

XENIUM IN SITU АНАЛІЗ КОРОНАРНИХ ВІДДІЛІВ ГОЛОВНОГО МОЗКУ НА МИШАЧІЙ МОДЕЛІ ХВОРОБИ АЛЬЦГЕЙМЕРА

Броднікова Є.Р., Дзигун Л.П.

КПІ ім. Ігоря Сікорського, brodnikova.yelizaveta@iit.kpi.ua

Abstract

The article describes the Xenium in situ analysis of coronal brain sections in a mouse model of Alzheimer's disease. The obtained results suggest that spatial transcriptomics is a highly effective method for identifying microregions of functional preservation and pathological sites in the brain in cases of neurodegenerative diseases.

Keywords: *Xenium, Alzheimer's disease, Spatial Analysis*

Вступ. Хвороба Альцгеймера (ХА) – повільно прогресуюче нейродегенеративне захворювання, що характеризується накопиченням нейрофібрилярних клубків та амілоїдних β ($A\beta$) бляшок. Це одна з найпоширеніших форм деменції [1]. Попри високий ризик розвитку ХА у літньому віці та значну кількість досліджень, присвячених цьому виду ураження головного мозку, первинні причини патологічних змін та їх глибинні механізми під час цього захворювання залишаються недостатньо з'ясованими.

Метою даної роботи є дослідження просторової організації транскриптомних змін у головному мозку у разі хвороби Альцгеймера.

Матеріали та методи. У цьому дослідженні було виконано біоінформатичний аналіз відкритих даних від 10x Genomics, отриманих за допомогою аналізатора Xenium Analyzer: Xenium In Situ Analysis of Alzheimer's Disease Mouse Model Brain Coronal Sections from One Hemisphere Over a Time Course, Xenium Onboard Analysis 1.4.0 (2023, June 13) [2]. У робочому процесі Xenium було використано фіксовані формаліном і залиті парафіном зразки тканин з мозку від трансгенних мишей дикого типу (WT) і мишей трансгенної лінії TgCRND8, що надмірно експресують мутантний людський білок-попередник амілоїду. У межах даного дослідження проаналізовано вихідний набір даних від групи з помірним відкладенням $A\beta$ віком 5,7 місяців [2].

Обробку даних здійснено за допомогою пакету Voyager. Для ідентифікації транскриптомних кластерів використано аналіз головних компонентів (PCA). Після цього було проведено візуалізацію кластерів у просторовому контексті з подальшим диференціальним аналізом експресії для відбору маркерних генів за допомогою критерію суми рангів Вілкоксона. Просторову автокореляцію експресії генів оцінено за допомогою показників Moran's I [3].

Результати та обговорення. Було ідентифіковано клітинні кластери на основі їхнього транскриптомного профілю та візуалізовано їх просторове розташування у тканині мозку. Отримані результати демонструють чітку анатомічну організацію транскриптомних кластерів у мозку мишей WT (рис.1, а). Порівняно з TgCRND8 (рис.1, б), у WT виявлено на один кластер більше. Він має чітку локалізацію в медіальній частині зрізу, що, ймовірно, відповідає нейрональним популяціям септальної області, зокрема холінергічним

проекційним нейронам. Також спостерігається зміна щільності та локалізації деяких кластерів у TgCRND8. Це може свідчити про реактивні або компенсаторні зміни внаслідок нейродегенеративних процесів та перебігу нейрозапальної реакції.

