

УДК 57.032

## НАКОПЛЕНИЕ $\beta$ -АМИЛОИДА ПРИВОДИТ К СНИЖЕНИЮ ЭКСПРЕССИИ LYNX1 И LYPD6B В ГИППОКАМПЕ И УВЕЛИЧЕНИЮ ЭКСПРЕССИИ ПРОВосПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ГИППОКАМПЕ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ

© 2023 г. М. Л. Бычков<sup>1</sup>, А. В. Кириченко<sup>1</sup>, А. С. Парамонов<sup>1</sup>,  
академик РАН М. П. Кирпичников<sup>1,2</sup>, Е. Н. Люкманова<sup>1,2,3,\*</sup>

Поступило 22.02.2023 г.  
После доработки 20.03.2023 г.  
Принято к публикации 22.03.2023 г.

Болезнь Альцгеймера является быстро прогрессирующим нейродегенеративным заболеванием, развитие которого связано с накоплением олигомеров  $\beta$ -амилоида, дисфункцией никотинового рецептора ацетилхолина  $\alpha 7$ -nAChR и активацией воспаления. Ранее нами было показано конкурентное взаимодействие нейромодулятора Lynx1, принадлежащего семейству Lуб/uPAR, с  $\beta$ -амилоидом(1-42) за связывание с  $\alpha 7$ -nAChR. В представленной работе мы изучили экспрессию и локализацию белков семейства Lуб/uPAR в гиппокампе трансгенных мышей 2хTg-AD, моделирующих БА и демонстрирующих повышенный амилоидоз в головном мозге. При помощи ПЦР в реальном времени мы показали падение экспрессии генов, кодирующих Lynx1, Lypd6b и постсинаптического маркера PSD95, а также увеличение экспрессии гена TNF $\alpha$  в гиппокампе мышей 2хTg-AD. Гистохимический анализ выявил, что в гиппокампе мышей 2хTg-AD Lynx1 не со-локализуется с  $\alpha 7$ -nAChR, что может приводить к развитию патологии при взаимодействии рецептора с олигомерным  $\beta$ -амилоидом. Также в мышцах 2хTg-AD показана активация системного воспаления, что проявляется в падении в сыворотке крови уровня SLURP-1, белка семейства Lуб/uPAR, способного регулировать воспалительные процессы, а также в повышении содержания про-воспалительных цитокинов TNF $\alpha$  и TNF $\beta$ . Таким образом, дисфункция  $\alpha 7$ -nAChR и поддержание воспалительного микроокружения в мозге при болезни Альцгеймера могут быть связаны с уменьшением экспрессии белков семейства Lуб/uPAR, регулирующих работу  $\alpha 7$ -nAChR и воспаление.

**Ключевые слова:** болезнь Альцгеймера, никотиновый рецептор ацетилхолина, Lуб/uPAR, Lynx1, SLURP-1, Lypd6b

**DOI:** 10.31857/S2686738922600881, **EDN:** IYLGDX

Болезнь Альцгеймера (БА) является быстро прогрессирующим нейродегенеративным заболеванием, значительно снижающим качество жизни пациентов, причем как причины возникновения этой болезни, так и механизмы ее прогрессии остаются слабо изученными [1]. Важными молекулярными механизмами, опосредующими патогенез БА, является формирование нераствори-

мых олигомеров, состоящих из бета-амилоида ( $A\beta$ ), образуемого при расщеплении белка-предшественника амилоида (APP), а также образование внутриклеточных фибрилл, состоящих из тау-белка, ингибирующих синаптическую передачу [2, 3].

Известно, что развитие БА сопровождается дисфункцией никотинового рецептора ацетилхолина типа альфа 7 ( $\alpha 7$ -nAChR), опосредующего синаптическую передачу, и играющего важную роль в формировании памяти и обучении [4].  $A\beta$  может взаимодействовать с  $\alpha 7$ -nAChR, модулируя работу рецептора: в норме растворимый  $A\beta$  активирует  $\alpha 7$ -nAChR, усиливая синаптическую трансмиссию, однако, олигомеры  $A\beta$  приводят к ингибированию работы рецептора и гибели нейронов [5, 6]. Падение экспрессии  $\alpha 7$ -nAChR приводит к дальнейшему усилению формирования амилоидных бляшек и значительно снижает когнитивные способности в мышечной модели БА [7].

