепа Urodela; рассматриваются особенности строения и развития черепа у метаморфизирующих и неотенических постоянножаберных саламандр, а также у форм, перешедших к прямому развитию; приводятся данные по последовательности появления окостенений черепа; рассматриваются особенности морфогенеза отдельных костей (в частности, количество центров окостенения, участвующих в их формировании); приводятся данные по механизмам регуляции развития черепа (в частности, рассматриваются морфогенетическая, на основе межтканевых взаимодействий, и эндокринная

индукции); освещены результаты экспериментальных работ по изучению роли тиреоидных гормонов в регуляции морфогенеза черепа и онтогенеза в целом у Urodela; приводятся данные по строению, метаболизму, принципам работы тиреоидных гормонов и динамике изменений их уровня (гормональный профиль) в разные периоды онтогенеза.

## Глава 2. Материал и методы.

В качестве основных объектов исследования были выбраны сибирский углозуб (*Salamandrella keyserlingi*) и испанский тритон (*Pleurodeles waltl*) – представители соответственно примитивного (Hynobiidae) и эволюционно-продвинутого (Salamandridae) семейств Urodela. Дополнительный материал был получен при просмотре экспериментальных серий по *Triturus vulgaris* (Salamandridae), частично описанных ранее (Smirnov, Vassilieva, 2003). Развитие черепа изучали на возрастных сериях личинок и постметаморфозных животных.

Личинки *S. keyserlingi* были получены из икры, собранной в окрестностях Екатеринбурга (в 2000г.) и Томска (в 2001г.) и инкубированной в лабораторных условиях. Личинки *T. vulgaris* и *P. waltl* были получены из кладок икры, отложенной в лабораторных условиях – соответственно в 2001, 2003 и 2008 – 2010 гг. Зародышей и личинок содержали при комнатной температуре при естественном освещении. Животных регулярно фиксировали в нейтральном 10% формалине и тотально окрашивали спиртовым раствором ализарина красного С. В ряде случаев использовали двойную окраску на кость и хрящ, окрашивая животных ализарином красным и альцианом синим.

Окрашенные препараты просветляли 2-4% раствором КОН и изучали под биноклем Olympus SZx9 (Japan). Всего было исследовано более 200 потомков от одной пары производителей *P. waltl* и более 200 – от другой, а также около 300 экземпляров *S. keyserlingi*.

Стадии развития личинок определяли по таблицам нормального развития для *P. waltl* (таблица Гальена и Дюроше из: Васецкий, 1975) и *S. keyserlingi* (Сытина и др., 1987).

При изучении краниогенеза сроки и последовательность появления костей оценивались по стадиям и времени (дни после оплодотворения – дпо – и дни после вылупления – дпв) их массового возникновения у особей каждой экспериментальной группы.

Для исследования роли ТГ в развитии черепа морфогенез последнего был изучен у животных, развивавшихся в условиях нормального, повышенного и пониженного уровня ТГ.

Для исследования развития черепа *P. waltl* в условиях повышенного уровня ТГ животных содержали в щелочном растворе трийодтиронина (Т<sub>3</sub>) следующих

концентраций: 1 нг/мл; 2 нг/мл; 4 нг/мл; 10 нг/мл. С использованием этих концентраций была проведена серия экспериментов, в ходе которых изменялись время начала и окончания воздействия гормоном, продолжительность воздействия и возраст (стадия) животных, на которых воздействовали ТГ.

При изучении морфогенеза черепа в нормальных условиях выяснилось, что многие кости формируются вскоре после выхода личинки из икры и так быстро, что экзогенный ТГ может не «успеть» оказать на них какое-либо влияние. В то же время было обнаружено, что содержание личинок при пониженной температуре резко замедляет онтогенез в целом и краниогенез в частности. Соответственно, в таких условиях при добавлении экзогенного ТГ продолжительность его воздействия и период возможной реакции кости на это воздействие увеличиваются. Поэтому был исследован краниогенез у личинок *P. waltl*, содержащихся в 10 нг/мл и 50 нг/мл растворах ТГ при температуре 13°C.

Для исследования развития черепа *P. waltl* в условиях пониженного уровня ТГ (дефицит ТГ), морфогенез черепа был изучен у личинок, содержащихся в 0,02% растворе тиомочевины - гойтрогена, подавляющего секреторную функцию щитовидной железы и, соответственно, снижающего уровень эндогенных ТГ в плазме крови. У амфибий на ранних стадиях развития щитовидная железа нефункциональна и не продуцирует ТГ, однако наличие у эмбрионов *Anura* материнского ТГ (Fujikara, Suzuki, 1991) и ТГ-рецепторов (Kawahara et al., 1991) указывает на возможное участие ТГ в регуляции раннего онтогенеза. Чтобы исследовать роль ТГ в раннем краниогенезе хвостатых амфибий, использовали амиодарон, который считается антагонистом ТГ (Norman, Lavin, 1989). У млекопитающих амиодарон подавляет трансформацию малоактивного гормона  $T_4$  в высокоактивный  $T_3$ ; кроме того, он обладает способностью связывать рецепторы ТГ, не «допуская» к ним собственно ТГ. Таким образом, амиодарон снижает как уровень  $T_3$ , так и чувствительность к ТГ. Так как ранее амиодарон в экспериментах над амфибиями не использовался, нами была проведена серия опытов, показавших, что у *P. waltl* этот препарат замедляет метаморфные преобразования, облигатно индуцируемые ТГ, т.е., он действительно снижает активность тиреоидной оси. Экспериментальным путем была подобрана рабочая концентрация раствора амиодарона, которая затем использовалась в опыте по выявлению роли ТГ в регуляции раннего краниогенеза *P. waltl*.

Развитие черепа *S. keyserlingi* наблюдали у личинок, содержащихся в нормальных условиях, в растворе  $T_3$  концентрацией 1 нг/мл и 10 нг/мл и в 0,02% растворе тиомочевины. В этих же режимах содержались личинки *T. vulgaris*, развитие черепа которых подробно описано ранее (Smirnov, Vassilieva, 2003) и которых в данной работе использовали как дополнительный сравнительный материал.

Статистическая обработка результатов экспериментов проводилась с помощью регрессионного анализа в программе “Statistica”, версия 7.0.

