

ЦТП ФХФ РАН, МОСКВА, РОССИЯ

19-20 Июня 2026



Системная биология физиология

НАУЧНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ
"БИОФИЗИКА И
ФИЗИОЛОГИЯ КЛЕТКИ"

СИСТЕМНАЯ БИОЛОГИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ

Специальный выпуск,
посвященный научной конференции
“Биофизика и физиология клетки”
Москва, 19-20 июня, 2026 г.

Организаторы конференции:

Федеральное государственное бюджетное учреждение Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии Российской академии наук (ЦТП ФХФ РАН), г. Москва, Россия

Программный комитет:

Гудимчук Никита Борисович - председатель программного комитета, д.ф.-м.н., зав. лабораторией биофизики цитоскелета ЦТП ФХФ РАН, Москва, Россия, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Пантелеев Михаил Александрович - д.ф.-м.н. профессор, член-корреспондент РАН, директор ЦТП ФХФ РАН, Москва, Россия

Свешникова Анастасия Никитична - д.ф.-м.н., зав. лабораторией клеточной биологии и трансляционной медицины НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачёва, Москва, Россия

Баландина Анна Николаевна - к.б.н., заместитель директора по науке ЦТП ФХФ РАН, Москва, Россия, НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачёва, Москва, Россия

Оргкомитет:

Гудимчук Н.Б. - председатель, ЦТП ФХФ РАН, Москва, Россия,
Василевская В.Д., Васильева О.В., Тимошин Г.С., Астанкович К.А, Лифшиц И.А.

Адрес оргкомитета:

109029, Москва, ул. Средняя Калитниковская 30, ЦТП ФХФ РАН,
тел.: 8 (495) 678-31-16,
e-mail: info@ctppcr.ru

ISSN: 2949-0758

DOI: 10.65189/2949-0758



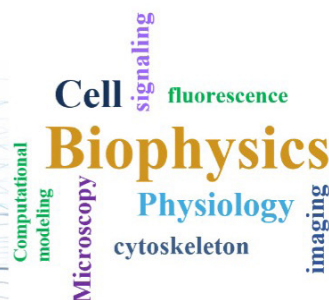
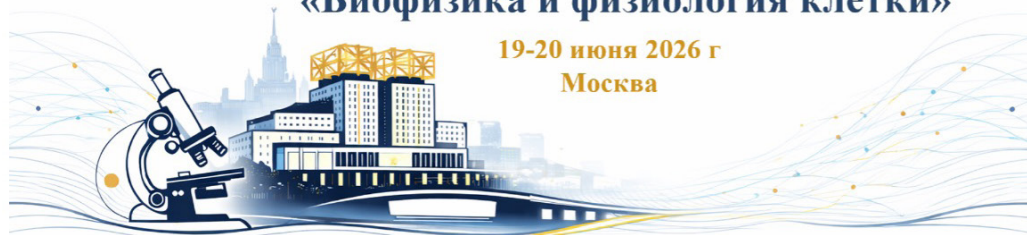
Программа конференции

19 июня 2026 года – I день конференции

10:00 – 11:00	Регистрация, размещение постеров	
11:00 – 11:05	Открытие конференции	
Пленарный доклад		
11:05 – 12:00	Киреев Игорь Игоревич, НИИ Физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского (г. Москва)	Восстановление наднуклеосомной организации хроматина после репликации ДНК: роль SMC- комплексов
12:00-12:15	Кофе-брейк	
Секция «Оптические методы в визуализации структуры и динамики клеток»		
12:15– 12:45	Ширшин Евгений Александрович, физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова (г. Москва)	Оптическая визуализация клеток с высоким временным и спектральным разрешением — применение для задач диагностики
12:45 – 13:15	Бутов Кирилл Романович, НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им Дмитрия Рогачева (г. Москва)	Использование флуоресцентных белков для определения патогенности новых генетических вариантов человека
13:15 – 13:45	Пчицкая Екатерина Игоревна, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого (г. Санкт-Петербург)	От оптической визуализации к цифровому анализу синапсов: количественная 3D морфология дендритных шипиков
13:45 – 14:30	Обед	
14:00 – 16:00	Постерная сессия 1	
Секция «Цитоскелет, сигнализация и биомеханика клеток» (часть 1)		
16:00 – 16:30	Тюрин-Кузьмин Пётр Алексеевич, МНОИ МГУ имени М.В.Ломоносова (г. Москва)	Сигнальные механизмы коммитирования постнатальных стволовых клеток человека
16:30 – 17:00	Фонин Александр Владимирович, Институт Цитологии РАН (г. Санкт-Петербург)	Стресс-индуцибельные немембранные орагнеллы
17:00 – 17:30	Гудимчук Никита Борисович, физический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова (г. Москва)	Как элементарные строительные блоки определяют механику и динамику тубулинового цитоскелета
17:30 – 18:00	Бураков Антон Владимирович, НИИ Физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского (г. Москва)	Альтернативные центры организации микротрубочек: роль белков Arl4C и JAKMIP2

III научная конференция «Биофизика и физиология клетки»

19-20 июня 2026 г
Москва



20 июня 2026 года – II день конференции

10:00 – 11:00	Регистрация, размещение постеров	
Пленарный доклад		
11:00 – 12:00	Воробьев Иван Андреевич, биологический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова (г. Москва)	Динамика фокальных контактов: рост, скольжение и разборка
12:00-12:15	Кофе-брейк	
Секция «Сочетание моделирования и экспериментов в биофизике клетки»		
12:15 – 12:45	Соловьева Ольга Эдуардовна, Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (г. Екатеринбург)	Моделирование электрической и механической функции кардиомиоцитов в норме, при старении и при патологии: in silico предсказания и экспериментальная верификация
12:45 – 13:15	Цатурян Андрей Кимович, Университет Тель-Авива, (г. Тель-Авив, Израиль)	Механическая устойчивость мембранных нанотрубок: теория, эксперимент, биологические приложения
13:15 – 13:45	Свешникова Анастасия Никитична, НМИЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им Дмитрия Рогачева (г. Москва)	Наблюдение, расшифровка и моделирование кальциевой сигнализации в одиночных тромбоцитах человека
13:45 – 14:15	Бершицкий Сергей Юрьевич, Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (г. Екатеринбург)	Молекулярный механизм мышечного сокращения
14:15 – 15:00	Обед	
14:15 – 16:00	Постерная сессия 2	
Секция «Цитоскелет, сигнализация и биомеханика клеток» (часть 2)		
16:00 – 16:30	Ефремов Юрий Михайлович, Сеченовский Университет (г. Москва)	Атомно-силовая микроскопия и математическое моделирование в измерении механических свойств клеток
16:30 – 17:00	Александрова Антонина Юрьевна, НИИ экспериментальной онкологии и канцерогенеза НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина (г. Москва)	Актиновый цитоскелет, как регулятор молекулярных механизмов коллективного движения эпителиальных клеток, вызванного драйверными мутациями сигнального пути PI3K/AKT
17:00 – 17:30	Чубинский-Надеждин Владислав Игоревич, Институт Цитологии РАН (г. Санкт-Петербург)	Роль механоуправляемых каналов Piezo1 в клеточной механотрансдукции
17:30 – 18:00	Сударикова Анастасия Владимировна, Институт Цитологии РАН (г. Санкт-Петербург)	Роль динамики актина в контроле активности натриевых каналов ENaC: связь с внеклеточными регуляторами
18:00 – 18:30	Подведение итогов конкурсов и закрытие конференции	

1. Адаманская Е.И.А., Свешникова А.Н. Сравнение внеклеточных ДНК ловушек в проточной камере и мазках плазмы крови.....	6
2. Антонец Ю.Я., Кочурова А.М., Бельдия Е.А., Матюшенко А.М., Нефёдова В.В., Бершицкий С.Ю., Копылова Г.В., Щепкин Д.В. Кальциевая регуляция актин-миозинового взаимодействия в медленных скелетных мышцах зависит от изоформ медленного миозин-связывающего белка С.....	8
3. Антонова Д.С., Штейнберг Г.Д., Пчицкая Е.И. Алгоритм каскадной нейросетевой сегментации дендритов и дендритных шипиков с восстановлением шеек на трехмерных флуоресцентных изображениях нейронов.....	10
4. Артеменко Е.О., Пантелеев М.А. Комбинированная трехступенчатая методика выделения нейтрофилов из цельной крови.....	13
5. Астанкович К.А., Бершадский Е.С., Ключников Е.П., Федоров В.А., Холина Е.Г., Коваленко И.Б., Атауллаханов Ф.И., Барсегов В.А., Гудимчук Н.Б. Вычислительный инструмент для моделирования транспорта хромосом моторными белками при делении клеток.....	15
6. Бондарев А.Д., Чечёхин В.И., Антропова Ю.Г., Геворкян В.М., Пивоварова М.А., Тюрин-Кузьмин П.А. Анализ гетерогенности жировой ткани человека показал наличие функционально обособленных субпопуляций адипоцитов.....	17
7. Бураков А.В. Альтернативные центры организации микротрубочек: роль белков Arl4C и JAKMIP2.....	19
8. Быков Г.А., Никитин Н.С., Обыденный С.И., Пантелеев М.А. Влияния локального воспаления на гемостаз и тромбоз в мышцах in vivo моделях.....	21
9. Василевская В.Д., Анисимов М.Н., Бойченко М.А., Романов А.Н., Лифшиц И.А., Сивачев А.А., Борзунова Ю.Н., Джанибекова М., Мустяца В.В., Плодунин А.Ю., Шорохов В.В., Тафеенко В.А., Хотлубей Е.С., Ратманова Н.К., Жохов С.С., Новиков Р.А., Кечко О.И., Макаров А.А., Миткевич В.А., Андреев И.А., Воробьев И.А., Трушков И.В., Иванова О.А., Гудимчук Н.Б. Поиск классических и неклассических лигандов тубулина с использованием методов на основе кумарина-30.....	23
10. Васильев Г.А., Корнейчук А.Д., Яковенко Л.В. Тромбин-зависимые механизмы агрегации тромбоцитов в присутствии опухолевых клеток.....	26
11. Васильева О.В., Лифшиц И.А., Гудимчук Н.Б. Механизмы воздействия низкомолекулярных лигандов α - и β -тубулина на сборку микротрубочек.....	28
12. Воробьев И.А. Динамика фокальных контактов: рост, скольжение и разборка.....	30
13. Галкина С.В., Чабин И.А., Свешникова А.Н. MYH9-ассоциированная тромбоцитопения нарушает перестройку актинового цитоскелета тромбоцитов при адгезии к фибриногену.....	32
14. Даяб А., Жолудева А.О., Фокин А., Готро А.М., Александрова А.Ю. Актиновый цитоскелет, как регулятор молекулярных механизмов коллективного движения эпителиальных клеток, вызванного драйверными мутациями сигнального пути PI3K/AKT.....	34
15. Ерохина А.Г., Широхова З.В., Ефремов Ю.М., Тимашев П.С. Сравнение механических свойств и клеточной совместимости желатинов типа А и типа Б из различных животных источников.....	36
16. Кадыров Т.И., Пантелеев М.А. Влияние структуры положительной обратной связи на пороговые свойства ферментативных каскадов.....	38
17. Колчин Н.А., Нестеренко З.А., Глухова А.А., Николаева Е.И., Бутов К.Р. Мутация PSTPIP1 p.E250K нарушает организацию и динамику подосом в первичных макрофагах человека.....	40
18. Корнейчук А.Д., Адаманская Е.А., Лунёв И.В., Осипьянц А.И., Свешникова А.Н. Визуализация тромбообразования, индуцируемого опухолевым органоидом в проточной камере, методом флуоресцентной микроскопии.....	42
19. Косарева Р.С., Калинин А.Ю., Бондарев А.Д., Сулягина В.П., Тюрин-Кузьмин П.А. Сигнальные механизмы коммитирования постнатальных стволовых клеток человека в различные субтипы адипоцитов.....	44
20. Кочурова А.М., Мячина Т.А., Бутова К.А., Хохлова А.Д., Копылова Г.В., Щепкин Д.В. Острое влияние лептина на сократимость предсердных и желудочковых кардиомиоцитов.....	46
21. Лифшиц И.А., Анисимов М.Н., Бойченко М.А., Романов А.Н., Василевская В.Д., Сивачев А.А., Жанибекова М., Мустяца В.В., Тихонов Т.П., Плодунин А.Ю., Шорохов В.В., Тафеенко В.А., Хотлубей Е.С., Ратманова Н.К., Жохов С.С., Кечко О.И., Макаров А.А., Миткевич В.А., Андреев И.А., Воробьев И.А., Трушков И.В., Иванова О.А., Гудимчук Н.Б. Разработка методов на основе кумарина-30 для обнаружения и характеристики лигандов тубулина.....	48
22. Николаева Е.И., Колчин Н.А., Щербина А.Ю., Бутов К.Р. Исследование генетических вариантов в малоизученных доменах белков на примере CORO1A.....	51
23. Пчицкая Е.И., Смирнова Д.С., Устинова А.Р., Волкова Е.И., Сачук А.С., Раковская А.В., Золин И.М., Чуканов В.С., Гуренко С.И., Пегова М.И., Крылова Е.О., Липс Е.К., Безпрозванный И.Б. От оптической визуализации к цифровому анализу синапсов: количественная 3D морфология дендритных шипиков.....	53
24. Твердохлебова В.Р., Раковская А.В., Пчицкая Е.И. Перераспределение синаптоподина в дендритных шипиках при болезни Альцгеймера у мышей линии 5XFAD.....	55
25. Тимошин Г.С., Ульянов Е.В., Виноградов Д.С., Атауллаханов Ф.И., Гудимчук Н.Б. In silico анализ генерации силы деполимеризующимися микротрубочками в экспериментах с оптической ловушкой.....	57
26. Тимченко Р.М., Пантелеев М.А. Метаболическая иерархия реакций фибробластов на окислительный стресс - математическое моделирование.....	59
27. Устинова А.Р., Твердохлебова В.Р., Раковская А.В., Пчицкая Е.И. Алгоритм пространственной оценки расположения синаптоподина в трехмерных моделях дендритных шипиков нейронов при болезни Альцгеймера.....	61
28. Федоров Е.А., Герасимов Е.И., Пчицкая Е.И. Анализ структурной организации нейронных ансамблей гиппокампа на основе данных прижизненной кальциевой визуализации.....	63
29. Шахиджанов С.С., Молоткова Е.А., Шепелюк Т.О., Атауллаханов Ф.И., Грищук Е.Л. Ca^{2+} -спайки в тромбоцитах: автоколебания или шум-индуцированные импульсы?.....	65
30. Щегольков Е.А., Безруков Н.А., Плескова С.Н. Комплексное влияние бактерий и биохимических хемоаттрактантов на миграцию нейтрофилов.....	67
31. Конкурс микроскопных фотографий.....	69

Сравнение внеклеточных ДНК ловушек в проточной камере и мазках плазмы крови

Comparison of extracellular DNA traps in a flow chamber and blood plasma smears

Адаманская Е.И.А.^{1,2}, Свешникова А.Н.^{1,2,3}

Adamanskaya E.I.A.^{1,2}, Sveshnikova A.N.^{1,2,3}

1. Центр теоретических проблем Физико-Химической Фармакологии РАН, Москва, Россия

2. НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева, Москва, Россия

3. Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия
1. Center for Theoretical Problems of Physical and Chemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

2. FGBU "NMITS DGOI named after Dmitry Rogachev" Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

3. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: SKEJCI

Нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ) играют ключевую роль в патогенезе воспалительных и тромботических процессов. Актуальным остается вопрос оптимального и удобного метода исследования, а также валидация разработанной ранее методики. Стандартные способы изучения зачастую сопряжены с механическим воздействием на клетки, что может влиять на процесс нетоза и искажать интерпретацию результатов. Целью данной работы стала разработка метода наблюдения нетоза в проточной камере, обеспечивающего минимальное механическое воздействие на нейтрофилы.

Исследование выполнено на богатой лейкоцитами плазме (ПБЛ), полученной путем отстаивания при 37°C и помещенной в проточную камеру с полилизинем. Подача плазмы в камеру осуществлялась самотёком по принципу сообщающихся сосудов. В качестве стимуляторов нетоза использовали форбол-12-миристат-13-ацетат (РМА) и кальциевый ионофор A23187. Инкубацию со стимуляторами проводили в течении 3 часов. Затем камеру фиксировали 1% формалином и выполняли окраску иммунофлуоресцентным методом (на миелопероксидазу и нейтрофильную эластазу). Параллельно готовили мазки периферической крови для сопоставления.

В условиях проточной камеры после стимуляции РМА и A23187 наблюдалось формирование структур, аналогичных по строению и морфологии нейтрофильным внеклеточным ловушкам, выявляемым в мазках ПБЛ. Примечательно, что в двух случаях визуализировались «пустые» клетки — образования, сохраняющие очертания нейтрофила, но лишённые внутриклеточного содержимого и ядра. Появление таких безъядерных контуров непосредственно после выброса NET-подобных структур свидетельствует в пользу витального нетоза, при котором клетка продолжает существовать после выброса хроматина. Предложенный подход позволяет минимизировать артефакты механического воздействия и продемонстрировать, что NET-подобные структуры в мазках ПБЛ не являются артефактом, а отражают реально протекающий процесс.

Neutrophil extracellular traps (NETs) play a key role in the pathogenesis of inflammatory and thrombotic processes. The issue of selecting an optimal and convenient method for their investigation, as well as validation of the previously developed methodology, remains relevant. Standard methods of NET studies are often associated with mechanical impacts on cells, which may affect the process of NETosis and distort interpretation of the results. The aim of this study was to develop a method for observing NETosis in a flow chamber providing minimal mechanical impact on neutrophils.

The study was performed using leukocyte-rich plasma (LRP) obtained by sedimentation at 37°C and placed into a polylysine-coated flow chamber. Plasma delivery into the chamber was carried out by gravity flow based on the principle of communicating vessels. Phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) and the calcium ionophore A23187 were used as NETosis stimulators. Incubation with the stimulators was performed for 3 hours. The chamber was then fixed with 1% formalin, followed by immunofluorescent staining (for myeloperoxidase and neutrophil elastase). Peripheral blood smears were prepared in parallel for comparison.

Under flow chamber conditions, stimulation with PMA and A23187 resulted in the formation of structures analogous in morphology and organization to neutrophil extracellular traps identified in LRP smears. Notably, in two cases, “empty” cells were visualized — structures preserving the outline of a neutrophil but lacking intracellular contents and a nucleus. The appearance of such anuclear contours immediately after the release of NET-like structures supports the occurrence of vital NETosis, in which the cell remains viable after chromatin release. The proposed approach minimizes artifacts caused by mechanical impacts and demonstrates that NET-like structures observed in LRP smears are not artifacts, but rather reflect a genuinely occurring process.

Кальциевая регуляция актин-миозинового взаимодействия в медленных скелетных мышцах зависит от изоформ медленного миозин-связывающего белка C

Calcium regulation of actin–myosin interaction in slow skeletal muscles depends on slow myosin-binding protein C isoforms

Антонец Ю.Я.¹, Кочурова А.М.¹, Бельдия Е.А.¹, Матюшенко А.М.², Нефёдова В.В.², Бершицкий С.Ю.¹, Копылова Г.В.¹, Щепкин Д.В.¹

Antonets Yu.Ya.¹, Kochurova A.M.¹, Beldiya E.A.¹, Matyushenko A.M.², Nefedova V.V.², Bershitsky S.Yu.¹, Kopylova G.V.¹, Shchepkin D.V.¹

1. Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

2. ФИЦ Биотехнологии РАН, Москва, Россия

1. Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russia

2. Federal Research Centre “Fundamentals of Biotechnology” of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: WMYCPR

Одним из ключевых регуляторных белков в составе саркомера является миозин-связывающий белок C, представленный в поперечнополосатой мышечной ткани тремя тканеспецифичными паралогами - сердечным (сMyBP-C), быстрым (fsMyBP-C) и медленным (ssMyBP-C) скелетными. В результате альтернативного сплайсинга мРНК гена MYBPC1 в скелетных мышцах человека образуется 14 изоформ ssMyBP-C. Разнообразие изоформ ssMyBP-C указывает на высокоорганизованную систему регуляции в скелетных мышцах, где каждая изоформа играет определённую роль в модуляции актин-миозинового взаимодействия. Мы исследовали влияние изоформ ssMyBP-C на актин-миозиновое взаимодействие в медленных скелетных мышцах методом *in vitro* подвижной системы.

Медленный скелетный миозин экстрагирован из *m. semimembranosus* кролика. Скелетный тропониновый комплекс и γ -тропомиозин экспрессированы в *E. coli*. Молекулярно-генетические конструкторы C1-C2 фрагментов ssMyBP-C, экспрессированные в *E. coli*, получены на основе трёх вариантов человеческого ssMyBP-C (Uniprot Q00872-1, Q00872-5 и Q00872-8). C1-C2 фрагменты данных изоформ различаются аминокислотным составом насыщенной Pro/Ala области на N-конце молекулы ssMyBP-C. Тонкие филаменты были реконструированы из филаментарного актина, тропонина и тропомиозина.

Обнаружено, что C1-C2 фрагмент ssMyBP-C изоформ Q00872-5 и Q00872-8 дозозависимо снижал скорость скольжения тонких филаментов, а изоформы Q00872-1 не повлиял на неё. Для исследования влияния ssMyBP-C на кальциевую регуляцию актин-миозинового взаимодействия мы проанализировали кальциевую зависимость скорости скольжения тонких филаментов по миозину. Изоформа Q00872-8 уменьшала максимальную скорость скольжения тонких филаментов и увеличивала их скорость при низких концентрациях кальция, что говорит об увеличении кальциевой чувствительности актин-миозинового взаимодействия. Изоформы Q00872-1 и Q00872-5 не влияли на характеристики кальциевой регуляции взаимодействия миозина с актином.