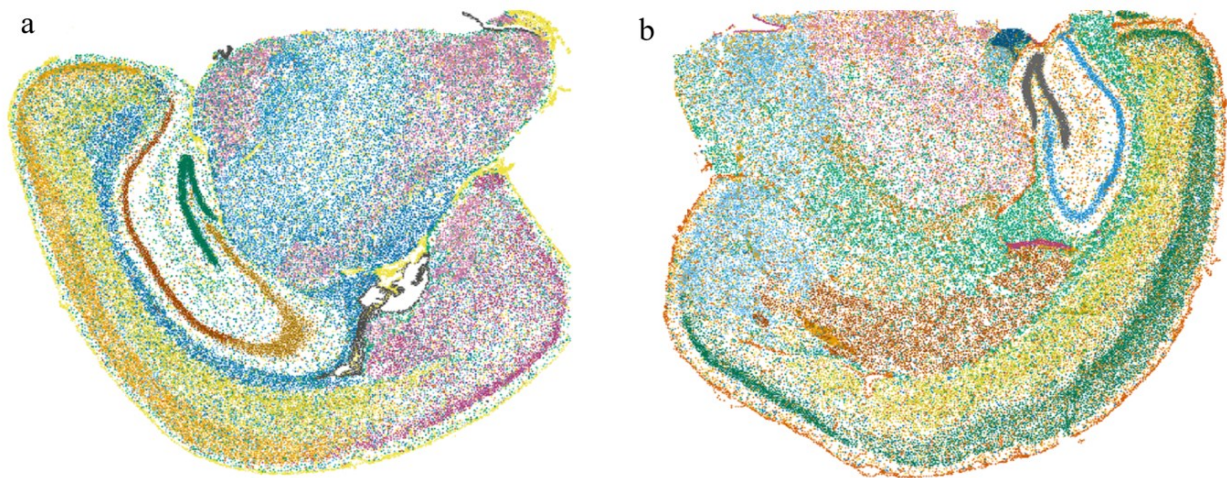


Рис. 1. Розташування кластерів у просторі: а – корональний розріз мозку WT, б – корональний розріз мозку TgCRND8.

Локалізація визначених маркерних генів *Neurod6*, *Prox1*, *Rims3* і *Necab2* демонструвала високу регіональну залежність, що відображає специфічні для регіону патерни експресії. Білок, який кодує *Neurod6*, індукує антиоксидантні реакції та збільшує мітохондріальну біомасу, тим самим підвищуючи толерантність до оксидативного стресу, який виникає у разі ХА [4]. Продукт *Prox1* необхідний для дозрівання зернистих клітин у зубчастій звивині під час розвитку та для підтримки проміжних попередників під час нейрогенезу в дорослому віці [5]. Ген *Rims3* асоціюють з аутизмом та шизофренією, а зниження його експресії – з тяжким ступенем ХА [6]. Дефіцит білка, що кодується *Necab2*, призводить до зменшення кількості синапсів, що корелює з поведінковою дисфункцією [7].

Гени *Cux2*, *Plp1*, *Gad1* та *Clu* демонструють помірну просторову автокореляцію. На цей час доведено, що продукт гену *Cux2* бере участь у розвитку дендритів і формуванні синапсів у верхніх шарах неокортексу. Його дефіцит призводить до посилення збудливої синаптичної передачі та підвищеної схильності до судом [8]. *Plp1* кодує білок, що відіграє вирішальну роль у формуванні та підтримці мієліну в центральній нервовій системі (ЦНС) [9]. Знижена експресія *Gad1* може свідчити про порушення ГАМК-ергічної передачі в префронтальних пірамідних нейронах кори головного мозку [10]. У попередніх наукових дослідженнях було продемонстровано, що наявність Аβ посилює експресію *Clu* як у гіпокампі, так і в корі головного мозку, тим самим сприяючи кліренсу цих пептидів [11].

Гени *Ntsr2*, *Cdh4*, *Olig2*, *Fnl*, *Grik3* і *Csflr* демонструють низьку просторову автокореляцію. *Ntsr2* було виявлено в кількох ділянках мозку, які пов'язані з тривожністю та депресією. Також цей ген залучений до механізмів хронічного нейрозапалення [12]. Білок, який кодується *Cdh4*, опосередковує

міжклітинну адгезію. Повідомлялося також про можливість продукту цього гену змінювати олігомеризацію α -синуклеїну, який є попередником неамілоїдного β -компонента сенільних бляшок у разі ХА [13]. *Olig2* є ймовірним геном-кандидатом на схильність до психозів, а його знижена експресія призводить до втрати нейронів [14]. *Fnl* кодує білок, який зв'язується з А β та є невід'ємною частиною гематоенцефалічного бар'єру, що зазнає змін на ранніх стадіях ХА [15]. Продукт *Grik3* залучений до глутаматергічної синаптичної передачі, що зумовило припущення про його зв'язок зі схильністю до шизофренії та затримкою розвитку [16]. *Csflr* кодує білок, який є ключовим трансмембранним рецептором тирозинкінази, що модулює мікрогліальний гомеостаз, нейрогенез і виживання нейронів у ЦНС. Активацію цього гену асоціюють з посиленням проліферативної відповіді в мікроглії [17].