### **Глава 3. Результаты исследования.**

#### **Развитие костного черепа *Salamandrella keyserlingi***

Скорость онтогенеза в целом и скорость краниогенеза варьировали в зависимости от уровня ТГ, на фоне которого развивались личинки. Воздействие высоких доз ТГ ускоряло развитие. Содержание в растворе 10 нг/мл ТГ ускоряло развитие настолько, что животные начинали метаморфоз еще на средне-личиночных стадиях и умирали, не достигнув 40 стадии. Воздействие 1 нг/мл ТГ ускоряло метаморфоз, но на выживаемости животных не отразилось. Содержание личинок в растворе тиомочевины замедляло онтогенез и подавляло метаморфоз: внешнее соматическое развитие, оцененное по степени дифференцировки конечностей, дальше 42 стадии не шло, и даже в возрасте 5 – 12 месяцев животные сохраняли черты личиночной организации.

Краниогенез изменялся при изменении гормонального уровня, на фоне которого проходило развитие личинок. При этом окостенения различались по их реакции на изменение ТГ-уровня (табл.1). Окостенения, возникающие на начальных стадиях развития черепа (33-36 стадии), появляются практически в одно и то же время, на сходных стадиях личиночного развития и в одинаковой последовательности независимо от того, на фоне какого уровня ТГ содержатся личинки. На более поздних стадиях, начиная с 37-38, проявляются различия во времени появления окостенений в зависимости от уровня ТГ. У личинок, содержащихся в условиях повышенного гормонального фона (1 и 10 нг/мл ТГ), наблюдается ускоренное (относительно общего соматического развития) появление краниальных окостенений. Дефицит ТГ вызывает задержку появления костей. Изменения во времени появления ранних костей средне-личиночного периода (*nasale*, *exoccipitale*, *maxillare*) незначительны и усиливаются при переходе к более поздним (*prooticum*, *prae frontale*). Наибольшую реакцию на изменение ТГ уровня проявляют *septomaxillare* и *lacrymale* – окостенения, в норме появляющиеся в самом конце поздне-личиночного периода, непосредственно перед метаморфозом.

Таблица 1.

Последовательность и время (стадии и дни – ст и дпв) появления костей черепа у личинок *S. keyserlingi* в условиях нормального, повышенного и пониженного уровня ТГ

кости черепа	нормальное развитие черепа				варианты экспериментов					
	2001 г N=80		2000 г N=96		1 нг/мл ТГ N=47		10 нг/мл ТГ N=28		0,02% тиомочевины N=67	
	ст.	дпв	ст.	дпв	ст.	дпв	ст.	дпв	ст.	дпв
coronoideum	33		33		34		34		32	
dentale	33		33		34		34		33	
palatinum	34		34		34		34		32	
praemaxillare	34		34		34		34		34	
vomer	34		34		34		34		33	
parasphenoideum	35		35		35		35		35	
pterygoideum	35		35		35		35		35	
squamosum	35		35		35		35		35	
angulare	35		35		36		35		35	
frontale	35		35		35		36		35	
goniale	35		35-36		36		35		35	
parietale	36		35		35-36		36		35	
quadrato-jugale	38		37		37		37		38	
nasale	39	27	39	23	37	21	37	18	40	30
exoccipitale	40	29	40	31	38	23	39	24	41	35
maxillare	40	29	40	33	38	23	38	16	41	35
postrostrale	40	27	40	30	38	23	38	20	41	36
prooticum	41	42	41	36	39	27	39	26	42	43
praefrontale	41	42	42	35	39	26	39	21	42	41
orbitosphenoideum	43	48	43	48	40	34	не появляется			57
septomaxillare	44	48	44	48	39	26	39	21		54
lacrymale	44	48	44	48	39	27	39	24		54
quadratum	45	48	43	52	39	29	не появляется			46

Таким образом, чем позднее в развитии личинки появляется окостенение, тем сильнее сказываются на времени его появления изменения уровня ТГ.

Сходная тенденция наблюдается на уровне морфогенеза отдельных окостенений. Время появления основной порции праемахилларе, появляющейся вскоре после выхода из икры, не меняется при изменении уровня ТГ, тогда как время возникновения небных отростков, растущих по направлению к сошнику и формирующихся во время метаморфоза, сильно варьирует в зависимости от уровня ТГ. Таким образом, в пределах одной и той же кости ее разные участки по-разному реагируют на изменения уровня ТГ, причем степень реакции зависит от времени формирования соответствующих участков и возрастает по мере перехода к более поздним.

Более того, даже в пределах одного участка кости разные онтогенетические события могут демонстрировать разную реакцию на изменение уровня ТГ. Так,

восходящий отросток praemaxillare появляется в одно и то же время независимо от уровня ТГ, на фоне которого развиваются личинки. Однако, дальнейшие его изменения, в частности рост, зависят от уровня гормона. Темпы роста отростка ускоряются под действием высоких доз ТГ и замедляются при ТГ-дефиците.

Наибольшие изменения временных параметров в зависимости от уровня ТГ характерны для метаморфных преобразований черепа (табл. 2).

Таблица 2.

*Время (стадии и дни – ст и дпв) метаморфных преобразований черепа S. keyserlingi*

метаморфные преобразования	нормальное развитие черепа		варианты экспериментов					
			1 нг/мл ТГ		10 нг/мл ТГ		тиомочевина 0,02%	
	ст.	дпв	ст.	дпв	ст.	дпв	ст.	дпв
начало резорбции vomer	38-39		37		36		39	
начало резорбции palatinum	38-39		37		36		39	
начало резорбции coronoideum	38-39		37		36		39	
преобразования vomer	42	42	38	19	36	15		54
расщепление palato-pterygoideum	42-43	59	39-40	28	37-38	20	не происходит	
полная резорбция palatinum	45	63		44		26	не происходит	
полная резорбция coronoideum	45	63		50	39	26	не происходит	

Начальные этапы этих преобразований (резорбция vomer, palatinum и coronoideum) ускоряются при воздействии высоких доз ТГ, но не реагируют на ТГ-дефицит. Следующие этапы (формирование отростков у vomer) ускоряются под действием высоких доз ТГ и замедляются при ТГ-дефиците. Конечные этапы (расщепление palato-pterygoideum на небную и птеригоидную порции с последующей полной резорбцией palatinum) сильно ускоряются при содержании личинок в условиях повышенного уровня ТГ и не происходят при ТГ-дефиците.