Таким образом, изоформы ssMyBP-C специфически влияют на кальциевую регуляцию актин-миозинового взаимодействия в медленных скелетных мышцах.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП ИИФ УрО РАН при поддержке госпрограммы 122022200089-4.

One of the key regulatory proteins within the sarcomere is myosin-binding protein C (MyBP-C), which is represented in striated muscle tissue by three tissue-specific paralogs: cardiac (cMyBP-C), fast skeletal (fsMyBP-C), and slow skeletal (ssMyBP-C). Alternative splicing of the human MYBPC1 gene gives rise to 14 ssMyBP-C isoforms in skeletal muscles. The diversity of ssMyBP-C isoforms suggests the existence of a highly organized regulatory system in skeletal muscles, in which each isoform plays a specific role in modulating actin–myosin interaction. In the present study, we investigated the effects of ssMyBP-C isoforms on actin–myosin interaction in slow skeletal muscles using the *in vitro* motility assay.

Slow skeletal myosin was extracted from rabbit *m. semimembranosus*. The skeletal troponin complex and γ -tropomyosin were expressed in *E. coli*. Molecular genetic constructs encoding the C1–C2 fragments of ssMyBP-C, expressed in *E. coli*, were generated based on three human ssMyBP-C variants (UniProt Q00872-1, Q00872-5, and Q00872-8). The C1–C2 fragments of these isoforms differed in the amino acid composition of the Pro/Ala-rich region at the N-terminus of the ssMyBP-C molecule. Thin filaments were reconstituted from filamentous actin, troponin, and tropomyosin.

We found that the C1–C2 fragments of ssMyBP-C isoforms Q00872-5 and Q00872-8 decreased thin filament sliding velocity in a dose-dependent manner, whereas isoform Q00872-1 had no effect. To investigate the influence of ssMyBP-C on calcium regulation of actin–myosin interaction, we analyzed the calcium dependence of thin filament sliding velocity over myosin. Isoform Q00872-8 reduced the maximal sliding velocity of thin filaments and increased their velocity at low calcium concentrations, indicating enhanced calcium sensitivity of actin–myosin interaction. Isoforms Q00872-1 and Q00872-5 did not affect the characteristics of calcium regulation of myosin–actin interaction.

Thus, ssMyBP-C isoforms specifically modulate the calcium regulation of actin–myosin interaction in slow skeletal muscles.

This work was performed using the equipment of the Core Facility Center of the Institute of Immunology and Physiology, UB RAS, and was supported by the state program No. 122022200089-4.

Алгоритм каскадной нейросетевой сегментации дендритов и дендритных шипиков с восстановлением шеек на трехмерных флуоресцентных изображениях нейронов

Cascade neural network algorithm for segmentation of dendrites and dendritic spines with spine neck reconstruction in three-dimensional fluorescence images of neurons

Антонова Д.С.¹, Штейнберг Г.Д.², Пчицкая Е.И.^{1,3}

Antonova D.S.¹, Shteinberg G.D.², Pchitskaya E.I.^{1,3}

1. Лаборатория анализа биомедицинских изображений и данных, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

2. Физико-Механический институт, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

3. Лаборатория молекулярной нейродегенерации, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

1. Laboratory of Biomedical Image and Data Analysis, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia

2. Institute of Physics and Mechanics, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia

3. Laboratory of Molecular Neurodegeneration, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: INXMJE

Морфометрический анализ дендритов и дендритных шипиков является одной из ключевых задач современной нейробиологии, поскольку параметры формы и пространственной организации шипиков непосредственно связаны с эффективностью синаптической передачи и синаптической пластичностью [1]. Основным ограничением существующих решений для обработки флуоресцентных конфокальных изображений остается недостаточная точность сегментации тонких морфологических элементов, прежде всего шеек дендритных шипиков. Потеря или неполное восстановление шеек искажает количественные характеристики шипиков, нарушает их связь с дендритным стволом и снижает достоверность морфометрических данных.

Для преодоления ограничений существующих методов сегментации разработан нейросетевой каскадный алгоритм сегментации дендритов и дендритных шипиков. Алгоритм представляет собой четыре последовательно применяемые трехмерные сверточные сети на основе U-net. Каждая сеть решает отдельную задачу: бинаризация с целью выделения полезного сигнала, масштабирование изображения, восстановление шеек и сегментация дендритных шипиков. Использование каскадного подхода позволяет разделить общую задачу на несколько более простых этапов и повысить устойчивость сегментации. Для оценки точности проведена кросс-валидация с расчетом метрики IOU, а также долей ложноположительных и ложноотрицательных ответов.

Получено, что новый метод сегментации превосходит разработанный ранее алгоритм SpineTool [2], а также нейросетевые подходы DeepD3 [3] и Respan [4]. Применение нейросетевого каскада позволяет увеличить число корректно выявленных дендритных шипиков.

Таким образом, разработанный алгоритм обеспечивает более надежное выявление шеек дендритных шипиков. Более точное восстановление тонких соединений между шипиком и дендритным стволом позволяет получать результаты, в большей степени соответствующие реальной морфологии исследуемых структур и, таким образом, повышает биологическую интерпретируемость получаемых данных. Работа поддержана грантом в рамках государственного задания FSEG-2024-0025. Антонова Дарья является получателем стипендии Программы «Мозг» АНО «Идея».

Список литературы

1. Ofer, N., Berger, D., Kasthuri N., et al. Ultrastructural analysis of dendritic spine necks reveals a continuum of spine morphologies // Dev Neurobiol. 2021. V. 1;81(5) P. 746-57. <https://doi.org/10.1002/dneu.22829>.
2. Pchitskaya E. et al. SpineTool is an open-source software for analysis of morphology of dendritic spines // Scientific reports. 2023. T. 13. № 1. C. 10561.
3. Fernholz M. H. P. et al. DeepD3, an open framework for automated quantification of dendritic spines // PLOS Computational Biology. 2024. T. 20. № 2. C. e1011774.
4. Bernal-Garcia S. et al. A deep learning pipeline for accurate and automated restoration, segmentation, and quantification of dendritic spines // Cell Reports Methods. 2025. T. 5. № 10.

Morphometric analysis of dendrites and dendritic spines is one of the key tasks of modern neurobiology, since the shape parameters and spatial organization of spines are directly related to the efficiency of synaptic transmission and synaptic plasticity [1]. The main limitation of existing approaches for processing fluorescence confocal images remains the insufficient accuracy of segmentation of thin morphological elements, primarily dendritic spine necks. Loss or incomplete reconstruction of spine necks distorts the quantitative characteristics of spines, disrupts their connection with the dendritic shaft, and reduces the reliability of morphometric data.

To overcome the limitations of existing segmentation methods, a neural network cascade algorithm for dendrite and dendritic spine segmentation was developed. The algorithm consists of four sequentially applied three-dimensional convolutional networks based on the U-Net architecture. Each network solves a separate task: binarization for extraction of the useful signal, image scaling, spine neck reconstruction, and dendritic spine segmentation. The use of a cascade approach makes it possible to divide the overall task into several simpler stages and improve segmentation robustness. Segmentation accuracy was evaluated using cross-validation with calculation of the IOU metric, as well as false-positive and false-negative rates.

It was shown that the new segmentation method outperforms the previously developed SpineTool algorithm [2], as well as the neural network approaches DeepD3 [3] and Respan [4]. Application of the neural network cascade increases the number of correctly detected dendritic spines.

Thus, the developed algorithm provides more reliable detection of dendritic spine necks. More accurate reconstruction of thin connections between the spine and the dendritic shaft makes it possible to obtain results that more closely correspond to the actual morphology of the studied structures and thereby increases the biological interpretability of the obtained data.

This work was supported by the state assignment grant FSEG-2024-0025. Daria Antonova is a recipient of the Brain Program scholarship from the IDEA Foundation.

References

1. Ofer, N., Berger, D., Kasthuri N., et al. Ultrastructural analysis of dendritic spine necks reveals a continuum of spine morphologies // *Dev Neurobiol.* 2021. V. 1;81(5) P. 746-57. <https://doi.org/10.1002/dneu.22829>.
2. Pchitskaya E. et al. SpineTool is an open-source software for analysis of morphology of dendritic spines // *Scientific reports.* 2023. T. 13. № 1. C. 10561.
3. Fernholz M. H. P. et al. DeepD3, an open framework for automated quantification of dendritic spines // *PLOS Computational Biology.* 2024. T. 20. № 2. C. e1011774.
4. Bernal-Garcia S. et al. A deep learning pipeline for accurate and automated restoration, segmentation, and quantification of dendritic spines // *Cell Reports Methods.* 2025. T. 5. № 10.

Комбинированная трехступенчатая методика выделения нейтрофилов из цельной крови

Combined three-step method for isolating neutrophils from whole blood

Артеменко Е.О.^{1,2}, Пантелеев М.А.¹⁻³

Artemenko E.O.^{1,2}, Panteleev M.A.¹⁻³

1. Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, лаборатория молекулярных механизмов гемостаза, Москва, Россия

2. ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, лаборатория клеточного гемостаза и тромбоза, Москва, Россия

3. Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия

1. Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Laboratory of Molecular Mechanisms of Hemostasis, Moscow, Russia

2. Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Laboratory of Cellular Hemostasis and Thrombosis, Moscow, Russia

3. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Physics, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: PIAUQI

Нейтрофилы – ключевые участники иммунного ответа, при этом они взаимодействуют с множеством различных клеток, которые, предположительно, также моделируют их функции. Для исследования ответов выделенных нейтрофилов очень важны методики их выделения, позволяющие получить относительно чистые нейтрофилы (не только относительно лейкоцитов, но и других клеток крови) и в то же время сохранить нейтрофилы нативными, способными откликаться на различные стимулы. Мы разработали подход, комбинирующий 3 ступени очистки, который позволяет получить примерно 80% чистоту по выделенным нейтрофилам от всех клеток крови, при этом нейтрофилы остаются способны отвечать на активацию одним из наиболее широко используемых для него активаторов РМА (phorbol 12-myristate 13-acetate).

Работа поддержана грантом Российского научного фонда №25-25-20101.

Neutrophils are key players in the immune response, interacting with many different cells that presumably also modulate their functions. For studying the responses of isolated neutrophils, isolation methods are critically important to obtain relatively pure neutrophils (not only relative to other leukocytes but also relative to other blood cells) while keeping neutrophils native and capable of responding to various stimuli. We have developed an approach combining three purification steps that yields approximately 80% purity of isolated neutrophils relative to all blood cells, while the neutrophils remain able to respond to activation by one of the most widely used activators, PMA (phorbol 12-myristate 13-acetate).

This work was supported by Russian Science Foundation grant No. 25-25-20101.

Вычислительный инструмент для моделирования транспорта хромосом моторными белками при делении клеток

Computational infrastructure for modeling chromosome transport by motor proteins during cell division

Астанкович К.А.¹, Бершадский Е.С.^{1,2}, Ключников Е.П.³, Федоров В.А.¹, Холина Е.Г.¹, Коваленко И.Б.¹, Атауллаханов Ф.И.², Барсегов В.А.³, Гудимчук Н.Б.^{1,2}
 Astankovich K.A.¹, Bershadsky E.S.^{1,2}, Kliuchnikov E.P.³, Fedorov V.A.¹, Kholina E.G.¹, Kovalenko I.B.¹, Ataulakhonov F.I.², Barsegov V.A.³, Gudimchuk N.B.^{1,2}

1. МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

2. Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

3. Факультет химии, Массачусетский университет в Лоуэлле, Лоуэлл, США

1. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

2. Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

3. Department of Chemistry, University of Massachusetts Lowell, Lowell, MA, USA

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: RCRVBG

Митоз - ключевой этап клеточного цикла, в ходе которого уже удвоенный генетический материал должен быть безошибочно распределён между дочерними клетками. Одним из важных этапов, обеспечивающих это распределение, является конгрессия хромосом, то есть их перемещение и выравнивание на экваторе клетки. Корректность конгрессии хромосом обеспечивается веретеном деления - многокомпонентной системой, в которой механические взаимодействия координируются химической регуляцией. Существенный вклад в динамику веретена вносят моторные белки, активность которых зависит как от собственных посттрансляционных модификаций, так и от модификаций микротрубочек – «тубулинового кода». Таким образом, сложность митоза определяется не только большим числом участников, но и согласованностью их работы и механизмами совместной регуляции.

Мы поставили своей целью разработать вычислительную инфраструктуру для детального моделирования указанных процессов на базе программного пакета CellDynaMo [1], который позволяет описывать механику крупных внутриклеточных объектов, таких как хромосомы и микротрубочки, с помощью подхода броуновской динамики, а также диффузию и химические реакции с помощью метода Монте-Карло. В рамках настоящей работы мы добавили в систему новый объект - «моторный белок», который моделируется как пружина: один ее конец закреплен на хромосоме или кинетохоре, а другой способен стохастически присоединяться к микротрубочкам, шагать по ним или отсоединяться. При этом вероятности указанных событий зависят от силы, приложенной к моторному белку, его посттрансляционных модификаций и модификаций микротрубочек.

Мы ожидаем, что этот инструмент позволит детально изучать и тестировать *in silico* различные гипотезы о движении хромосом в митозе, и тем самым глубже понять механику аппарата деления клетки и функциональные роли его отдельных компонентов.

Работа выполнена при поддержке РНФ, проект № 25-74-20038.

Список литературы

1. Kliuchnikov E., Zhmurov A., Marx K. A., Mogilner A., Barsegov V. CellDynaMo—stochastic reaction–diffusion–dynamics model: Application to search–and–capture process of mitotic spindle assembly // PLOS Computational Biology. 2022. Vol. 18, № 6. e1010165. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1010165.

Mitosis is a key stage of the cell cycle during which the duplicated genetic material must be accurately segregated between daughter cells. One of the critical processes ensuring this segregation is chromosome congression, i.e., the movement and alignment of chromosomes at the cell equator. Proper chromosome congression is orchestrated by the mitotic spindle - a multicomponent system in which mechanical interactions are coordinated through chemical regulation. Motor proteins make a substantial contribution to spindle dynamics, and their activity depends both on their own post-translational modifications and on microtubule modifications, collectively referred to as the “tubulin code.” Thus, the complexity of mitosis arises not only from the large number of participating components, but also from the coordination of their activities and the mechanisms of their joint regulation.

Our goal was to develop a computational infrastructure for detailed modeling of these processes based on the CellDynaMo software package [1], which enables simulation of the mechanics of large intracellular objects, such as chromosomes and microtubules, using a Brownian dynamics approach, as well as diffusion and chemical reactions using Monte Carlo methods. In the present work, we introduced a new object into the system - a “motor protein,” modeled as a spring: one end is attached to a chromosome or kinetochore, while the other can stochastically bind to microtubules, walk along them, or detach. The probabilities of these events depend on the force applied to the motor protein, its post-translational modifications, and the modifications of the microtubules.

We expect that this computational tool will enable detailed in silico investigation and testing of various hypotheses regarding chromosome movement during mitosis, thereby providing deeper insight into the mechanics of the cell division machinery and the functional roles of its individual components.

This work was supported by the Russian Science Foundation, project No. 25-74-20038.

References

1. Kliuchnikov E., Zhmurov A., Marx K.A., Mogilner A., Barsegov V. CellDynaMo—stochastic reaction–diffusion–dynamics model: Application to search–and–capture process of mitotic spindle assembly // PLOS Computational Biology. 2022. Vol. 18, No. 6. e1010165. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1010165.

Анализ гетерогенности жировой ткани человека показал наличие функционально обособленных субпопуляций адипоцитов

Analysis of human adipose tissue heterogeneity revealed functionally distinct adipocyte subpopulations

Бондарев А.Д.¹, Чечёхин В.И.¹, Антропова Ю.Г.¹, Геворкян В.М.¹, Пивоварова М.А.¹,
Тюрин-Кузьмин П.А.¹

Bondarev A.D.¹, Chechekhin V.I.¹, Antropova Yu.G.¹, Gevorgyan V.M.¹, Pivovarova M.A.¹,
Tyurin-Kuzmin P.A.¹

1. Факультет фундаментальной медицины МНОИ МГУ имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

1. Faculty of Fundamental Medicine, Medical Research and Educational Institute, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: WKLF EJ

Жировая ткань - метаболически активный орган мезодермального происхождения, состоящий из зрелых адипоцитов и поддерживающих их клеток стромально-васкулярной фракции. В литературе достаточно широко известны функциональные, метаболические и сигнальные различия между различными жировыми депо, однако вопрос о том, связано ли это с различием в клеточном составе тканей или же с функциональным статусом составляющих жировую ткань адипоцитов, остается открытым.

Мы провели биоинформатический анализ транскриптомов, произведенных на уровне единичных ядер (single-nucleus RNAseq), всех доступных образцов подкожной жировой ткани человека из открытых источников и выявили 5 подтипов адипоцитов. Все подтипы характеризуются экспрессией мРНК классических адипоцитарных маркеров адипонектин (ADIPOQ), лептин (LEP), перилипин (PLIN1/4) и мастер-регулятор адипогенной дифференцировки (PPARG), на фоне которых выявляется экспрессия особых маркеров, свидетельствующих о функциональной специализации каждого субтипа адипоцитов. Подтип scAd1 (67,93%) представляет собой адипоциты с базальным фенотипом без уникальной специализации. В подтипе scAd2 (9,32%) селективно экспрессируется мРНК генов-маркеров нейрональных клеток NEGR1, DCLK1, ROBO2 и KCNT2. Подтип scAd3 (8,46%) экспрессирует мРНК генов сигнальных молекул жировой ткани адипокинов, таких как CFD, SAA1, CXCL14 и S100A4. В подтипе scAd4 (0,50%) представлены маркеры побурения EBF2, RXRG, ZNF804A, ACOT11. Подтип scAd5 (13,77%) экспрессирует мРНК генов GRIA4 и CSMD1, связанных с предрасположенностью к ожирению и гипертрофии адипоцитов.

Для верификации полученных биоинформатических данных мы провели иммуногистохимическое окрашивание срезов подкожной жировой ткани человека на специализированные маркеры отдельных подтипов адипоцитов. Окрашивание на белковые продукты ADIPOQ, LEP, PDGFRA, NEGR1, CFD, EBF2 и CSMD1 показало, что в жировой ткани in vivo выявляются обособленные группы адипоцитов, селективно экспрессирующих соответствующие маркеры.

Таким образом, мы выявили и описали в жировой ткани человека обособленные подтипы адипоцитов, которые, судя по их транскриптому, отличаются выполняемой в составе жировой ткани функцией. Работа проведена при поддержке РФФИ, проект № 25-75-30005.

Adipose tissue is a metabolically active organ of mesodermal origin composed of mature adipocytes and supporting cells of the stromal vascular fraction. Functional, metabolic, and signaling differences between various adipose depots are well documented in the literature; however, it remains unclear whether these differences arise from variations in tissue cellular composition or from differences in the functional state of adipocytes comprising adipose tissue.

We performed a bioinformatic analysis of transcriptomes generated at the single-nucleus level (single-nucleus RNA-seq) from all publicly available human subcutaneous adipose tissue samples and identified five adipocyte subtypes. All subtypes were characterized by expression of mRNA encoding classical adipocyte markers, including adiponectin (ADIPOQ), leptin (LEP), perilipin (PLIN1/4), and the master regulator of adipogenic differentiation PPARG. Against this common adipocyte signature, distinct marker genes indicative of functional specialization were identified for each adipocyte subtype. Subtype scAd1 (67.93%) represents adipocytes with a basal phenotype lacking unique specialization. Subtype scAd2 (9.32%) selectively expresses mRNAs of neuronal marker genes, including NEGR1, DCLK1, ROBO2, and KCNT2. Subtype scAd3 (8.46%) expresses mRNAs of adipokine and signaling molecule genes such as CFD, SAA1, CXCL14, and S100A4. Subtype scAd4 (0.50%) is characterized by expression of browning-associated markers EBF2, RXRG, ZNF804A, and ACOT11. Subtype scAd5 (13.77%) expresses mRNAs of GRIA4 and CSMD1, genes associated with susceptibility to obesity and adipocyte hypertrophy.

To validate the obtained bioinformatic data, we performed immunohistochemical staining of human subcutaneous adipose tissue sections using specialized markers of individual adipocyte subtypes. Staining for the protein products of ADIPOQ, LEP, PDGFR α , NEGR1, CFD, EBF2, and CSMD1 demonstrated the presence in vivo of distinct adipocyte groups selectively expressing the corresponding markers.

Thus, we identified and characterized distinct adipocyte subtypes in human adipose tissue that, based on their transcriptomic profiles, differ in their functional roles within adipose tissue. This work was supported by the Russian Science Foundation, project No. 25-75-30005.

Альтернативные центры организации микротрубочек: роль белков Arl4C и JAKMIP2

Alternative microtubule-organizing centers: the role of Arl4C and JAKMIP2

Бураков А.В.¹

Burakov A.V.¹

1. НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ, Москва, Россия

1. A.N. Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: VQNIMW

Микротрубочки являются облигатной структурой клеток эукариот, поскольку формируют веретено деления. В интерфазе они участвуют в процессах везикулярного транспорта, позиционирования органелл, локомоции, и при образовании ресничек/жгутиков. Архитектура системы микротрубочек определяет эффективность внутриклеточного транспорта и при этом зависит от работы центров организации микротрубочек. Сейчас активно изучается работа неканонических, нецентросомных ЦОМТ, главным из которых является аппарат Гольджи.

