



## ВЛИЯНИЕ L-ТИРОКСИНА, ПРИРОДНОГО ЛИГАНДА ЧЕЛОВЕЧЕСКОГО СЫВОРОТОЧНОГО АЛЬБУМИНА, НА КИНЕТИКУ ФИБРИЛЛООБРАЗОВАНИЯ β-АМИЛОИДНОГО ПЕПТИДА

Е.А. Литус\*, Е.Л. Немашкалова, А.А. Вологжанникова, Е.И. Дерюшева

*Институт биологического приборостроения  
ФГБУН ФИЦ «Пушинский научный центр биологических исследований» РАН  
142290, Российская Федерация, Московская обл., Пушкино, просп. Науки, 3*

Лиганды человеческого сывороточного альбумина (ЧСА) обладают способностью модулировать его взаимодействие с β-амилоидным пептидом (Аβ), который является ключевым фактором патогенеза болезни Альцгеймера (БА). L-тироксин (L-Tr) — природный лиганд ЧСА, который, по данным эпидемиологических исследований и исследований на животных моделях, связан с патогенезом БА. В данной работе была изучена кинетика фибриллообразования Аβ в присутствии L-Tr и ЧСА с помощью флуоресцентного теста с тиафлавином Т. L-Tr не оказывал достоверного влияния на ингибирующий эффект ЧСА по отношению к процессу роста фибрилл. В то же время L-Tr сам по себе обладал ингибирующим эффектом, сравнимым с эффектом ЧСА. Полученные нами данные частично могут объяснить связь БА с патологиями щитовидной железы.

**Ключевые слова:** L-тироксин, человеческий сывороточный альбумин, β-амилоидный пептид, болезнь Альцгеймера

**Конфликт интересов:** авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование:** исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант № 20-74-10072.

**Для цитирования:** Литус Е.А., Немашкалова Е.Л., Вологжанникова А.А., Дерюшева Е.И. Влияние L-тироксина, природного лиганда человеческого сывороточного альбумина, на кинетику фибриллообразования β-амилоидного пептида. *Биомедицина*. 2023;19(3E):114–118. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-19-3E-114-118>

Поступила 20.04.2023

Принята после доработки 15.05.2023

Опубликована 06.11.2023

## EFFECT OF L-THYROXINE, A HUMAN SERUM ALBUMIN NATURAL LIGAND, ON THE KINETICS OF β-AMYLOID PEPTIDE FIBRIL FORMATION

Ekaterina A. Litus\*, Ekaterina L. Nemashkalova, Alisa A. Vologzhannikova,  
Evgeniya I. Deryusheva

*1Institute for Biological Instrumentation of the Pushchino Scientific Center for Biological Research  
of the Russian Academy of Sciences  
142290, Russian Federation, Moscow Region, Pushchino, Nauki Ave., 3*

Ligands of human serum albumin (HSA) are capable of modulating its interaction with β-amyloid peptide (Aβ), which is a key factor in the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD). L-thyroxine (L-Tr), a natural HSA ligand, is associated with the pathogenesis of AD according to epidemiological and animal model

studies. In this work, we studied the kinetics of A $\beta$  fibril formation in the presence of L-Tr and HSA using a fluorescent test with thioflavin T. L-Tr had no significant effect on the inhibitory effect of HSA on fibril growth. At the same time, L-Tr itself had an inhibitory effect similar to that of HSA. Our data can partially explain the relationship between AD and thyroid pathologies.

**Keywords:** L-thyroxine, human serum albumin, amyloid- $\beta$  peptide, Alzheimer's disease

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

**Funding:** the research was funded by a grant from the Russian Science Foundation No. 20-74-10072.

**For citation:** Litus E.A., Nemashkalova E.L., Vologzhannikova A.A., Deryusheva E.I. Effect of L-thyroxine, a Human Serum Albumin Natural Ligand, on the Kinetics of  $\beta$ -amyloid Peptide Fibril Formation. *Journal Biomed.* 2023;19(3E):114–118. <https://doi.org/10.33647/2713-0428-19-3E-114-118>