Изменение времени начала кальцинации костей при изменении ТГ уровня приводит к изменению порядка их появления (табл. 1). Ускоренный рост и более интенсивная кальцинация, вызванные воздействием высоких доз ТГ, приводят к слиянию соседних костей. Так, для личинок, выращенных в условиях высокого уровня ТГ, характерно срастание maxillare с praemaxillare и vomer с palato-pterygoideum. Замедленный рост и кальцинация, вызванные ТГ-дефицитом, напротив, замедляют процесс слияния костей, в норме участвующих в формировании сложных по происхождению окостенений. Так, при нормальном развитии nasale и postrostrale появляются почти одновременно (ст. 39 – 40) и

очень быстро срастаются с образованием единой *naso-postrostrale* (39 - 40 ст.). У личинок, выращенных на фоне высокого уровня ТГ, срастание происходит раньше (38 – 39 ст.). В условиях ТГ-дефицита указанные окостенения дольше сохраняют самостоятельность и даже на 42 ст. многие личинки имели отдельные *nasale* и *postrostrale*.

### Развитие костного черепа *Pleurodeles waltl*

Скорость развития *P. waltl* в целом и скорость краниогенеза варьировали в зависимости от экспериментальных условий, в которых развивались животные. Содержание личинок в растворе ТГ разных концентраций в разной степени ускоряло развитие. В 4 и 10 нг/мл Т<sub>3</sub> развитие ускорялось настолько, что животные начинали метаморфоз еще на ранне-личиночной стадии и умирали, не достигнув 41 стадии. При 1 и 2 нг/мл животные метаморфозировали раньше, чем при нормальных условиях, но на выживаемости это не отразилось. Скорость развития при содержании в тиомочевине замедлялась, наружное соматическое развитие останавливалось на 54 стадии, метаморфоз не завершался и даже у животных в возрасте более двух лет сохранялись наружные жабры и дорзальный и хвостовой плавники.

Вне зависимости от экспериментальных условий эмбрионы и личинки на стадии вылупления краниальных окостенений не имели. В различных экспериментальных условиях кости, возникающие на ранне-личиночных стадиях, появлялись практически в одно и то же время и на одних и тех же стадиях (ст. 35-37) (табл. 3). Однако при повышенной концентрации ТГ наблюдались более интенсивные рост и кальцинация костей. Кости, возникающие в средне-личиночный период (ст. 39-50), по-разному реагировали на изменение ТГ-уровня. Время появления ранних окостенений этого периода (*frontale* и *parietale*) практически не изменялось при изменении уровня ТГ. Появление более поздних окостенений (*exoccipitale* и *quadrato-jugale*) запаздывало по сравнению с нормой при ТГ-дефиците и ускорялось (пропорционально дозе ТГ) при воздействии высоких доз ТГ. Все окостенения, появляющиеся на поздних стадиях (ст. 54-55), реагировали на изменение уровня ТГ изменением времени своего появления.

Таблица 3.

*Последовательность и время (стадии и дни – ст и дпо) появления костей черепа у личинок P. waltl в условиях нормального, повышенного и пониженного уровня тиреоидного гормона*

последовательность	нормальное развитие	варианты экспериментов
--------------------	---------------------	------------------------

появления костей черепа	черепа 108 экз.		1 нг/мл ТГ N=57		2 нг/мл ТГ N=39		4 нг/мл ТГ N=14		10 нг/мл ТГ N=26		0,02% тиомочевины N=91	
	СТ	ДПВ	СТ	ДПВ	СТ	ДПВ	СТ	ДПВ	СТ	ДПВ	СТ	ДПВ
coronoideum	36		36		36		36		36		36	
palatinum	36		36		36		36		36		36	
vomer	36		36		36		36		36		36	
dentale	36		36		36		36		36		36	
squamosum	37		37		37		37		37		37	
praemaxillare	37		37		37		37		37		37	
parasphenoideu m	37		37		37		37		37		37	
pterygoideum	37		37		37		37		37		37	
angulare	37		37		37		37		37		37	
frontale	38-39		39		38		38		38-39		39	
parietale	41	22	41	22	39	20	40	23	40	20	41	21
exoccipitale	44	31	44	30	43	30	40	23	гибель личинок	гибель личинок	50	35
quadrato- jugale	50-51	37	48	35	43	30	гибель личинок	гибель личинок			52	39
orbitosphe noideum	54	43	50	39	43	30					53-54	51
prooticum	54	45	55	50	52	45					53-54	51
maxillare	54-55	51	43	29	42	26					54	64
nasale	54-55	51	50	39	43	30					54	
praefrontale	54-55	51	51-52	42	46-47	32					54	
quadratum	54-55	51	51-52	39							54	64
thyroideum	54-55	51	51-52	39	53	45					54	51

Сильнее всего реагировали на изменение ТГ-уровня три покровных окостенения поздне-личиночного периода: maxillare, nasale, praefrontale. Их появление резко ускорялось (пропорционально уровню ТГ) при воздействии экзогенного ТГ и замедлялось в условиях ТГ-дефицита (табл. 3, 4). При этом в условиях ТГ-дефицита у многих личинок даже в возрасте одного года и старше указанные кости отсутствовали, если же они присутствовали – то были в рудиментарном состоянии и часто только на одной стороне черепа. Так, у maxillare развивался только восходящий отросток кости, тогда как каудальный отросток и зубная (основная) порция кости отсутствовали (хотя на месте последней в соединительной ткани формировались зубы). У подавляющего большинства личинок отсутствовала nasale. У остальных в области носовой капсулы, в норме занимаемой nasale, появлялось несколько (до четырех) окостенений. Количество и топография этих окостенений варьировали (рис. 3).

Таблица 4.

Время появления (дпо, стадии) покровных окостенений поздне-личиночного периода развития и метаморфных преобразований у *P. waltl*

преобразование черепа	нормальное развитие		варианты эксперимента					
	дпо	ст.	1 нг/мл ТГ		2 нг/мл ТГ		тиомочевина 0,02%	
			дпо	ст.	дпо	ст.	дпо	ст.
maxillare	51		29		26		64 <sup>1</sup>	
nasale	51		39		30		119	
praefrontale	51		42		32		65	
начало резорбции coronoideum	29	42	29	41	20	39	30	44
начало резорбции palatinum	29	42	29	41	20	39	35	46
расщепление palato-pterygoideum	70		35		36		не происходит	
полная резорбция coronoideum	71		66		45		не происходит	
полная резорбция palatinum	72		66		45		не происходит	

Наибольшую реакцию на изменение уровня ТГ демонстрировали метаморфные преобразования черепа (табл. 4). Они ускорялись при воздействии высоких доз ТГ и замедлялись при ТГ-дефиците. Более ранние процессы краниогенеза (начало резорбции coronoideum, vomer и небной порции palato-pterygoideum) реагировали значительно слабее более поздних (преобразование сошника, расщепление palato-pterygoideum, полная резорбция coronoideum и palatinum). У особей, выращенных в условиях ТГ-дефицита, даже в возрасте года и старше, последние процессы оказывались незавершенными. Coronoideum и palatinum сохранялись. Не происходило расщепления palato-pterygoideum на небную и птеригоидную порции. Хотя озубление на сошнике стало однорядным, vomer сохранил черты скорее личиночной кости, чем постметаморфной – так, его каудальный отросток не сформировался (рис. 1 Б).