Отправной точкой наших исследований стало сравнение тубулинового цитоскелета двух линий клеток зелёной мартышки, когда мы установили, что при равной активности центросом активность Гольджи как ЦОМТ у них различается. Анализ дифференциальной экспрессии генов, относящихся к микротрубочкам, центросомам и Гольджи, и последующие эксперименты показали, что известные белки не имеют отношения к этим различиям. В результате объектами нашего изучения оказались два белка - малая ГТФаза Arl4C (Arl7) и периферический мембранный белок JAKMIP2 (NECC1) - функции которых в клетках оставались неизвестными. Основными результатами данной работы стало открытие того факта, что JAKMIP2 локализуется не только на мембранах Гольджи, но и на центросомах, причём его количество там в митозе резко падает, а избыток в интерфазе приводит к ухудшению нуклеации микротрубочек и к общему падению уровня ацетилированного тубулина. Малая ГТФаза Arl4C не имеет чёткого паттерна локализации в клетках, но повышение уровня эндогенного белка посредством ABCA1-зависимого сигнального пути после активации LXR/RXR рецепторов приводит к росту нецентросомной нуклеации микротрубочек в цитоплазме; однако возможность активации данного пути передачи сигнала, по-видимому, зависит от типа клеток.

Работа выполнена в рамках темы государственного задания НИИ ФХБ им. А.Н. Белозерского МГУ «Выяснение общих закономерностей структурной организации ядерных и цитоплазматических органелл клеток эукариот».

Microtubules are an obligate structural component of eukaryotic cells, as they form the mitotic spindle. During interphase, they participate in vesicular traffic, organelle positioning, cell locomotion, and the formation of cilia/flagella. The architecture of the microtubule system determines the efficiency of intracellular transport and, at the same time, depends on the activity of microtubule-organizing centers (MTOCs). Currently, considerable attention is being paid to the study of noncanonical, non-centrosomal MTOCs, such as the Golgi.

Our study originated from a comparison of the tubulin cytoskeleton in two green monkey cell lines, in which we found that despite equal centrosomal activity, the activity of the Golgi as a MTOC is different. Analysis of differential expression of genes associated with microtubules, centrosomes, and the Golgi, followed by subsequent experiments, demonstrated that known proteins were not responsible for these differences. As a result, our attention focused on two proteins — the small GTPase Arl4C (Arl7) and the peripheral membrane protein JAKMIP2 (NECC1) — whose cellular functions had remained unknown.

The main results of this work were the finding that JAKMIP2 localizes not only to Golgi membranes but also to centrosomes, while its amount at centrosomes sharply decreases during mitosis. Moreover, its overexpression during interphase leads to impaired microtubule nucleation and to an overall reduction in the level of acetylated tubulin. The small GTPase Arl4C does not exhibit a distinct localization pattern within cells; however, elevation of endogenous protein levels through the ABCA1-dependent signaling pathway following activation of LXR/RXR receptors results in increased non-centrosomal microtubule nucleation in the cytoplasm. Nevertheless, the possibility of activating this signaling pathway appears to depend on the cell type.

This work was supported by the state assignment of the A.N. Belozersky Research Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University: "Identification of General Principles of the Structural Organization of Nuclear and Cytoplasmic Organelles in Eukaryotic Cells."

Влияния локального воспаления на гемостаз и тромбоз в мышинных *in vivo* моделях

The impact of local inflammation on hemostasis and thrombosis in murine *in vivo* models

Быков Г.А.¹, Никитин Н.С.^{1,2}, Обыденный С.И.^{1,2}, Пантелеев М.А.^{1,2,3}

Bykov G.A.¹, Nikitin N.S.^{1,2}, Obydenny S.I.^{1,2}, Panteleev M.A.^{1,2,3}

1. Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

2. ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия

3. Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

1. Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

2. Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

3. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: ZWISZD

Локальное воспаление часто сопровождает ранения, однако его влияние на динамику тромбообразования и архитектуру гемостатического сгустка изучено недостаточно.

Целью настоящего исследования было изучение влияния локального воспаления на динамику тромбообразования и архитектуру гемостатического сгустка.

В моделях использованы мыши ICR, локальное воспаление индуцировалось подкожной/внутрибрюшинной инъекцией геля гидроксиэтилцеллюлозы с липополисахаридом. Патологический тромбоз оценивали в модели FeCl_3 -индуцированного тромбоза сонной артерии с флуоресцентной визуализацией. Гемостатические сгустки оценивали в модели почечного кровотечения с последующей гистологической окраской на фибрин/фибриноген, CD41 и ядра.

В артериальной модели время начала тромбообразования не отличалось между контролем и моделью локального воспаления (406 ± 189 с против 522 ± 338 с; $p > 0,05$), как и максимальная высота тромба (560 ± 65 мкм против 650 ± 73 мкм; $p > 0,05$) и его начальная скорость роста ($1 \times 10^{-4} \pm 8 \times 10^{-5}$ мм²/с против $4 \times 10^{-4} \pm 6 \times 10^{-5}$ мм²/с; $p > 0,05$). При этом остаточная высота тромба была выше в модели локального воспаления (250 ± 237 мкм против 595 ± 107 мкм; $p < 0,05$). В модели почечного кровотечения площади тромбоцитарного сигнала (3900 ± 1800 мкм² против 47000 ± 44000 мкм²; $p > 0,05$) и сигнала от фибриногена (117000 ± 33000 мкм² против 120000 ± 120000 мкм²; $p > 0,05$) не различались, тогда как площадь ядерного сигнала снижалась при липополисахариде (11000 ± 9000 мкм² против 3200 ± 400 мкм²; $p < 0,05$).

Локальное воспаление не ускоряет FeCl_3 -индуцированное тромбообразование, однако приводит к более длительной персистенции тромба. При крупных ранениях локальное воспаление не изменяет фибриновый/тромбоцитарный компонент гемостатического сгустка, но снижает накопление ядерных клеток.

Local inflammation often accompanies injuries, yet its impact on the dynamics of thrombus formation and hemostatic clot architecture remains poorly understood.

The aim of this study was to investigate the effect of local inflammation on thrombus formation dynamics and hemostatic clot architecture.

ICR mice were used in the models. Local inflammation was induced by subcutaneous/intraperitoneal injection of hydroxyethylcellulose gel with lipopolysaccharide. Pathological thrombosis was assessed using a FeCl_3 -induced carotid artery thrombosis model with fluorescence visualization. Hemostatic clots were evaluated using a renal bleeding model followed by histological staining for fibrin/fibrinogen, CD41, and nuclei.

In the arterial model, the time to thrombus onset did not differ between control and the local inflammation model (406 ± 189 s vs. 522 ± 338 s; $p > 0.05$), nor did the maximum thrombus height (560 ± 65 μm vs. 650 ± 73 μm ; $p > 0.05$) or the initial thrombus growth rate ($1 \times 10^{-4} \pm 8 \times 10^{-5}$ mm^2/s vs. $4 \times 10^{-4} \pm 6 \times 10^{-5}$ mm^2/s ; $p > 0.05$). However, the residual thrombus height was higher in the local inflammation model (250 ± 237 μm vs. 595 ± 107 μm ; $p < 0.05$). In the renal bleeding model, the platelet signal area (3900 ± 1800 μm^2 vs. 47000 ± 44000 μm^2 ; $p > 0.05$) and fibrinogen signal area (117000 ± 33000 μm^2 vs. 120000 ± 120000 μm^2 ; $p > 0.05$) did not differ, whereas the nuclear signal area decreased with lipopolysaccharide (11000 ± 9000 μm^2 vs. 3200 ± 400 μm^2 ; $p < 0.05$).

Local inflammation does not accelerate FeCl_3 -induced thrombus formation but leads to longer thrombus persistence. In large injuries, local inflammation does not alter the fibrin/platelet component of the hemostatic clot but reduces the accumulation of nuclear cells.

Поиск классических и неклассических лигандов тубулина с использованием методов на основе кумарина-30

Search for conventional and non-conventional tubulin binders using coumarin-30-based methods

Василевская В.Д.¹, Анисимов М.Н.¹, Бойченко М.А.¹, Романов А.Н.², Лифшиц И.А.¹, Сивачев А.А.¹, Борзунова Ю.Н.¹, Джанибекова М.³, Мустяца В.В.³, Плодугин А.Ю.¹, Шорохов В.В.¹, Тафеенко В.А.¹, Хотлубей Е.С.¹, Ратманова Н.К.¹, Жохов С.С.¹, Новиков Р.А.^{4,5}, Кечко О.И.⁵, Макаров А.А.⁵, Миткевич В.А.⁵, Андреев И.А.¹, Воробьев И.А.^{3,6}, Трушков И.В.⁴, Иванова О.А.¹, Гудимчук Н.Б.¹

Vasilevskaya V.D.¹, Anisimov M.N.¹, Boichenko M.A.¹, Romanov A.N.², Lifshits I.A.¹, Sivachev A.A.¹, Borzunova J.N.¹, Janibekova M.³, Mustyatsa V.V.³, Plodukhin A.Yu.¹, Shorokhov V.V.¹, Tafenko V.A.¹, Khotlubei E.S.¹, Ratmanova N.K.¹, Zhokhov S.S.¹, Novikov R.A.^{4,5}, Kechko O.I.⁵, Makarov A.A.⁵, Mitkevich V.A.⁵, Andreev I.A.¹, Vorobjev I.A.^{3,6}, Trushkov I.V.⁴, Ivanova O.A.¹, Gudimchuk N.B.¹

1. Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

2. Институт химической физики имени Н.Н. Семёнова РАН, Москва, Россия

3. Национальная лаборатория Астана, Астана, Казахстан

4. Институт органической химии имени Н.Д. Зелинского РАН, Москва, Россия

5. Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

6. Назарбаев Университет, Астана, Казахстан

1. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

2. N.N. Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

3. National Laboratory Astana, Astana, Kazakhstan

4. N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

5. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

6. Nazarbayev University, Astana, Kazakhstan

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: JILSJN

Тубулины – это гетеродимерные белки, которые полимеризуются и формируют микротрубочки, ключевые структуры цитоскелета и мишени для химиотерапии рака, что обусловлено их ролью в клеточном цикле. Однако очень часто возникает лекарственная резистентность из-за мутаций в сайтах связывания лигандов, что приводит к неэффективности лечения. Сайт связывания колхицина остаётся ключевой мишенью для новых терапевтических средств, но недавно были идентифицированы альтернативные сайты тубулина. Разработка новых молекул, связывающихся с этими сайтами, может помочь преодолеть резистентность и улучшить селективность и токсикологические характеристики.

Здесь мы применяем новый флуоресцентный зонд — кумарин-30, недавно разработанный в нашей группе [1], и несколько флуоресцентных методов для обнаружения разнообразных связывающихся с тубулином молекул. Во-первых, с помощью микротермофореза и флуоресцентной анизотропии было идентифицировано четыре новых ингибитора полимеризации тубулина, отобранных из библиотеки Национального института рака (NCI). Было показано, что эти соединения связываются с сайтом колхицина. Их ингибирующая активность была подтверждена оптической микроскопией *in vitro* и проточной цитометрией на линиях раковых клеток. Во-вторых, используя увеличение интенсивности флуоресценции кумарина-30, сдвиг спектра и флуоресцентную анизотропию, была исследована серия новых синтезированных соединений в качестве потенциальных ингибиторов тубулина. Было показано, что эти соединения связываются с сайтом колхицина, а их ингибирующая активность подтверждена оптической микроскопией *in vitro* и проточной цитометрией на линиях раковых клеток. Наконец, с помощью микротермофореза на основе кумарина-30 было установлено, что семь новых соединений являются лигандами ранее не изученного сайта тубулина. Эти соединения не влияли на динамику микротрубочек *in vitro* при визуализации с помощью дифференциальной интерференционно-контрастной микроскопии.

Для цитирования: Василевская В.Д. et al. СБФ 2026 Сборник тезисов конференция СБФ; 3 (5)2026 S1 сс. 23-25

Таким образом, сообщается об обнаружении и характеристике восьми новых ингибиторов полимеризации тубулина, связывающихся с сайтом колхицина, и восьми неингибирующих лигандов, связывающихся с альтернативным сайтом βI . Полученные результаты демонстрируют эффективность методов на основе кумарина-30 для идентификации новых химиотерапевтических средств.

Работа in vitro выполнена при поддержке гранта Российского научного фонда № 25-74-20014.

Список литературы

[1] Anisimov MN et al. Coumarin-30 Enables Site-Resolved Detection of Tubulin Ligands by Microscale Thermophoresis. Angew Chem Int Ed Engl. 2025 Dec 1:e17086.

Tubulins are essential heterodimeric proteins assembling into microtubules - key cytoskeletal structures and long-standing targets of cancer chemotherapy due to their role in the cell cycle. However, drug-resistance frequently arises through mutations in ligand binding sites leading to treatment failure. Colchicine-binding site remains a key target for new therapeutics and additional unconventional tubulin pockets have recently been identified. Development of new binders for these sites may help overcome resistance and improve selectivity and toxicity aspects.

Here we employ a new fluorescent probe, coumarin-30, recently established in our group [1], and several fluorescence-based methods to discover diverse tubulin-binders. First, using microscale thermophoresis and fluorescence anisotropy assays we identified four novel tubulin polymerization inhibitors selected from the library of the National Cancer Institute. We demonstrated that these compounds are colchicine-site binders. Their inhibitory activity was confirmed by optical microscopy in vitro and flow cytometry in cancer cell lines. Second, using coumarin-30 fluorescence enhancement, spectral shift and fluorescence anisotropy assays, we examined a series of newly synthesized compounds as potential tubulin inhibitors. We showed that these compounds bind the colchicine site, with inhibitory activity confirmed by optical microscopy and in vitro flow cytometry in cancer cell lines. Finally, we used coumarin-30-based microscale thermophoresis assay to establish seven new compounds as ligands of a previously unexplored tubulin site. These compounds showed no effect on microtubule dynamics in vitro as visualized with DIC microscopy.

Overall, we report discovery and characterization of seven novel tubulin polymerization inhibitors targeting the colchicine site of tubulin and seven non-inhibiting ligands targeting an unconventional $\beta\alpha I$ site. These results underscore the utility of coumarin-30-based toolkit for identification of novel chemotherapeutics.

In vitro work in this study was supported by a grant from the Russian Science Foundation # 25-74-20014.

References

[1] Anisimov MN et al. Coumarin-30 Enables Site-Resolved Detection of Tubulin Ligands by Microscale Thermophoresis. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2025 Dec 1:e17086.

Тромбин-зависимые механизмы агрегации тромбоцитов в присутствии опухолевых клеток **Thrombin-dependent mechanisms of platelet aggregation in the presence of tumor cells**

Васильев Г.А.¹, Корнейчук А.Д.^{2,3}, Яковенко Л.В.⁴

Vasilev G. A.¹, Korneichuk A. D.^{2,3}, Yakovenko L.V.⁴

1. Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, Москва, Россия

2. Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

3. ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия

4. Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия

1. Emanuel Institute of Biochemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

2. Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

3. Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

4. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Physics, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: BTCZVE

Тромбоциты представляют собой безъядерные клеточные фрагменты, основная задача которых состоит в образовании агрегатов для остановки кровотечения (в нужное время и в нужном месте при условии повреждения стенки сосуда). Экспериментально известен феномен агрегации тромбоцитов в ответ на сравнительно небольшое (~в 100 раз меньше) добавление опухолевых клеток. При этом *in vivo* тромбоциты обеспечивают защиту опухолевых клеток от иммунной системы, тем самым способствуя метастазированию, поэтому определение механизмов агрегации тромбоцитов в присутствии опухолевых клеток имеет потенциальное применение в терапии. Цель работы – определение возможных механизмов агрегации тромбоцитов в присутствии опухолевых клеток.

В данном исследовании было применено компьютерное моделирование агрегации тромбоцитов в присутствии тромбина в рамках простейшей известной в литературе системы на основе закона действующих масс (выраженного в системе из 2 ОДУ) с последующим усложнением системы путем добавления опухолевых клеток.

В результате исследования была определена теоретическая зависимость параметров исходной модели (агрегации и распада агрегатов) от концентрации тромбина (константы и функции Ленгмюра). После развития модели до описания агрегации тромбоцитов в присутствии опухолевых клеток также определены в том числе параметры генерации тромбина опухолевыми клетками.

Получено теоретическое обоснование описанного в литературе экспериментально установленного механизма агрегации тромбоцитов в присутствии опухолевых клеток (путем генерации тромбина на опухолевых клетках). Дальнейшее исследование будет сосредоточено на внедрении полученных теоретических зависимостей в модель на основе математического формализма клеточных автоматов с целью определения биофизических характеристик агрегации.

Platelets are anucleate cell fragments whose main function is to form aggregates to stop bleeding (at the right time and place upon damage to the vessel wall). An experimentally known phenomenon is platelet aggregation in response to a relatively small (approximately 100-fold lower) addition of tumor cells. In vivo, platelets protect tumor cells from the immune system, thereby promoting metastasis, so determining the mechanisms of platelet aggregation in the presence of tumor cells has potential therapeutic applications. The aim of this work is to identify possible mechanisms of platelet aggregation in the presence of tumor cells.

In this study the computational modeling of platelet aggregation in the presence of thrombin within the simplest known system from the literature based on the law of mass action (expressed as a system of 2 ODEs) was used, followed by extending the system to include tumor cells.

As main result of the study, the theoretical dependence of the parameters of the initial model (aggregation and aggregate dissociation) on thrombin concentration (constants and Langmuir functions) was determined. After extending the model to describe platelet aggregation in the presence of tumor cells, the parameters of thrombin generation by tumor cells were also identified.

The experimentally established mechanism of platelet aggregation in the presence of tumor cells (via thrombin generation on tumor cells) described in the literature was theoretically substantiated. Further research will focus on incorporating the obtained theoretical dependencies into a model based on the cellular automaton mathematical formalism to determine the biophysical characteristics of aggregation.

Механизмы воздействия низкомолекулярных лигандов α - и β -тубулина на сборку микротрубочек

Mechanisms of action of low-molecular-weight ligands of α - and β -tubulin on microtubule assembly

Васильева О.В.¹, Лифшиц И.А.¹, Гудимчук Н.Б.^{1,2}

Vasilieva O.V.¹, Lifshits I.A.¹, Gudimchuk N.B.^{1,2}

1. Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

2. Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

1. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

2. Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: NRIFVW

Микротрубочки – филаменты цитоскелета, которые в физиологических условиях попеременно пребывают в фазах укорочения и удлинения. Несмотря на то, что это поведение характерно для обоих концов микротрубочки, кинетика сборки и разборки на двух концах микротрубочек различна; в клетках обычно динамичен лишь так называемый «плюс»-конец, а в очищенной системе динамикой обладает также и противоположный, «минус»-конец. Микротрубочки являются ключевыми мишенями противоопухолевой химиотерапии, с помощью ингибиторов их динамики можно подавлять пролиферацию клетки и изучать свойства ассоциированных с микротрубочками белков. Малоизученные низкомолекулярные лиганды тубулина – майтанзин и пиронетин – представляют особый интерес из-за селективного механизма ингибирования.

Цель данной работы – охарактеризовать действие майтанзина и пиронетина на динамику микротрубочек и на их основе разработать метод получения полярно-меченых микротрубочек для биомедицинских исследований. В исследовании использовали TIRF-микроскопию, анализ кимограмм для расчета скоростей полимеризации, морфологическую типизацию сегментированных микротрубочек и глайдинг-тест с кинезином для определения полярности. Эксперименты проводились в проточной камере на силанизированном стекле, для стабилизации затравок использовали таксол или GMPCPP. Было показано, что майтанзин эффективно подавляет рост обоих концов микротрубочки *in vitro*, тогда как пиронетин преимущественно ингибирует минус-конец, сохраняя способность плюс-конца к полимеризации. На основе ассиметричного подавления роста концов пиронетином был разработан протокол генерации двухцветных сегментированных микротрубочек, в которых минус-конец был собран из затравки, меченной родамином, а второй сегмент, соответствующий плюс-концу, полимеризовался из тубулина, меченного красителем AlexaFluor647. Оптимизация протокола позволила достичь корректной полярности, значительно снизить процент непригодных для анализа микротрубочек и добиться удобной экспериментально длины сегментов. По эффективности разработанный метод генерации полярных микротрубочек оказался сравним с известным протоколом, основанном на обработке тубулина N-этилмалеимидом. При этом для пиронетина точно известен сайт связывания и протокол на его основе можно использовать для более тонкого анализа динамики микротрубочек *in vitro*.

Работа была поддержана грантом РНФ 23-74-00007.

Microtubules are cytoskeletal filaments that, under physiological conditions, alternately undergo phases of shortening and elongation. Although this behavior is characteristic of both microtubule ends, the kinetics of assembly and disassembly differ between the two ends; in cells, only the so-called “plus” end is typically dynamic, whereas in a purified system, the opposite “minus” end is also dynamic. Microtubules are key targets of anticancer chemotherapy; inhibitors of their dynamics can suppress cell proliferation and be used to study the properties of microtubule-associated proteins. The poorly studied low-molecular-weight tubulin ligands – maytansine and pironetin – are of particular interest due to their selective inhibition mechanism.

The aim of this work was to characterize the effects of maytansine and pironetin on microtubule dynamics and, based on these effects, to develop a method for generating polarity-labeled microtubules for biomedical research. The study employed TIRF microscopy, kymograph analysis to calculate polymerization rates, morphological typing of segmented microtubules, and a kinesin gliding assay to determine polarity. Experiments were conducted in flow chambers on silanized glass; taxol or GMPCPP was used to stabilize seeds. It was shown that maytansine effectively suppresses the growth of both microtubule ends in vitro, whereas pironetin predominantly inhibits the minus end while preserving the polymerization capacity of the plus end. Based on the asymmetric end-growth suppression by pironetin, a protocol was developed for generating two-color segmented microtubules, in which the minus end was assembled from a rhodamine-labeled seed and the second segment (corresponding to the plus end) was polymerized from tubulin labeled with AlexaFluor647. Optimization of the protocol allowed achieving correct polarity, significantly reducing the percentage of microtubules unsuitable for analysis, and obtaining segments of convenient experimental length. In terms of efficiency, the developed method for generating polar microtubules was comparable to the known protocol based on tubulin treatment with N-ethylmaleimide. Moreover, because the binding site of pironetin is precisely known, the pironetin-based protocol can be used for more refined analysis of microtubule dynamics in vitro.

This work was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-74-00007.

