

**Морфологические особенности слияния соматических клеток в процессе  
остеокластогенной дифференцировки макрофагов**

**Научный руководитель – Киреев Игорь Игоревич**

***Таран Александра Сергеевна***

*Студент (бакалавр)*

Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Биологический факультет, Кафедра клеточной биологии и гистологии, Москва, Россия

*E-mail: eva8326@yandex.ru*

Необходимым условием для нормального протекания процессов эмбриогенеза является слияние клеток. Нарушение слияния может приводить к развитию патологических состояний, таких как болезни опорно-двигательного аппарата. Это различные мышечные дистрофии [1], а также наследственное заболевание остеопетроз. Его развитие связано с нарушением резорбции вещества кости, в результате чего скелет сильно деформируется, развиваются нарушения кроветворения и параличи. Одна из причин данного заболевания — нарушение нормальных процессов слияния макрофагов в остеокластогенезе. Всестороннее изучение данного процесса будет шагом на пути к успешной терапии остеопетроза [2].

Целью данной работы стало изучить морфологические аспекты слияния макрофагов в остеокласты *in vitro* и *in vivo* на мышинной клеточной культуре с применением различных методов микроскопии: иммунофлуоресцентной, электронной, микроскопии суперразрешения. Данные методы позволяют детально охарактеризовать изменения в строении элементов цитоскелета в процессе слияния макрофагов, в том числе на различных субстратах (фибронектин, остеопонтин, BSA). Для временной и пространственной характеристики поэтапного процесса начальных стадий слияния была проведена прижизненная съемка, что дало возможность обнаружить некоторые особенности. Во-первых, после стадии миграции и установления контактов между клетками наступает стадия длительного покоя. Во-вторых, перед слиянием изменяется морфология клеток, количество филоподий уменьшается, происходит распластывание клеток. Неожиданным результатом оказался факт способности первичных остеокластов вступать в митоз и успешно его завершать. Таким образом, можно предположить, что эффективность дифференцировки определяется балансом процессов слияния и деления. Также использовались методы молекулярной биологии: трансфекция клеток миРНК для изучения роли участников сигнальных каскадов. При помощи методов статистического подсчета анализировался вклад в образование остеокластов белка NFATc1, одного из центральных молекулярных участников процесса слияния [3]. Было установлено, что кинетика экспрессии NFATc1 зависит от стартовой плотности посадки клеток: при более высокой плотности ( $5 \times 10^5$  клеток/мл) пик экспрессии наблюдается через 24 часа после индукции, при более низкой ( $2.5 \times 10^5$  клеток/мл) — через 48 часов.

В дальнейшем планируется сконцентрировать усилия на инновационных методах микроскопии суперразрешения SIM и STORM, это позволит детально изучить изменения в строении различных элементов цитоскелета. Планируется расширить временные рамки прижизненных экспериментов и использовать для них прижизненные маркеры для наблюдений за морфологией цитоскелета в реальном времени. На электронно-микроскопическом уровне предполагается использовать антитела для контрастной визуализации специфических для сливающихся клеток структур микротрубочек и актина, предварительно синхронизировав клетки.

### Источники и литература

- 1) Barnoy, S., Maki, M., & Kosower, N. S. Overexpression of calpastatin inhibits L8 myoblast fusion // *Biochem. Biophys.* 2005, №332(3), p. 697–701;
- 2) Guerrini, M., Sobacchi, C., Cassani, B., Abinun, M., Kilic, S., Pangrazio, A., Moratto, D., Mazzolari, E., Clayton-Smith, J., Orchard, P., Coxon, F., Helfrich, M., Crockett, J., Mellis, D., Vellodi, A., Tezcan, I., Notarangelo, L., Rogers, M., Vezzoni, P., Villa, A., & Frattini, A. (2008). Osteoclast-Poor Osteopetrosis with Hypogammaglobulinemia due to TNFRSF11A (RANK) Mutations // *The American Journal of Human Genetics.* 2008, №83, p. 64–76;
- 3) Miyamoto, T. Regulators of Osteoclast Differentiation and Cell–Cell Fusion // *The Keio Journal of Medicine.* 2011, №60(4), p. 101–105.