<sup>1</sup>Институт биоорганической химии имени академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова Российской академии наук, Москва, Россия

<sup>2</sup>Междисциплинарная научно-образовательная школа “Молекулярные технологии живых систем и синтетическая биология”, Биологический факультет Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>3</sup>Шеньчжэньский МГУ-ППИ Университет, Шеньчжэнь, Китай

\*e-mail: ekaterina-lyukmanova@yandex.ru

**Таблица 1.** Праймеры, использованные для ПЦР в реальном времени

Ген	Прямой праймер	Обратный праймер	Длина ампликона, п.н.
$\beta$ -actin	GCA GCC ACT GTC GAG TC	ACG ATG GAG GGG AAT ACA GC	190
<i>Gpdh</i>	CCA TGT GGG TGT TTG AGG AAG	GCC CTG GCA GGT ATT TAA CAT TC	89
<i>Sdha</i>	AAC ACT GGA GGA AGC ACA CC	AGT AGG AGC GGA TAG CAG GA	135
<i>Lynx1</i>	CAA CAC CGC ACG AAG TGT G	GCC TGA GCT CTT GGT CTC TT	101
<i>Lynx2</i>	GAG GAT GTG GGT TCT CGG C	CAG GGG ACG AGC AAT CGT T	148
<i>Lypd6</i>	CTG TCA CCA AAC GCT GTG TC	TTG TAG CCT TCG TGC TCT GAG	97
<i>Lypd6b</i>	ACT TGC GAA AAT GCA GGG GAT	GCT GGT GAA GTG ATG AAC TGT CA	76
<i>PscA</i>	TGC TGC TTG CCC TGT TGA T	CCT GTG AGT CAT CCA CGC A	138
<i>Slurp1</i>	AGG TCT CGG AAG CAG CAG AA	GGA CCA TTA CCC GCT GCA A	52
<i>Slurp2</i>	GAG GGA CTC CAC CCA CTG TGT	GCA GCC TAT GTG GCA CAT CTT	94
$\alpha 7$ -nAChR	TGGTCCTATGGAGGGTGGTC	TAGAGTGTCTACGGCGCAT	185
<i>Dlg4</i>	CTA CCA AGA TGA AGA CAC GCC	TCT GTT CCA TTC ACC TGC AAC	145
<i>Tnfa</i>	AGG CAC TCC CCC AAA AGA TG	GCT CCT CCA CTT GGT GGT TT	219

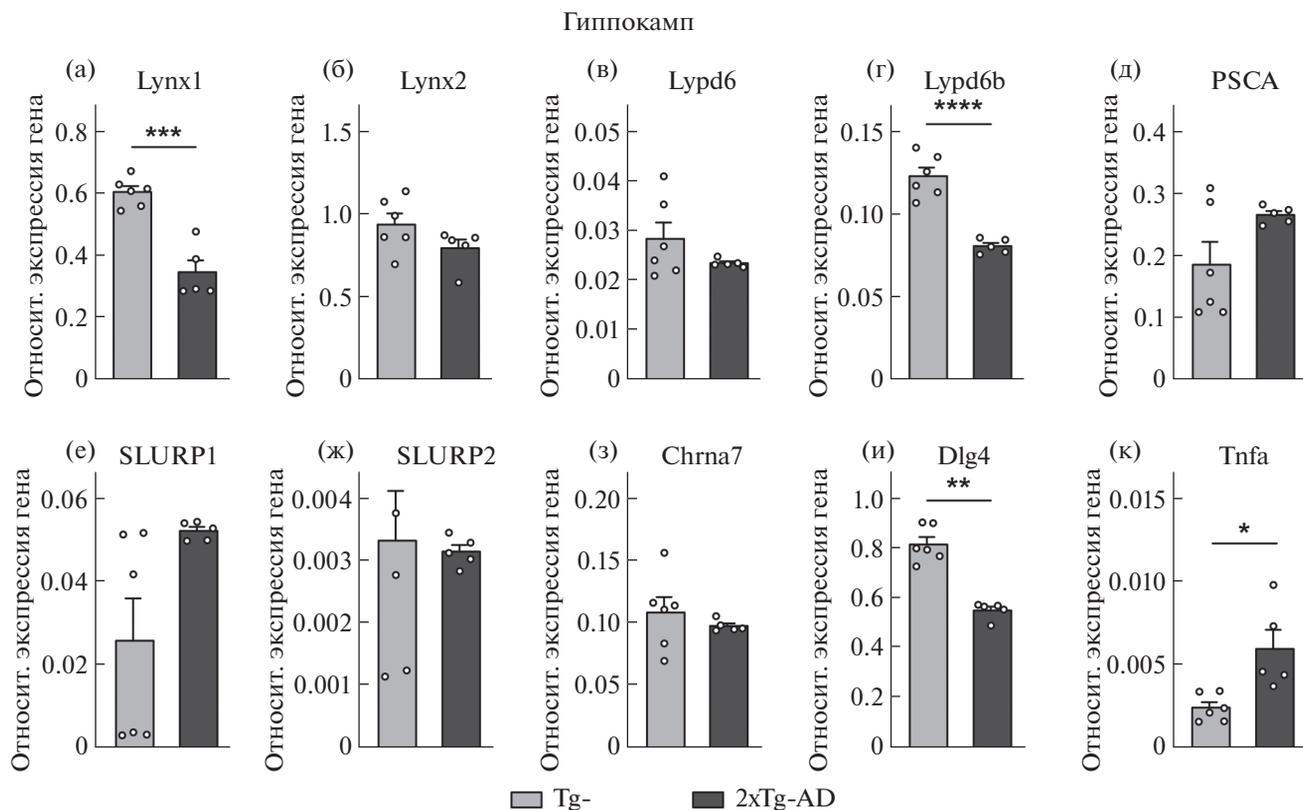
Еще одной важной чертой патогенеза БА является индукция воспаления в головном мозге, что сопровождается секрецией клетками микроглии про-воспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли альфа (TNF $\alpha$ ), который стимулирует процессинг APP [8]. При этом активация  $\alpha 7$ -nAChR ингибирует воспаление [9] и уменьшает секрецию TNF $\alpha$  клетками микроглии [10], поэтому дисфункция  $\alpha 7$ -nAChR приводит и к ослаблению контроля воспалительных процессов в мозге. В норме работа  $\alpha 7$ -nAChR регулируется эндогенными белками семейства Луб/уPAR, такими как нейромодулятор Lynx1 [11, 12], секретуемый белок эпителия SLURP-1 [13], специфический антиген клеток простаты PSCA [14] и др. Показано, что экспрессия Lynx1 снижена, а PSCA, наоборот, повышена в коре мозга пациентов, страдающих от БА по сравнению со здоровыми донорами [6, 14]. Кроме того, показано, что Lynx1 конкурирует с  $\text{A}\beta 1$ -42 за связывание с  $\alpha 7$ -nAChR [6] и предотвращает нарушение долговременной потенциации и экспрессии этого нейромодулятора, вызванные  $\text{A}\beta 1$ -42 [15]. Однако вовлечение Луб/уPAR белков в патогенез развития БА ранее не изучалось.