Динамика фокальных контактов: рост, скольжение и разборка

Dynamics of focal adhesions: growth, sliding, and disassembly

Воробьев И.А.¹

Vorobjev I.A.¹

1. Кафедра клеточной биологии и гистологии, МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

1. Department of Cell Biology and Histology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: MKTVJO

Фокальные контакты (ФК) обеспечивают взаимодействие клеток, обладающих мезенхимальным типом подвижности, с твердым субстратом. Они формируются в эпителиальных (нормальных и раковых) клетках, а также в фибробластах. ФК исчезают при ошаривании делящейся клетки и вновь возникают после цитокинеза. ФК возникают чаще всего на краю клетки, где выдвигается плоская ламелла, но также и вдоль других краев распластанной клетки. Они образуются на внутренней поверхности плазматической мембраны за счет кластеризации интегринов и рекрутирования из цитоплазмы специализированных механосенсорных белков – талина, паксиллина, киназы фокальных контактов, винкулина. Большинство ФК живут не более 1-2 минут, но некоторые стабилизируются и живут до 20-60 мин. Зрелые ФК имеют площадь от 0.5 до 10 мкм², толщину около 80-100 нм, и многослойную структуру. Наши исследования показали, что начальный рост ФК происходит очень быстро – со скоростью около 1 мкм²/мин. Долгоживущие ФК могут продолжать расти, но значительно медленнее. Быстрый рост ФК связан с формированием актиновых пучков, взаимодействующих с талином и винкулином, а медленный рост долгоживущих ФК связан с сократительной активностью актиновых пучков под действием миозина 2.

Зрелые ФК смещаются относительно субстрата – в основном медленно, но на втягивающемся краю клетки они могут смещаться к краю клетки относительно быстро и на большие расстояния. При быстром смещении ФК их слои, сформированные разными белками, сдвигаются относительно друг друга. Это явление лучше всего описывается моделью разделения жидких фаз. Разборка ФК происходит повсеместно и представляет собой случайный процесс, который, по-видимому, не регулируется клеткой. Таким образом, ФК представляют собой относительно жидкие фазы, представленные несколькими слоями, которые внутри ФК взаимодействуют друг с другом, а извне связаны с твердым субстратом (через плазматическую мембрану) и непосредственно актин-миозиновым аппаратом клетки.

Focal adhesions (FAs) mediate the interaction of cells exhibiting mesenchymal type of motility with a solid substrate. They are formed in epithelial cells (both normal and cancerous), as well as in fibroblasts. FAs disappear during the rounding of dividing cells and reappear after cytokinesis. FAs most commonly emerge at the leading edge of the cell, where a flat lamella protrudes, but they can also form along other edges of a spread cell. They arise at the inner surface of the plasma membrane through integrin clustering and recruitment of specialized mechanosensory proteins from the cytoplasm, including talin, paxillin, focal adhesion kinase, and vinculin.

Most FAs persist for no longer than 1–2 minutes, although some become stabilized and survive for up to 20–60 minutes. Mature FAs have an area ranging from 0.5 to 10 μm^2 , a thickness of approximately 80–100 nm, and a multilayered structure. Our studies have shown that the initial growth of FAs occurs very rapidly, at a rate of approximately 1 $\mu\text{m}^2/\text{min}$. Long-lived FAs may continue to grow, but at a much slower rate. Rapid FA growth is associated with the formation of actin bundles interacting with talin and vinculin, whereas the slower growth of long-lived FAs is linked to the contractile activity of actin bundles driven by myosin II.

Mature FAs translocate along the substrate - usually slowly, although at the retracting edge of the cell they may move centripetally relatively rapidly and over considerable distances. During rapid displacement of FAs, layers formed by different proteins shift relative to one another. This phenomenon is best described by the liquid-liquid phase separation model. FA disassembly occurs throughout the entire cell and seems to be a stochastic process that probably is not actively regulated by the cell. Thus, FAs can be described as relatively fluid phases composed of several layers interacting with each other within the adhesion site, being connected indirectly to the solid substrate (through the plasma membrane) and directly to the actomyosin machinery of the cell.

МҮН9-ассоциированная тромбоцитопения нарушает перестройку актинового цитоскелета тромбоцитов при адгезии к фибриногену ***MҮН9-associated thrombocytopenia impairs actin cytoskeleton rearrangement in platelets during adhesion to fibrinogen***

Галкина С.В.^{1,2}, Чабин И.А.², Свешникова А.Н.^{1,2,3}

Galkina S.V.^{1,2} Chabin I.A.², Sveshnikova A.N.^{1,2,3}

1. Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

2. ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия

3. Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия

1. Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

2. Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

3. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Physics, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: YSPADW

МҮН9-ассоциированная тромбоцитопения (МҮН9-НТ) – наследственное заболевание, связанное с мутацией в гене МҮН9, кодирующем синтез тяжелой цепи немышечного миозина IIA. Оно объединяет целую группу заболеваний (аномалия Мея–Хегглина, синдром Эпштейна, синдром Фехтнера, синдром Себастьяна), которые характеризуются тромбоцитопенией с большими или гигантскими формами тромбоцитов, проявляющейся геморрагическим синдромом и развитием различных негематологических проявлений (1). Целью данной работы стало сравнение характера распластывания тромбоцитов пациентов с МҮН9-НТ и здоровых доноров.

В исследовании использовалась цельная венозная кровь 2 пациентов-сиблингов с патогенным вариантом МҮН9-НТ, находящихся на терапии ромиплостимом (агонистом тромбо-поэтиновых рецепторов), а также 5 здоровых доноров. В качестве антикоагулянта применялся гирудин. Нарушение распластывания тромбоцитов на фибриногене оценивали методом флуоресцентной микроскопии. Кровь перфузировали через проточные камеры, покрытые фибриногеном, фиксировали 2% формалином, окрашивали меченым Alexa-647 фаллоидином и фотографировали в режиме флуоресценции.

Тромбоциты пациентов с МҮН9-НТ демонстрируют выраженную гетерогенность спрединга на фибриногене: макротромбоциты способны формировать ламеллоподии, тогда как клетки меньшего размера стремятся к сохранению дисковидной формы с диффузным распределением актина и образуют лишь единичные филоподии. Также в отличие от здоровых доноров, у которых при распластывании актин концентрируется в ламеллоподиях, оставляя тело клетки более свободным, у макротромбоцитов МҮН9-НТ наблюдается задержка актина в теле клетки.

Список литературы

1. Сунцова Е.В. et.al. Наследственная тромбоцитопения, ассоциированная с мутацией в гене МҮН9, Вопросы гематологии/онкологии и иммунопатологии в педиатрии. - 2017. - Т. 16. - №1. - С. 40-48.

MYH9-associated thrombocytopenia (MYH9-RD) is an inherited disorder caused by a mutation in the MYH9 gene, which encodes the synthesis of the heavy chain of non-muscle myosin IIA. It encompasses a group of diseases (May-Hegglin anomaly, Epstein syndrome, Fechtner syndrome, Sebastian syndrome) characterized by thrombocytopenia with large or giant platelets, presenting with hemorrhagic syndrome and the development of various non-hematological manifestations (1). The aim of this work was to compare the spreading pattern of platelets from patients with MYH9-RD and healthy donors.

The study used whole venous blood from two sibling patients with a pathogenic MYH9-RD variant who were receiving romiplostim (a thrombopoietin receptor agonist), as well as from five healthy donors. Hirudin was used as an anticoagulant. Impaired platelet spreading on fibrinogen was assessed by fluorescence microscopy. Blood was perfused through flow chambers coated with fibrinogen, fixed with 2% formalin, stained with Alexa-647-labeled phalloidin, and photographed in fluorescence mode.

Platelets from patients with MYH9-RD exhibit pronounced heterogeneity of spreading on fibrinogen: macroplatelets are able to form lamellipodia, whereas smaller cells tend to retain a discoid shape with diffuse actin distribution and rarely form filopodia. Furthermore, unlike healthy donors, in whom actin concentrates in lamellipodia during spreading, leaving the cell body more empty, in MYH9-RD macroplatelets actin is retained in the cell body.

References

1. Suntsova E.V. et al. Hereditary thrombocytopenia associated with a mutation in the MYH9 gene, Questions of Hematology/Oncology and Immunopathology in Pediatrics. - 2017. - Vol. 16. - No. 1. - P. 40-48.

Актиновый цитоскелет, как регулятор молекулярных механизмов коллективного движения эпителиальных клеток, вызванного драйверными мутациями сигнального пути PI3K/AKT

The actin cytoskeleton as a regulator of the molecular mechanisms of collective migration of epithelial cells driven by PI3K/AKT pathway mutations

Даюб А.¹, Жолудева А.О.¹, Фокин А.¹, Готро А.М.¹, Александрова А.Ю.¹

Dayoub A.¹, Zholudeva A.O.¹, Fokin A.¹, Gotro A.M.¹, Alexandrova A.Yu.¹

1. НИИ экспериментальной онкологии и канцерогенеза ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина», Москва, Россия

1. Research Institute of Experimental Oncology and Carcinogenesis, N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: RPNLIZ

PI3K/AKT - один из важнейших сигнальных путей, регулирующих пролиферацию, выживание и миграцию клеток. Мутации PI3K PIK3CA H1047R и PIK3CA E545K являются драйверными для многих раков. Данные о метастазировании опухолей с этими мутациями противоречивы, как регулируется миграция опухолевых клеток, несущих эти мутации, неизвестно. Цель работы: выяснение молекулярных механизмов, регулирующих миграцию эпителиальных клеток молочной железы, несущих мутации PI3K PIK3CA H1047R и PIK3CA E545K и поиски факторов, которые контролируют эти механизмы.

Мы анализировали движение эпителиальных клеток молочной железы MCF10A и их производных с мутациями H1047R и E545K. Исследовали изменение экспрессии белков - маркеров эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП), анализировали подвижность клеток (программа PIV (Particle Image Velocimetry)) и динамику активности ERK (extracellular signal-regulated kinase), актиновый цитоскелет исследовали с помощью флуоресцентной конфокальной микроскопии.

Показали, что мутации вызывают частичный ЭМП, т.е. клетки сохраняют адгезионные межклеточные контакты (АК) и демонстрируют коллективную миграцию (КМ). Активация направленной КМ наблюдалась у клеток H1047R, а в клетках E545K нет. Обработка клеток ингибитором Rho-киназы Y27632 приводила к кардинальным изменениям эффективности КМ, стимулируя ее в случае E545K и снижая ее в контроле и H1047R. Мы показали, что эффективность КМ зависела от степени активации и динамики ERK. Направленная эффективная КМ осуществляется только в случае распространения активности ERK в монослое в виде волн. Основным фактором, влияющим на эффективность КМ является не частота или амплитуда волн ERK, а дальность их распространения внутрь монослоя. Передача активности ERK между клетками зависит от строения АК и от организации и сократимости актинового цитоскелета.

Вывод: для эффективной КМ необходимы волны активности ERK, которые регулируются уровнем и распределением акто-миозиновой сократимости и наличием линейных межклеточных АК.

Работа поддержана грантом РФФИ № 25-25-00454.

PI3K/AKT is one of the key signaling pathways regulating cell proliferation, survival, and migration. The PI3K mutations PIK3CA H1047R and PIK3CA E545K are driver mutations in many cancers. However, data regarding the metastatic potential of tumors carrying these mutations remain contradictory, and the mechanisms regulating the migration of tumor cells harboring these mutations are still poorly understood. The aim of this work was to elucidate the molecular mechanisms regulating the migration of mammary epithelial cells carrying the PI3K mutations PIK3CA H1047R and PIK3CA E545K, and to identify factors controlling these mechanisms.

We analyzed the movement of mammary epithelial MCF10A cells and their derivatives carrying the H1047R and E545K mutations. We examined the expression of proteins serving as markers of epithelial–mesenchymal transition (EMT), analyzed cell motility using Particle Image Velocimetry (PIV), and monitored ERK (extracellular signal-regulated kinase) activity dynamics. The actin cytoskeleton was studied using fluorescence confocal microscopy.

We demonstrated that these mutations induce a partial EMT phenotype, meaning that the cells retain adherens junctions (AJs) and exhibit collective migration (CM). Activation of directed CM was observed in H1047R cells, whereas E545K cells did not display this behavior. Treatment with the Rho-kinase inhibitor Y27632 caused dramatic changes in CM efficiency, stimulating migration in E545K cells while reducing it in control and H1047R cells. We showed that CM efficiency depends on the level and dynamics of ERK activation. Efficient directed CM occurs only when ERK activity propagates through the monolayer in the form of waves. The principal factor determining CM efficiency is not the frequency or amplitude of ERK waves, but rather the distance of their propagation into the monolayer. Transmission of ERK activity between cells depends on the structure of adherens junctions and on the organization and contractility of the actin cytoskeleton.

In conclusion, efficient collective migration requires ERK activity waves, which are regulated by the level and spatial distribution of actomyosin contractility and by the presence of linear intercellular adherens junctions.

This work was supported by the Russian Science Foundation, grant No. 25-25-00454.

Сравнение механических свойств и клеточной совместимости желатинов типа А и типа В из различных животных источников

Comparison of mechanical properties and cell compatibility of type A and type B gelatins from different animal sources

Ерохина А.Г.¹, Широхова З.В.¹, Ефремов Ю.М.¹, Тимашев П.С.¹

Erokhina A.G.¹, Shirokhova Z.V.¹, Efremov Yu.M.¹, Timashev P.S.¹

1. Институт регенеративной медицины ПМГМУ им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

1. Institute for Regenerative Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: FJDUCI

Гидрогели на основе желатина и коллагена широко применяются в качестве биомиметических матриц для культивирования клеток, однако их механические свойства и биосовместимость зависят от источника сырья и способа сшивки. Цель работы - сравнить биосовместимость и механические свойства гидрогелей из желатина разных типов (бычий, тип В; свиной, тип А). Сшивку 5-10% гидрогелей проводили микробной трансглутаминазой или УФ, для чего получали метакрилированные производные желатина (GelMA) (Irgacure, 365 нм). Механические характеристики измерялись на реометре и методом микроиндентации, биосовместимость - на клеточных линиях HDF и ARPE-19 с помощью тестов Live&Dead и Alamar Blue.

Свиной желатин при сшивке мТГ в концентрациях 5-10% показал значимо более высокий модуль Юнга: 2,3-30 кПа против 1,3-6,7 кПа для бычьего. 10% GelMA бычьего происхождения, наоборот, продемонстрировал больший модуль Юнга: 35,3±8,6 кПа против 11,6±2,1 кПа. Жизнеспособность монослоя при посадке на гидрогели была выше на свином (81,5±7,5%) желатине по сравнению с бычьим (43,8±29,2%). При культивировании в объеме геля жизнеспособность была высокой вне зависимости от источника желатина (85,95±10,75%) с лучшей морфологией внутри бычьего.

Сфероиды, полученные из фибробластов 4 и 6-дневного формирования, минимально распластывались за 7 дней в отличие от сфероидов из фибробластов 1-го дня формирования и эпителиальных сфероидов. Фибробласты в сфероидах на желатиновом гидрогеле типа А увеличивали жесткость гидрогелей на 102%, в монослое не изменяли, а при культивировании отдельных клеток в 3D объеме, наоборот, снижали на 91,3%.

Таким образом, как источник и тип желатина, так и метод сшивки критически влияют на механику гидрогелей и клеточный ответ, который, в свою очередь, зависит от типа и формы введения клеток (суспензия или сфероиды).

Работа выполнена в рамках государственного задания Минздрава России тема № NZAF-2024-0006.

Gelatin- and collagen-based hydrogels are widely used as biomimetic matrices for cell culture; however, their mechanical properties and biocompatibility depend on the source material and the crosslinking method. The aim of this study was to compare the biocompatibility and mechanical properties of hydrogels prepared from different gelatin types (bovine, Type B; porcine, Type A). Crosslinking of 5–10% hydrogels was performed either using microbial transglutaminase (mTG) or UV irradiation following preparation of methacrylated gelatin derivatives (GelMA) (Irgacure, 365 nm). Mechanical characteristics were assessed by rheometry and microindentation, while biocompatibility was evaluated using HDF and ARPE-19 cell lines by means of Live/Dead and Alamar Blue assays.

Porcine gelatin crosslinked with mTG at concentrations of 5–10% demonstrated a significantly higher Young's modulus compared to bovine gelatin: 2.3–30 kPa versus 1.3–6.7 kPa, respectively. In contrast, 10% bovine-derived GelMA exhibited a higher Young's modulus than porcine GelMA: 35.3 ± 8.6 kPa versus 11.6 ± 2.1 kPa. Monolayer viability upon seeding onto hydrogels was higher on porcine gelatin ($81.5 \pm 7.5\%$) compared to bovine gelatin ($43.8 \pm 29.2\%$). During cell culture within the gel volume, viability remained high regardless of gelatin source ($85.95 \pm 10.75\%$), although cell morphology was superior in bovine gelatin.

Fibroblast spheroids formed over 4 and 6 days exhibited minimal spreading over 7 days, unlike 1-day fibroblast spheroids and epithelial spheroids. Fibroblasts within spheroids cultured on Type A gelatin hydrogels increased hydrogel stiffness by 102%, whereas fibroblasts cultured as a monolayer caused no changes, and individually encapsulated cells cultured within the 3D gel volume, conversely, reduced stiffness by 91.3%.

Thus, both the source and type of gelatin, as well as the crosslinking method, critically affect hydrogel mechanics and cellular response, which in turn depends on both the cell type and the mode of cell incorporation (cell suspension or spheroids).

This work was performed under a state contract of the Ministry of Health of the Russian Federation, topic № NZAF-2024-0006.

Влияние структуры положительной обратной связи на пороговые свойства ферментативных каскадов

Influence of the positive feedback structure on the threshold properties of enzymatic cascades

Кадыров Т.И.¹, Пантелеев М.А.^{1,2,3}

Kadyrov T.I.¹, Panteleev M.A.^{1,2,3}

1. Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

2. ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия

3. Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия

1. Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

2. Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

3. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Physics, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: SVSEUM

Сегодня хорошо известно, как устроена система свёртывания крови и какова в ней роль разных по структуре положительных обратных связей (ПОС). Однако то, почему система свёртывания устроена именно так, остаётся неясным. Настоящее теоретическое исследование посвящено рассмотрению взаимосвязи между различными структурами реакции положительной обратной связи и пороговыми свойствами системы.

Рассматривались обобщённые ОДУ-модели, отражающие следующие особенности гомогенного свёртывания: наличие экспоненциально убывающего активатора, усиливающий каскад, эффектор и положительная обратная связь, в которой один из ферментов активирует один из предыдущих в каскаде. Для всех реакций использована кинетика I порядка, кроме ПОС (рассмотрено 4 варианта кинетики).

Рассматривались 1) зависимости сигнал-ответ для различных вариантов кинетики ПОС, 2) порог достижения эффектора заданного уровня, 3) порог переключения бистабильности. Использованы методы численного интегрирования и оптимизации из библиотеки SciPy на языке Python, а также стандартные методы анализа стационарных состояний.

Результаты: 1) Наличие в системе сильной ПОС не гарантирует ответ по типу «всё-или-ничего» – такой ответ наблюдался только с кинетикой ПОС более I порядка (что соответствует наличию реакции образования комплекса, кооперативности или хилловской кинетике). 2) Если в ПОС имеется реакция образования комплекса, самый низкий порог по эффектору при прочих равных даёт наиболее короткая ПОС. 3) Если реакция ПОС имеет степенную кинетику (кооперативность) или кинетику Хилла, то самый низкий порог по эффектору и порог переключения бистабильности при прочих равных даёт наиболее длинная ПОС.

Настоящее исследование делает вклад в понимание принципов конструирования биохимических систем и позволяют выдвинуть гипотезу о том, что ответственность FVa-зависимой ПОС за ответ «всё-или-ничего» связана с эволюционной оптимизацией каскадом свёртывания своей структуры и параметров для наиболее эффективного выполнения этой функции.

Nowadays the organization of the blood coagulation system and the role of positive feedback loops (PFLs) of different structures within it are well understood. However, why the coagulation system is structured exactly as it is remains unclear. This theoretical study examines the relationship between different structures of positive feedback reactions and the threshold properties of the system.

We considered generalized ODE models reflecting the following features of homogeneous coagulation: the presence of an exponentially decaying activator, an amplifying cascade, an effector, and a positive feedback loop in which one of the enzymes activates one of its upstream components in the cascade. First-order kinetics were used for all reactions except the positive feedback loop (four variants of kinetics were considered).

We examined: 1) signal–response relationships for different PFL kinetics; 2) the threshold for achieving a given effector level; 3) the bistability switching threshold. Numerical integration and optimization methods from the SciPy library (Python) were used, along with standard steady-state analysis methods.

Results:

1. The presence of a strong PFL does not guarantee an all-or-none response – such a response was observed only with PFL kinetics of higher than first order (corresponding to complex-formation reactions, cooperativity, or Hill kinetics).

2. If the PFL involves a complex-formation reaction, the shortest PFL gives the lowest effector threshold, all else being equal.

3. If the PFL follows power-law (cooperative) or Hill kinetics, the longest PFL gives the lowest effector threshold and the lowest bistability switching threshold, all else being equal.

This study contributes to understanding the design principles of biochemical systems and suggests that the responsibility of the FVa-dependent positive feedback loop for the all-or-none response is related to evolutionary optimization of the coagulation cascade's structure and parameters to most effectively perform this function.

Мутация PSTPIP1 p.E250K нарушает организацию и динамику подосом в первичных макрофагах человека

PSTPIP1 p.E250K mutation disrupts podosome organization and dynamics in primary human macrophages

Колчин Н.А.¹, Нестеренко З.А.¹, Глухова А.А.¹, Николаева Е.И.¹, Бутов К.Р.^{1,2}

Kolchin N.A.¹, Nesterenko Z.A.¹, Glukhova A.A.¹, Nikolaeva E.I.¹, Butov K.R.^{1,2}

1. ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия

2. ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

1. Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

2. Pirogov Russian National Research Medical University, Ministry of Health of Russia, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: XPAXTU

Подосомы представляют собой высокоорганизованные актин-богатые структуры, формирование которых зависит от координированного взаимодействия мембранных и цитоскелетных белков. PSTPIP1 рассматривается как адаптерный белок, обеспечивающий связь между плазматической мембраной и актиновым цитоскелетом. Ранее было показано, что мутации PSTPIP1 ассоциированы с нарушением организации подосом, однако роль F-BAR-домена, содержащего мутацию p.E250K, остается недостаточно изученной. В связи с этим, целью работы являлась оценка влияния варианта p.E250K на количество, морфологию и динамику подосом в первичных макрофагах человека.