Submitted 20.04.2023

Revised 15.05.2023

Published 06.11.2023

## Введение

Болезнь Альцгеймера (БА) — социально значимое заболевание (постановление Правительства РФ № 715 от 01.12.2004), отличительной чертой которого является неуклонно прогрессирующее развитие. Для спорадических форм БА характерны повышение продукции и снижение скорости выведения  $\beta$ -амилоидного пептида (A $\beta$ ). В ряде исследований в качестве перспективной мишени для разработки новых подходов к терапии и профилактике БА рассматривается человеческий сывороточный альбумин (ЧСА), играющий роль депо A $\beta$  в периферическом кровотоке [5, 11]. Усиление взаимодействия ЧСА с A $\beta$  должно способствовать сдвигу равновесия между периферическим кровотоком и центральной нервной системой в сторону выведения A $\beta$ . С другой стороны, ЧСА взаимодействует с большим количеством экзогенных и эндогенных лигандов, которые могут существенно менять его функциональную активность. Ранее нами был проведен систематический поиск лигандов ЧСА, потенциально способных модулировать его взаимодействие с A $\beta$  [1]. Экспериментально было показано, что увеличения сродства ЧСА с A $\beta$  можно добиться с помощью таких лигандов, как серотонин, ибупрофен, ненасыщенные жирные кислоты [8–10]. Однако эффекты многих

лигандов ЧСА на процесс его взаимодействия с A $\beta$  остаются на данный момент неизученными. L-тироксин (L-Tr) (DrugBank Accession Number: DB00451), являющийся природным лигандом ЧСА, представляет собой эндогенный гормон щитовидной железы. Синтетический L-Tr используется для лечения гипотиреоза, а также тиреотропин-зависимого высокодифференцированного рака щитовидной железы [2]. Кроме того, по данным эпидемиологических исследований [7] и исследований на животных моделях [3], L-Tr связан с патогенезом БА. В данной работе была изучена кинетика фибриллообразования A $\beta$  в присутствии L-Tr и ЧСА с помощью флуоресцентного теста с тиофлавином T, а также проведено моделирование комплекса ЧСА- L-Tr.

## Материалы и методы

В ходе исследований были использованы человеческий сывороточный альбумин (Merck, #126654), тиофлавин T («Sigma-Aldrich»), L-Tr («Thermo Scientific Chemicals»), а также рекомбинантный человеческий A $\beta$  (длиной 40 аминокислотных остатков, A $\beta$ 40), полученный по методике, разработанной в нашей лаборатории [9]. Исследование с тиофлавином T проводили в соответствии с описанием в статье [9]. Конечные концентрации L-Tr и ЧСА составили 15 и 2 мкМ соответственно.

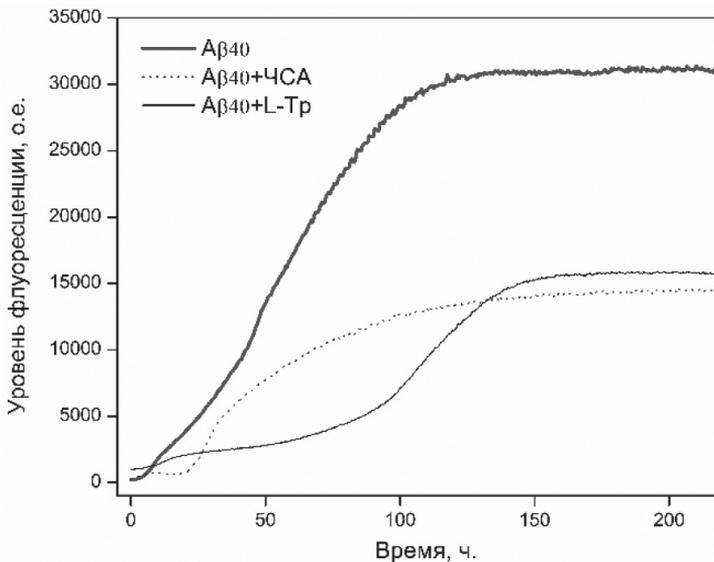
Трехмерная структура ЧСА (PDB ID: 1A06) была получена из Protein Data Bank. Трехмерная структура L-Тр была получена в формате sdf с сервера PubChem и преобразована в файл pdb с помощью PyMOL v.1.6.9.0. Для моделирования комплекса ЧСА-L-Тр использовалась программа AutoDock Vina. Характеристики взаимодействия комплекса были получены помощью специализированного сервиса PLIP (<https://plip-tool.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index>).