Целью данной работы является изучение роли белков семейства Луб/уPAR, таких как Lynx1, Lypd6b, SLURP-1 и др. в патогенезе БА. Для достижения данной цели мы исследовали экспрессию генов, кодирующих различные белки семейства Луб/уPAR, а также постсинаптический маркер PSD95 и провоспалительный фактор TNF $\alpha$  в гиппокампе мышей 2xTg-AD, моделирующих БА (линия B6C3-Tg (APP695) 85 Dbo/Tg (PSEN1) 85 Dbo с экспрессией химерного белка-предшественника амилоида мышья/человек с мутацией треонина на изолейцин в положении 714

(APP695) и мутантного пресенилина-1 человека). Показано, что экспрессия Lynx1 и Lypd6b в гиппокампе снижена, а TNF $\alpha$  повышена по сравнению со здоровыми животными линии B6C3. Кроме того, наблюдалось снижение со-локализации Lynx1 и  $\alpha 7$ -nAChR в гиппокампе, а также снижение и повышение содержания Луб/уPAR белка SLURP-1 и про-воспалительных цитокинов TNF $\alpha$  и TNF $\beta$ , соответственно, в сыворотке крови 2xTg-AD мышей.

Для исследования использовали взрослые мыши (8–9 мес) линии B6C3 дикого типа (Tg-), а также трансгенные мыши линии B6C3-Tg(APP695)85Dbo/Tg(PSEN1)85Dbo (2xTg-AD). Данные мутации моделируют именно раннюю стадию БА [16]. Животных содержали в стандартных условиях питомника лабораторных животных ФИБХ РАН (Уникальная научная установка “Био-модель” ИБХ РАН; Биоресурсная коллекция “Коллекция лабораторных грызунов SPF статуса для фундаментальных, биомедицинских и фармакологических исследований”, соглашение № 075-15-2021-1067), имеющего международную аккредитацию AAALACi. Животные содержались группами по 3–4 особи при 12-часовом цикле “день/ночь” и получали стандартный корм для грызунов и питьевую воду без ограничений. Все эксперименты проводились в соответствии с рекомендациями, изложенными в Директиве Совета Европейского сообщества от 24 ноября 1986 г. (86/609/ЕЕС), и одобрены этическим комитетом ИБХ РАН (протокол № 248/2018 от 10 февраля 2018 г, продолжение протокола № 318/2021 от 17 февраля 2020 г.).