В работе использовали первичные макрофаги здоровых доноров (N=3) и пациентов (N=5), несущих вариант PSTPIP1 p.E250K, а также макрофаги здоровых доноров с экзогенной экспрессией флуоресцентно-меченных вариантов PSTPIP1. Анализ подосом проводили методом конфокальной флуоресцентной микроскопии. Для оценки динамики актинового цитоскелета выполняли прижизненную съемку клеток с использованием LifeAct-mScarlet3-S2.

Макрофаги пациентов с вариантом p.E250K характеризовались снижением количества подосом на клетку на 55% и уменьшением средней площади подосом на 10% по сравнению с контролем. При этом прижизненная визуализация выявила увеличение стабильности подосом в клетках p.E250K, сопровождавшееся повышением среднего времени их существования до 315 секунд против 240 секунд в контроле. Аналогичный эффект наблюдался при экзогенной экспрессии PSTPIP1 E250K в макрофагах здоровых доноров.

Полученные результаты впервые демонстрируют, что мутация p.E250K в F-BAR-доме PSTPIP1 оказывает разнонаправленное влияние на подосомы первичных макрофагов, одновременно снижая их количество и размер и повышая их стабильность. Эти данные указывают на участие PSTPIP1 в регуляции динамики актинового цитоскелета и организации подосом F-BAR опосредованным механизмом.

Podosomes are highly organized actin-rich structures whose formation depends on coordinated interactions between membrane-associated and cytoskeletal proteins. PSTPIP1 is considered an adaptor protein that mediates the linkage between the plasma membrane and the actin cytoskeleton. Previous studies have demonstrated that PSTPIP1 mutations are associated with impaired podosome organization; however, the role of the F-BAR domain containing the p.E250K mutation remains insufficiently understood. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of the p.E250K variant on podosome number, morphology, and dynamics in primary human macrophages.

The study utilized primary macrophages derived from healthy donors (N = 3) and patients (N = 5) carrying the PSTPIP1 p.E250K variant, as well as macrophages from healthy donors with exogenous expression of fluorescently labeled PSTPIP1 variants. Podosomes were analyzed using confocal fluorescence microscopy. Actin cytoskeleton dynamics were assessed by live-cell imaging using LifeAct-mScarlet3-S2.

Macrophages from patients carrying the p.E250K variant exhibited a 55% reduction in podosome number per cell and a 10% decrease in average podosome area compared to controls. At the same time, live-cell imaging revealed increased podosome stability in p.E250K cells, accompanied by an increase in their mean lifetime to 315 seconds compared to 240 seconds in controls. A similar effect was observed following exogenous expression of PSTPIP1 E250K in macrophages from healthy donors.

These results demonstrate for the first time that the p.E250K mutation within the F-BAR domain of PSTPIP1 exerts bidirectional effects on podosomes in primary macrophages, simultaneously reducing their number and size while increasing their stability. These findings indicate the involvement of PSTPIP1 in the regulation of actin cytoskeleton dynamics and podosome organization through F-BAR-mediated mechanisms.

Визуализация тромбообразования, индуцируемого опухолевым органоидом в проточной камере, методом флуоресцентной микроскопии

Visualization of tumor organoid-induced thrombus formation in a flow chamber by fluorescence microscopy

Корнейчук А.Д.^{1,2}, Адаманская Е.И.А.², Лунёв И.В.³, Осипьянц А.И.^{2,3}, Свешникова А.Н.^{1,2}
 Korneichuk A.D.^{1,2}, Adamanskaya E.I.A.², Lunnyov I.V.³, Osipyants A.I.^{2,3}, Sveshnikova A.N.^{1,2}

1. Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

2. ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия

3. ФГАОУ ВО НИЯУ МИФИ, Москва, Россия

1. Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, 30 Srednyaya Kalitnikovskaya St., Moscow, 109029, Russia

2. Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

3. National Research Nuclear University MEPhI, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: NEDTLR

Ранее была выдвинута гипотеза о том, что полимеризация фибрина играет ключевую роль во взаимодействии опухолевых клеток и тромбоцитов в ходе гематогенного метастазирования, поскольку агрегация тромбоцитов вблизи опухолевых клеток возникает только в присутствии плазмы крови, которая обеспечивает окружение для развертывания каскада генерации тромбина по внешнему пути свёртывания от тканевого фактора, экспрессируемого на поверхности опухолевых клеток. Высокий прокоагулянтный потенциал поверхности опухолевых клеток создаёт трудности для визуализации процесса их взаимодействия с потоком крови из-за риска преждевременного свёртывания крови в отсутствии антикоагулянта.

Целью настоящего исследования являлась разработка метода визуализации взаимодействия опухолевого органоида с системой гемостаза в условиях потока крови без риска преждевременного свёртывания.

Для исследования использовался образец органоида, полученного из первичного образца детской глиомы. Органоид иммобилизовывался в плоско-параллельной проточной камере. В исследовании использовали кровь здоровых доноров, стабилизированную цитратом. Перед перфузией через проточные камеры при скорости сдвига 100 с^{-1} кровь частично рекальцифицировали. Окрашивание ядер клеток и плотных гранул тромбоцитов проводилось Hoechst 33342, митохондрий и плазматической мембраны DiOC6(3). Полимеризация фибрина наблюдалась с помощью фибриногена-AF647. Наблюдение производилось с помощью инвертированного микроскопа Nikon Eclipse Ti2.

При концентрациях CaCl_2 выше 4,5 мМ в ходе рекальцификации происходила окклюзия микрофлюидной системы с образованием тромба. При концентрациях ниже 1 мМ или при использовании гирудина в качестве антикоагулянта полимеризация фибрина в районе органоида не наблюдалась. При концентрациях 3–4,5 мМ удалось произвести наблюдение полимеризации фибрина в потоке цельной крови, которая характеризовалась стартом в точке первичного контакта крови с органоидом и наличием вытянутых по потоку хвостов фибрина, содержащих в себе тромбоцитарные тромбы.

В ходе работы подобраны условия, позволяющие наблюдать тромбообразование, инициированное опухолевым органоидом.

It has previously been hypothesized that fibrin polymerization plays a key role in the interaction between tumor cells and platelets during hematogenous metastasis, since platelet aggregation near tumor cells occurs only in the presence of blood plasma, which provides the environment for the activation of the extrinsic coagulation cascade generating thrombin, triggered by tissue factor expressed on the tumor cell surface. The high procoagulant potential of the tumor cell surface creates difficulties for visualizing their interaction with blood flow due to the risk of premature blood clotting in the absence of an anticoagulant.

The aim of this study was to develop a method for visualizing the interaction of a tumor organoid with the hemostatic system under blood flow conditions without the risk of premature clotting.

An organoid sample obtained from a primary pediatric glioma specimen was used for the study. The organoid was immobilized in a parallel-plate flow chamber. The study used blood from healthy donors stabilized with citrate. Before perfusion through the flow chambers at a shear rate of 100 s^{-1} , the blood was partially recalcified. Cell nuclei and platelet dense granules were stained with Hoechst 33342, mitochondria and plasma membrane with DiOC₆(3). Fibrin polymerization was observed using fibrinogen-AF647. Observation was performed using an inverted Nikon Eclipse Ti2 microscope.

At CaCl₂ concentrations above 4.5 mM during recalcification, occlusion of the microfluidic system with thrombus formation occurred. At concentrations below 1 mM or when using hirudin as an anticoagulant, no fibrin polymerization was observed in the organoid region. At concentrations of 3–4.5 mM, we were able to observe fibrin polymerization in flowing whole blood, characterized by initiation at the point of first blood contact with the organoid and the presence of fibrin tails elongated downstream, containing platelet thrombi.

In this work, conditions were selected that allow observation of thrombus formation initiated by a tumor organoid.

Сигнальные механизмы коммитирования постнатальных стволовых клеток человека в различные субтипы адипоцитов

Signaling mechanisms governing commitment of human postnatal stem cells into distinct adipocyte subtypes

Косарева Р.С.¹, Калинин А.Ю.¹, Бондарев А.Д.¹, Сулягина В.П.¹, Тюрин-Кузьмин П.А.¹
Kosareva R.S.¹, Kalinin A.Yu.¹, Bondarev A.D.¹, Sulyagina V.P.¹, Tyurin-Kuzmin P.A.¹

1. Кафедра биохимии и регенеративной биомедицины, факультет фундаментальной медицины МНОИ МГУ им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия

1. Department of Biochemistry and Regenerative Biomedicine, Faculty of Fundamental Medicine, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: DWLCTE

Современные подходы регенеративной медицины направлены на восстановление поврежденных органов и тканей путем активации собственных регенеративных процессов организма. В основе механизмов обновления лежит функционирование стволовых клеток, сохраняющих способность к дифференцировке во взрослом организме. Ранее нами было показано, что в процессе коммитирования мультипотентных мезенхимных стромальных клеток (МСК) человека происходит транзитное переключение гормональной чувствительности в связи с изменением спектра представленных на поверхности клеток рецепторов. Стимуляция бета3-адренорецепторов по цАМФ-зависимому механизму приводит к транзитному выходу на поверхность клеток Ca^{2+} -мобилизующих альфа1А-адренорецепторов, чья стимуляция направляет клетки в сторону дифференцировки в гладкомышечные клетки. В данной работе мы поставили себе целью выявить гормональные сигналы, определяющие направление дифференцировки МСК в специализированные функционально обособленные подтипы адипоцитов.

Для поиска сигналов, определяющих направление дифференцировки МСК, мы протестировали, какие цАМФ-мобилизующие гормоны вызывают повышение чувствительности к кальций-мобилизующим гормонам в МСК, после чего исследовали их на предмет влияния на направление адипогенной дифференцировки МСК. Последовательная, а также отдельная обработка МСК ПТГ и аденозином приводила к повышению представленности адипоцитов с базальным фенотипом (подтип scAd1). Обработка МСК ГАМК или серотонином приводила к повышению представленности адипоцитов, ассоциированных с нейронами, характеризующихся экспрессией гена NEGR1 (scAd2). При этом последовательная обработка МСК такими гормонами как серотонин и норадреналин, а также двукратная обработка норадреналином приводила к коммитированию МСК в бежевые адипоциты (scAd4; характерные маркеры ZNF804A и EBF2).

Таким образом, мы выявили комбинации цАМФ- и кальций-мобилизующих гормонов, влияющие на выбор направления дифференцировки МСК в различные функционально обособленные подтипы адипоцитов. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 25-75-30005.

Modern approaches in regenerative medicine are aimed at restoring damaged organs and tissues through activation of the body's intrinsic regenerative processes. These mechanisms are based on the function of stem cells, which retain the capacity for differentiation in the adult organism. Previously, we demonstrated that during the commitment of human multipotent mesenchymal stromal cells (MSCs), a transient switch in hormonal sensitivity occurs due to changes in the repertoire of receptors expressed on the cell surface. Stimulation of β 3-adrenergic receptors via a cAMP-dependent mechanism induces transient surface expression of Ca^{2+} -mobilizing α 1A-adrenergic receptors, whose activation directs cells toward smooth muscle cell differentiation. In the present study, our aim was to identify hormonal signals that determine the direction of MSC differentiation into specialized functionally distinct adipocyte subtypes.

To identify signals determining the direction of MSC differentiation, we examined which cAMP-mobilizing hormones induce increased sensitivity to Ca^{2+} -mobilizing hormones in MSCs, and subsequently investigated their effects on the direction of adipogenic differentiation.

Sequential as well as individual treatment of MSCs with parathyroid hormone (PTH) and adenosine resulted in an increased proportion of adipocytes with a basal phenotype (subtype scAd1). Treatment of MSCs with GABA or serotonin increased the proportion of neuron-associated adipocytes characterized by expression of the NEGR1 gene (scAd2). At the same time, sequential treatment of MSCs with hormones such as serotonin and noradrenaline, as well as repeated treatment with noradrenaline alone, promoted MSC commitment toward beige adipocytes (scAd4), characterized by expression of the marker genes ZNF804A and EBF2.

Thus, we identified combinations of cAMP- and Ca^{2+} -mobilizing hormones that influence the selection of MSC differentiation pathways toward distinct functional adipocyte subtypes. This work was supported by the Russian Science Foundation grant No. 25-75-30005.

Острое влияние лептина на сократимость предсердных и желудочковых кардиомиоцитов

Acute effect of leptin on the contractility of atrial and ventricular cardiomyocytes

Кочурова А.М.¹, Мячина Т.А.¹, Бутова К.А.¹, Хохлова А.Д.², Копылова Г.В.¹, Щепкин Д.В.¹
 Kochurova A.M.¹, Myachina T.A.¹, Butova K.A.¹, Khokhlova A.D.², Kopylova G.V.¹, Shchepkin D.V.¹

1. Институт иммунологии и физиологии УрО РАН, Екатеринбург, Россия

2. Вашингтонский университет, Сент-Луис, США

1. Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, Yekaterinburg, Russia

2. University of Washington, St. Louis, USA

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: LZAXEW

Лептин представляет собой пептидный гормон, секретируемый адипоцитами и другими тканями, включая миокард. Рецепторы к лептину обнаружены на мембране кардиомиоцитов предсердий и желудочков. Мы исследовали влияние лептина на сократительную функцию предсердных и желудочковых кардиомиоцитов.

Эксперименты выполнены на самцах крыс Вистар возрастом 10 недель. Одиночные кардиомиоциты выделяли ретроградной перфузией сердца по Лангендорфу и инкубировали с лептином. Динамику укорочений саркомеров регистрировали на лазерном сканирующем конфокальном микроскопе LSM-710 (Carl Zeiss, Германия). Миозин и тонкие филаменты экстрагировали из суспензии кардиомиоцитов. Влияние лептина на актин-миозиновое взаимодействие изучали в *in vitro* подвижной системе (ИПС). Фосфорилирование белков анализировали гель-электрофорезом с окрашиванием Pro-Q Diamond (Invitrogen, США) и SYPRO Ruby (Invitrogen, США).

Обнаружено, что 60 нМ лептина снижает амплитуду укорочения, скорость укорочения и расслабления саркомеров желудочковых кардиомиоцитов. Изменения связаны с уменьшением фосфорилирования сердечного миозин-связывающего белка С (сМуВР-С), увеличением фосфорилирования тропомиозина и уменьшением скорости скольжения тонких филаментов по миозину в ИПС. В предсердных кардиомиоцитах фосфорилирование сМуВР-С и тропонина I увеличивалось, а характеристики укорочения саркомера не менялись.

Таким образом, лептин напрямую влияет на кинетику поперечных мостиков миозина и функциональные свойства саркомерных белков, обуславливая изменения сократимости желудочковых кардиомиоцитов. Различия в эффектах лептина на сократимость предсердных и желудочковых кардиомиоцитов могут быть связаны с особенностями экспрессии рецепторов лептина, а также сигнальных путей в предсердиях и желудочках. Эксперименты выполнены на оборудовании ЦКП ИИФ УрО РАН и поддержаны госпрограммой 122022200089-4.

Leptin is a peptide hormone secreted by adipocytes and other tissues, including the myocardium. Leptin receptors have been found on the membrane of atrial and ventricular cardiomyocytes. We investigated the effect of leptin on the contractile function of atrial and ventricular cardiomyocytes.

Experiments were performed on male Wistar rats aged 10 weeks. Single cardiomyocytes were isolated by retrograde Langendorff perfusion of the heart and incubated with leptin. The dynamics of sarcomere shortening were recorded using a laser scanning confocal microscope LSM-710 (Carl Zeiss, Germany). Myosin and thin filaments were extracted from the cardiomyocyte suspension. The effect of leptin on actin–myosin interaction was studied using an in vitro motility assay. Protein phosphorylation was analyzed by gel electrophoresis with Pro-Q Diamond (Invitrogen, USA) and SYPRO Ruby (Invitrogen, USA) staining.

It was found that 60 nM leptin reduced the amplitude of shortening, the shortening velocity, and the relaxation velocity of sarcomeres in ventricular cardiomyocytes. These changes were associated with decreased phosphorylation of cardiac myosin-binding protein C (cMyBP-C), increased phosphorylation of tropomyosin, and a decreased sliding velocity of thin filaments on myosin in the in vitro motility assay. In atrial cardiomyocytes, phosphorylation of cMyBP-C and troponin I increased, while sarcomere shortening characteristics did not change.

Thus, leptin directly affects the kinetics of myosin cross-bridges and the functional properties of sarcomeric proteins, leading to changes in ventricular cardiomyocyte contractility. The differences in the effects of leptin on the contractility of atrial and ventricular cardiomyocytes may be related to the distinct expression profiles of leptin receptors and signaling pathways in the atria and ventricles.

Experiments were performed using the equipment of the Shared Research Facility of the Institute of Immunology and Physiology, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences, and were supported by state program No. 122022200089-4.

Разработка методов на основе кумарина-30 для обнаружения и характеристики лигандов тубулина

Development of coumarin-30-based methods for detection and characterization of tubulin ligands

Лифшиц И.А.¹, Анисимов М.Н.¹, Бойченко М.А.¹, Романов А.Н.², Василевская В.Д.¹, Сивачев А.А.¹, Жанибекова М.³, Мустяца В.В.³, Тихонов Т.П.¹, Плодугин А.Ю.¹, Шорохов В.В.¹, Тафеенко В.А.¹, Хотлубей Е.С.¹, Ратманова Н.К.¹, Жохов С.С.¹, Кечко О.И.⁴, Макаров А.А.⁴, Митькевич В.А.⁴, Андреев И.А.¹, Воробьев И.А.^{3,5}, Трушков И.В.⁶, Иванова О.А.¹, Гудимчук Н.Б.¹

Lifshits I.A.¹, Anisimov M. N.¹, Boichenko M.A.¹, Romanov A.N.², Vasilevskaya V.D.¹, Sivachev A.A.¹, Janibekova M.³, Mustyatsa V.V.³, Tikhonov T.P.¹, Plodukhin A.Yu.¹, Shorokhov V.V.¹, Tafeenko V.A.¹, Khotlubei E.S.¹, Ratmanova N.K.¹, Zhokhov S.S.¹, Kechko O.I.⁴, Makarov A.A.⁴, Mitkevich V.A.⁴, Andreev I.A.¹, Vorobjev I.A.^{3,5}, Trushkov I.V.⁶, Ivanova O.A.¹, Gudimchuk N.B.¹

1. Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

2. Институт химической физики имени Н.Н. Семёнова РАН, Москва, Россия

3. Национальная лаборатория Астана, Астана, Казахстан

4. Институт молекулярной биологии имени В.А. Энгельгардта РАН, Москва, Россия

5. Назарбаев университет, Астана, Казахстан

6. Институт органической химии имени Н.Д. Зелинского РАН, Москва, Россия

1. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

2. N.N. Semenov Institute of Chemical Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

3. National Laboratory Astana, Astana, Kazakhstan

4. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

5. Nazarbayev University, Astana, Kazakhstan

6. N.D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: NKFSMR

С момента открытия алкалоидов барвинка, микротрубочки остаются высокоэффективной мишенью для химиотерапии рака. Однако мутации в сайтах связывания на микротрубочках, изменения в экспрессии изоформ тубулина и другие факторы приводят к появлению устойчивости опухолей к существующим препаратам. Для преодоления этой проблемы, возникает высокий спрос на разработку лекарственных средств, влияющих на полимеризацию тубулина с помощью новых механизмов. Однако из-за малой доступности сайт-специфичных зондов тубулина, прогресс в этой области ограничен, что делает экспериментальный скрининг новых препаратов сложной задачей.

В данной работе мы представляем кумарин-30, широкодоступный яркий лазерный краситель, в качестве нового лиганда колхицинового сайта и флуоресцентного зонда для тубулина. Мы показываем, что кумарин-30 связывается в колхициновом сайте тубулина, ингибирует динамику микротрубочек *in vitro* и останавливает пролиферацию культивируемых раковых клеток в субмикромольных концентрациях.

Мы обнаружили, что флуоресценция кумарина-30 усиливается на порядок и сдвигается в коротковолновую область при связывании с тубулином, что позволяет детектировать соединения, конкурирующие за тот же сайт связывания. Более того, кумарин-30 можно использовать в качестве зонда для тубулина в методах анизотропии флуоресценции и микротермофореза. Используя большую панель хорошо охарактеризованных лигандов тубулина, мы оценили точность, специфичность и чувствительность четырёх различных флуориметрических методов. Анализы усиления флуоресценции и спектрального сдвига не требуют сложного оборудования и могут быть рекомендованы для обнаружения высоко аффинных лигандов колхицинового сайта. Анализ анизотропии флуоресценции демонстрирует более высокую чувствительность и специфичность к лигандам колхицинового сайта. Метод микротермофореза позволяет с высокой точностью обнаруживать не только лиганды колхицинового сайта, но и отличать их от веществ, связывающихся в других активных сайтах тубулина.

Таким образом, мы показываем, что кумарин-30 предоставляет универсальный набор методов для быстрой, экономически эффективной и информативной характеристики лигандов тубулина, открывая новые пути для разработки химиотерапевтических препаратов против рака.

Работа *in vitro* выполнена при поддержке Российского научного фонда (грант № 25-74-20014).

Microtubules have been a highly successful target for cancer chemotherapy since the discovery of vinca alkaloids. However, mutations in tubulin binding sites, altered tubulin isoform expression, and other factors impart resistance of tumors to existing drugs. To overcome this problem, the development of drugs targeting tubulin polymerization through novel mechanisms is in high demand. However, the progress is bottlenecked by the limited availability of site-specific tubulin probes, making experimental screening for novel drugs a complicated task.