При содержании личинок в условиях пониженной температуры резко замедлялось эмбриональное и личиночное развитие – так, животные достигали 38 стадии на 28 дпо, вместо 18 дпо при нормальном развитии. Замедлялось появление краниальных окостенений. В результате, у личинок, содержащихся при пониженной температуре под действием высоких доз ТГ, увеличивалась продолжительность экспозиции гормона и временного интервала, в течение которого окостенения могли «среагировать» на ТГ. Несмотря на более позднее (по сравнению с нормой) появление, все окостенения ранне-личиночного периода возникали практически на тех же стадиях и в той же последовательности, что и при нормальном развитии личинок (табл. 5).

<sup>1</sup> Появление только восходящего отростка

Таблица 5.

Последовательность и время (стадии) появления костей черепа *P. walzl* при развитии в условиях пониженной температуры и различной концентрации ТГ

кости черепа	нормальное развитие черепа (t=13°C) N=18		варианты эксперимента	
			10 нг/мл ТГ (t=13°C) N=14	50 нг/мл ТГ (t=13°C) N=16
	стадия		стадия	стадия
coronoideum	36		36	35
palatinum	36		36	35
vomer	36		36	35
dentale	36-37		36-37	35
squamosum	36-37		37	36
praemaxillare	37		37	37
parasphenoideum	37		37	37
pterygoideum	37-38		37	37
angulare	38		37	37
frontale	38		37	38

При развитии личинок в растворе амиодарона время появления и стадии, на которых появляются окостенения ранне-личиночного периода развития, не изменяются по сравнению с нормой, но задерживается появление двух окостенений средне-личиночного периода (exoccipitale и quadrato-jugale) и всех окостенений, возникающих в поздне-личиночный период (табл. 6).

Таблица 6.

Последовательность и время (стадии и дпо) появления костей черепа *P. walzl* при развитии под действием амиодарона

кости черепа	нормальное развитие		варианты эксперимента		
			амиодарон 100 нг/мл N=13		амиодарон 1000нг/мл N=75
	ст.	дпо	ст.	дпо	ст.
coronoideum	36				36
palatinum	36				36
vomer	36				36
dentale	36				36
squamosum	37				36-37
praemaxillare	37				36-37
parasphenoideum	37				37
pterygoideum	37				37
angulare	37				37
frontale	38-39				38-39
parietale	41				41
exoccipitale	44				46
quadrato-jugale	50-51				52
orbitosphenoideum	54	45	54	69	конец серии
prooticum	54	45	54	73	
maxillare	54-55	51	54	69	
nasale	54-55	51	54	73	
praefrontale	54-55	51	54	73	

Метаморфные преобразования у животных, развивавшихся под воздействием амиодарона, происходят позже, чем в норме. Преобразования vomer (формирование каудального и латерального отростков, замещение многорядного личиночного озубления однорядным и т.д.) и полная резорбция

palatinum запаздывают почти на две недели, а резорбция *coronoideum* – на три недели.

Таким образом, при всех экспериментальных условиях изменения в активности тиреоидной оси (под действием ТГ, гойтрогена и амиодарона) практически не сказывались на времени появления ранних окостенений, но вызывали изменения во времени появления более поздних. Реакция на изменения усиливалась по мере приближения к метаморфозу.

Сходная тенденция прослеживается в развитии отдельных костей. Например, ранние стадии развития сошника не изменялись при изменениях уровня ТГ, а его поздние, метаморфные преобразования, тормозились и ускорялись при понижении и повышении уровня ТГ. Время появления *frontale* (38 - 39 ст.) неизменно во всех экспериментальных условиях, однако появление её предглазничного отростка ускорялось под действием ТГ (на 6 стадий) и замедлялось в условиях ТГ-дефицита.

Поскольку разные кости по-разному реагируют на воздействие ТГ, порядок появления костей менялся в зависимости от экспериментальных условий (табл. 3). Более того, и в пределах одного окостенения последовательность морфогенетических процессов могла изменяться в зависимости от уровня ТГ. Так, в норме при развитии *maxillare* первой появляется основная (несущая зубы) порция кости, от нее вверх сразу же начинает расти восходящий отросток, а тянувшийся назад каудальный отросток формируется гораздо позже. При воздействии высоких доз ТГ каудальный отросток начинал развиваться сразу же после появления основной порции кости. При содержании в тиомочевине ни озубленная порция кости, ни каудальный отросток не формировались, и возникал только восходящий отросток *maxillare*.

#### **Глава 4. Обсуждение.**

Впервые участие тиреоидных гормонов в развитии черепа хвостатых амфибий было выявлено при исследовании развития неотенических форм *Urodela*, у которых отсутствует переход во взрослое состояние, не происходят метаморфные преобразования черепа и не формируются некоторые окостенения, появляющиеся на поздне-личиночных стадиях. Келлерс (Kellers, 1946) показал, что у аксолотля (*Ambystoma mexicanum*) воздействие экзогенного ТГ индуцирует перестройку *vomer* и резорбцию небной порции *palatopterygoideum* и *coronoideum* – события, в норме не характерные для этого вида. Схожие результаты были получены Данди и Роузом (Dundee, 1962; Rose, 1996) при воздействии ТГ на неотенических саламандр рода *Naideotriton* (сем. *Plethodontidae*). Появление поздне-личиночных окостенений (*maxillare* и *septomaxillare*) при повышенном уровне ТГ было зафиксировано у

неотенических *Typhlomolge rathbuni* (слепая тexasская саламандра) и *Gyrinophilus palleucus* (теннессийская ключевая саламандра) (сем. Plethodontidae), в норме их не имеющих (Dundee, 1957).