Для определения уровня экспрессии генов *Lynx1*, *Lynx2*, *Lypd6*, *Lypd6b*, *PscA*, *Slurp1*, *Slurp2*,



**Рис. 1.** Анализ экспрессии мРНК, кодирующих трехпетельные белки Lynx1 (а), Lynx2 (б), Lypd6 (в), Lypd6b (г), PSCA (д), SLURP-1 (е), SLURP-2 (ж),  $\alpha 7$ -nAChR (з), постсинаптического маркера PSD95 (и) и TNF $\alpha$  (к) в гиппокампе здоровых и 2xTg-AD мышей с помощью ПЦР в реальном времени. Данные приведены как нормализованный уровень экспрессии гена  $\pm$  среднеквадратичная ошибка ( $n = 5-6$ ). \* ( $p < 0.05$ ), \*\* ( $p < 0.01$ ), \*\*\* ( $p < 0.001$ ) и \*\*\*\* ( $p < 0.0001$ ) означают отличие между группами данных согласно двустороннему  $t$ -тесту.

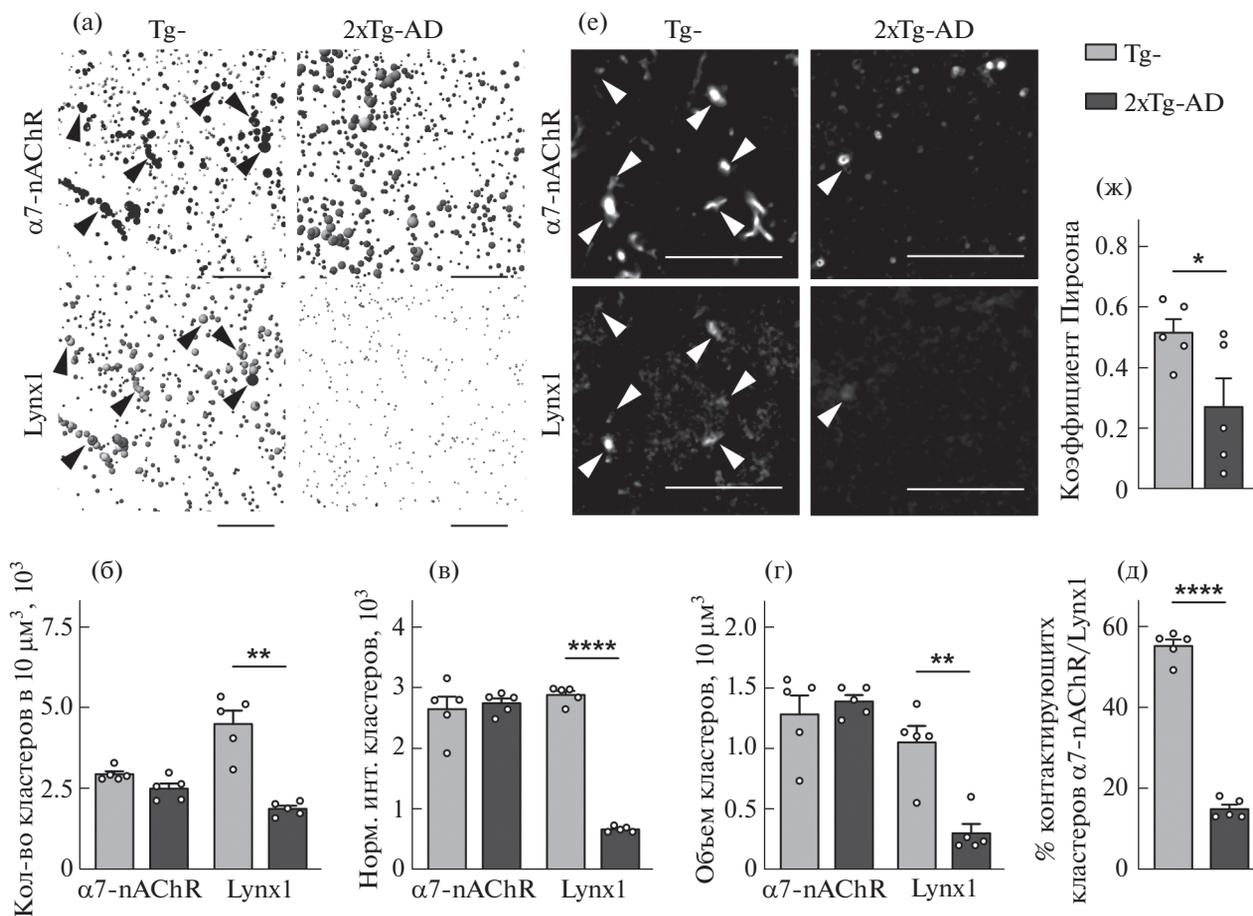
$\alpha 7$ -nAChR, Dlg4 и Tnfa использовали ПЦР в реальном времени, как описано ранее [12], праймеры указаны в табл. 1. Уровень экспрессии мРНК нормализовали по генам домашнего хозяйства  $\beta$ -актина, Gpdh и Sdha с использованием программного обеспечения LightCycler SW (Roche).