Here, we establish coumarin-30, a widely available bright laser dye, as a novel colchicine-site binder and a fluorescent probe for tubulin. We show that coumarin-30 is a colchicine-site ligand, which inhibits microtubule dynamics in vitro and arrests proliferation of cultured cancer cells at submicromolar concentrations.

We find that coumarin-30 fluorescence is enhanced by an order of magnitude and shifted to a shorter wavelength upon tubulin binding, enabling detection of compounds competing for the same binding site. Moreover, coumarin-30 can be used as a probe for tubulin in fluorescence anisotropy and microscale thermophoresis methods. Using a large panel of well-established tubulin ligands, we evaluate the accuracy, specificity, and sensitivity of all four assays. Fluorescence enhancement and spectral shift assays do not require sophisticated instrumentation and can be recommended for detecting strong binders of the colchicine site. The fluorescence anisotropy assay demonstrates higher sensitivity and specificity for colchicine-site binders. The microscale thermophoresis assay allows accurate detection of tubulin binders with diverse binding sites, enabling discrimination of colchicine-site binders from ligands of other sites.

Thus, we show that coumarin-30 provides a versatile toolkit of methods for rapid, cost-effective, and informative characterization of tubulin ligands, opening up new avenues for the development of cancer chemotherapeutics.

In vitro work in this study was supported by the Russian Science Foundation, grant № 25-74-20014.

Исследование генетических вариантов в малоизученных доменах белков на примере CORO1A

Investigation of genetic variants in poorly characterized protein domains: CORO1A as a model protein

Николаева Е.И.¹, Колчин Н.А.¹, Щербина А.Ю.¹, Бутов К.Р.^{1,2}

Nikolaeva E.I.¹, Kolchin N.A.¹, Shcherbina A.Yu.¹, Butov K.R.^{1,2}

1. ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия

2. ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, Москва, Россия

1. Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

2. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: IOYOPY

Функциональная интерпретация генетических вариантов часто затруднена вследствие недостатка данных о функции белка и роли отдельных доменов. Белок CORO1A участвует в регуляции актинового цитоскелета, однако структура и функция его N-концевого домена остаются недостаточно изученными. При этом ряд ассоциированных с заболеванием вариантов локализуется именно в данном регионе, что осложняет подтверждение их патогенности. Целью работы было изучение роли N-концевого домена CORO1A в обеспечении функции белка.

Филогенетический анализ выполняли с использованием NCBI BLAST. Структуру CORO1A предсказывали с помощью AlphaFold2, протонирование аминокислотных остатков анализировали алгоритмами H++, PropKa и PypKa. Клеточные модели Jurkat, HeLa и HEK293T, экспрессирующие варианты CORO1A, исследовали методами конфокальной и SIM-микроскопии, Вестерн-блоттинга и проточной цитометрии.

In silico моделирование предсказало наличие π -катионного взаимодействия между остатками R7 и H305 CORO1A, что согласуется с результатами анализа протонирования. Вариант R7C приводил к нарушению внутриклеточной локализации CORO1A. Однако восстановление предполагаемого взаимодействия в ортогональном варианте R7K не сопровождалось нормализацией локализации. Добавление конститутивно нефосфорилируемых вариантов CORO1A также не восстанавливало корректную локализацию белка. Время полужизни вариантов R7C и R7K не отличалось от WT. Анализ кальциевого сигнала при активации TCR не выявил различий между исследуемыми вариантами и контролем.

Полученные данные свидетельствуют о важной регуляторной роли N-концевого домена CORO1A в обеспечении корректной локализации белка. Нарушение локализации варианта R7C, вероятно, не связано с потерей π -катионного взаимодействия или изменением фосфорилирования CORO1A.

Functional interpretation of genetic variants is often complicated due to the lack of data on protein function and the role of individual domains. The CORO1A protein is involved in the regulation of the actin cytoskeleton; however, the structure and function of its N-terminal domain remain poorly understood. At the same time several disease-associated variants are located precisely in this region, complicating the confirmation of their pathogenicity. The aim of this work was to study the role of the CORO1A N-terminal domain in supporting protein function.

Phylogenetic analysis was performed using NCBI BLAST. The structure of CORO1A was predicted using AlphaFold2, and protonation of amino acid residues was analyzed using H++, PropKa, and PypKa algorithms. Cellular models Jurkat, HeLa, and HEK293T expressing CORO1A variants were studied using confocal and SIM microscopy, Western blotting, and flow cytometry.

In silico modeling predicted a cation- π interaction between residues R7 and H305 of CORO1A, consistent with the results of protonation analysis. The R7C variant led to disruption of CORO1A intracellular localization. However, restoration of the putative interaction in the orthogonal R7K variant did not normalize localization. Addition of constitutively non-phosphorylatable CORO1A variants also failed to restore correct protein localization. The half-life of the R7C and R7K variants did not differ from WT. Analysis of calcium signaling upon TCR activation revealed no differences between the studied variants and the control.

The obtained data indicate an important regulatory role of the CORO1A N-terminal domain in ensuring correct protein localization. The altered localization of the R7C variant is likely not associated with the loss of the π -cation interaction or with altered CORO1A phosphorylation.

От оптической визуализации к цифровому анализу синапсов: количественная 3D морфология дендритных шипиков

From optical imaging to digital synapse analysis: quantitative 3D morphology of dendritic spines

Пчицкая Е.И.^{1,3}, Смирнова Д.С.¹, Устинова А.Р.², Волкова Е.И.¹, Сачук А.С.^{1,2},
 Раковская А.В.^{1,3}, Золин И.М.¹, Чуканов В.С.^{1,2}, Гуренко С.И.¹, Пегова М.И.¹,
 Крылова Е.О.², Липс Е.К.², Безпрозванный И.Б.³
 Pchitskaya E.I.^{1,3}, Smirnova D.S.¹, Ustinova A.R.², Volkova E.I.¹, Sachuk A.S.^{1,2},
 Rakovskaya A.V.^{1,3}, Zolin I.M.¹, Chukanov V.S.^{1,2}, Gurenko S.I.¹, Pegova M.I.¹, Krylova E.O.²,
 Lips E.K.², Bezprozvanny I.B.³

1. Лаборатория анализа биомедицинских изображений и данных, Институт биомедицинских систем и биотехнологий, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

2. Высшая школа прикладной математики и вычислительной физики, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

3. Лаборатория молекулярной нейродегенерации, Институт биомедицинских систем и биотехнологий, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

1. Laboratory of Biomedical Imaging and Data Analysis, Institute of Biomedical Systems and Biotechnologies, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia

2. Higher School of Applied Mathematics and Computational Physics, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia

3. Laboratory of Molecular Neurodegeneration, Institute of Biomedical Systems and Biotechnologies, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: HLMJAX

В работе представлен интегрированный подход к изучению синапсов, объединяющий конфокальную трехмерную (3D) визуализацию, нейросетевую предобработку изображений (деконволюцию и денойзинг) [Zolin et al., 2024, Sachuk et al., 2025] и цифровой количественный анализ дендритных шипиков. Дендритные шипики представляют собой специализированные мембранные выросты на дендритах нейронов, формирующие постсинаптическую часть синаптического контакта между аксоном одного нейрона и дендритом другого. Дендритные шипики являются ключевыми элементами синаптической передачи, а их морфология и пространственная организация тесно связаны с функцией нейронных сетей и изменяются при нейродегенеративных заболеваниях, включая болезнь Альцгеймера.

Авторами разработано программное обеспечение для автоматизированного анализа морфологии шипиков на основе 3D реконструкций дендритов, полученных из конфокальных изображений нейронов [Pchitskaya et al., 2023; Ustinova et al., 2024]. Предложены новые способы описания сложной трёхмерной структуры шипика, адекватно отражающие морфологическую и геометрическую сложность исследуемого объекта. Это обеспечило возможность перехода от малоинформативной и часто субъективной классификации к кластеризации на морфологически схожие группы. 3D дескриптор, основанный на сферических гармониках, позволяет точно реконструировать трёхмерные структуры синапсов. В совокупности с алгоритмом генерации морфологически точной поверхности дендрита это открывает возможности для генерации синтетических данных для расширения ограниченных наборов датасетов и проведения численных экспериментов.

Предложен подход к анализу пространственной организации дендритов, учитывающий не только морфологию шипиков, но и их взаимное расположение, что позволяет выявлять изменения в структуре нейронов при нейродегенеративной патологии [Lips et al., 2025, Krylova et al., 2025]. Это позволяет количественно оценивать вклад пространственного расположения шипиков в функционирование нейронов и формирует основу для построения цифровых моделей нейронов.

Полученные результаты демонстрируют потенциал интеграции оптических методов и цифрового анализа для углублённого изучения структурной организации синапсов в норме и при нейродегенерации. Работа поддержана грантом в рамках государственного задания FSEG-2024-0025.

Для цитирования: Пчицкая Е.И. et al. СБФ 2026 Сборник тезисов конференция СБФ; 3 (5)2026 S1 сс. 53-54

This work presents an integrated approach to synapse research that combines confocal three-dimensional (3D) imaging, neural network–based image preprocessing (deconvolution and denoising) [Zolin et al., 2024; Sachuk et al., 2025], and digital quantitative analysis of dendritic spines. Dendritic spines are specialized membrane protrusions located on neuronal dendrites that form the postsynaptic part of the synaptic contact between the axon of one neuron and the dendrite of another. Dendritic spines are key elements of synaptic transmission, and their morphology and spatial organization are closely associated with the function of neuronal networks and are altered in neurodegenerative diseases, including Alzheimer's disease.

The authors developed software for automated analysis of spine morphology based on 3D reconstructions of dendrites obtained from confocal images of neurons [Pchitskaya et al., 2023; Ustinova et al., 2024]. New approaches were proposed for describing the complex three-dimensional structure of spines, adequately reflecting the morphological and geometric complexity of the studied object. This enabled a transition from low-informative and often subjective classification toward clustering into morphologically similar groups. A 3D descriptor based on spherical harmonics allows accurate reconstruction of three-dimensional synaptic structures. Combined with an algorithm for generating a morphologically accurate dendritic surface, this opens possibilities for generating synthetic data to augment limited datasets and perform numerical experiments. An approach to the analysis of dendritic spatial organization was proposed that takes into account not only spine morphology but also their relative spatial arrangement, making it possible to identify alterations in neuronal structure associated with neurodegenerative pathology [Lips et al., 2025; Krylova et al., 2025]. This approach enables quantitative assessment of the contribution of spine spatial organization to neuronal functioning and forms the basis for constructing digital neuron models.

The obtained results demonstrate the potential of integrating optical methods and digital analysis for advanced investigation of the structural organization of synapses under normal conditions and during neurodegeneration.

This work was supported by the state assignment grant FSEG-2024-0025.

Перераспределение синаптоподина в дендритных шипиках при болезни Альцгеймера у мышей линии 5XFAD

Redistribution of synaptopodin in dendritic spines in the 5XFAD mouse model of Alzheimer's disease

Твердохлебова В.Р.^{1,2}, Раковская А.В.^{1,2}, Пчицкая Е.И.^{1,2}

Tverdokhlebova V.R.^{1,2}, Rakovskaya A.V.^{1,2}, Pchitskaya E.I.^{1,2}

1. Лаборатория анализа биомедицинских изображений и данных, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

2. Лаборатория молекулярной нейродегенерации, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

1. Laboratory of Biomedical Image and Data Analysis, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia

2. Laboratory of Molecular Neurodegeneration, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Saint Petersburg, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: EOTHRZ

Кальций является ключевым вторичным мессенджером, участвующим в регуляции синаптической пластичности. Одним из механизмов передачи кальциевого сигнала является депо-управляемый вход кальция (ДУВК), который снижен при болезни Альцгеймера (БА) и связан с нарушением экспрессии STIM2. Синаптоподин - актин-связывающий белок, служащий маркером шипикового аппарата, отражающего функциональное состояние синапсов. При этом в физиологических условиях гиперэкспрессия STIM2 приводит к увеличению содержания синаптоподина в дендритных шипиках. Предполагается, что при БА нарушается распределение эндоплазматического ретикулума (ЭР) в дендритных шипиках, что приводит к дисбалансу кальциевого гомеостаза и синаптической дисфункции.

В культуре гиппокампальных нейронов, экспрессирующих GCaMP6f, при обработке β -амилоидом наблюдалось снижение числа дендритных шипиков, содержащих синаптоподин, а также уменьшение размеров его кластеров. Кроме того, ДУВК был существенно снижен в шипиках, лишённых синаптоподина.

Срезы мозга восьмимесячных мышей окрашивали на синаптоподин, а для повышения разрешения применяли метод экспансионной микроскопии. Анализ распределения синаптоподина по морфологическим типам шипиков показал, что у мышей дикого типа его кластеры преимущественно локализуются в грибовидных шипиках и в меньшей степени - в тонких. У мышей линии 5xFAD наблюдается смещение распределения: синаптоподин сохраняется в грибовидных шипиках, но также значительно увеличивается в пеньковых. Параллельно отмечено общее снижение доли зрелых грибовидных структур - признак, ассоциированный с развитием БА. Дополнительно с использованием экспансионной микроскопии выявлено смещение синаптоподина в область шейки дендритного шипика у мышей линии 5xFAD по сравнению с контрольной группой.

Полученные данные указывают на то, что перераспределение синаптоподина в сторону пеньковых шипиков отражает патологическую перестройку шипикового аппарата и ЭР, что может быть связано с нарушением кальциевой сигнализации и объяснять нарушения кальциевого гомеостаза при БА. Работа поддержана грантом РФФИ № 25-74-10019.

Calcium is a key second messenger involved in the regulation of synaptic plasticity. One of the mechanisms mediating calcium signaling is store-operated calcium entry (SOCE), which is reduced in Alzheimer's disease (AD) and is associated with impaired STIM2 expression. Synaptopodin is an actin-binding protein that serves as a marker of the spine apparatus, reflecting the functional state of synapses. Under physiological conditions, STIM2 overexpression leads to an increase in synaptopodin content in dendritic spines. It has been proposed that AD is accompanied by altered distribution of the endoplasmic reticulum (ER) within dendritic spines, resulting in calcium homeostasis imbalance and synaptic dysfunction.

In cultured hippocampal neurons expressing GCaMP6f, treatment with β -amyloid resulted in a decrease in the number of synaptopodin-positive dendritic spines, as well as a reduction in synaptopodin cluster size. In addition, SOCE was significantly reduced in spines lacking synaptopodin.

Brain sections from eight-month-old mice were immunostained for synaptopodin, and expansion microscopy was applied to increase spatial resolution. Analysis of synaptopodin distribution across morphological spine types showed that, in wild-type mice, synaptopodin clusters were predominantly localized in mushroom spines and, to a lesser extent, in thin spines. In 5xFAD mice, a redistribution pattern was observed: synaptopodin remained present in mushroom spines, while the proportion of synaptopodin-containing stubby spines was significantly increased. At the same time, an overall decrease in the proportion of mature mushroom spines was detected, a feature associated with AD progression. Furthermore, expansion microscopy revealed a shift of synaptopodin localization toward the neck region of dendritic spines in 5xFAD mice compared with the control group.

These findings indicate that the redistribution of synaptopodin toward stubby spines reflects pathological remodeling of the spine apparatus and ER, which may be associated with impaired calcium signaling and may explain calcium homeostasis disturbances in AD.

This work was supported by the Russian Science Foundation grant No. 25–74-10019.

In silico анализ генерации силы деполимеризующимися микротрубочками в экспериментах с оптической ловушкой In silico analysis of force production by depolymerizing microtubules in optical-trap experiments

**Тимошин Г.С.¹, Ульянов Е.В.², Виноградов Д.С.¹, Атауллаханов Ф.И.¹, Гудимчук Н.Б.^{1,2}
Timoshin G.S.¹, Ulyanov E.V.², Vinogradov D.S.¹, Ataullakhanov F.I.¹, Gudimchuk N.B.^{1,2}**

1. Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

2. Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия

1. Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

2. Lomonosov Moscow State University, Faculty of Physics, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: GBDGNX

Динамические микротрубочки преобразуют энергию гидролиза ГТФ во время деполимеризации в механическую работу, развивая силу, способную смещать различные внутриклеточные объекты, например хромосомы. Ранее в прецизионных экспериментах с оптической ловушкой было измерено смещение микросферы, прикрепленной к микротрубочке через гибкий белковый линкер, для оценки силы, развиваемой деполимеризующейся микротрубочкой на поверхности микросферы [1]. Однако, интерпретация подобных экспериментов сложна из-за влияния большого количества факторов – в первую очередь из-за свойств линкера.

С целью проанализировать имеющиеся экспериментальные данные [1-2], мы построили модель микротрубочки в броуновской динамике [3]. Используя компьютерные симуляции, как “вычислительный микроскоп”, мы изучили, как механические свойства экспериментальной схемы влияют на измеряемую амплитуду смещения микросферы в оптической ловушке, вызванного воздействием микротрубочки. Наш анализ выявил важную роль линкера в механике всей системы. Более того, выбор достаточно длинного линкера позволяет перейти в режим “линейных пружин”, в котором возможно оценивать изгибную жесткость протофиламентов и энергию тубулин-тубулиновых взаимодействий. В будущем эта *in silico* система могла бы облегчать интерпретацию измерений силы микротрубочек и способствовать изучению процессов преобразования ими энергии в различных биологических контекстах.

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 25-74-20038.

Список литературы

[1] E. L. Grishchuk, M. I. Molodtsov, F. I. Ataullakhanov, and J. R. McIntosh, “Force production by disassembling microtubules,” *Nature*, vol. 438, no. 7066, pp. 384–388, Nov. 2005, doi: 10.1038/nature04132.

[2] J. W. Driver, E. A. Geyer, M. E. Bailey, L. M. Rice, and C. L. Asbury, “Direct measurement of conformational strain energy in protofilaments curling outward from disassembling microtubule tips,” *eLife*, vol. 6, p. e28433, June 2017, doi: 10.7554/eLife.28433.

[3] N. B. Gudimchuk et al., “Mechanisms of microtubule dynamics and force generation examined with computational modeling and electron cryotomography,” *Nat. Commun.*, vol. 11, no. 1, p. 3765, July 2020, doi: 10.1038/s41467-020-17553-2.

Dynamic microtubules convert the energy of GTP hydrolysis during depolymerization into mechanical work, generating force capable of moving various intracellular objects, such as chromosomes. Previously, in precision optical-trap experiments, the displacement of a microsphere attached to a microtubule via a flexible protein linker was measured to estimate the force produced by a depolymerizing microtubule on the microsphere surface [1]. However, interpretation of such experiments is complicated due to numerous factors — primarily the properties of the linker.

To analyze the available experimental data [1-2], we developed a Brownian dynamics model of a microtubule [3]. Using computer simulations as a “computational microscope”, we investigated how the mechanical properties of the experimental setup affect the measured displacement amplitude of the microsphere in the optical trap induced by the microtubule action. Our analysis revealed the important role of the linker in the mechanics of the entire system. Moreover, choosing a sufficiently long linker enables a “linear springs” regime, in which it is possible to estimate the bending stiffness of protofilaments and the energy of tubulin–tubulin interactions. In the future, this *in silico* system could facilitate the interpretation of microtubule force measurements and contribute to the study of energy conversion processes in various biological contexts.

This work was supported by Russian Science Foundation grant No. 25-74-20038.

References

[1] E. L. Grishchuk, M. I. Molodtsov, F. I. Ataullakhanov, and J. R. McIntosh, “Force production by disassembling microtubules,” *Nature*, vol. 438, no. 7066, pp. 384–388, Nov. 2005, doi: 10.1038/nature04132.

[2] J. W. Driver, E. A. Geyer, M. E. Bailey, L. M. Rice, and C. L. Asbury, “Direct measurement of conformational strain energy in protofilaments curling outward from disassembling microtubule tips,” *eLife*, vol. 6, p. e28433, June 2017, doi: 10.7554/eLife.28433.

[3] N. B. Gudimchuk et al., “Mechanisms of microtubule dynamics and force generation examined with computational modeling and electron cryotomography,” *Nat. Commun.*, vol. 11, no. 1, p. 3765, July 2020, doi: 10.1038/s41467-020-17553-2.

Метаболическая иерархия реакций фибробластов на окислительный стресс - математическое моделирование

Metabolic hierarchy of fibroblast responses to oxidative stress — mathematical modeling

Тимченко Р.М.^{1,2}, Пантелеев М.А.^{1,3,4}

Timchenko R.M.^{1,2}, Panteleev M.A.^{1,3,4}

1. Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

2. Московский физико-технический институт, Москва, Россия

3. Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Физический факультет, Москва, Россия

4. ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия

1. Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

2. Moscow Institute of Physics and Technology (MIPT), Dolgoprudny, Russia

3. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

4. Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: JWWJNE

Окислительный стресс является одним из самых распространённых вариантов клеточного стресса. Активные формы кислорода могут использоваться клеткой в сигнальных путях или приводить к радикальным ответам - старению, апоптозу, некрозу. Мы используем подход математического моделирования на основе обыкновенных дифференциальных уравнений, чтобы понять в каком состоянии находятся различные системы защиты клетки от перекиси водорода при различных внешних постоянных концентрациях последней. Модель опирается на хорошо изученную кинетику антиоксидантных систем клетки, а также данные последних лет по градиенту перекиси в клетке. Модель включает три системы защиты клетки от перекиси - пероксиредоксиновую, глутатионовую, каталазную. Модель предсказывает метаболическую иерархичность ответа при возрастании уровня стресса - сначала выходит на кинетический максимум пероксиредоксиновая система, далее глутатионовая, каталазная же система вносит около нулевой вклад в фибробластах. Показаны механизмы стабилизации и изменения основных переменных модели. Так, показано, что стабилизация глутатиона достигается в основном через механизм ультра чувствительности глутатион-редуктазы. Показано, что пероксиредоксиновая система является сенсорной - концентрация восстановленной формы тиоредоксина линейно падает с ростом уровня стресса, что согласуется с литературными данными.