Позднее было показано, что и у видов, имеющих типичное личиночное развитие и завершающих метаморфоз (*Eurycea bislineata* - двулинейная саламандра, сем. Plethodontidae, и *T. vulgaris*, сем. Salamandridae), ТГ ускоряет появление поздне-личиночных окостенений и метаморфные преобразования черепа (Rose, 1995; Smirnov, Vassilieva, 2003). Экспериментальное понижение уровня ТГ у *T. vulgaris* и *A. mexicanum* вызывало замедление развития и даже утрату поздне-личиночных окостенений (Smirnov, Vassilieva, 2003, 2005).

Проведенное нами исследование показало, что для *S. keyserlingi* и *P. waltl* также характерны ускоренные появление окостенений поздне-личиночных стадий и метаморфное преобразование черепа при повышении уровня ТГ. Понижение уровня ТГ приводило к замедлению появления окостенений, недоразвитию и утрате некоторых из них. У *S. keyserlingi* замедляется появление septomaxillare и lacrymale; у *P. waltl* – praefrontale, nasale и maxillare, причем у maxillare утрачивается озубленная порция кости, а nasale появляется не у всех тритонов и в разных количествах; у *T. vulgaris* не формируются nasale и praefrontale, а также предглазничный отросток frontale и небный отросток praemaxillare, не образуется каудальный отросток maxillare.

Следовательно, изменение уровня ТГ влияет на поздний краниогенез всех исследованных в этом отношении видов Urodela.

О влиянии ТГ на развитие окостенений, появляющихся на более ранних стадиях онтогенеза, известно гораздо меньше. Показано, что у *T. vulgaris* окостенения средне-личиночного периода или не проявляют реакции на ТГ-дефицит (exoccipitale и quadratum) или слабо реагируют на него (orbitosphenoideum и prooticum). При повышении уровня ТГ ускоряется появление orbitosphenoideum и quadratum, но не изменяется время появления exoccipitale и prooticum (Smirnov, Vassilieva, 2003). Подобная же реакция на изменение уровня ТГ была выявлена у костей средне-личиночного периода развития у *A. mexicanum* (Smirnov, Vassilieva, 2005). Проведенное нами исследование показало, что у *S. keyserlingi* появление всех окостенений средне-личиночных стадий немного ускоряется под действием ТГ, а появление четырех окостенений (nasale, postrostrale, prooticum и praefrontale) замедляется при ТГ-дефиците. У *P. waltl* все окостенения средне-личиночного периода реагируют на повышение и понижение уровня ТГ соответственно ускорением или замедлением сроков появления. У обоих видов реакция на изменение уровня ТГ усиливается при переходе к более поздним окостенениям.

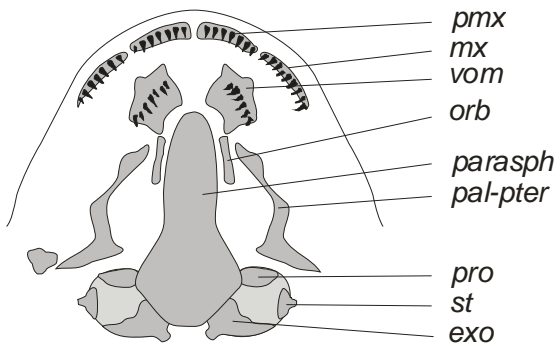
Таким образом, у всех исследованных видов, принадлежащих трем семействам Urodela, кости средне-личиночного периода реагируют на изменение уровня ТГ.

Проведенные ранее исследования показали, что у *T. vulgaris* и *A. mexicanum* при изменении уровня ТГ под воздействием экзогенного ТГ или гойтрогена время появления костей ранне-личиночного периода развития не изменяется (Smirnov, Vassilieva, 2003, 2005). Сходные результаты получены нами при исследовании раннего краниогенеза у *S. keyserlingi* и *P. waltl*. Однако методика проведения экспериментов не исключала того, что на результаты могли оказать влияние недостаточная продолжительность экспозиции гормона (из-за быстрого появления ранних окостенений черепа) или влияние материнского ТГ, уровень которого гойтрогеном не понижается.

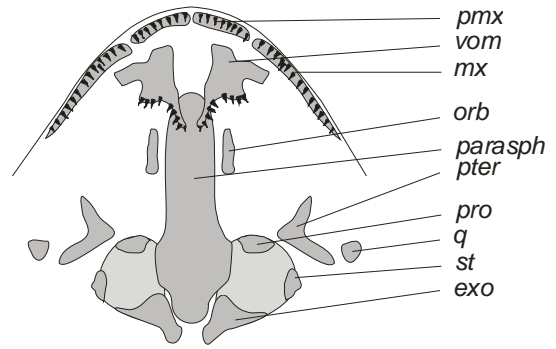
Проведенные нами эксперименты показали, что у *P. waltl* ни увеличение продолжительности воздействия экзогенным ТГ (при замедлении онтогенеза понижением температуры содержания), ни снижение чувствительности к ТГ (блокированием ТГ-рецепторов амиодароном) не сказывались на времени (стадии) и порядке появления окостенений ранне-личиночного периода развития. Соответственно, можно заключить, что у хвостатых амфибий время и последовательность появления ранних окостенений черепа не меняются при изменении уровня ТГ.

Изменение сроков появления, темпов роста и скорости морфологической дифференцировки костей в зависимости от уровня ТГ указывает на зависимость развития окостенений от ТГ. Очевидно, чем сильнее реакция кости на изменение уровня ТГ, тем сильнее ее ТГ-зависимость. У всех исследованных видов кости черепа различаются по степени ТГ-зависимости. Наиболее ранние этапы краниогенеза практически не зависят от ТГ, зависимость возрастает по мере приближения к метаморфозу, и метаморфные преобразования черепа большей частью облигатно индуцируются ТГ, а постметаморфные изменения черепа оказываются в целом ТГ-независимыми. Тенденция к усилению ТГ-зависимости по мере перехода к поздним стадиям развития прослеживается и на отдельных окостенениях. Например, у всех исследованных видов ранние стадии развития сошника не зависят от уровня ТГ. Следующие этапы – его рост и резорбция – ускоряются при высоких дозах ТГ и замедляются при дефиците ТГ, а метаморфные преобразования - индуцируются ТГ (рис. 1 А, Б, В). Время появления frontale у всех видов не изменяется при изменении уровня ТГ, тогда как предглазничный отросток этой кости у *P. waltl* развивается с задержкой при ТГ- дефиците, а у *T. vulgaris* не развивается вовсе.