Висновки. У результаті дослідження просторової організації транскриптомних змін у головному мозку мишей лінії TgCRND8 з помірним відкладенням А β -бляшок у разі хвороби Альцгеймера було виявлено як збереження структурно-функціональних нейрональних доменів, так і ознаки реактивного ремоделювання тканин. Зокрема, патерни експресії генів *Neurod6*, *Prox1*, *Rims3* і *Necab2* вказують на збереження нейропластичних можливостей та синаптичної активності. Помірна просторова автокореляція генів *Cux2*, *Plp1* та *Gad1* свідчить про часткове збереження кортикальних структур, мієлінових оболонок і гальмівних нейронів. Виявлена гетерогенна та дифузна активація *Clu* сигналізує про реакцію на утворення А β -бляшок. Водночас, експресія *Cdh4* може бути пов'язана з процесом стримування нейродегенерації. Крім того, дифузна та мозаїчна локалізація *Ntsr2*, *Fnl*, *Grik3*, *Olig2* і *Csflr*, ймовірно, відображає реактивні зміни, пов'язані з нейрозапаленням, порушенням клітинної адгезії, гліальною дисфункцією та змінами в мікрооточенні.

Просторовий транскриптомний аналіз дав змогу виявити порушення регіональної структури у TgCRND8, зокрема зміни щільності, локалізації та відсутності клітинного кластеру. Це узгоджується з ранніми процесами, характерними для хвороби Альцгеймера, зокрема дегенерацією холінергічної системи, порушенням синаптичної передачі та гліальною активацією. Диференційований просторовий розподіл експресії генів вказує на складний характер перебігу патології, який включає одночасне збереження нейрональних функцій та розвиток запальної реакції.

Дане дослідження підтверджує те, що просторова транскриптоміка є ефективним підходом до виявлення мікродоменів збереження функціональності та патологічних осередків у головному мозку за нейродегенеративних захворювань. Це створює передумови для подальшого розвитку діагностичних підходів і таргетної терапії.

Список використаної літератури:

1. Breijyeh, Z., & Karaman, R. Comprehensive Review on Alzheimer's Disease: Causes and Treatment. *Molecules*. 2020. Vol. 25. No 24, P. 5789. <https://doi.org/10.3390/molecules25245789>.
2. Xenium In Situ Analysis of Alzheimer's Disease Mouse Model Brain Coronal Sections from One Hemisphere Over a Time Course, Xenium Onboard Analysis 1.4.0. 2023. Available at:

<https://www.10xgenomics.com/datasets/xenium-in-situ-analysis-of-alzheimers-disease-mouse-model-brain-coronal-sections-from-one-hemisphere-over-a-time-course-1-standard>.

3. Moses, L., Einarsson, P.H., Jackson, K., Luebbert, L., Boeshaghi, S., Antonsson, S., Melsted, P., Pachter, L. «Voyager: exploratory single-cell genomics data analysis with geospatial statistics.» *bioRxiv*. 2023. <https://doi.org/10.1101/2023.07.20.549945>.

4. Satoh, J., Yamamoto, Y., Asahina, N., Kitano, S., & Kino, Y. RNA-Seq data mining: downregulation of NeuroD6 serves as a possible biomarker for alzheimer's disease brains. *Disease markers*. 2014. Vol. 2014. No 1. P. 1–10. <https://doi.org/10.1155/2014/123165>

5. Karalay, O., Doberauer, K., Vadodaria, K., Knobloch, M., Berti, L., Miquelajauregui, A., et al. Prospero-related homeobox 1 gene (Prox1) is regulated by canonical Wnt signaling and has a stage-specific role in adult hippocampal neurogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2011. Vol. 108. No 14. P. 5807–5812. <https://doi.org/10.1073/pnas.1013456108>.