Для иммуногистохимии зафиксированный в формалине мозг здоровых и 2xTg-AD мышей инкубировали в растворе сахарозы, нарезали криотомом (M-32, Харьковпром) на срезы толщиной 25 мкм, проводили тепловую ренатурацию эпитопов в буфере Declere (Esbe Scientific) и инкубировали в течение 72 ч с первичными мышинными анти- $\alpha 7$ -nAChR (Thermo Fisher, MA5-31691, 1 : 150) и кроличьими анти-Lynx1 (Abcam, AB125035, 1 : 200) антителами. После трехкратной промывки срезы инкубировали с ослиными анти-мышинными антителами, конъюгированными с Alexa488 (Jackson ImmunoResearch, 715-545-150, 1 : 500), и куриными антикроличьими антителами, конъюгированными с Alexa647 (Life Technologies, A21443, 1 : 500). Затем срезы заключали в среду Prolong Gold (Life Technologies) и снимали с использованием масляно-им-

мерсионного объектива  $63 \times (1.4)$  на микроскопе Carl Zeiss LSM710 в режиме z-стэкинга.

Для количественной оценки экспрессии и локализации  $\alpha 7$ -nAChR и Lynx1 в гиппокампе, которые выглядели как “точки” в срезе, использовали программу Imaris 8.0 (Oxford Instruments). Минимальный диаметр точки составлял 0.3 мкм (что соответствует объему точки  $\sim 0.01$  мкм<sup>3</sup>), определяли количество точек и интенсивность окрашивания. Интенсивность окрашивания кластеров была нормализована на флуоресценцию фона в каждой картинке. Для анализа со-локализации при помощи регрессионного анализа с использованием коэффициента Пирсона использовали программу ImageJ (NIH). Каждое изображение из z-стэка обрабатывали фильтрами (unsharp mask ( $\sigma = 25$ ), median (радиус 2 пикселя), threshold (percentile, 90%), со-локализацию кластеров  $\alpha 7$ -nAChR и Lynx1 анализировали с использованием плагина Coloc-2. Для каждой из мышей анализировали 4 поля зрения из 2 срезов гиппокампа, после чего данные усредняли.

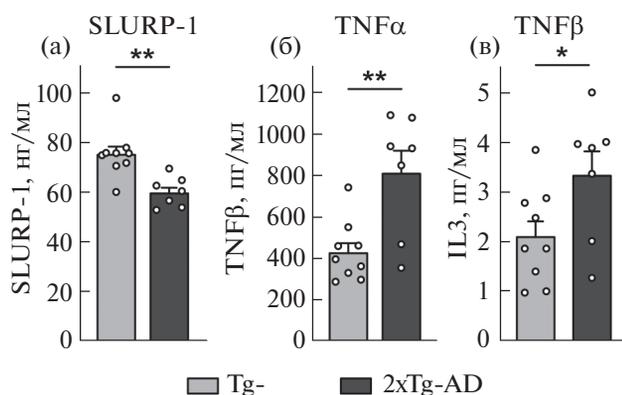
Уровень SLURP-1, TNF $\alpha$  и TNF $\beta$  в сыворотке мышей определяли при помощи сэндвич имму-



**Рис. 2.** Анализ локализации Lynx1 и  $\alpha 7$ -nAChR в гиппокампе здоровых и 2xTg-AD мышей. а – Репрезентативное изображение реконструкции кластеров  $\alpha 7$ -nAChR и Lynx1 из 3D изображения среза гиппокампа с помощью Imaris, шкала 10 мкм. Размер кластера пропорционален его объему, а оттенок серого – интенсивности окрашивания. Стрелками показаны места со-локализации кластеров  $\alpha 7$ -nAChR. б, в, г – Анализ количества, интенсивности и объема кластеров  $\alpha 7$ -nAChR и Lynx1 в гиппокампе здоровых и 2xTg-AD мышей, реконструированных при помощи Imaris соответственно. д – Анализ со-локализации кластеров  $\alpha 7$ -nAChR и Lynx1 в гиппокампе здоровых и 2xTg-AD мышей, реконструированных при помощи Imaris. е – Ортогональная проекция кластеров  $\alpha 7$ -nAChR и Lynx1 в гиппокампе мышей, шкала 10 мкм. Стрелками показаны места со-локализации кластеров  $\alpha 7$ -nAChR и Lynx1. ж – Анализ со-локализации кластеров  $\alpha 7$ -nAChR и Lynx1 при помощи регрессионного анализа с использованием коэффициента корреляции Пирсона. Данные приведены как среднее  $\pm$  среднеквадратичная ошибка (n = 5–6), \* ( $p < 0.05$ ), \*\* ( $p < 0.01$ ), \*\*\* ( $p < 0.001$ ) и \*\*\*\* ( $p < 0.0001$ ) означают отличие между группами данных согласно двустороннему t-тесту.