*А. Преобразование небной области S. keyserlingi под действием гойтрогена и при нормальных условиях.*

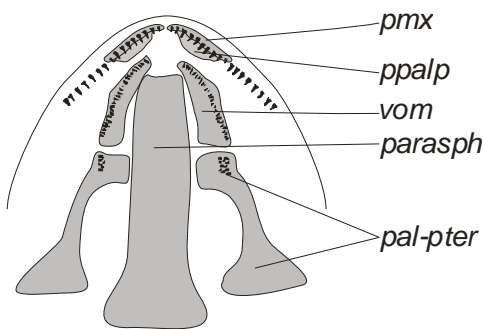


тиомочевина 0,02%

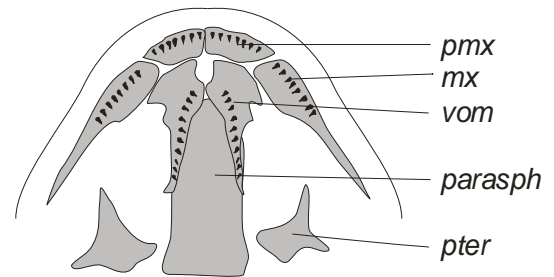


нормальные условия

Б. Преобразование небной области *P. waltl* под действием гойтрогена и при нормальных условиях.

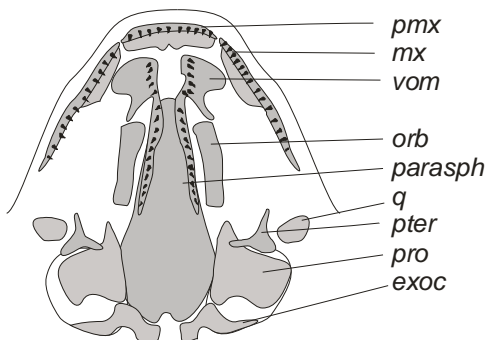


тиомочевина 0,02%

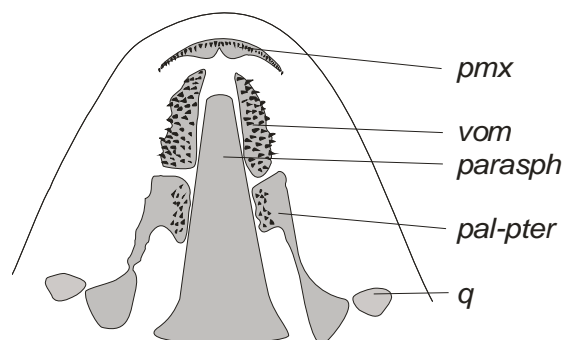


нормальные условия

В. Преобразование небной области *T. vulgaris* под действием ТГ и гойтрогена.



тиреоидный гормон (1 нг/мл)



тиомочевина 0,02%

Рисунок 1. Преобразование небной области у *S. keyserlingi*, *P. waltl* и *T. vulgaris* в различных условиях.

*exoc* – exoccipitale; *mx* – maxillare; *orb* – orbitosphenoideum; *pal-pter* – palato-pterygoideum; *parasph* – parasphenoideum; *pmx* – praemaxillare; *pro* – prooticum; *pter* – pterygoideum; *q* – quadratum; *st* – stapes; *vom* – vomer

Соответственно, в онтогенезе Urodela изменяется роль тиреоидных гормонов в регуляции развития черепа: она незначительна в раннем краниогенезе, возрастает по мере приближения личинок к метаморфозу, максимальна во время метаморфоза и вновь идет на убыль после его завершения.

На основе синтеза полученных результатов и литературных данных нам удалось проследить в онтогенезе хвостатых амфибий динамику изменений механизмов, принимающих участие в регуляции краниогенеза. Так, у *S. keyserlingi* самый ранний этап в развитии *praemaxillare* – формирование основания кости (предшественника озубленной порции кости) - индуцируется хрящом рога трабекул (Лебебкина, 1985). Следующий этап - появление ее восходящего отростка - индуцируется обонятельным мешком (Лебебкина, 1985). Оба этапа не зависят от ТГ. Затем следует разрастание кости - процесс, скорость и интенсивность которого зависят от уровня ТГ. Завершающий этап - формирование небных отростков - индуцируется ТГ. Сходная картина наблюдается и у *P. waltl* в процессе развития *praemaxillare*.

Подобная же тенденция прослеживается на уровне краниогенеза в целом. У *S. keyserlingi* появление *praemaxillare*, возникающей в ранне-личиночный период развития (ст. 34), индуцируется хрящом рога трабекул (Лебебкина, 1985), при этом ТГ, по нашим данным, не влияет на время появления этой кости. Появление более позднего окостенения, *nasale*, индуцируется обонятельным мешком (Лебебкина, 1985), но высокие дозы ТГ и его дефицит слегка соответственно ускоряют и замедляют появление этой кости. Появление *lacrurale*, возникающей в поздне-личиночный период развития, индуцируется слезно-носовым протоком (Медведева, 1975), но изменение уровня ТГ серьезно сказывается на времени ее появления. Наконец, время появления и степень развития *septomaxillare* сильно зависят от уровня ТГ, тогда как участие слезно-носового протока в регуляции ее морфогенеза ограничивается влиянием на форму кости (Медведева, 1975).

Приведенные данные указывают на то, что в онтогенезе хвостатых амфибий роль ТГ как фактора, принимающего участие в регуляции краниогенеза, возрастает: если на ранних этапах краниогенеза превалирует морфогенетическая индукционная зависимость на основе межтканевых взаимодействий, когда появление кости индуцируется какой-либо структурой (хрящом, слезно-носовым протоком, обонятельной и слуховой плакодами и т. д.), то в ходе морфогенеза к ней подключается и постепенно ее заменяет эндокринная индукция – с ТГ в качестве индуктора.

Изменение уровня ТГ у всех исследованных видов влияет на скорость развития краниальных элементов и на время их появления, что приводит к изменению порядка появления костей. Таким образом, последовательность появления костей сильно зависит от уровня ТГ. Встречающиеся индивидуальные отклонения от обычной для вида последовательности появления костей, возможно, являются следствием индивидуальной изменчивости в активности щитовидной железы, часто обнаруживаемой у хвостатых амфибий (Alberch et al., 1985; Rosenkilde, 1987).