Oxidative stress is one of the most common types of cellular stress. Reactive oxygen species can be used by the cell in signaling pathways or lead to drastic responses — senescence, apoptosis, necrosis. We use a mathematical modeling approach based on ordinary differential equations to understand the state of various cellular defense systems against hydrogen peroxide under different constant external concentrations of the latter. The model relies on the well-studied kinetics of cellular antioxidant systems as well as recent data on the peroxide gradient within the cell. The model includes three cellular defense systems against peroxide: peroxiredoxin, glutathione, and catalase. The model predicts a metabolic hierarchy in the response to increasing stress levels — the peroxiredoxin system reaches its kinetic maximum first, followed by the glutathione system, while the catalase system contributes nearly zero in fibroblasts. Mechanisms of stabilization and changes of the main model variables are demonstrated. For instance, it is shown that glutathione stabilization is achieved mainly through the ultrasensitivity mechanism of glutathione reductase. It is also shown that the peroxiredoxin system acts as a sensor — the concentration of the reduced form of thioredoxin decreases linearly with increasing stress levels, which agrees with published data.

Алгоритм пространственной оценки расположения синаптоподина в трехмерных моделях дендритных шипиков нейронов при болезни Альцгеймера

Algorithm for spatial assessment of synaptopodin localization in three-dimensional models of neuronal dendritic spines in Alzheimer's disease

Устинова А.Р.¹, Твердохлебова В.Р.^{1,2}, Раковская А.В.^{1,2}, Пчицкая Е.И.^{1,2}

Ustinova A.R.¹, Tverdokhlebova V.R.^{1,2}, Rakovskaya A.V.^{1,2}, Pchitskaya E.I.^{1,2}

1. Лаборатория анализа биомедицинских изображений и данных, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

2. Лаборатория молекулярной нейродегенерации, Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

1. Laboratory of Biomedical Image and Data Analysis, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russia

2. Laboratory of Molecular Neurodegeneration, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: HYYIRK

Дендритные шипики нейронов играют роль в формировании и поддержании памяти, отличаются структурным разнообразием [1] и изменяются при заболеваниях. Одной из функциональных структур, участвующей в кальциевом гомеостазе, является шипиковый аппарат - вид эндоплазматического ретикулума (ЭР). Актин-связывающий белок синаптоподин является маркером шипикового аппарата. Болезнь Альцгеймера (БА) связана с уменьшением количества дендритных шипиков и их размеров в гиппокампе [2]. Выдвинуто предположение, что при БА возникает нарушение распространения ЭР в нейронах, приводящее к дисфункции шипикового аппарата.

С целью выявления закономерностей в перераспределении синаптоподина при БА предлагается алгоритм пространственной оценки расположения синаптоподина в трехмерных моделях дендритных шипиков.

Алгоритм представляет собой получение изображений, построение полигональных сеток, расчет метрических значений и сравнительный анализ. Для анализа кластеров белка срезы мышей линии 5xFAD-M были окрашены на синаптоподин и расширены методом экспансионной микроскопии для увеличения разрешения. В ПО SpineTool [3] проведена сегментация снимков дендритов, извлечены полигональные сетки шипиков и рассчитаны 11 скалярных метрик, шипики вручную поделены на шейку и головку. Отдельно для решения задачи оценки расположения синаптоподина были получены полигональные сетки по результатам сегментации алгоритмом водораздела. С использованием библиотеки TriMesh были рассчитаны следующие признаки: отношение объемов, несколько вариантов расстояний до 3 границ шипика - поверхность головы, граница разделения головы и шейки, поверхность крепления шипика к дендриту. Оценка наиболее значимых метрик расстояний произведена методом случайного леса.

Применение данного алгоритма позволяет не только оценить наличие белка в шипиках и его размеры, но и математически оценить местоположение и перемещение синаптоподина в частях дендритных шипиков. По результатам анализа метрик было установлено перемещение синаптоподина в область шейки шипиков у линии 5xFAD-M. Работа поддержана грантом РФ № 25-74-10019.

Список литературы

1. Ofer, N., Berger, D., Kasthuri N., et al. Ultrastructural analysis of dendritic spine necks reveals a continuum of spine morphologies // Dev Neurobiol. 2021. V. 1;81(5) P. 746-57. <https://doi.org/10.1002/dneu.22829>.
2. Boros, B., Greathouse, K., Gentry, E., et al. Dendritic spines provide cognitive resilience against Alzheimer's disease // Ann Neurol. 2017. V. 82 P. 602-14. <https://doi.org/10.1002/ana.25049>.
3. Ustinova, A., Volkova, E., Rakovskaya, A., et al. Generate and analyze three-dimensional dendritic spine morphology datasets with spinetool software // Current Protocols. 2024. V. 4. P. 12. <https://doi.org/10.1002/cpz1.70061>.

Для цитирования: Устинова А.Р. et al. СБФ 2026 Сборник тезисов конференция СБФ; 3 (5)2026 S1 cc. 61-62

Neuronal dendritic spines play a role in memory formation and maintenance, exhibit structural diversity [1], and are altered in disease. One functional structure involved in calcium homeostasis is the spine apparatus – a type of endoplasmic reticulum (ER). The actin-binding protein synaptopodin is a marker of the spine apparatus. Alzheimer's disease (AD) is associated with a reduction in the number and size of dendritic spines in the hippocampus [2]. It has been hypothesized that AD leads to impaired ER trafficking in neurons, resulting in spine apparatus dysfunction.

To identify patterns of synaptopodin redistribution in AD, we propose an algorithm for the spatial assessment of synaptopodin localization in three-dimensional models of dendritic spines.

The algorithm comprises image acquisition, polygon mesh generation, calculation of metric values, and comparative analysis. To analyze protein clusters, sections from 5xFAD-M mice were stained for synaptopodin and expanded using expansion microscopy to increase resolution. Using SpineTool software [3], dendritic images were segmented, spine polygon meshes were extracted, and 11 scalar metrics were calculated; spines were manually divided into neck and head. Separately, for synaptopodin localization assessment, polygon meshes were obtained from watershed segmentation. Using the TriMesh library, the following features were calculated: volume ratio, several distance variants to three spine boundaries – the head surface, the head–neck boundary, and the spine attachment surface to the dendrite. The most significant distance metrics were evaluated using the random forest method.

Application of this algorithm allows not only assessment of protein presence in spines and its size but also mathematical evaluation of synaptopodin location and displacement within dendritic spine compartments. Analysis of the metrics revealed synaptopodin translocation to the spine neck region in the 5xFAD-M line.

This work was supported by Russian Science Foundation grant No. 25-74-10019.

References

1. Ofer, N., Berger, D., Kasthuri N., et al. Ultrastructural analysis of dendritic spine necks reveals a continuum of spine morphologies // *Dev Neurobiol.* 2021. V. 1;81(5) P. 746–57. <https://doi.org/10.1002/dneu.22829>
2. Boros, B., Greathouse, K., Gentry, E., et al. Dendritic spines provide cognitive resilience against Alzheimer's disease // *Ann Neurol.* 2017. V. 82 P. 602–14. <https://doi.org/10.1002/ana.25049>
3. Ustinova, A., Volkova, E., Rakovskaya, A., et al. Generate and analyze three-dimensional dendritic spine morphology datasets with spinetool software // *Current Protocols.* 2024. V. 4. P. 12. <https://doi.org/10.1002/cpz1.70061>

Анализ структурной организации нейронных ансамблей гиппокампа на основе данных прижизненной кальциевой визуализации

Analysis of the structural organization of hippocampal neuronal ensembles based on in vivo calcium imaging data

Федоров Е.А.¹, Герасимов Е.И.^{1,2}, Пчицкая Е.И.^{1,2}

Fedorov E.A.¹, Gerasimov E.I.^{1,2}, Pchitskaya E.I.^{1,2}

1. Лаборатория анализа биомедицинских изображений и данных, Институт биомедицинских систем и технологий, Санкт-Петербургский политехнический университет, Санкт-Петербург, Россия

2. Лаборатория молекулярной нейродегенерации, Санкт-Петербургский Политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Россия

1. Laboratory of Biomedical Image and Data Analysis, Institute of Biomedical Systems and Technologies, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russia

2. Laboratory of Molecular Neurodegeneration, Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, St. Petersburg, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: BZTSJG

Нейрональные ансамбли представляют собой функциональные группы нейронов, характеризующиеся координированной активностью и участвующие в формировании популяционного кода мозга. Изучение таких ансамблей позволяет описывать не только активность отдельных клеток, но и устойчивые паттерны сетевой организации, лежащие в основе когнитивных и поведенческих функций. Особое значение имеет анализ стабильности нейрональных ансамблей во времени, поскольку он позволяет оценить сохранность функциональных групп и выявить механизмы перестройки контекстной репрезентации.

В данной работе исследовалась активность нейрональных ансамблей в области CA1 гиппокампа у мышей линии C57BL/6J. Для регистрации активности использовали вирусный вектор AAV5.CAM-KII. GCaMP6f.WPRE.SV40 и прижизненную кальциевую визуализацию с применением минискапа. Запись нейрональной активности проводилась в одном и том же контексте на 1, 2, 7, 14 и 21 дни эксперимента.

Обработка данных выполнялась с использованием метода CNMF-E, позволяющего выделять пространственные компоненты нейронов и соответствующие временные кальциевые сигналы. Регистрация одних и тех же клеток между сессиями проводилась с помощью алгоритма CellReg. На основе полученных данных были выделены стабильные и нестабильные нейрональные ансамбли, а также ансамбли, связанные и не связанные с локомоцией.

Для каждой группы рассчитывались плотность ансамбля, число нейронов, средняя длина связей, коэффициент корреляции Пирсона, локальная и глобальная эффективность сети. Показано, что большинство характеристик сохраняет относительную инвариантность между днями эксперимента. При этом стабильные ансамбли характеризуются более высокими и устойчивыми значениями сетевых метрик, что указывает на их большую функциональную целостность. Дополнительно применялись манифолдный анализ и скрытые марковские модели, позволившие охарактеризовать геометрию, латентные состояния и динамику популяционного кода гиппокампа.

Работа поддержана грантом в рамках государственного задания FSEG-2024-0025.

Neuronal ensembles are functional groups of neurons characterized by coordinated activity and involved in the formation of the brain's population code. The study of such ensembles enables not only the description of individual cell activity but also the identification of stable patterns of network organization underlying cognitive and behavioral functions. Of particular importance is the analysis of the temporal stability of neuronal ensembles, as it allows assessment of the preservation of functional groups and reveals mechanisms underlying the reorganization of contextual representation.

In this study, the activity of neuronal ensembles in the CA1 region of the hippocampus was investigated in C57BL/6J mice. For activity recording, the viral vector AAV5.CAMKII.GCaMP6f.WPRE.SV40 and in vivo calcium imaging using a miniscope were employed. Neuronal activity was recorded in the same context on days 1, 2, 7, 14, and 21 of the experiment.

Data processing was performed using the CNMF-E method, which enables extraction of neuronal spatial components and their corresponding temporal calcium signals. Registration of the same cells across sessions was carried out using the CellReg algorithm. Based on the obtained data, stable and unstable neuronal ensembles were identified, as well as ensembles associated and not associated with locomotion.

For each group, the following parameters were calculated: ensemble density, number of neurons, average link length, Pearson correlation coefficient, and local and global network efficiency. It was shown that most characteristics remain relatively invariant across experimental days. At the same time, stable ensembles exhibit higher and more consistent network metric values, indicating their greater functional integrity. Additionally, manifold analysis and hidden Markov models were applied, allowing characterization of the geometry, latent states, and population code dynamics of the hippocampus.

This work was supported by a grant under state assignment No. FSEG-2024-0025.

Ca²⁺-спайки в тромбоцитах: автоколебания или шум-индуцированные импульсы?

Ca²⁺ spikes in platelets: self-sustained oscillations or noise-induced pulses?

Шахиджанов С.С.^{1,2,*}, Молоткова Е.А.^{1,*}, Шепелюк Т.О.³, Атауллаханов Ф.И.^{1,3}, Грищук Е.Л.³

Shakhidzhanov S.S.^{1,2,*}; Molotkova E.A.^{1,*}; Shepeliuk T.O.³; Ataulakhanov F.I.^{1,3}; Grishchuk E.L.³

1. Центр теоретических проблем физико-химической фармакологии РАН, Москва, Россия

2. ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России, Москва, Россия

3. Кафедра физиологии, Медицинская школа Перельмана, Пенсильванский университет, Филадельфия, США
* равный вклад

1. Center for Theoretical Problems of Physicochemical Pharmacology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

2. Dmitry Rogachev National Medical Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology, Moscow, Russia

3. Department of Physiology, Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, USA

* equal contribution

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: WHSKIF

Ca²⁺-спайки являются ключевым элементом активации тромбоцитов, однако их нерегулярность затрудняет определение динамического механизма генерации по одним только временным рядам. Целью было определить, являются ли Ca²⁺-спайки тромбоцитов зашумленными автоколебаниями или шум-индуцированными импульсами в возбудимой системе.

Мы проанализировали данные по Ca²⁺-динамике в одиночных адгезированных тромбоцитах человека, полученные флуоресцентной микроскопией после активации тромбином или АДФ, [1,2]. Частоту, амплитуду и средний уровень Ca²⁺ сопоставляли со стохастической моделью Де Янга–Кейзера, адаптированной к малому объему тромбоцита, а также с расчетами и экспериментами для клеток увеличенного объема.

Средняя частота нерегулярных Ca²⁺ колебаний, но не амплитуда, коррелирует с уровнем активации тромбоцитов частотой. Чтобы выявить динамический механизм возникновения таких колебаний, мы сравнили экспериментальные характеристики с предсказаниями Модели Де Янга–Кейзера. В этой модели возможны автоколебания, а также возбудимый режим, который может привести к похожей Ca²⁺-динамике в силу стохастических флуктуаций из-за маленького объема клетки. Зависимость частоты и среднего уровня Ca²⁺ от силы активации указывают на автоколебательный механизм. Эти данные также указывают на то, что автоколебания возникают через жесткий режим. Мы обнаружили что Ca²⁺-сигналы в больших тромбоцитах становились более регулярными, что также согласуется с автоколебательным, а не возбудимого режима.

Ca²⁺-спайки тромбоцитов наиболее вероятно генерируются жестким автоколебательным механизмом, который содержит большую стохастическую компоненту из-за малого объема клетки. Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 25-24-01033.

Список литературы

1. Burst-like Secretion of Platelet Dense Granules Promotes Thrombus Shell Expansion / Taisia O. Shepeliuk, Anastasiia A. Masaltseva, Roman R. Kerimov, Fazly I. Ataulakhanov, Ekaterina Grishchuk / bioRxiv 2026.05.26.727941.

2. Hidden Complexity of Pediatric Platelet Disorders: Functional Diversity and Unexpected Hypercoagulable Phenotypes /Taisia O. Shepeliuk, Evgeniya Melnikova, Praharsha Konde, Ekhsan Holmuhamedov, Fazly I. Ataulakhanov, Michele P. Lambert, Ekaterina L. Grishchuk / bioRxiv 2026.05.27.728206.

Ca²⁺ spikes are a key element of platelet activation; however, their irregularity makes it difficult to determine the dynamic mechanism of their generation from time series alone. The aim of this study was to determine whether platelet Ca²⁺ spikes are noisy self-sustained oscillations or noise-induced pulses in an excitable system.

We analyzed data on Ca²⁺ dynamics in single adherent human platelets obtained by fluorescence microscopy after activation with thrombin or ADP [1,2]. Frequency, amplitude, and mean Ca²⁺ level were compared with a stochastic De Young-Keizer model adapted to the small platelet volume, as well as with simulations and experiments for cells with increased volume.

The mean frequency of irregular Ca²⁺ oscillations, but not their amplitude, correlated with the level of platelet activation. To identify the dynamic mechanism underlying these oscillations, we compared the experimental characteristics with predictions of the De Young-Keizer model. This model can exhibit self-sustained oscillations as well as an excitable regime, which may produce similar Ca²⁺ dynamics because of stochastic fluctuations caused by the small cell volume. The dependence of frequency and mean Ca²⁺ level on activation strength indicates a self-oscillatory mechanism. These data also suggest that the self-sustained oscillations arise through a hard-excitation regime. We found that Ca²⁺ signals in larger platelets became more regular, which is also consistent with a self-oscillatory, rather than excitable, regime.

Platelet Ca²⁺ spikes are most likely generated by a hard-excitation self-oscillatory mechanism that contains a large stochastic component due to the small cell volume. This work was supported by Russian Science Foundation grant No. 25-24-01033.

References

1. Burst-like Secretion of Platelet Dense Granules Promotes Thrombus Shell Expansion / Taisia O. Shepeliuk, Anastasiia A. Masaltseva, Roman R. Kerimov, Fazly I. Ataullakhanov, Ekaterina Grishchuk / bioRxiv 2026.05.26.727941.
2. Hidden Complexity of Pediatric Platelet Disorders: Functional Diversity and Unexpected Hypercoagulable Phenotypes / Taisia O. Shepeliuk, Evgeniya Melnikova, Praharsa Konde, Ekhson Holmuhamedov, Fazly I. Ataullakhanov, Michele P. Lambert, Ekaterina L. Grishchuk / bioRxiv 2026.05.27.728206.

Комплексное влияние бактерий и биохимических хемоаттрактантов на миграцию нейтрофилов

Combined effect of bacteria and biochemical chemoattractants on neutrophil migration

Щегольков Е.А.^{1,2}, Безруков Н.А.¹, Плескова С.Н.^{1,2}

Shchegolkov E.A.^{1,2}, Bezrukov N.A.¹, Pleskova S.N.^{1,2}

1. ННГУ им. Н.И. Лобачевского, Нижний Новгород, Россия

2. ФГБОУ ВО «Нижегородский государственный технический университет им. Р.Е. Алексеева», Нижний Новгород, Россия

1. Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod, Russia

2. Nizhny Novgorod State Technical University named after R.E. Alekseev, Nizhny Novgorod, Russia

Получено: 15.05.2026

Принято к публикации: 01.06.2026

Опубликовано: 18.06.2026

EDN: GUJEAQ

При инфицировании для удаления микроорганизмов первыми прибывают нейтрофилы. Возможность перенаправлять или усиливать миграцию нейтрофилов является важной для лечения большого спектра заболеваний. Поскольку на миграцию нейтрофилов влияют не одиночные агенты, а их синергия необходимо проводить исследования при комбинированном воздействии бактериальных агентов и сигнальных молекул хемоаттрактантов для определения синергетических или антагонистических эффектов в регуляции хемотаксиса по эндотелиальному монослою клеток.

Для исследования выделяли нейтрофилы из крови здоровых доноров. В качестве экспериментальной среды использовали раствор Хенкса с буфером HEPES. Бактериальными агентами являлись: *Escherichia coli* 321, *Proteus mirabilis* 649-2, *Staphylococcus aureus* 2879 M, *Enterococcus faecalis* 645-p2. В роли биохимических хемоаттрактантов выступали: фактор некроза опухоли - TNF α , лейкотриен B4 - LTB4 и липоксин A4 - LXA4.

В чашку Петри с эндотелиальным монослоем клеток линии EA.hy926 помещали два контейнера с диализной мембраной. В один контейнер вносили бактериальную суспензию, в другой - биохимический хемоаттрактант. Далее на монослой наносили суспензию нейтрофилов и вели наблюдение в стандартизированной области на равном расстоянии от контейнеров при помощи инвертированного микроскопа.

Результаты исследования показали, что бактерии вызывают направленную миграцию нейтрофилов, а биохимические факторы усиливают или ослабляют эту реакцию. Направленную миграцию нейтрофилов к *E. coli* 321 усиливает TNF α ; к *P. mirabilis* 649-2 - TNF α , LTB4, LXA4; к *E. faecalis* 645-p2 - TNF α и LTB4. В случае миграции нейтрофилов к *S. aureus* 2879M наблюдали ослабляющий эффект LXA4. При воздействии TNF α и LTB4 с *P. mirabilis* 649-2 происходило изменение направления миграции нейтрофилов (от хемоаттрактанта), по сравнению с одиночным воздействием *P. mirabilis* 649-2 (к хемоаттрактанту).

Работа выполнена при поддержке гранта РНФ 23-74-00004.

During infection, neutrophils are the first to arrive to eliminate microorganisms. The ability to redirect or enhance neutrophil migration is important for treating a wide range of diseases. Since neutrophil migration is influenced not by single agents but by their synergy, studies under combined exposure to bacterial agents and signaling chemoattractant molecules are necessary to determine synergistic or antagonistic effects on chemotaxis across an endothelial cell monolayer.

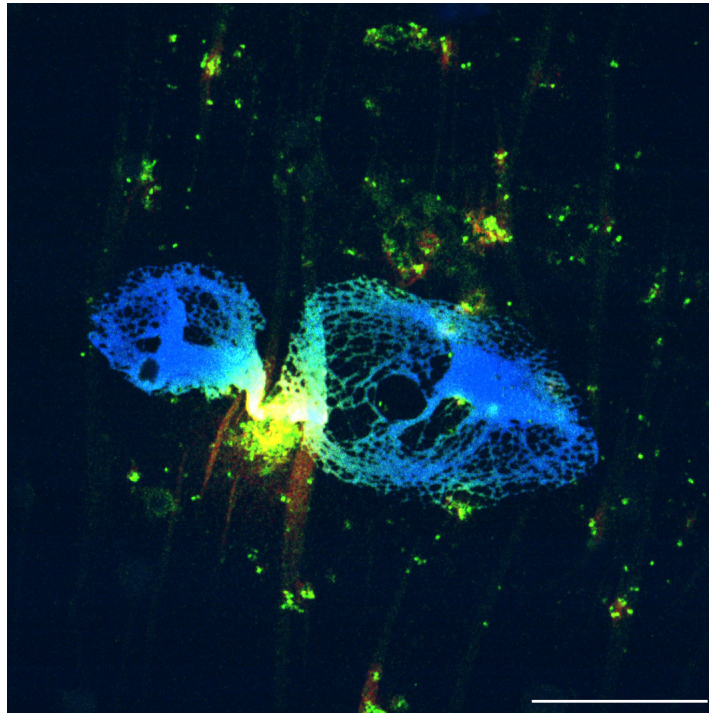
For the study, neutrophils were isolated from the blood of healthy donors. Hanks' solution with HEPES buffer was used as the experimental medium. Bacterial agents included: *Escherichia coli* 321, *Proteus mirabilis* 649-2, *Staphylococcus aureus* 2879 M, *Enterococcus faecalis* 645-p2. Biochemical chemoattractants included: tumor necrosis factor – TNF α , leukotriene B4 – LTB4, and lipoxin A4 – LXA4.