ноферментного анализа с использованием коммерческих наборов MBS1606981 (Mybiosource) для SLURP-1, ab 241791 для TNF $\alpha$  и ab244052 для TNF $\beta$  (Abcam). Для детекции TNF $\alpha$  и TNF $\beta$  захватывающее антитело иммобилизовали на планшет MaxiSorb (Thermo Fisher), после чего планшеты с антителами инкубировали с разведенными в соотношении 1 : 10 сыворотками крови мышей в течение 2 ч, затем планшеты трижды промывали коммерческим буфером (Mybiosource), инкубировали с детектирующим антителом, конъюгированным с пероксидазой хрена, и сигнал определяли с помощью тетраметилбензидина (Mybiosource) на микропланшетном спектрофотометре Multiskan (Thermo Fisher).

ПЦР в реальном времени показал, что в гиппокампе 2xTg-AD мышей, экспрессия генов *Lynx1*, *Lypd6b* и маркера постсинаптической плотности PSD95 (*Dlg4*) снижена в 1.8, 1.2 и 1.6 раза по сравнению со здоровыми мышами, экспрессия генов *Lynx2*, *Lypd6*, *Pscsca*, *Slurp1*, *Slurp2* и  *$\alpha 7$ -nAChR* не меняется, а экспрессия гена, кодирующего TNF $\alpha$ , значительно повышена (рис. 1). Так как TNF $\alpha$  является про-воспалительным цитокином, можно предположить, что уже на ранних стадиях БА в гиппокампе активируется воспаление. Снижение экспрессии Lynx1 на уровне белка было подтверждено при помощи гистохимии (рис. 2а). При этом не наблюдалось снижения экспрессии  $\alpha 7$ -nAChR ни на генном, ни на белковом уровне (рис. 1и, 2б, 2г).



**Рис. 3.** Анализ содержания SLURP-1 (а), TNF $\alpha$  (б) и TNF $\beta$  (в) в сыворотке здоровых и 2xTg-AD мышей. Данные приведены как концентрации сывороточного белка  $\pm$  среднеквадратичная ошибка ( $n = 7-9$ ). \* ( $p < 0.05$ ) и \*\* ( $p < 0.01$ ) означают отличие между группами данных согласно двустороннему  $t$ -тесту.

В здоровых мышцах оба белка экспрессировались в виде кластеров объемом около  $1.5 \text{ мкм}^3$ , причем значительное количество кластеров Lynx1 и  $\alpha 7$ -nAChR было со-локализовано (рис. 2г–2ж), однако в 2xTg-AD мышцах более чем на 50% снижалось количество кластеров Lynx1 (рис. 2г), в 4.4 раза падала интенсивность окрашивания (рис. 2в), а также значительно (с  $1.5$  до  $0.1 \text{ мкм}^3$ ) уменьшался объем кластеров Lynx1 (рис. 2е), что не было характерно для  $\alpha 7$ -nAChR (рис. 2г–2е). Также у 2xTg-AD мышей сильно сокращалось количество со-локализованных кластеров Lynx1 и  $\alpha 7$ -nAChR (рис. 2д, 2ж). Ранее мы показали, что в мозге здоровых мышей Lynx1 физически связан с  $\alpha 7$ -nAChR, регулирует активацию рецептора [12] и конкурирует с A $\beta$ 1-42 за взаимодействие с ним [6]. Таким образом, уменьшение экспрессии Lynx1 и его со-локализации с  $\alpha 7$ -nAChR создает предпосылки для нарушения регуляции работы этого рецептора в результате неконтролируемого взаимодействия с A $\beta$ 1-42. Снижение Lynx1 на уровне белка было показано для коры мозга пациентов и мышей с БА [6], однако снижение экспрессии *Lynx1* и *Lypd6b*, а также нарушение со-локализации Lynx1 и  $\alpha 7$ -nAChR в гиппокампе показано впервые.