В ходе эксперимента было выявлено, что повышение уровня ТГ ускоряет рост костей и процесс их кальцинации, что часто приводит к срастанию близлежащих окостенений. Так, у *P. waltl* и *S. keyserlingi* vomer срастается с palato-pterygoideum с образованием сложного комплекса vomero-palato-pterygoideum (рис. 2). У *S. keyserlingi* maxillare часто срастается с praemaxillare под действием высоких доз экзогенного гормона. Срастания костей были замечены также у *T. vulgaris* под действием повышенного уровня ТГ (Smirnov, Vassilieva, 2003). Таким образом, повышение уровня ТГ может приводить к уменьшению количества отдельных окостенений в дефинитивном черепе. Понижение уровня ТГ приводило к замедлению роста костей и замедляло срастание закладок, участвующих в формировании кости. Как следствие, увеличивалось количество краниальных элементов в результате самостоятельной кальцинации отдельных закладок кости (например, nasale у *P. waltl* - рис. 3). С другой стороны, дефицит ТГ может приводить к утрате ТГ-зависимых краниальных окостенений. Таким образом, искусственное изменение темпов развития при изменении уровня ТГ приводит к изменению дефинитивной морфологии черепа.

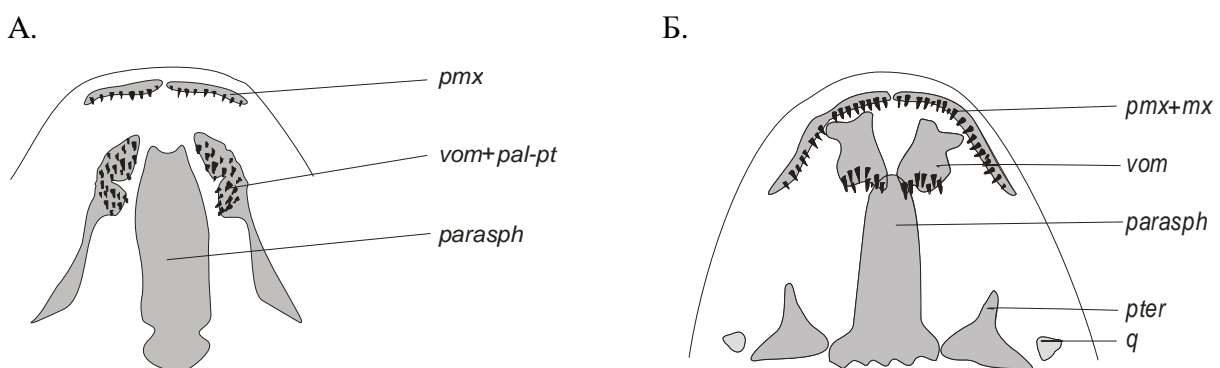


Рисунок 2. Срастание vomer с palatinum (А.) и praemaxillare с maxillare (Б.) у *S. keyserlingi* в условиях повышенного уровня тиреоидного гормона (1 нг/мл). parasph – parasphenoideum; pmx – praemaxillare; pter – pterygoideum; pmx+mx- срастание praemaxillare с maxillare; q – quadratum; vom- vomer; vom+ pal-pt – срастание vomer с palato-pterygoideum.

А.

Б.

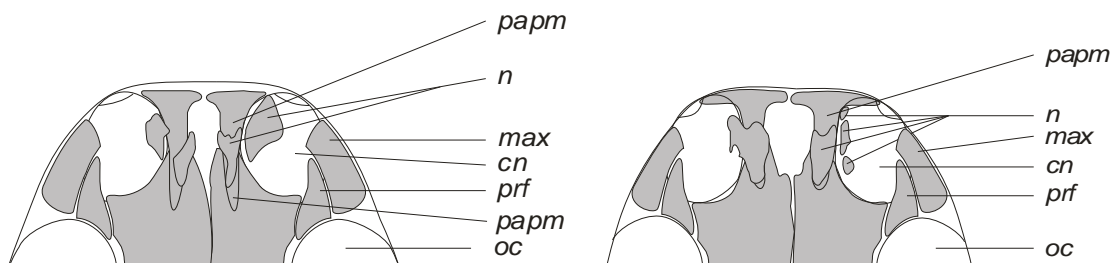


Рисунок 3. Формирование нескольких окостенений nasale у *P. waltl* в условиях ТГ-дефицита. А. – по два окостенения с каждой стороны черепа; Б. – одно окостенение с левой стороны, четыре окостенения-с правой стороны черепа  
*сн* – *capsula nasalis*; *max* – *maxillare*; *n* – *nasale*; *ос* – *oculus*; *рарп* – *proc. ascendens oss. praemaxillaris*; *рrf* – *praefrontale*.

Хвостатые амфибии в своем краниогенезе по-разному реагируют на изменения уровня ТГ. У *S. keyserlingi* высокие дозы ТГ ускоряют появление многих окостенений, особенно сильно – поздних (*lacrymale* и *septomaxillare*). При дефиците ТГ происходит замедление появления многих костей, особенно сильно – костей, возникающих в поздне-личиночный период, однако все кости черепа все же появляются. У *A. mexicanum* – сходная ситуация, но кости, появляющиеся в поздне-личиночный период, при дефиците ТГ оказываются сильно недоразвитыми (*nasale*) и/или могут быть утрачены (*septomaxillare*) (Smirnov, Vassilieva, 2003). У *P. waltl* при ТГ-дефиците кости поздне-личиночного периода (*maxillare*, *praefrontale* и *nasale*) остаются рудиментарными и могут быть утрачены (*maxillare*, *nasale*). У *T. vulgaris* все кости поздне-личиночного периода (*maxillare*, *praefrontale* и *nasale*) не только рудиментарны, но и склонны к утрате при низком уровне ТГ. У *Eurycea bislineata* (Plethodontidae) все кости поздне-личиночного периода (*maxillare*, *praefrontale*, *nasale* и *septomaxillare*) индуцируются ТГ (Rose, 1995). У неотенических плетодонтид эти кости отсутствуют, но могут появиться (в частности, *maxillare* и *septomaxillare* у *Typhlomolge rathbuni*) под действием экзогенного ТГ (Dundee, 1957; Rose, 1995, 1996). Последнее обстоятельство указывает на то, что их утрата – следствие естественного дефицита ТГ у этих плетодонтид.