Two containers with a dialysis membrane were placed into a Petri dish containing an endothelial monolayer of the EA.hy926 cell line. A bacterial suspension was added into one container, and a biochemical chemoattractant into the other. Then, a neutrophil suspension was applied onto the monolayer, and observations were made in a standardized area at equal distance from the containers using an inverted microscope.

The results showed that bacteria induce directional neutrophil migration, and biochemical factors enhance or attenuate this response. Directional neutrophil migration toward *E. coli* 321 was enhanced by TNF α ; toward *P. mirabilis* 649-2 – by TNF α , LTB4, LXA4; toward *E. faecalis* 645-p2 – by TNF α and LTB4. In the case of neutrophil migration toward *S. aureus* 2879M, an attenuating effect of LXA4 was observed. Upon exposure to TNF α and LTB4 together with *P. mirabilis* 649-2, a change in the direction of neutrophil migration (away from the chemoattractant) was observed compared to exposure to *P. mirabilis* 649-2 alone (toward the chemoattractant).

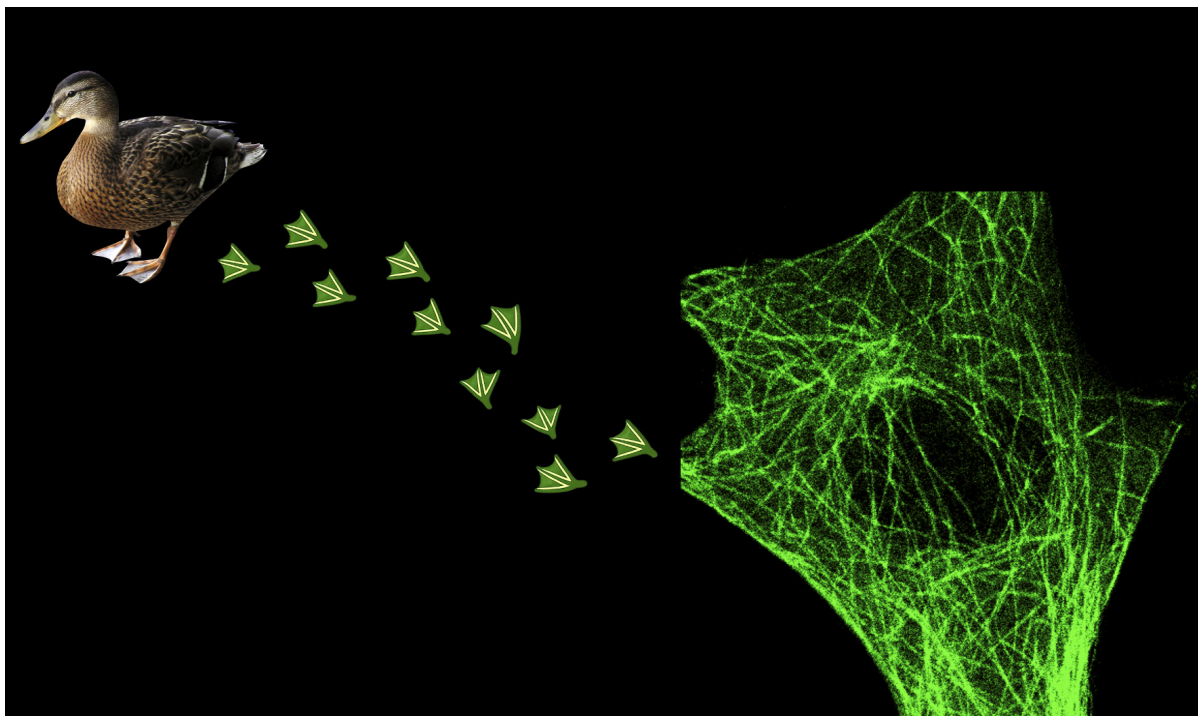
This work was supported by Russian Science Foundation grant No. 23-74-00004.

Конкурс микроскопных фотографий



“Крылья нетоза”. Автор: Адаманская Е.А. Лицензия: CC BY 4.0.

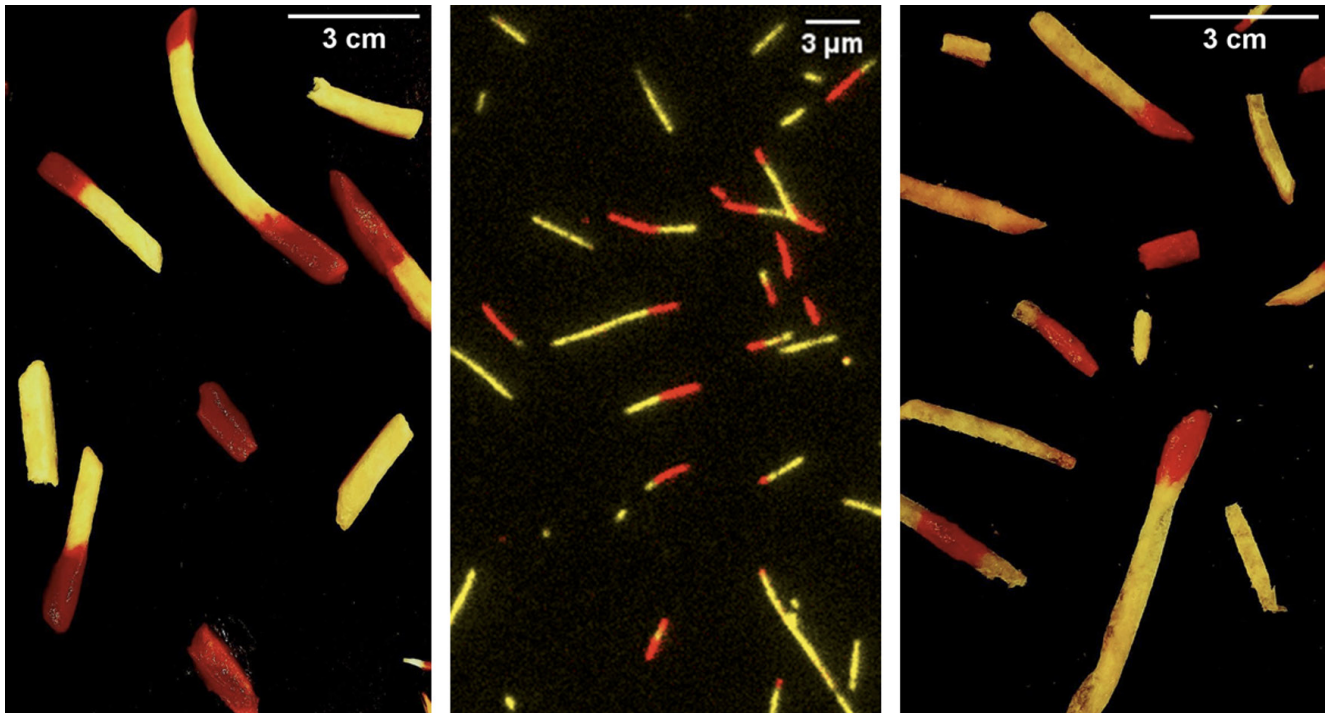
Фото снято на конфокальном микроскопе Nikon Ti2 AX (гальванический сканер). Синий — Hoechst 33342 (ДНК), зелёный — миелопероксидаза, красный — нейтрофильная эластаза. Масштабная линейка — 20 мкм. На фотографии изображена внеклеточная ловушка нейтрофила, обнаруженная у пациента с ХМПЗ. Эти сетеподобные структуры предназначены для улавливания и уничтожения разнообразных патогенов.



“Here was the Quack”. Автор: Василевская В.Д. Лицензия: CC BY 4.0.

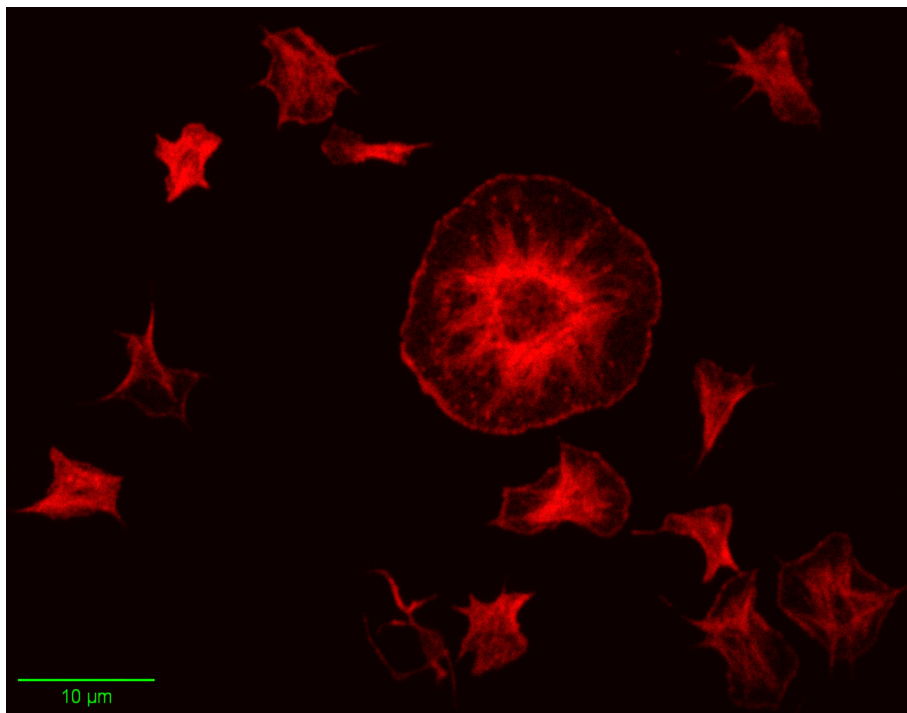
На изображении представлены следы неизвестной утки, неожиданно похожие на эмбриональный фибробласт мыши (NIH/3T3) с флуоресцентно меченным тубулином (генетический конструктор на основе mStayGold), снятый при увеличении x100, с помощью конфокального микроскопа Nikon Ti2 AX.

Конкурс микроскопных фотографий



“Любимое - в макро- и микро- мире”. Автор: Васильева О.В. Лицензия: CC BY 4.0.

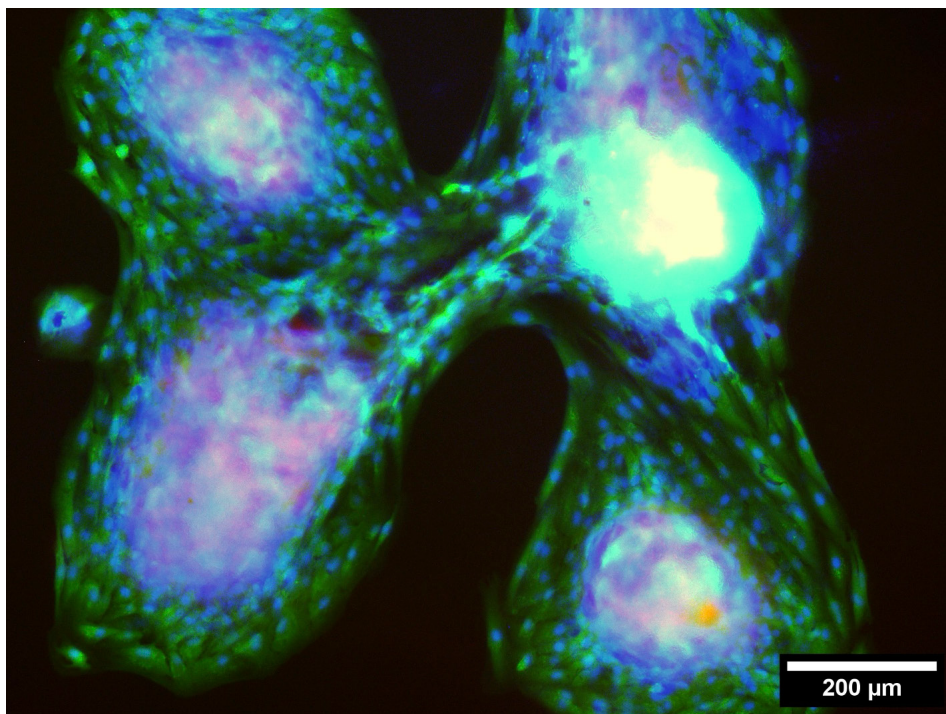
Слева и справа: картофель фри с кетчупом. Масштабный отрезок 3 см, камера Samsung Galaxy A50. В центре: микротрубочки меченные Alexa Fluor 647 и тетраметилродамином. Масштабный отрезок 3 мкм, TIRF микроскопия, микроскоп Nikon-Ti2-E.



“Supernova”. Автор: Галкина С.В. Лицензия: CC BY 4.0.

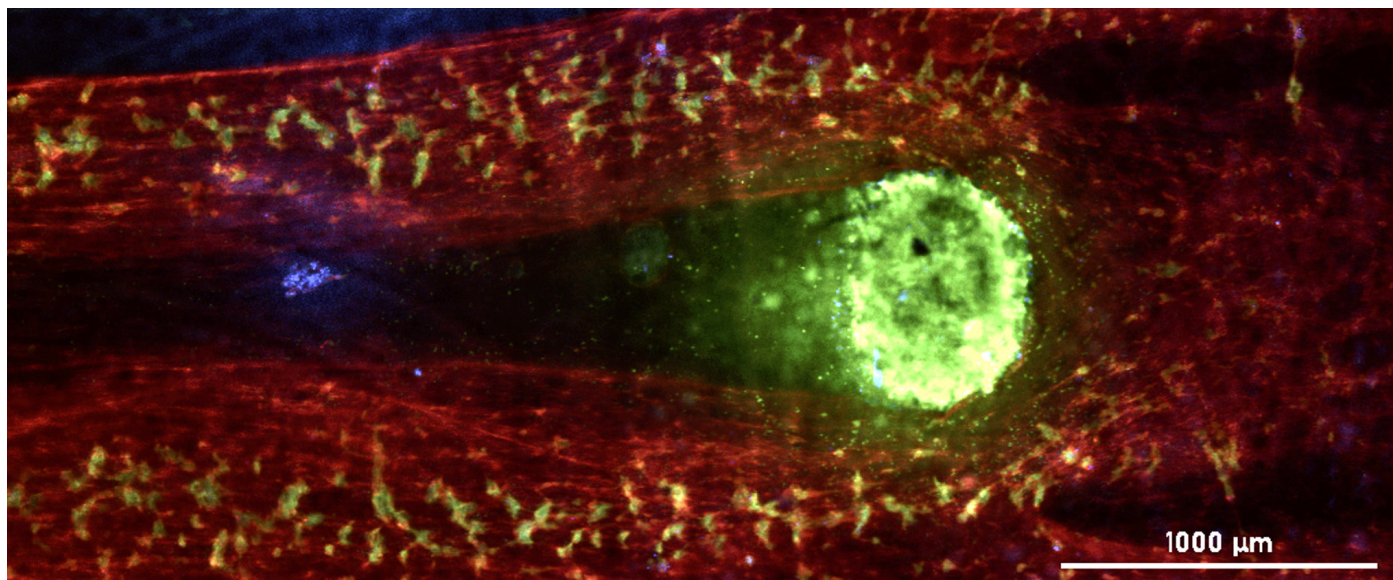
Тромбоциты пациентки с мутацией тирозинкиназы Брутона, зафиксированные на фибриногене и окрашенные фаллоидином для визуализации актинового цитоскелета. Один из тромбоцитов оказался огромным. Снимок получен с помощью конфокального микроскопа в режиме гальванометрического сканирования.

Конкурс микроскопных фотографий



“Magic clover”. Автор: Ерохина А.Г. Лицензия: CC BY 4.0.

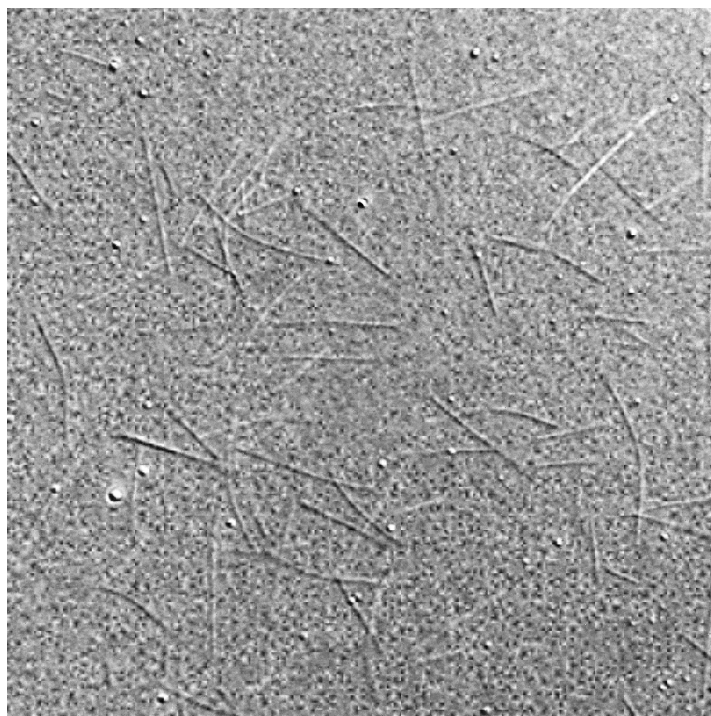
На фотографии изображены сфероиды, сформированные из клеток эпителиальной линии ARPE-19 и находящиеся на стадии распластывания. Изображение получено методом флуоресцентной микроскопии после окрашивания коммерческим набором Live/Dead в комбинации с ядерным красителем Hoechst 33342.



“Органоид детской глиомы в потоке частично рекальцифицированной цельной крови”. Авторы: Корнейчук А.Д. и Адаманская Е.А. Лицензия: CC BY 4.0.

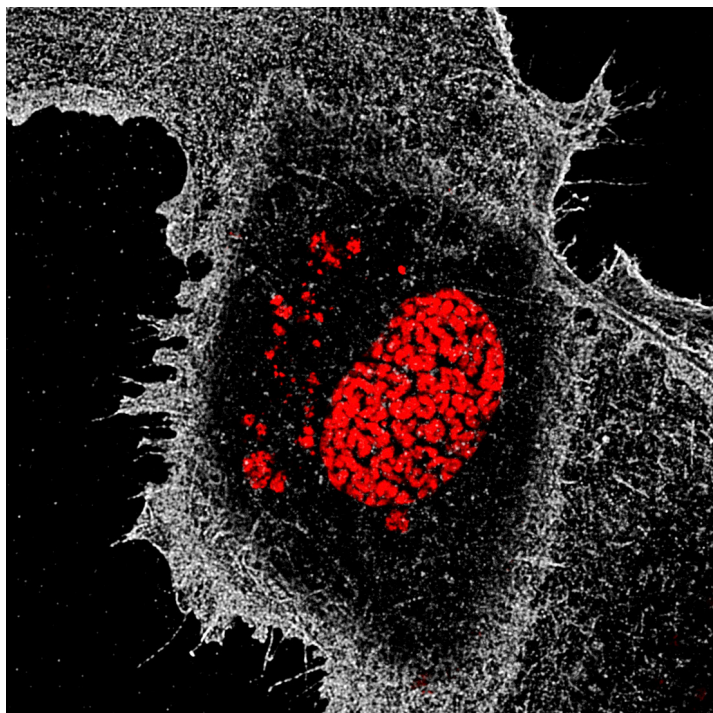
Объект фото: органоид, полученный из первичного образца детской глиомы, в потоке частично рекальцифицированной цельной цитратной крови. Увеличение: x4. Метки: Hoechst 33342, DiOC6(3), AF647-фибриноген.

Конкурс микроскопных фотографий



“Difficilia quae pulchra (прекрасное даётся нелегко)”. Автор: Лифшиц И.А. Лицензия: CC BY 4.0

Техническое описание: Работа является фотомозаикой изображения микротрубочек, полимеризованных *in vitro*, снятых методом DIC микроскопии, составленной из 10 000 ячеек. Каждая ячейка представляет собой уникальную DIC микрофотографию с масштабом 78.8*78.8 мкм. Художественное описание: В своём хите “Blowin’ in the Wind” Боб Дилан спрашивает слушателя: “Сколько раз человек должен взглянуть вверх, прежде чем увидит небо?” Работа на микроскопе, у меня иногда возникал похожий вопрос: “Сколько изображений с микроскопа должен человек обработать, прежде чем увидит тот самый?” Ответом в обоих случаях, как мне кажется, может быть высказывание на латыни - *Difficilia quae pulchra* или прекрасное даётся нелегко. Найти красоту можно во всём: от летнего неба до серого пиксельного изображения – главное, не сдаваться.



“Фибросаркома человека (линия HT-1080)”. Автор: Лаврушкина Светлана.

Аномальная профазы митоза при экспрессии мутантной формы ламина А. Красное: ДАПИ, серое - бета-актин. Модальность: микроскопия структурированного освещения (DeepSIM от CrestOptics). Проекция максимальных интенсивностей трех оптических срезов в базальной области клетки. Измеренное разрешение 140 нм (FWHM, при эмиссии 625 нм). *вне конкурса