### Результаты и их обсуждение

Оценку влияния L-Тр на функциональную активность ЧСА проводили по изменению ингибирующего эффекта ЧСА на рост фибрилл Аβ40. Кинетику процесса образования фибрилл Аβ40 изучали с помощью флуоресцентного теста с тиофлавином Т (рис.). Уровень максимального сигнала флуоресценции тиофлавина Т, полученный

для образцов фибрилл в присутствии ЧСА, был снижен вдвое по сравнению с образцами фибрилл, полученными в отсутствие каких-либо добавок. Дополнительное присутствие L-Тр значимо не повлияло на эффект ЧСА. В то же время в отсутствие ЧСА L-Тр сам по себе значимо подавлял образование фибрилл Аβ40: максимальный сигнал флуоресценции снижался вдвое.

Сайт связывания L-Тр на молекуле ЧСА по данным смоделированного нами комплекса содержит остатки I (ARG145, ASN109, HIS146, ARG114, ARG186) и III (GLU425, GLN459, LYS525) структурных доменов ЧСА. При этом основной сайт связывания Аβ40 на ЧСА расположен пространственно выше [4], чем выявленный сайт L-Тр. Этим фактом может объясняться отсутствие значимых эффектов присутствия L-Тр на ингибирующее действие ЧСА в отношении процесса фибриллообразования Аβ40.



**Рис.** Изменение интенсивности флуоресценции тиофлавина Т (длина волны 485 нм), отражающее рост фибрилл Аβ40 без добавок или в присутствии ЧСА/L-Тр.

**Fig.** Change in the intensity of thioflavin T fluorescence (wavelength 485 nm), reflecting the growth of Аβ40 fibrils without additives or in the presence of HSA/L-Tr.

## Выводы

В данной работе нами было показано, что L-Тр ингибирует процесс образования фибрилл Аβ40. Найденный эффект согласуется и может частично объяснить накопленные эпидемиологические данные об ассоциации БА с гипотиреозом, а также

о снижении уровня L-Тр в цереброспинальной жидкости пациентов с диагнозом БА [6, 7]. Тем не менее результаты исследований, посвященных связи БА с различными патологиями щитовидной железы, противоречивы [12], поэтому необходимы дальнейшие *in vivo* и *in vitro* исследования.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ | REFERENCES