Активация  $\alpha 7$ -nAChR тормозит воспалительные процессы [9], а взаимодействие с олигомерным A $\beta$  ингибирует работу рецептора [5, 6]. Результаты ИФА показали, что содержание паракринного регулятора клеточного гомеостаза SLURP-1, обладающего анти-воспалительными свойствами [17], в сыворотке крови 2xTg-AD мышей снижается на 20% по сравнению со здоровыми мышцами, а уровни про-воспалительных цитокинов TNF $\alpha$  и TNF $\beta$  [18, 19] повышаются в 1.6 и 1.9 раза, соответственно, по сравнению со здоровыми мышцами

(рис. 3). Снижение уровня SLURP-1 при одновременном увеличении уровней TNF $\alpha$  и TNF $\beta$  свидетельствует об активации воспалительных процессов у 2xTg-AD мышей. В пользу этого указывает и увеличение экспрессии гена, кодирующего TNF $\alpha$  (рис. 1к). Интересно, что ингибирование TNF $\alpha$  рассматривается как перспективная стратегия для терапии БА [20], в то время как возможное совместное таргетирование TNF $\beta$  и компенсация уровня SLURP-1 ранее не обсуждались.

Таким образом, дисфункция  $\alpha 7$ -nAChR, приводящая к нейродегенерации и поддержанию воспалительного микроокружения в мозге при БА, может быть связана с уменьшением экспрессии эндогенных белков-регуляторов семейства Lуб/uPAR, таких как *Lynx1*, *Lypd6b* и SLURP-1. Терапия, направленная на компенсацию нарушений работы  $\alpha 7$ -nAChR аналогами белков Lуб/uPAR, может представлять собой перспективную стратегию лечения когнитивных расстройств, наблюдаемых при БА.

#### ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Федеральной научно-технической программы развития генетических технологий на 2019–2027 годы (Соглашение № 075-15-2021-1067) и Российского научного фонда (проект № 19-74-20176, исследование экспрессии *Lynx1* и *Lynx2*).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ballard C. et al. Alzheimer's disease // *Lancet*. 2011. V. 377. № 9770. P. 1019–1031.
2. Hampel H. et al. The Amyloid- $\beta$  Pathway in Alzheimer's Disease // *Mol Psychiatry*. 2021. V. 26. № 10. P. 5481–5503.
3. Muralidar S. et al. Role of tau protein in Alzheimer's disease: The prime pathological player // *Int J Biol Macromol*. 2020. V. 163. P. 1599–1617.
4. Buckingham S.D. et al. Nicotinic acetylcholine receptor signalling: roles in Alzheimer's disease and amyloid neuroprotection // *Pharmacol. Rev*. 2009. V. 61. № 1. P. 39–61.
5. Lasala M. et al. Molecular Modulation of Human  $\alpha 7$  Nicotinic Receptor by Amyloid- $\beta$  Peptides // *Front Cell Neurosci*. 2019. V. 13. P. 37.
6. Thomsen M.S. et al. Lynx1 and A $\beta$ 1–42 bind competitively to multiple nicotinic acetylcholine receptor subtypes // *Neurobiology of Aging*. 2016. V. 46. P. 13–21.
7. Hernandez C.M. et al. Loss of alpha7 nicotinic receptors enhances beta-amyloid oligomer accumulation, exacerbating early-stage cognitive decline and septohippocampal pathology in a mouse model of Alzheimer's disease // *J Neurosci*. 2010. V. 30. № 7. P. 2442–2453.
8. Decourt B., Lahiri D.K., Sabbagh M.N. Targeting Tumor Necrosis Factor Alpha for Alzheimer's Disease // *Curr Alzheimer Res*. 2017. V. 14. № 4. P. 412–425.