6. Kong, W., Mou, X., Liu, Q., Chen, Z., Vanderburg, C. R., Rogers, J. T., & Huang, X. Independent component analysis of Alzheimer's DNA microarray gene expression data. *Molecular neurodegeneration*. 2009. Vol. 4. No 5. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-4-5>.

7. Bueno, D., Dey, P. N., Schacht, T., Wolf, C., Wüllner, V., Morpurgo, E., et al. NECAB2 is an endosomal protein important for striatal function, *Free Radical Biology and Medicine*. 2023. Vol. 208. P. 643–656. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2023.09.003>.

8. Krokidis, M. G., Vrahatis, A. G., Lazaros, K., Skolariki, K., Exarchos, T. P., & Vlamos, P. Machine Learning Analysis of Alzheimer's Disease Single-Cell RNA-Sequencing Data across Cortex and Hippocampus Regions. *Current Issues in Molecular Biology*. 2023. Vol. 45. No 11. P. 8652–8669. <https://doi.org/10.3390/cimb45110544>.

9. Khalaf, G., Mattern, C., Begou, M., Boespflug-Tanguy, O., Massaad, C., & Massaad-Massade, L. Mutation of Proteolipid Protein 1 Gene: From Severe Hypomyelinating Leukodystrophy to Inherited Spastic Paraplegia. *Biomedicines*. 2022. Vol. 10. No 7. P. 1709. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10071709>.

10. Wan, L., Zhong, P., Li, P., Ren, Y., Wang, W., Yu, M., Feng, H. Y., & Yan, Z. CRISPR-based epigenetic editing of Gad1 improves synaptic inhibition and cognitive behavior in a Tauopathy mouse model. *Neurobiology of disease*. 2025. Vol. 206. No 1. P. 106826. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2025.106826>.

11. Foster, E. M., Dangla-Valls, A., Lovestone, S., Ribe, E. M., & Buckley, N. J. Clusterin in Alzheimer's Disease: Mechanisms, Genetics, and Lessons From Other Pathologies. *Frontiers in neuroscience*. 2019. Vol. 13. No 19. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00164>.

12. Kyriatzis, G., Khrestchatisky, M., Ferhat, L., & Chatzaki, E. A. Neurotensin and Neurotensin Receptors in Stress-related Disorders: Pathophysiology & Novel Drug Targets. *Current neuropharmacology*. 2024. Vol. 22. No 5. P. 916–934. <https://doi.org/10.2174/1570159X21666230803101629>.

13. Isik, F. I., Katzeff, J. S., Fu, Y., & Kim, W. S. Understanding the Role of CDH4 in Multiple System Atrophy Brain. *Journal of Parkinson's disease*. 2023. Vol. 13. No 8. P. 1303–1311. <https://doi.org/10.3233/JPD-230298>.

14. Sims, R., Hollingworth, P., Moskvina, V., Dowzell, K., O'Donovan, M. C., et al. Evidence that variation in the oligodendrocyte lineage transcription factor 2 (OLIG2) gene is associated with psychosis in Alzheimer's disease. *Neuroscience Letters*. 2009. Vol. 461. No 1. P. 54–59. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.05.051>.

15. Bhattarai, P., Gunasekaran, T. I., Belloy, M. E., Reyes-Dumeyer, et al. Rare genetic variation in fibronectin 1 (FN1) protects against APOE ϵ 4 in Alzheimer's disease. *Acta neuropathologica*. 2024. Vol. 147. No 1. P. 70. <https://doi.org/10.1007/s00401-024-02721-1>.

16. Yuan H., Hansen K. B., Traynelis S. F. Ionotropic GABA and glutamate receptor mutations and human neurologic diseases. *Molecular Pharmacology*. 2015. Vol. 88, No 1, P. 203 – 217. <https://doi.org/10.1124/mol.115.097998/>

17. Hu, B., Duan, S., Wang, Z., Li, X., et al. Insights Into the Role of CSF1R in the Central Nervous System and Neurological Disorders. *Frontiers in aging neuroscience*. 2021. Vol. 13. No 789834. <https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.789834>.