1. Дерюшева Е.И., Немашкалова Е.Л., Шевелёва М.П., Литус Е.А. Биоинформатический поиск и формирование панели лигандов сывороточного альбумина, модулирующих его взаимодействие с Аβпептидом. Докл. Межд. конф. «Математическая биология и биоинформатика». Под ред. В.Д. Лакно. Т. 9. Пушчино: ИМБП РАН, 2022. [Deryusheva E.I., Nemashkalova E.L., Shevelyova M.P., Litus E.A. Bioinformatic search and formation of a panel of serum albumin ligands that modulate its interaction with Aβ-peptide]. Dokl. Mezhd. konf. "Matematicheskaya biologiya i bioinformatika" [Proceedings of the International Conference "Mathematical Biology and Bioinformatics"]. Ed. by V.D. Lakhno. Vol. 9. Pushchino: IMBP of the RAS Publ., 2022. (In Russian). DOI: 10.17537/icmbb22.1.
2. Cheng S.Y., Leonard J.L., Davis P.J. Molecular aspects of thyroid hormone actions. *Endocr. Rev.* 2010;31(2):139–170. DOI: 10.1210/er.2009-0007.
3. Fu A.L., Zhou C.Y., Chen X. Thyroid hormone prevents cognitive deficit in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neuropharmacology.* 2010;58(4–5):722–729. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2009.12.020.
4. Choi T.S., Lee H.J., Han J.Y., Lim M.H., Kim H.I. Molecular insights into human serum albumin as a receptor of amyloid-β in the extracellular region. *J. Am. Chem. Soc.* 2017;139(43):15437–15445. DOI: 10.1021/jacs.7b08584.
5. Ishima Y., Mimono A., Tuan Giam Chuang V., Fukuda T., Kusumoto K., Okuhira K., Suwa Y., Watanabe H., Ishida T., Morioka H., Maruyama T., Otagiri M. Albumin domain mutants with enhanced Aβ binding capacity identified by phage display analysis for application in various peripheral Aβ elimination approaches of Alzheimer's disease treatment. *IUBMB Life.* 2020;72(4):641–651. DOI: 10.1002/iub.2203.
6. Johansson P., Almqvist E.G., Johansson J.-O., Mattsson N., Hansson O., Wallin A., Blennow K., Zetterberg H., Svensson J. Reduced cerebrospinal fluid level of thyroxine in patients with Alzheimer's disease. *Psychoneuroendocrinology.* 2013;38(7):1058–1066. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2012.10.012.
7. Kim J.H., Lee H.S., Kim Y.H., Kwon M.J., Kim J.H., Min C.Y., Yoo D.M., Choi H.G. The Association Between Thyroid Diseases and Alzheimer's Disease in a National Health Screening Cohort in Korea. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2022;13:815063. DOI: 10.3389/fendo.2022.815063.
8. Litus E.A., Kazakov A.S., Deryusheva E.I., Nemashkalova E.L., Shevelyova M.P., Nazipova A.A., Permyakova M.E., Raznikova E.V., Uversky V.N., Permyakov S.E. Serotonin Promotes Serum Albumin Interaction with the Monomeric Amyloid β Peptide. *Int. J. Mol. Sci.* 2021;22(11):5896. DOI: 10.3390/ijms22115896.
9. Litus E.A., Kazakov A.S., Deryusheva E.I., Nemashkalova E.L., Shevelyova M.P., Machulin A.V., Nazipova A.A., Permyakova M.E., Uversky V.N., Permyakov S.E. Ibuprofen Favors Binding of Amyloid-β Peptide to Its Depot, Serum Albumin. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23(11):6168. DOI: 10.3390/ijms23116168.
10. Litus E.A., Kazakov A.S., Sokolov A.S., Nemashkalova E.L., Galushko E.I., Dzhus U.F., Marchenkov V.V., Galzitskaya O.V., Permyakov E.A., Permyakov S.E. The binding of monomeric amyloid β peptide to serum albumin is affected by major plasma unsaturated fatty acids. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019;510(2):248–253. DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.01.081.
11. Menendez-Gonzalez M., Gasparovic C. Albumin Exchange in Alzheimer's Disease: Might CSF Be an Alternative Route to Plasma? *Front. Neurol.* 2019;10:1036. DOI: 10.3389/fneur.2019.01036.
12. Quinlan P., Horvath A., Eckerström C., Wallin A., Svensson J. Altered thyroid hormone profile in patients with Alzheimer's disease. *Psychoneuroendocrinology.* 2020;121:104844. DOI: 10.1016/j.psyneuen.2020.104844.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ | INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

---

**Литус Екатерина Андреевна\***, к.м.н., Институт биологического приборостроения ФГБУН ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований» РАН;

**e-mail:** [calitus@gmail.com](mailto:calitus@gmail.com)

**Ekaterina A. Litus\***, Cand. Sci. (Med.), Institute for Biological Instrumentation of the Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences;

**e-mail:** [calitus@gmail.com](mailto:calitus@gmail.com)

**Немашкалова Екатерина Леонидовна**, к.б.н., Институт биологического приборостроения ФГБУН ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований» РАН;

**e-mail:** [elnemashkalova@gmail.com](mailto:elnemashkalova@gmail.com)

**Ekaterina L. Nemashkalova**, Cand. Sci. (Biol.), Institute for Biological Instrumentation of the Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences;

**e-mail:** [elnemashkalova@gmail.com](mailto:elnemashkalova@gmail.com)

**Вологжанникова Алиса Андреевна**, к.б.н., Институт биологического приборостроения ФГБУН ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований» РАН;

**e-mail:** [lisiks.av@gmail.com](mailto:lisiks.av@gmail.com)

**Alisa A. Vologzhannikova**, Cand. Sci. (Biol.), Institute for Biological Instrumentation of the Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences;

**e-mail:** [lisiks.av@gmail.com](mailto:lisiks.av@gmail.com)

**Дерюшева Евгения Игоревна**, к.ф.-м.н., Институт биологического приборостроения ФГБУН ФИЦ «Пушкинский научный центр биологических исследований» РАН;

**e-mail:** [evgenia.deryusheva@gmail.com](mailto:evgenia.deryusheva@gmail.com)

**Evgeniya I. Deryusheva**, Cand. Sci. (Phis.-Math.), Institute for Biological Instrumentation of the Pushchino Scientific Center for Biological Research of the Russian Academy of Sciences;

**e-mail:** [evgenia.deryusheva@gmail.com](mailto:evgenia.deryusheva@gmail.com)

\* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author