9. *de Jonge W.J., Ulloa L.* The  $\alpha 7$  nicotinic acetylcholine receptor as a pharmacological target for inflammation // *Br J Pharmacol.* 2007. V. 151. № 7. P. 915–929.
10. *King J.R., Gillevet T.C., Kabbani N.* A G protein-coupled  $\alpha 7$  nicotinic receptor regulates signaling and TNF- $\alpha$  release in microglia // *FEBS Open Bio.* 2017. V. 7. № 9. P. 1350–1361.
11. *Miwa J.M. et al.* lynx1, an Endogenous Toxin-like Modulator of Nicotinic Acetylcholine Receptors in the Mammalian CNS // *Neuron.* 1999. V. 23. № 1. P. 105–114.
12. *Shenkarev Z.O. et al.* Water-soluble variant of human Lynx1 positively modulates synaptic plasticity and ameliorates cognitive impairment associated with  $\alpha 7$ -nAChR dysfunction // *J Neurochem.* 2020. V. 155. № 1. P. 45–61.
13. *Lyukmanova E. et al.* Human Secreted Ly-6/uPAR Related Protein-1 (SLURP-1) Is a Selective Allosteric Antagonist of  $\alpha 7$  Nicotinic Acetylcholine Receptor // *PLOS ONE* / ed. Ulrich H. 2016. V. 11. № 2. P. e0149733.
14. *Jensen M.M. et al.* Prostate stem cell antigen interacts with nicotinic acetylcholine receptors and is affected in Alzheimer's disease // *Neurobiology of Aging.* 2015. V. 36. № 4. P. 1629–1638.
15. *Bychkov M.L. et al.* Lynx1 Prevents Long-Term Potentiation Blockade and Reduction of Neuromodulator Expression Caused by A $\beta$ 1-42 and JNK Activation // *Acta Naturae.* 2018. V. 10. № 3. P. 57–61.
16. *Elder G.A. et al.* Presenilin transgenic mice as models of Alzheimer's disease // *Brain Struct Funct.* 2010. V. 214. № 0. P. 127–143.
17. *Chernyavsky A.I. et al.* Anti-Inflammatory Effects of the Nicotinic Peptides SLURP-1 and SLURP-2 on Human Intestinal Epithelial Cells and Immunocytes // *Biomed Res Int.* 2014. V. 2014.
18. *Buhrmann C. et al.* Evidence that TNF- $\beta$  (lymphotoxin  $\alpha$ ) can activate the inflammatory environment in human chondrocytes // *Arthritis Research & Therapy.* 2013. V. 15. № 6. P. R202.
19. *Jang D.-I. et al.* The Role of Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- $\alpha$ ) in Autoimmune Disease and Current TNF- $\alpha$  Inhibitors in Therapeutics // *Int J Mol Sci.* 2021. V. 22. № 5. P. 2719.
20. *Torres-Acosta N. et al.* Therapeutic Potential of TNF- $\alpha$  Inhibition for Alzheimer's Disease Prevention // *J Alzheimers Dis.* 2020. V. 78. № 2. P. 619–626.

## ACCUMULATION OF $\beta$ -AMYLOID LEADS TO A DECREASE IN LYNX1 AND LYPD6B EXPRESSION IN THE HIPPOCAMPUS AND INCREASED EXPRESSION OF PRO-INFLAMMATORY CYTOKINES IN THE HIPPOCAMPUS AND BLOOD SERUM

**M. L. Bychkov<sup>a</sup>, A. V. Kirichenko<sup>a</sup>, A. S. Paramonov<sup>a</sup>,  
Academician of the RAS M. P. Kirpichnikov<sup>a,b</sup>, and E. N. Lukmanova<sup>a,b,c,#</sup>**

<sup>a</sup>*Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation*

<sup>b</sup>*Interdisciplinary Scientific and Educational School “Molecular Technologies of Living Systems and Synthetic Biology”,  
Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University M.V. Lomonosov, Moscow, Russian Federation*

<sup>c</sup>*Shenzhen MSU-BIT University, Shenzhen, China*

<sup>#</sup>*e-mail: ekaterina-lyukmanova@yandex.ru*

Alzheimer's disease is a rapidly progressive neurodegenerative disease, the development of which is associated with the accumulation of  $\beta$ -amyloid oligomers, dysfunction of the  $\alpha 7$ -nAChR nicotinic acetylcholine receptor, and activation of inflammation. Previously, we have shown that the neuromodulator Lynx1, which belongs to the Ly6/uPAR family, competes with  $\beta$ -amyloid(1–42) for binding to  $\alpha 7$ -nAChR. In the present work, we studied the expression and localization of Ly6/uPAR family proteins in the hippocampus of 2xTg-AD transgenic mice that model AD and demonstrate increased amyloidosis in the brain. Using real-time PCR, we showed a decrease in the expression of the genes encoding Lynx1, Lypd6b, and the postsynaptic marker PSD95, as well as an increase in the expression of the TNF $\alpha$  gene in the hippocampus of 2xTg-AD mice. Histochemical analysis revealed that, in the hippocampus of 2xTg-AD mice Lynx1 does not co-localize with  $\alpha 7$ -nAChR that can lead to the development of pathology when the receptor interacts with oligomeric  $\beta$ -amyloid. Also, in 2xTg-AD mice, activation of systemic inflammation was shown, which manifests itself in a decrease in the serum level of SLURP-1, a Ly6/uPAR family protein capable of regulating inflammatory processes, as well as an increase in the content of pro-inflammatory cytokines TNF $\alpha$  and TNF $\beta$ . Thus,  $\alpha 7$ -nAChR dysfunction and maintenance of the inflammatory microenvironment in the brain in Alzheimer's disease may be associated with a decrease in the expression of Ly6/uPAR family proteins that regulate  $\alpha 7$ -nAChR activity and inflammation.

**Keywords:** Alzheimer's disease, nicotinic acetylcholine receptor, Ly6/uPAR, Lynx1, SLURP-1, Lypd6b