Сходная картина наблюдается на примере метаморфных преобразований черепа. Реакция последних на изменение уровня ТГ минимальна у *S. keyserlingi*, усиливается при переходе к саламандридам (*P. waltl* и *T. vulgaris*) и оказывается максимальной у плетодонтид. Таким образом, в пределах отряда Urodela в эволюционном ряду от примитивных саламандр (гинобииды) к эволюционно-продвинутым (саламандриды и плетодонтиды) зависимость краниогенеза от ТГ усиливается. Та же тенденция наблюдается в пределах семейства Salamandridae при переходе от примитивного (среди саламандрид) *Pleurodeles* к эволюционно-продвинутому *Triturus* (Wake, Ozetti, 1969). Следовательно, эволюция Urodela сопровождалась усилением роли ТГ в регуляции краниогенеза.

На основе синтеза полученных результатов и литературных данных нам удалось проследить в эволюции хвостатых амфибий динамику изменений механизмов, принимающих участие в регуляции развития черепа. Так, у *S. keyserlingi* появление lacrymale индуцируется слезно-носовым протоком (Медведева, 1975), но ТГ влияют на время ее появления и скорость развития. Те же механизмы обеспечивают регуляцию морфогенеза этой кости у *A. mexicanum*, но влияние ТГ на время ее появления и скорость развития выражено гораздо сильнее (Медведева, 1986; Smirnov, Vassilieva, 2005). У *S. keyserlingi* появление nasale индуцируется хрящом носовой капсулы (или обонятельной плакодой) (Лебедкина, 1985), тогда как ТГ способны оказывать лишь некоторое влияние на время появления и темпы роста кости. У *A. mexicanum* ТГ оказывают серьезное влияние на время появления носовой кости (Smirnov, Vassilieva, 2005), тогда как у *P. walzl* и *T. vulgaris* для развития кости необходимо воздействие ТГ, и дефицит ТГ приводит к ее утрате. У *S. keyserlingi* в регуляции морфогенеза septomaxillare принимают участие слезно-носовой проток (Медведева, 1975) и ТГ. У *E. bislineata* (Plethodontidae) развитие septomaxillare индуцируется ТГ, а слезно-носовой проток в регуляции ее морфогенеза, по-видимому, не участвует (кость развивается и в его отсутствие – Rose, 1995).

Таким образом, в эволюционном ряду хвостатых амфибий при переходе от примитивных саламандр к продвинутым изменяются механизмы регуляции развития черепа. Краниальные структуры, в развитии которых у примитивных саламандр превалирует морфогенетическая индукционная зависимость на основе межтканевых взаимодействий, при переходе к филогенетически более продвинутым приобретают зависимость от ТГ, усиливающуюся в филогенезе Urodela.

В биологии развития амфибий морфогенез черепа рассматривается либо как каскад последовательных морфогенетических индукций на основе межтканевых взаимодействий, либо как последовательность взаимодействий между тканями-мишенями (osteogenic sites) и ТГ (Hanken, Hall, 1984). Наше исследование показало, что оба механизма принимают участие в регуляции морфогенеза черепа, но их «доля участия» изменяется как в онто-, так и филогенезе хвостатых амфибий.

## **Выводы**

1. Тиреоидные гормоны принимают участие в регуляции развития черепа Urodela, влияя на время и последовательность появления окостенений, темпы их роста и кальцинации.

2. В онтогенезе хвостатых амфибий изменяется роль тиреоидных гормонов в регуляции развития черепа. Наиболее ранние краниальные окостенения практически не зависят от ТГ; зависимость возрастает по мере приближения к метаморфозу, метаморфные преобразования черепа большей частью облигатно индуцируются тиреоидными гормонами.

3. В процессе развития кости её ТГ-зависимость меняется: на ранних стадиях морфогенеза кость может быть индифферентна к гормону, но становится ТГ-зависимой на более поздних стадиях. Разные участки одной и той же кости могут различаться по степени зависимости от ТГ; зависимость отдельных участков от ТГ приобретает на поздних стадиях развития.

4. Изменения уровня тиреоидного гормона сказываются на дефинитивной морфологии черепа: уменьшается количество окостенений в результате срастания нескольких самостоятельных костей при воздействии высоких доз ТГ и увеличивается в результате самостоятельной кальцинации отдельных закладок кости при дефиците ТГ. Дефицит ТГ может приводить к недоразвитию черепа и утрате отдельных его элементов.

5. В онтогенезе и филогенезе хвостатых амфибий возрастает роль ТГ в регуляции развития черепа и уменьшается роль межтканевых взаимодействий как механизма регуляции краниогенеза.

## Список работ, опубликованных по теме диссертации:

1. Смирнов С.В., Васильева А.Б., **Меркулова К.М.** 2008. Экспериментальное исследование роли гетерохроний в морфогенезе костей черепа амфибий // Доклады Академии наук, Т. 418, N 5, С. 715-717.
2. **Меркулова К.М.** 2008. Влияние тиреоидных гормонов на краниогенез испанского тритона (*Pleurodeles waltl*: Urodela: Salamandridae) // Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых ученых. Товарищество научных изданий КМК, Москва. С. 227-236.
3. Смирнов С.В., Васильева А.Б., **Меркулова К.М.** 2010 Носовая кость испанского тритона (*Pleurodeles waltl*; Salamandridae; Urodela): развитие и механизмы его регуляции // Доклады Академии наук, Т. 431, N 3, С. 426-429.
4. **Меркулова К.М.** 2010 Развитие черепа сибирского углозуба (*Salamandrella keyserlingii*; Hynobiidae; Urodela ) и механизмы его регуляции // Актуальные проблемы экологии и эволюции в исследованиях молодых ученых. Товарищество научных изданий КМК, Москва. С. 199-205.
5. **Меркулова К.М.** 2011 Роль тиреоидных гормонов в регуляции онтогенеза черепа испанского тритона (*Pleurodeles waltl*, Salamandridae, Urodela) // Вопросы герпетологии. Материалы IV Съезда Герпетологического Общества им. А.М. Никольского. С. 172-177.
6. **Меркулова К.М.** 2011 Онтогенез черепа хвостатых амфибий и роль тиреоидных гормонов в его регуляции // Материалы XVIII международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов». С. 135.
7. Smirnov S.V., Vassilieva A.B., **Merkulova K.M.** 2011. Thyroid hormone mediation in skull development of Siberian newt, *Salamandrella keyserlingii* (Urodela: Hynobiidae), with comparison to other species // Russ. J. Herpetol., V. 18, N 3. (in press).
8. **Меркулова К.М.** 2011. Тиреоидные гормоны в развитии и эволюции черепа хвостатых амфибий // Труды Украинского герпетологического общества №3. (в печати).