

Клеточный стресс блокирует транскрипцию сателлита III на первой хромосоме и снижает содержание сателлита III в ДНК культивируемых фибробластов кожи больных шизофренией

Салимова Н.А.¹, Вейко Н.Н.¹, Ершова Е.С.¹, Захарова Н.В.², Костюк С.В.¹

1 – ФГБНУ «Медико-генетический научный центр имени академика Н.П. Бочкова»
115522, г. Москва, Россия, ул. Москворечье, д. 1

2 – ГБУЗ города Москвы «Психиатрическая клиническая больница № 1 им. Н.А. