

© Коллектив авторов, 2025  
УДК 616-092:611.018.74

Мишина А.В.<sup>1,5</sup>, Пасько А.Ю.<sup>1</sup>, Астахова А.И.<sup>1</sup>, Микрюкова А.А.<sup>1</sup>, Зиганшина М.М.<sup>1,2</sup>, Лискова Ю.В.<sup>3</sup>, Антошел Д.И.<sup>3</sup>, Коваленко Л.В.<sup>4</sup>, Московцев А.А.<sup>1,5,6</sup>

## Сборка стрессорных гранул персонифицированными эндотелиальными клетками HUVEC

<sup>1</sup>ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии», Россия, 125315, Москва, Балтийская ул., д. 8;

<sup>2</sup>ФГБУ «НМИЦ АГП им. В.И. Кулакова», Россия, 117978, Москва, Академика Опарина ул., д. 4;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России, 117513, Россия, Москва, Островитянова ул., 1, стр. 6;

<sup>4</sup>БУ ВО Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет», 628403, Россия, Сургут, Ленина пр., д. 1;

<sup>5</sup>ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, 125993, Москва, Россия, Баррикадная ул., д. 2/1, стр. 1;

<sup>6</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России, 115478, Россия, Москва, Каширское ш., д. 24, корп. 2

**Актуальность.** Стрессорные гранулы (СГ) – внутриклеточные безмембранные органеллы, формируемые клеткой в ответ на неблагоприятные, нефизиологические воздействия. Они представляют собой временные рибонуклеопротеиновые частицы, включающие в свой состав нетранслируемые мРНК и тем самым способствующие сохранению этих мРНК на время клеточного стрессового ответа. Кроме функции депонирования, СГ могут быть важными интеграторами информации в клетке в стрессовых условиях и влиять на «клеточную судьбу». Большинство современных исследований СГ проводится с использованием иммортализованных клеточных линий и специфических индукторов, действию которых клетки в *in vivo* условиях при развитии патологического процесса обычно не подвергаются.

**Цель работы.** Работа направлена на оценку способности персонифицированных эндотелиальных клеток HUVEC собирать стрессорные гранулы при действии некоторых индукторов клеточного стресса, близких к действующим *in vivo* патологическим факторам.

**Методика.** Эндотелиальные клетки HUVEC выделяли из пупочных вен здоровых рожениц. В работе впервые были использованы персонифицированные культуры эндотелия, пулирование клеток от разных доноров не проводилось. К HUVEC применяли типичные условия сборки СГ, установленные другими исследовательскими группами для клеточных линий: окислительный и восстановительный стрессы. Также исследовались стрессоры, значимые для ассоциированных с дисфункцией эндотелия патологий: солевая нагрузка, вращательно-осциллирующий поток жидкости, а также холодовой шок. Для детектирования СГ использовалось иммунофлуоресцентное детектирование маркера СГ белка G3BP1, конфокальная микроскопия и микроскопия сверхвысокого разрешения STED.

**Результаты.** Показана сборка G3BP1-содержащих СГ клетками HUVEC в ответ на острый окислительный (0,5 mM NaAsO<sub>2</sub>, 30 минут) и острый восстановительный стресс (3 mM DTT, 1,5 часа), что подтверждает возможность детектирования СГ в персонифицированных культурах HUVEC. Впервые была продемонстрирована способность эндотелия собирать СГ в ответ на повышенную концентрацию хлорида натрия и 200 mM маннит. Не было обнаружено стрессорных гранул при десятичасовом холодовом шоке в клетках ЭК, хотя ранее СГ были детектированы в других клеточных типах другими авторами в сходных условиях. Не было обнаружено также G3BP1-содержащих СГ при воздействии осциллирующего потока жидкости на HUVEC. Полученные результаты могут указывать на тканевую специфику клеточных стрессовых ответов в эндотелиальных клетках.

**Ключевые слова:** стрессорные гранулы (СГ); эндотелий; гипотермия; осмотический шок; механочувствительность

**Для цитирования:** Мишина А.В., Пасько А.Ю., Астахова А.И., Микрюкова А.А., Зиганшина М.М., Лискова Ю.В., Антошел Д.И., Коваленко Л.В., Московцев А.А. Сборка стрессорных гранул персонифицированными эндотелиальными клетками HUVEC. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2025; 69(4): 36–46.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.36-46

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Мишина А.В., Пасько А.Ю., Московцев А.А.; сбор и обработка материала – Мишина А.В., Пасько А.Ю., Микрюкова А.А., Астахова А.И.; подготовка иллюстративного материала – Миши-

на А.В., Пасько А.Ю., Астахова А.И.; написание текста – Мишина А.В., Московцев А.А.; редактирование – Московцев А.А., Зиганшина М.М., Лискова Ю.В., Коваленко Л.В., Антошел Д.И.

Утверждение окончательного варианта, ответственность целостность всех частей статьи – все авторы.

**Для корреспонденции:** Мишина Александра Владимировна, e-mail: aleksandramishin@gmail.com

**Финансирование.** Работа выполнена в рамках Государственного задания FGFU-2025-0008 (125090910138-5).

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 20.09.2025

Принята к печати 25.11.2025

Опубликована 30.12.2025

**Mishina A.V.<sup>1,5</sup>, Pasko A.Y.<sup>1</sup>, Astakhova A.I.<sup>1</sup>, Mikryukova A.A.<sup>1</sup>, Ziganshina M.M.<sup>1,2</sup>, Liskova Y.V.<sup>3</sup>,  
Antoshel D.I.<sup>3</sup>, Kovalenko L.V.<sup>4</sup>, Moskovtsev A.A.<sup>1,5,6</sup>**

## Stress granule assembly by HUVEC endothelial cells

<sup>1</sup>Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8 Baltiyskaya St., Moscow 125315, Russian Federation;

<sup>2</sup>FSBI «National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology, and Perinatology», 4 Akademika Oparina St., Moscow, 117978, Russian Federation;

<sup>3</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, 1s6 Ostrovityanova St., Moscow 117513, Russian Federation;

<sup>4</sup>Surgut State University, 1 Lenina pr., Surgut 628403, Russian Federation;

<sup>5</sup>Federal State Budgetary Educational Institution "Russian Medical Academy of Continuing Professional Education" of the Ministry of Health of the Russian Federation, 2/1, s1 Barrikadnaya St., Moscow 125993, Russian Federation;

<sup>6</sup>Federal State Budgetary Institution «N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology» of the Ministry of Health of the Russian Federation, 24/2 Kashirskoye sh., Moscow 115478, Russian Federation

**Background.** Stress granules (SGs) are intracellular membraneless organelles formed by cells in response to adverse non-physiological conditions. They are transient ribonucleoprotein particles that sequester untranslated mRNAs, thereby contributing to the preservation of these mRNAs during the cellular stress response. Beyond their role as storage depots, SGs may serve as crucial information integrators under stress, influencing cell fate decisions. Most current SGs research utilizes immortalized cell lines and specific inducers not typically encountered by cells *in vivo* during pathological processes.

**Aim.** This study aimed to assess the ability of personalized human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) to assemble stress granules in response to various cellular stress inducers.

**Methods.** HUVECs were isolated from the umbilical veins of healthy donors. Personalized endothelial cultures without pooling cells from different donors were used in this study. We applied typical SG assembly conditions established for cell lines – oxidative and reductive stresses. Additionally, we investigated stressors relevant to endothelial dysfunction-associated pathologies: high NaCl concentrations, oscillatory fluid flow, and cold shock. SGs were detected using immunofluorescence targeting the canonical SG marker protein G3BP1, combined with confocal and super-resolution STED microscopy.

**Results.** We demonstrated the assembly of G3BP1-positive SGs in HUVECs in response to acute oxidative stress (0.5 mM NaAsO<sub>2</sub>, 30 min) and acute reductive stress (3 mM DTT, 1.5 hours), confirming the feasibility of SG detection in personalized HUVEC cultures. For the first time, we showed the ability of endothelial cells to assemble SGs in response to elevated sodium chloride concentrations and 200 mM mannitol. In contrast, no SGs were detected following a ten-hour cold shock, despite previous reports of SG formation in other cell types under similar conditions. Similarly, no G3BP1-containing SGs were observed in HUVECs subjected to oscillatory fluid flow. These findings suggest potential tissue-specific features of the cellular stress response in endothelial cells.

**Keywords:** stress granules (SGs); endothelial cells; hypothermia; osmotic shock; mechanosensing

**For citation:** Mishina A.V., Pasko A.Y., Astakhova A.I., Mikryukova A.A., Ziganshina M.M., Liskova Y.V., Antoshel D.I., Kovalenko L.V., Moskovtsev A.A. Stress granule assembly by HUVEC endothelial cells. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2025; 69(4): 36–46.

DOI: 10.48612/pfiet/0031-2991.2025.04.36-46

**Authors' contributions:** study concept and design – Mishina A.V., Pasko A.Yu., Moskovtsev A.A.; data collection and processing – Mishina A.V., Pasko A.Yu., Mikryukova A.A., Astakhova A.I.; preparation of illustrative material – Mishina A.V., Pasko A.Yu., Astakhova A.I.; text writing – Mishina A.V., Moskovtsev A.A.; editing – Moskovtsev A.A., Ziganshina M.M., Liskova Yu.V., Kovalenko L.V., Antoshel D.I. Final approval and responsibility:

All authors have read and approved the final version of the manuscript and bear full responsibility for the integrity of all parts of the work.

**For correspondence:** *Mishina A.V.*, e-mail: aleksandramishin@gmail.com

**Information about the authors:**

Moskovtsev A.A., <https://orcid.org/0000-0002-5648-824X>

**Financing.** The reported study was funded by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation FGFU-2025-0008 (125090910138-5).

**Conflict of interest.** Authors declare no conflict of interest.

Received 20.09.2025

Accepted 25.11.2025

Published 30.12.2025

## Введение

Стрессорные гранулы (СГ) – это безмембранные оргanelлы, представляющие собой рибонуклеопротеиновые комплексы размером 0,1–2 мкм, формирующиеся в цитоплазме клеток путем конденсации жидкой фазы в ответ на различные неблагоприятные воздействия, такие как окислительный стресс, тепловой шок, ультрафиолетовое излучение, осмотический шок и т.д. СГ играют важную роль в регуляции реализации генетической информации при стрессе. При образовании они включают в себя компоненты транслатома (совокупности компонентов, участвующих в трансляции) и становятся временным хранилищем ряда транскриптов, в частности, по мнению ряда авторов, продуктов генов домашнего хозяйства [1]. Такое перераспределение, компартиментализация транскриптов позволяет снизить глобальную трансляцию, а с учетом того, что она является одним из наиболее энергоемких процессов, это способствует энергосбережению клетки в стрессовых условиях [1]. Включение транскриптов в СГ способствует их стабилизации, исключение – возвращению их к активной трансляции или деградации через Р-тельца [1]. Можно предположить, что сборка СГ – внутриклеточный защитный механизм, направленный на выживание клетки, в том числе посредством сохранения ряда белок-кодирующих транскриптов и перенаправления трансляционной машинерии на синтез стрессовых белков в неблагоприятных условиях в режиме жесткой экономии энергии. Стимулом к сборке СГ служит активация интегрального стрессового ответа (ISR), который зависит от одной или нескольких киназ: 1) киназы геморегулируемого фактора инициации  $2\alpha$  (HRI), которая реагирует на окислительный стресс; 2) протеинкиназы, зависимой от двухцепочечной РНК (PKR), которая реагирует на вирусную инфекцию; 3) PKR-подобной киназы эндоплазматического ретикулума (PERK), которая реагирует на накопление неразвернутых белков; и 4) киназы GCN2, которая реагирует на дефицит аминокислот. Все они конвергируют на фосфорилирование фак-

тора инициации трансляции eIF2 $\alpha$ , что и вызывает блок инициации трансляции. Высвободившаяся из полисомы мРНК вместе с факторами инициации трансляции начинает конденсироваться в цитозоле в новую жидкую фазу, формируя стрессорные гранулы. В СГ детектируются трансляционные факторы eIF4E, eIF4G, eIF3, а также малые рибосомальные субъединицы и полиаденилированная мРНК. Недавние данные указывают на снижение активности провоспалительных сигнальных путей при формировании СГ [2]; кроме того, упаковка РНК в СГ, вероятно, будет также способствовать снижению активности путей врожденного иммунитета, их цитоплазматических РНК-сенсоров [3].

СГ являются динамическими как минимум в двух смыслах: во-первых, это временные образования, которые должны быть разобраны; во-вторых, СГ обмениваются компонентами с цитоплазмой. СГ претерпевают созревание, происходящее по механизму слияния наноразмерных зародышей в зрелую СГ [4] или путем нуклеации с формированием сравнительно стабильного ядра и внешней динамически обменивающейся оболочки, состоящей из РНК и белков [5]. По одной из моделей, оболочка может представлять собой длинные РНК, прикрепленные к ядру и выходящие за пределы белковой поверхности СГ [6]. По другим данным, состав РНК в ядре и оболочке примерно похож, однако это может быть как раз связано с соосаждением ядра и оболочки СГ по причине «прикрепления» РНК к ядру СГ в ходе транскриптомного анализа [7]. мРНК, высвободившаяся после разборки СГ при прекращении неблагоприятного воздействия или адаптации клетки, вновь может транслироваться.

На настоящий момент недостаточно ясны принципы, в соответствии с которыми транскрипты попадают в стрессорные гранулы и показывают предпочтительную локализацию в составе СГ. Khong et al. [7] изучили транскриптомный состав СГ и обнаружили, что более 78% транскриптов в стрессорных гранулах – это матричная РНК, составляющая в сумме 10–12% от общего внутриклеточного пула мРНК. По другим данным, бе-

локкодирующая РНК составляет в СГ 89,5%, длинная некодирующая РНК – 5,3% [1]. В СГ обычно попадают транскрипты с меньшей эффективностью трансляции (т.е. с меньшим количеством связанных рибосом) [7]. Наблюдается очень слабая (по сравнению с Р-тельцами) корреляция включения в СГ и обогащения АУ-элементами, так как последние более активно взаимодействуют с РНК-связывающими белками [1]. По другим данным, обогащенные в СГ мРНК имеют более короткое время жизни, невысокую копияность и меньший GC-состав [7]. Несколько источников обнаруживают перевес по включению в СГ более длинных РНК в связи с их большей способностью к межмолекулярным взаимодействиям [1, 7]. РНК-связывающие белки в СГ, взаимодействующие с депонированными РНК, обогащены по сравнению с общим пулом РНК-связывающих белков лишь умеренно [7], что может указывать на важную роль РНК-РНК-взаимодействий при сборке СГ. Вместе с тем недавняя работа предлагает альтернативное видение процесса сборки СГ: ему предшествует конденсация всего транскриптома, а не небольшого числа транскриптов, в так называемые конденсаты ингибированной трансляции (translation-initiation-inhibited condensates, ТИИС), которые являются продуктом динамического равновесия при конкуренции машинерии инициации трансляции и рекрутирования в ТИИС за свободный 5'-кеп мРНК; при этом ТИИС могут быть предшественниками СГ [8]. По данным этих авторов, обогащения СГ длинными РНК не наблюдается.

Высокоэкспрессируемые гены, обеспечивающие важные функции клетки, такие как гликолитический фермент GAPDH (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа) или актин, насыщения в стрессорных гранулах не показывают. Так, всего 4% от общего числа мРНК GAPDH консервируется в СГ при остром окислительном стрессе, на долю актина в составе СГ при этом приходится всего 0,5% консервируемых транскриптов [7]. Вместе с тем, указанные транскрипты относятся к продуктам так называемых генов домашнего хозяйства, т.е. постоянно транскрибируемых генов, что означает высокую готовность хроматина и транскрипционного аппарата к их синтезу и, возможно, низкую «ценность» этих транскриптов.

Протеом стрессорных гранул представлен более чем 200 различными белками, участвующими в посттранскрипционном созревании и трансляции мРНК, а также определяющими функциональные свойства самих СГ. Кроме того, протеом СГ изменяется в течение их существования в цитозоле клетки [9]. Белки поздней фазы СГ имеют малое содержание внутренне-неупорядоченных областей. Как известно, неупорядоченные белки имеют

количество партнеров в белок-белковых взаимодействиях, существенно превосходящее таковое у белков с определенной трехмерной конформацией. В связи с этим белки поздней фазы СГ меньше взаимодействуют друг с другом, хотя и ориентированы в значительной степени на процессинг законсервированных транскриптов. Белки ранней фазы, также называемые «нуклеирующими белками», обладают противоположными свойствами. Они имеют более высокую изоэлектрическую точку и большее число прионоподобных элементов, индуцирующих жидкофазное разделение и, по мнению ряда авторов, играющих ключевую роль в формировании стрессорных гранул. 65% ранних белков являются РНК-связывающими белками, определяющими РНК-центричность ранней фазы СГ и значимость взаимодействий с РНК при образовании СГ, против 38%-содержания РНК-связывающих белков на поздней стадии СГ [9]. Белки ранней фазы составляют ядро – внутреннюю часть СГ. К их числу относят G3BP1, G3BP2, UBAP2L, TIA1, TTP, FMRP, и CAPRIN1 [5]. Именно их принято рассматривать в качестве маркеров СГ. Нахождение G3BP1 в составе цитоплазматических стрессорных гранул, индуцированных арсенидом натрия, и его колокализация в этих структурах с HuR и TIA-1 были впервые показаны в 2003 году (статья содержала неточности и была скорректирована в 2023 году) [10]. С тех пор детектирование СГ по G3BP1 используется повсеместно, в том числе и нами в настоящей статье. Однако получаемые результаты следует интерпретировать с осторожностью. При применении фьюжн-плазмид и гиперэкспрессии G3BP1, агрегация данного белка в цитозоле может оказаться термодинамически предпочтительной [11], или могут образовываться эктопические гранулы без стресс-воздействия [12].

Несмотря на рост числа сведений и публикаций за последние годы по безмембранным органеллам в целом и по стрессорным гранулам в частности, многие аспекты СГ остаются малоизученными. Так, в качестве модели для изучения фундаментальных свойств СГ зачастую используют клеточную линию остеосаркомы человека – U2OS. Это крупные плоские клетки, имеющие сравнительно большую площадь и высокую эффективность трансфекции, что делает их удобными для проведения исследований. Однако важно учитывать, что это раковая линия, адаптированная к условиям культивирования. Динамика и особенности СГ у нормальных клеток *in vivo* в силу большого числа межклеточных взаимодействий, получаемых сигналов и наличия у клеток предела Хейфлика, могут существенно отличаться. Не исключено, что состав и динамика СГ могут быть тканеспецифичными.

Сборка СГ в экспериментах инициируется специфическими индукторами: чаще всего используют арсенит натрия, индуцирующий острый окислительный стресс, но могут использоваться и другие химические стрессоры, например, дитиотрейтол, восстанавливающий дисульфидные связи белков, что запускает в клетке ответ на несвернутые белки, известный как UPR (англ. Unfolded Protein Response), элементом которого является ингибирование кеп-зависимой трансляции [13]. Применяемые воздействия – 0,5 мМ арсенита натрия или 3 мМ дитиотрейтола – носят искусственный характер, и какие патофизиологические факторы, действующие при развитии заболеваний, будут инициировать сборку СГ, – вопрос по-прежнему плохо изученный.

Особое внимание СГ заслуживают при старении. На модельном организме *C. elegans* показана взаимосвязь между продолжительностью жизни и накоплением стрессорных гранул (в качестве маркеров были использованы белки PAB-1 и TIAR-2). У долгоживущих особей гранулы не были детектированы, а у особей с меньшей продолжительностью жизни и уменьшенным размером организма были РНК-гранулы, утратившие динамичность по мере старения [14].

С другой стороны, Ivanov et al. демонстрируют, что при хроническом стрессе, в частности окислительном, который также ассоциирован с ингибированием трансляции в клетке, клетки утрачивают способность формировать СГ в ответ на острое неблагоприятное воздействие. Предположительно, хронический стресс, в отличие от однократного острого, ингибирует трансляцию не только на этапе инициации (фосфорилирование eIF2 $\alpha$ ), но и на этапе элонгации (фосфорилирование eEF2), что приводит к «застреванию» на мРНК 80S рибосом. Наличие таковых на мРНК препятствует их переходу в СГ [15].

Для лучшего понимания роли стрессорных гранул в организменных процессах достаточно важным является их изучение на первичных культурах нормальных, нетрансформированных клеток, которые подвержены процессам стресса и старения в большей степени, чем трансформированные клеточные линии. В данной работе мы изучили сборку СГ на персонифицированных культурах нетрансформированных клеток эндотелия (ЭК) пупочной вены HUVEC. Их переход из физиологических условий в условия культивирования сопровождается депривацией сигналов и воздействием стрессовых факторов, среди которых высокий уровень кислорода, действие трипсина и метаболический стресс, вызванный отсутствием перфузии при статических условиях культивирования.

Мы исследовали действие ряда неблагоприятных факторов, действие которых эндотелиоциты могут подвергаться *in vivo*. К их числу относятся солевая нагрузка, гипотермия и осциллирующий поток жидкости.

## Методика

### Эндотелиальные клетки HUVEC – получение и культивирование

Пуповины были получены в ФГБУ «НМИЦ акушерства, гинекологии и перинатологии им. академика В.И. Кулакова» от здоровых рожениц в соответствии с разрешением комиссии № 11 по этике от 19.12.2024.

Индивидуальные донорские эндотелиальные клетки (HUVEC) выделяли из пуповины человека по методу, основанному на методиках Яффе [16] и Щегловитовой [17] с модификациями.

Свежие пупочные вены канюлировали и заполняли раствором диспазы (2 мг/мл) (Worthington Biochemical Corp., США) и инкубировали при 37 °C в течение 30 минут. Затем вены перфузировали PBS. Клетки собирали из перфузата центрифугированием при 1000 об/мин в течение 10 мин, ресуспендировали в среде M199 с солями Эрла (ПанЭко, Россия), 20% FBS (HighClone, Logan, UT, США), 2 мМ L-глутамин, 1 мМ пирувата натрия, 50 мкг/мл гентамицина (КРКА), 2 мкг/мл амфотерицина с добавлением 200 мкг/мл эндотелиального фактора роста (Sigma), 100 мкг/мл гепарина (Московский эндокринный завод, Москва, Россия) и высевали в культуральные флаконы площадью 25–75 см<sup>2</sup>. Клетки культивировали во влажной атмосфере с 5% CO<sub>2</sub> при 37 °C. Конфлюэнтные первичные монослои промывали и субкультивировали в пределах 1–3 пассажей трипсином (0,05% трипсин +0,02% ЭДТА, Gibco). Культуры, полученные от доноров, вели раздельно и не пулировали. Эксперименты проводили на 1–3 пассажах. Жизнеспособность клеток оценивалась с помощью трипанового синего, в экспериментах использовались клетки с жизнеспособностью не менее 90%.

### Индукция стрессорных гранул и иммунофлуоресценция

Образование стрессорных гранул оценивали после воздействия на эндотелиоциты арсенита натрия (0,5 мМ, 30 мин), дитиотрейтола (3 мМ, 1,5 ч), хлорида натрия (200 мМ добавочная, без учёта NaCl в M199, 1 ч), маннита (200 мМ, 1 ч), осциллирующего потока жидкости (1 ч на шейкере, помещенном в CO<sub>2</sub>-инкубатор), гипотермии (10 °C, 10 ч). Клетки фиксировали 2% ПФА, пермеабелизировали 0,5% Тритоном X-100, блокирова-

ли в течение 1,5 ч в ФСБ, содержащем 4% БСА и 0,1 М глицина, инкубировали с первичными антителами против G3BP1 (1:500, ThermoFisher, США) в течение ночи и окрашивали вторичными антителами анти-кролик, меченными FITC (1:1000, Имтек, Россия), либо STAR RED (1:1000, Abberior, Германия). Изображения получали на конфокальном микроскопе Nikon Eclipse Ti2, оснащенном модулем суперразрешения STEDYCON.

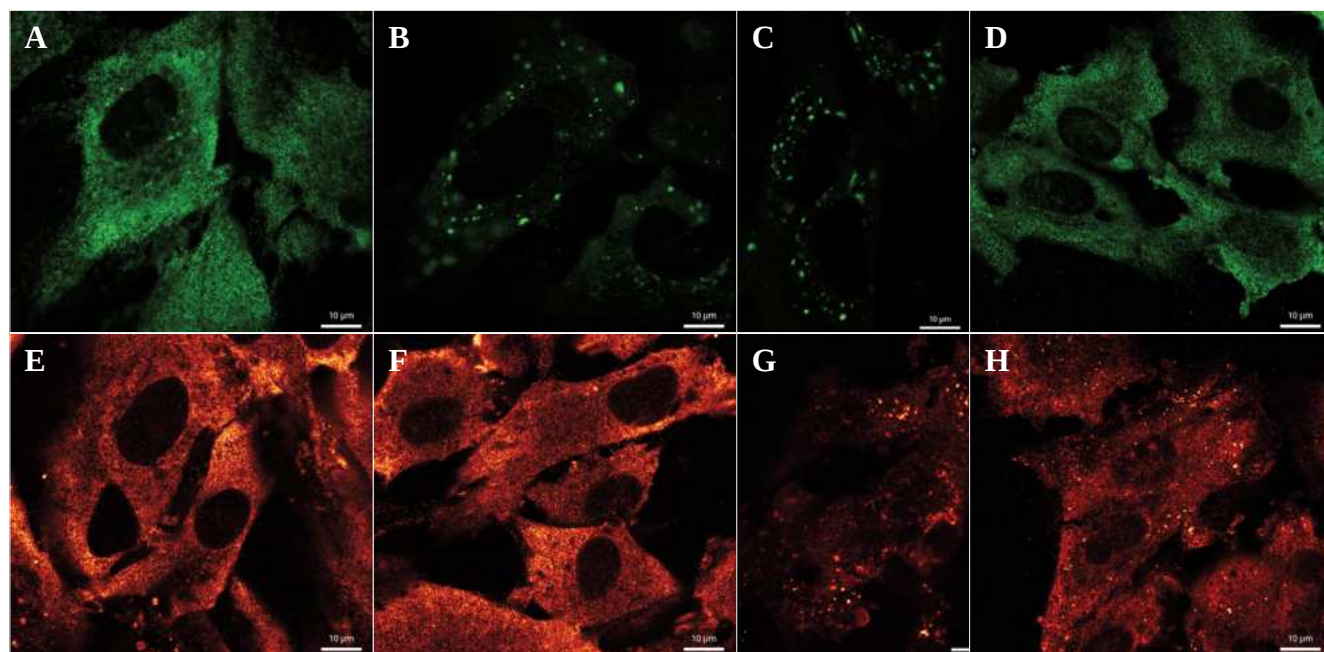
## Результаты

При действии на клетки культуры HUVEC 0,5 мМ арсенита натрия (30 минут) и 3 мМ дитиотрейтола (1,5 часа) визуализировались стрессорные гранулы (**рис. 1 В, С**). Распределение флуоресцентного сигнала (G3BP1) в контрольных клетках (лунках) осталось при этом диффузным (**рис. 1 А, Е**). Полученные данные совпадают с более ранними публикациями с использованием ЭК [18] и фибробластов [19]: клетки эндотелия HUVEC в ответ как на острый окислительный, так и на острый восстановительный стресс также формируют стрессорные гранулы с включением белка G3BP1. Этот результат в дальнейшем был использован нами в качестве положительного контроля.

При иммунофлуоресцентном окрашивании G3BP1 не было обнаружено стрессорных гранул в клетках, подвергавшихся вращательно-осциллирующему потоку питательной среды, создаваемому на шейкере в течение 90 минут (**Рис.1, D**). Данный вид воздействия был выбран, поскольку эндотелиальные клетки являются специализированными, механочувствительными и непрерывно испытывают влияние вынужденного конвективного массопереноса в организме: ток крови вызывает их сдвиговую деформацию и растяжение, а эти механические изменения кодируются в химические сигналы в ходе механотрансмиссии и механотрансдукции [20]. В норме в крупных сосудах преобладает устойчивый ламинарный поток, что обусловлено сравнительно низкой скоростью крови, а также высоким сопротивлением. Однако при некоторых патологиях ламинарность может быть нарушена. Так, например, при стенозе скорость кровотока возрастает, а после преодоления области сужения ламинарность потока нарушается, он становится турбулентным или осциллирующим. Это наблюдается, к примеру, при формировании в сосуде атеросклеротической бляшки. Снижение вязкости крови, обусловленное анемией, также может стимулировать переход к турбулентности. Исследование Мауга et al. демонстрирует существенную перестройку транскрипционного профиля эндотелиоцитов под действием осциллирующего потока [21]. Уже после 60 минут воздействия значительно снижается экспрессия генов, ас-

социированных с эндотелиальным фенотипом (KLF2, KLF4, NOS3 и т.д.), а экспрессия генов, ассоциированных с воспалением и иммунным ответом, напротив, возрастает. Такие данные позволили нам сделать предположение, что часть транскриптов может быть вследствие этого депонирована в ЭК в стрессорных гранулах. Кроме того, в начальной фазе действия потока на эндотелиальные клетки может происходить растяжение элементов цитоскелета (актиновых, промежуточных филаментов, микротрубочек) и их связей с внеклеточным матриксом (например, фокальных адгезий). Хотя энергия белок-белковых связей в комплексах, в том числе цитоскелетных белков, их адаптеров и внеклеточных белков (например, талин-винкулин, актин-миозин), в среднем примерно равна или даже несколько выше энергии нековалентных конформационных сил (водородных связей, гидрофобных взаимодействий), но она значительно ниже энергии дисульфидных ковалентных связей. Поэтому возможность разворачивания цитоскелетных белков при внешних механических воздействиях зависит от соотношения стабилизирующих конформационных сил и их динамики. В ранней фазе, когда действие внешних сил еще не успело уравновеситься адаптивными перестройками цитоскелета, в том числе в результате изменившейся генной экспрессии, вероятно, нельзя исключать частичное разворачивание белков. Так, физиологические силовые воздействия способны растягивать молекулы талина, которые в результате этого экспонируют ранее скрытые криптические связывающие сайты для винкулина [22]. Рентгеноструктурный анализ показал, что  $\alpha$ -катенин, который связывает кадгерин с актомиозином, принимает стабильную аутоингибиторную конформацию, делающую сайт связывания винкулина недоступным [23]. При растяжении же отдельных молекул  $\alpha$ -катенина с помощью магнитного пинцета было показано, что субдомены с М1 (винкулин-связывающий домен (VBD)) до М111 разворачиваются в три характерных этапа: обратимый этап при величине действующей силы ~5 пН и два неравновесных этапа при 10–15 пН, при этом усилие в 5 пН запускает связывание винкулина с доменом М1 в соотношении 1:1 с наномолярной аффинностью, предотвращая рефолдинг домена М1 после снятия силы [24]. В этой работе было показано, таким образом, что физиологически значимые силы обратимо разворачивают  $\alpha$ -катенин, активируя связывание винкулина, которое затем стабилизирует  $\alpha$ -катенин в его открытой конформации, преобразуя действующую силу в устойчивый биохимический сигнал.

С учетом частичного разворачивания цитоскелетных белков при действии механических сил на клет-



**Рис. 1.** Сборка стрессорных гранул клетками HUVEC в разных условиях, примеры микрофотографий. А,Е – необработанный клетки (контроль); В – 0,5 мМ NaAsO<sub>2</sub> 30 минут; С – 3 мМ DTT 1,5 часа; D – осциллирующий поток 1 час; F – гипотермия 10°C, 10 ч; G – NaCl 200 мМ, 1 ч; H – маннит 200 мМ, 1 ч. Клетки инкубировали в указанных G,условиях, после чего проводили процедуру иммунофлуоресцентного окрашивания с использованием антител к G3BP1. Количество независимых экспериментов n=2.

**Fig. 1.** SGs assembly in HUVEC cells under various conditions. Microphotography examples. A, E – untreated cells (control), B – 0,5 mM NaAsO<sub>2</sub> 30 min; C – 3 mM DTT 1,5 h; D – oscillatory shear stress 1 h; F – hypothermia 10°C, 10 h; G – NaCl 200 mM, 1 h; H – mannitol 200 mM, 1 h. Cells were incubated in the given conditions with subsequent immunofluorescent staining. G3BP1 antibodies were used. The total number of independent experiments n=2.

ку, возникает вопрос, задействует ли клетка при этом какие-либо механизмы стрессового ответа. Хотя механические силы предположительно оказывают более ограниченное влияние на клеточный протеом по сравнению, например, с химическими индукторами разворачивания белков, вопрос образования стрессорных гранул при деформации клетки остаётся недостаточно изученным.

Важным аспектом является также взаимосвязь СГ и цитоскелета, который перестраивается при механических воздействиях. Участие актиновых филаментов в динамике СГ в настоящее время показано только в клетках растений и не обнаружено в клетках млекопитающих при остром окислительном стрессе. Замечена тенденция роста стрессорных гранул в областях клетки, богатых микротрубочками и бедных актином [1]. Показано, что моторный белок NM II участвует в формировании стрессорных гранул, стимулируя подвижность G3BP1-содержащих органелл и их слияние в более крупные гранулы. Кроме того, ингибирование NM II замедляет сборку СГ, а также приводит к уменьшению их количества [9]. Ранние исследования подчёр-

кивают роль [24] и необходимость [26] микротрубочек в формировании стрессорных гранул. С одной стороны, имеет место АТФ-зависимый транспорт рибонуклеопротеиновых частиц кинезином и динеином, а также скольжение рибонуклеопротеиновых частиц по микротрубочкам с последующим их слиянием в гранулы, но при перестраивании сети микротрубочек (например, при возникновении механического воздействия на клетку) может быть реализован и другой механизм, называемый «pushing or pulling», т.е. тяни-толкай. Имобилизованные на микротрубочках рибонуклеопротеиновые частицы начинают агрегировать и формировать более крупные по размеру гранулы вследствие динамической нестабильности микротрубочек [27]. В сравнительно недавней работе валидировали взаимодействие РНК-белкового конденсата *in vitro* и заключили, что субъединицы микротрубочек, обладающие слабым сродством к интерфейсам стрессовых гранул, полимеризуются, и межмолекулярное сродство микротрубочек к СГ возрастает, обеспечивая достаточную адгезию для деформации СГ, и сети микротрубочек значительно плотнее вокруг СГ [28].

Для проверки сборки СГ мы подвергали HUVEC интенсивному вращательно-осциллирующему потоку питательной среды, создаваемому на шейкере в течение 60 минут, при этом G3BP1-позитивные стрессорные гранулы детектированы не были обнаружены. Возможно, для их сборки требуется расширенный временной диапазон из-за особенностей механического воздействия. Однако на более длительном интервале будет происходить адаптация клеток с более активным вовлечением экспрессии генов. Кроме того, белок G3BP1 не является универсальным маркером СГ, в качестве альтернативного маркера используются также G3BP2 – паралог G3BP1, кодируемый геном, локализованным на хромосоме 4, в то время как G3BP1 локализован на хромосоме 5. Данные белки имеют порядка 60% совпадения аминокислотной последовательности, с наиболее высоким сходством в NTF2 – подобных доменов, что указывает на их способность одинаковым образом проходить через ядерные поры. РНК-связывающие домены RRM и RRG, а также богатые глицином участки у G3BP2 представлены более длинными аминокислотными последовательностями по сравнению с G3BP1 [29].

Li et al. показали повышение экспрессии G3BP2, но не G3BP1 в эндотелиальных клетках, подвергнутых осциллирующему потоку жидкости. Ими также была продемонстрирована сборка G3BP2-содержащих стрессорных гранул и колокализация G3BP2 с транскрипционным фактором YAP, являющимся частью каскада интегрин  $\beta$ 3-YAP и запускающим повышенную экспрессию генов, ассоциированных с воспалением эндотелия и сосудистой проницаемостью [30].

Интересно, что G3BP2, но не G3BP1 способен связывать IкВ $\alpha$  и комплекс IкВ $\alpha$ /NF-кВ. G3BP2-опосредованное удержание IкВ $\alpha$  в цитозоле клетки препятствует его транслокации в ядро и ингибированию ядерного NF-кВ, что стимулирует NF-кВ-индуцированное воспаление. А вот стабилизация G3BP2 в цитозоле комплекса IкВ $\alpha$ /NF-кВ, напротив, препятствует активации воспалительного каскада [29].

Была изучена возможность сборки СГ в ЭК при действии десятичасовой гипотермии 10°C. На уровне организма различают лёгкую (32–35°C), умеренную (28–32°C) и тяжёлую гипотермию (менее 28°C). Последняя характеризуется риском остановки сердца и летального исхода. Однако не системная, а локальная температура отдельных частей тела и органов, особенно в северных регионах, может опускаться ниже без существенных негативных последствий для здоровья человека. Например, онемение и потеря ловкости пальцев свидетельствуют о достижении температуры 10–15°C в микрососудах ко-

нечности. Наблюдаемые при этом функциональные нарушения не приводят к необратимому повреждению тканей. Не следует забывать, что температура 4°C используется как в клеточной биологии для консервации образцов и сохранения морфологических характеристик клеток на недлительный срок, так и в трансплантологии при хранении донорских органов и клеток.

Hofman et al. показали сборку стрессорных гранул клетками почки зелёной мартышки COS7, мышинными эмбриональными фибробластами MEF, а также линиями клеток человека Du145, HeLa и Huh7 в ответ на холодовой шок 10°C [31]. Уже через 4 часа при такой температуре 26% клеток COS7 содержали в цитозоле СГ, к 10 часам процент таких клеток увеличился до 93%, при этом процент рибосом, вовлечённых в трансляцию, снизился до 8%. Показано фосфорилирование eIF2 $\alpha$ , в том числе PERK-опосредованное, а также активация AMPK. После 10 часов холодового шока снизился митохондриальный потенциал, уровень внутриклеточного АТФ упал более чем на 60% по сравнению с исходным. Наблюдаемые в цитозоле гранулы содержали такие белки, ассоциированные с трансляцией, как eIF4G и eIF2 $\alpha$ , а также РНК-связывающие белки G3BP, PABP, HuR и TIA1.

После 10 часов при температуре 10°C мы не выявили цитоплазматических G3BP1-содержащих СГ в клетках эндотелия пупочной вены HUVEC (**рис.1 F**). С одной стороны, могут иметь место альтернативные механизмы тканеспецифической адаптации эндотелия к холодовому шоку, отличные от сборки стрессорных гранул. С другой стороны, может отличаться динамика их сборки и разборки. Hofman et al. утверждают, что СГ по возвращении клеток в условия оптимальной температуры разбираются через 2,5 минуты в клетках *S. Cerevisiae* (30°C) и в течение 5–10 минут в клетках млекопитающих (37°C). Мы прибегали к формальдегидной фиксации при комнатной температуре в течение нескольких минут после холодового шока и считаем маловероятной столь быструю диссоциацию стрессорных гранул у HUVEC. Следует отметить, что выбранная нами модель – HUVEC – адаптированные к культуре нетрансформированные клетки, которые уже не находились в стадии логарифмического роста и отличались от использованных Hofman et al. клеточных линий увеличенным временем удвоения. В отсутствие интенсивного роста в клетках трансляция происходит не так активно, и, возможно, образование стрессорных гранул является избыточным механизмом в условиях гипотермии.

Исследовали также способность клеток HUVEC формировать стрессорные гранулы в ответ как на по-

вышенное содержание хлорида натрия в питательной среде, так и на повышенную осмолярность питательной среды без изменения её ионного состава (рис.1, G, H). Известно, что повышенное потребление поваренной соли с пищей увеличивает риск развития сердечно-сосудистых и воспалительных заболеваний. Солезависимая артериальная гипертензия сопровождается нарушениями со стороны ЭК и повышенным периферическим сосудистым сопротивлением; распространенность солечувствительности среди гипертоников составляет порядка 50% [32]. Сообщается, что повышение концентрации  $\text{Na}^+$  катионов в плазме приводит к реорганизации цитоскелета ЭК, снижению продукции оксида азота (NO), повышению выработки эндотелина-1, а также повреждению эндотелиального гликокаликса и выработке ЭК провоспалительных цитокинов, в том числе индуцирующих адгезию моноцитов, также может развиваться эндотелиальная дисфункция [33].

Burg et al. [34] рассмотрели эффект NaCl-индуцированной гиперосмолярности на различные клеточные типы. Они показали, что в течение 60 минут в гиперосмотической среде наблюдается снижение объёма клетки, вместе с тем ионная сила цитоплазмы и концентрация растворённых в ней компонентов возрастает. Клетка пытается компенсировать эти изменения с помощью механизма регуляторного увеличения объёма (RVI) в течение последующих 20 часов. RVI реализуется посредством как перестройки цитоскелета, так и активации транскрипционного фактора TonEBP/OREBP. Данный фактор индуцирует экспрессию генов, ответственных за синтез и транспорт внутриклеточных органических осмолитов, например бетаина или мио-инозитола. Эти осмолиты помогают стабилизировать внутриклеточные белки и восстановить клеточный объём. Однако, когда осмолярность среды слишком высока, данный компенсаторный механизм может быть недостаточным, что может привести к активации путей апоптоза.

Кроме того, среда с высоким содержанием NaCl в течение часа вызывает разрывы цепей ДНК. Причём, пока высокий уровень осмолярности сохраняется, система репарации ДНК подавлена, и повреждения исправлены не будут. Вместе с тем в клетке развивается окислительный стресс, повышается уровень АФК, что, в частности, приводит к окислению белков. Происходит ингибирование процессов транскрипции и трансляции, опосредованное фосфорилированием eIF2 $\alpha$ . Интересно, что синтез белков теплового шока в условиях гиперосмолярности, наоборот, усиливается, что указывает на развитие клеточного стрессового ответа.

В частности, TonEBP/OREBP стимулирует экспрессию шаперона HSP70 [34].

Важно отметить, что NaCl-опосредованная гиперосмолярность может иметь ряд специфических эффектов, обусловленных ионами. Так, например, повышенная концентрация  $\text{Cl}^-$  аниона специфически повышает экспрессию  $\alpha$ -субъединицы натрий-калиевой – АТФазы. По этой причине мы альтернативно индуцировали осмотический шок ЭК маннитом, слабо метаболизирующимся шестиатомным спиртом.

Известно, что как маннит, так и NaCl повышают фосфорилирование тирозиновых остатков белков, ассоциированных с контактами фокальной адгезии, – паксиллина (PXN) и киназы FAK в эндотелиальных клетках. Помимо этого, гиперосмолярность, вызванная и маннитом, и хлоридом натрия, вызывает повышение активности c-Jun N-терминальной киназы (JNK). Интересно, что маннитол также повышает концентрацию внутриклеточного свободного  $\text{Ca}^{2+}$  дозозависимым образом [35].

Была зарегистрирована сборка цитоплазматических G3BP1-содержащих стрессорных гранул клетками эндотелия в ответ на повышение концентрации NaCl (рис.1 G). Это коррелирует с ранее полученными данными Salam et al., показавшими сборку  $\text{Cl}^-$  как плюрипотентными стволовыми клетками, так и клетками нейробластомы SH-SY5Y в ответ на повышенную концентрацию NaCl. Данная исследовательская группа также отмечает, что сборка  $\text{Cl}^-$  в гиперосмотических условиях может осуществляться как без фосфорилирования eIF2 $\alpha$  при концентрации NaCl 200 mM, так и опосредовано фосфорилированием eIF2 $\alpha$  при больших концентрациях хлорида натрия (400 mM) [36].

В нашем случае среднее число стрессорных гранул на клетку было выше после обработки ЭК хлоридом натрия, но не маннитом. Полученный результат может быть сопряжён со специфическими эффектами NaCl. Требуется проведение дополнительных исследований для установления возможных различий в индукции сборки  $\text{Cl}^-$  хлоридом натрия и маннитом.

Следует также отметить, что размеры  $\text{Cl}^-$  в случае осмотического шока были меньше по сравнению с гранулами, индуцированными арсенитом натрия или дитиотрейтолом. Это может, с одной стороны указывать на их более динамичную природу и на повышенную возможность адаптации клеток к осмотическому стрессу, но с другой стороны – на перестройки цитоскелета в условиях гиперосмолярности, влекущие за собой изменения в динамике рибонуклеопротеиновых частиц.

## Литература

## (п.п. 1–11, 14–16, 18–19 и 21–36 см. References)»

12. Пасько А.Ю., Микрюкова А.А., Зайченко Д.М., Московцев А.А., Кубатиев А.А. (2022). Динамика эктопических стрессорных гранул в клетках FRSN и EA.hy926. *Патогенез*. 2022; 20(4): 87-92. <https://doi.org/10.25557/2310-0435.2022.04.87-92>
13. Меситов М.В., Московцев А.А., Кубатиев А.А. Молекулярная логика сигнальных путей при стрессе эндоплазматического ретикулума: система UPR (Unfolded Protein Response). *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2013; 57(4): 97–108.
17. Щегловитова О.Н., Романов Ю.А., Максянина Е.В., Свиницкая В.А., Пронин А.Г. Инфицированные вирусом простого герпеса 1 типа эндотелиальные клетки человека индуцируют продукцию противовирусных и провоспалительных факторов лейкоцитами периферической крови in vitro. *Российский иммунологический журнал*. 2002; 7(2): 115–22.
20. Московцев А. А., Колесов Д. В., Мильникова А. Н., Зайченко Д. М., Соколовская А. А., Кубатиев А. А. Ответы эндотелиальных клеток на деформацию сдвига: механотрансдукция, клеточный стресс и адаптация. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2017; 61(4): 112–25. <https://doi.org/10.25557/IGPP.2017.4.8531>

## References

1. Biancon G., Busarello E., Cheng M., Halene S. and Tebaldi T. Dissecting the stress granule RNA world: dynamics, strategies, and data. *RNA*, Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2025; 31, 743–55. <https://doi.org/10.1261/rna.080409.125>
2. Yang G., Wang Y., Guo J. and Rui T. Connecting the Dots: Stress Granule and Cardiovascular Diseases. *Journal of Cardiovascular Translational Research*. 2025; 18:4, Springer. 18, 738–48. <https://doi.org/10.1007/S12265-025-10619-W>
3. Paget M., Cadena C., Ahmad S., Wang H.T., Jordan T.X., Kim E. et al. Stress granules are shock absorbers that prevent excessive innate immune responses to dsRNA. *Molecular Cell*, Cell Press. 2023; 83, 1180. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2023.03.010>
4. Panas M.D., Ivanov P. and Anderson P. Mechanistic insights into mammalian stress granule dynamics. *The Journal of Cell Biology*, Rockefeller University Press. 2016; 215, 313. <https://doi.org/10.1083/JCB.201609081>
5. Hirose T., Ninomiya K., Nakagawa S. and Yamazaki, T. A guide to membraneless organelles and their various roles in gene regulation. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2022 24:4, Nature Publishing Group. 2022; 24, 288–304. <https://doi.org/10.1038/s41580-022-00558-8>
6. Moon S.L., Morisaki T., Khong A., Lyon K., Parker R. and Stasevich T.J. Multicolor single-molecule tracking of mRNA interactions with RNP granules. *Nature Cell Biology*, Nature Publishing Group. 2019; 21, 162. <https://doi.org/10.1038/S41556-018-0263-4>
7. Khong A., Matheny T., Jain S., Mitchell S.F., Wheeler J.R. and Parker R. The Stress Granule Transcriptome Reveals Principles of mRNA Accumulation in Stress Granules. *Molecular Cell*, Cell Press. 2017; 68, 808–20. e5. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2017.10.015>
8. Glauninger H., Bard J.A.M., Wong Hickernell C.J., Velez K.M., Airolidi E.M., Li W. et al. Transcriptome-wide mRNP condensation precedes stress granule formation and excludes new mRNAs. *Molecular Cell*, Elsevier BV. 2025; 85, 4393. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2025.11.003>
9. Hu S., Zhang Y., Yi Q., Yang C., Liu Y. and Bai Y. Time-resolved proteomic profiling reveals compositional and functional transitions across the stress granule life cycle. *Nature Communications* 2023 14:1, Nature Publishing Group. 2023; 14, 7782-. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-43470-1>
10. Tourrière H., Chebli K., Zekri L., Courselaud B., Blanchard J.M., Bertrand E. et al. The RasGAP-associated endoribonuclease G3BP mediates stress granule assembly. *Journal of Cell Biology*, Rockefeller University Press. 2023; 222. <https://doi.org/10.1083/jcb.200212128072023new>
11. Van Treeck B., Protter D.S.W., Matheny T., Khong A., Link C.D. and Parker R. RNA self-assembly contributes to stress granule formation and defining the stress granule transcriptome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, National Academy of Sciences. 2018; 115, 2734–9. <https://doi.org/10.1073/PNAS.1800038115>
12. Pas'ko A.Y., Mikryukova A.A., Zaychenko D.M., Moskovtsev A.A., and Kubatiev A.A. Dynamics of ectopic stress granules in cells FRSN and EA.hy926. *Patogenez*, Cifra Ltd – Russian Agency for Digital Standardization (RADS). 2022; 87–92. <https://doi.org/10.25557/2310-0435.2022.04.87-92>
13. Mesitov M. V, Moskovtsev A.A. and Kubatiev A.A. Molecular logic of the endoplasmic reticulum stress signal pathways: the system of unfolded protein response. *Patologicheskaja Fiziologija i Eksperimental'naja Terapija*, 2013; 97–108.
14. Lechler M.C., Crawford E.D., Groh N., Widmaier K., Jung R., Kirstein J. et al. Reduced Insulin/IGF-1 Signaling Restores the Dynamic Properties of Key Stress Granule Proteins during Aging. *Cell Reports*, Cell Press. 2017; 18, 454–67. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2016.12.033>
15. Adachi Y., Williams A.M., Masuda M., Taketani Y., Anderson P.J. and Ivanov P. Chronic stress antagonizes formation of Stress Granules. *BioRxiv*, Cold Spring Harbor Laboratory. 2024.10.29.620814. <https://doi.org/10.1101/2024.10.29.620814>
16. Jaffe E.A., Nachman R.L., Becker C.G. and Minick C.R. Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins. Identification by morphologic and immunologic criteria. *The Journal of Clinical Investigation*, J Clin Invest. 1973; 52, 2745–56. <https://doi.org/10.1172/JCI107470>
17. Scheglovitova O.N., Romanov Y.A., Maksianina E. V, Svintsitskaya V.A. and Pronin A.G. Herpes simplex type I virus infected human vascular endothelial cells induce the production of anti-viral and proinflammatory factors by peripheral blood leukocytes in vitro. *Russian Journal of Immunology: RJI: Official Journal of Russian Society of Immunology*. 2002; 7, 115–22.
18. El Bakkouri Y., Chidiac R., Delisle C., Corriveau J., Cagnone G., Gannonac'h-Lovejoy V. et al. ZO-1 interacts with YB-1 in endothelial cells to regulate stress granule formation during angiogenesis. *Nature Communications* 2024 15:1, Nature Publishing Group. 2024; 15, 4405. <https://doi.org/10.1038/s41467-024-48852-7>
19. Lo Bello M., Di Fini F., Notaro A., Spataro R., Conforti F.L. and La Bella V. ALS-Related Mutant FUS Protein Is Mislocalized to Cytoplasm and Is Recruited into Stress Granules of Fibroblasts from Asymptomatic

- FUS P525L Mutation Carriers. *Neurodegenerative Diseases*, S. Karger AG. 2017; 17, 292–303. <https://doi.org/10.1159/000480085>
20. Moskovtsev A.A., Kolesov D.V., Mylnikova A.N., Zaychenko D.M., Sokolovskaya A.A. and Kubatiev A.A. Endothelial shear stress responses: mechanotransduction, cell stress and adaptation. *Patologicheskaja Fiziologija i Eksperimental'naja Terapija*, 2017; 61(4): 112–25. <https://doi.org/10.25557/IGPP.2017.4.8531>
  21. Maurya M.R., Gupta S., Li J.Y.S., Ajami N.E., Chen Z.B., Shyy J.Y.J. et al. Longitudinal shear stress response in human endothelial cells to atheroprone and atheroprotective conditions. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, National Academy of Sciences. 2021; 118, e2023236118. <https://doi.org/10.1073/PNAS.2023236118>
  22. Del Rio A., Perez-Jimenez R., Liu R., Roca-Cusachs P., Fernandez J.M. and Sheetz M.P. Stretching single talin rod molecules activates vinculin binding. *Science*, American Association for the Advancement of Science. 2009; 323, 638–41. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1162912>
  23. Rangarajan E.S. and Izard T. The cytoskeletal protein  $\alpha$ -catenin unfolds upon binding to vinculin. *Journal of Biological Chemistry*, J Biol Chem. 2012; 287, 18492–9. <https://doi.org/10.1074/jbc.M112.351023>
  24. Yao M., Qiu W., Liu R., Efremov A.K., Cong P., Seddiki R. et al. Force-dependent conformational switch of  $\alpha$ -catenin controls vinculin binding. *Nature Communications* 2014 5:1, Nature Publishing Group. 2014; 5, 4525. <https://doi.org/10.1038/ncomms5525>
  25. Bartoli K.M., Bishop D.L. and Saunders W.S. The Role of Molecular Microtubule Motors and the Microtubule Cytoskeleton in Stress Granule Dynamics. *International Journal of Cell Biology*, John Wiley & Sons, Ltd. 2011, 939848. <https://doi.org/10.1155/2011/939848>
  26. Bøddeker T.J., Rusch A., Leeners K., Murrell M.P. and Dufresne E.R. Actin and Microtubules Position Stress Granules. *PRX Life*, American Physical Society. 2023; 1, 023010. <https://doi.org/10.1103/PRXLife.1.023010>
  27. Chernov K.G., Barbet A., Hamon L., Ovchinnikov L.P., Curmi P.A. and Pastré D. Role of Microtubules in Stress Granule Assembly. *Journal of Biological Chemistry*, Elsevier. 2009; 284, 36569–80. <https://doi.org/10.1074/JBC.M109.042879>
  28. Bøddeker T.J., Rosowski K.A., Berchtold D., Emmanouilidis L., Han Y., Allain F.H.T. et al. (2022) Non-specific adhesive forces between filaments and membraneless organelles. *Nature Physics* 2022 18:5, Nature Publishing Group. 18, 571–8. <https://doi.org/10.1038/s41567-022-01537-8>
  29. Sidibé H., Dubinski A. and Vande Velde C. The multi-functional RNA-binding protein G3BP1 and its potential implication in neurodegenerative disease. *Journal of Neurochemistry*, John Wiley & Sons, Ltd. 2021; 157, 944–62. <https://doi.org/10.1111/JNC.15280>
  30. Li T., Qiu J., Jia T., Liang Y., Zhang K., Yan W. et al. G3BP2 regulates oscillatory shear stress-induced endothelial dysfunction. *Genes & Diseases*, Elsevier. 2022; 9, 1701–15. <https://doi.org/10.1016/J.GENDIS.2021.11.003>
  31. Hofmann S., Cherkasova V., Bankhead P., Bukau B. and Stoeklin G. Translation suppression promotes stress granule formation and cell survival in response to cold shock. <https://doi.org/10.1091/mbc.E12-04-0296>, The American Society for Cell Biology. 2012; 23, 3786–800. <https://doi.org/10.1091/mbc.E12-04-0296>
  32. Bailey M.A. and Dhaun N. Salt Sensitivity: Causes, Consequences, and Recent Advances. *Hypertension*, Lippincott Williams and Wilkins. 2024; 81, 476–89. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.123.17959>
  33. Schierke F., Wyrwoll M.J., Wisdorf M., Niedzielski L., Maase M., Ruck T. et al. Nanomechanics of the endothelial glycocalyx contribute to Na<sup>+</sup>-induced vascular inflammation. *Scientific Reports* 2017 7:1, Nature Publishing Group. 2017; 7, 46476-. <https://doi.org/10.1038/srep46476>
  34. Burg M.B., Ferraris J.D. and Dmitrieva N.I. Cellular Response to Hyperosmotic Stresses. <https://doi.org/10.1152/Physrev000562006>, American Physiological Society. 2007; 87, 1441–74. <https://doi.org/10.1152/PHYSREV.00056.2006>
  35. Malek A.M., Goss G.G., Jiang L., Izumo S. and Alper S.L. Mannitol at clinical concentrations activates multiple signaling pathways and induces apoptosis in endothelial cells. *Stroke*, Lippincott Williams and Wilkins. 1998; 29, 2631–40. <https://doi.org/10.1161/01.STR.29.12.2631>
  36. Salloum-Asfar S., Engelke R., Mousa H., Goswami N., Thompson I.R., Palangi F. et al. Hyperosmotic Stress Induces a Specific Pattern for Stress Granule Formation in Human-Induced Pluripotent Stem Cells. *Stem Cells International*, John Wiley & Sons, Ltd. 2021, 8274936. <https://doi.org/10.1155/2021/8274936>

**Сведения об авторах:**

**Мишина Александра Владимировна**, мл. науч. сотр. лаб. клеточного стресса, ФГБНУ «НИИОПП»; лаб.-иссл. лаб. Молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины;

**Пасько Алексей Юрьевич**, аспирант, мл. науч. сотр. лаб. клеточного стресса, ФГБНУ «НИИОПП»;

**Астахова Анна Ивановна**, канд. физ.-мат. наук, вед. науч. сотр. лаб. клеточного стресса, ФГБНУ «НИИОПП»;

**Микрюкова Анна Алексеевна**, младший научный сотрудник лаборатории клеточного стресса, ФГБНУ «НИИОПП»;

**Зиганшина Марина Михайловна**, доктор биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. клинической иммунологии ФГБУ «НИИЦ АГП им. акад. В.И.Кулакова» Минздрава России; вед. науч. сотр. лаб. клеточного стресса ФГБНУ «НИИОПП»;

**Лискова Юлия Владимировна**, доктор мед. наук, проф. каф. факультетской терапии института клинической медицины Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова Минздрава России;

**Антошел Диана Ивановна**, без степени, ассистент каф. факультетской терапии института клинической медицины Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова Минздрава России;

**Коваленко Людмила Васильевна**, доктор мед. наук, проф., зав. каф. патофизиологии и общей патологии Медицинского института Бюджетного учреждения высшего образования Ханты-Мансийского автономного округа – Югры «Сургутский государственный университет»;

**Московцев Алексей Александрович**, канд. мед. наук, зав. лаб. клеточного стресса, руководитель Центра коллективного пользования научным оборудованием ФГБНУ «НИИОПП», ведущий научный сотрудник лаб. Молекулярно-генетической диагностики и персонализированной медицины, доцент кафедры общей патологии и патофизиологии РМАНПО.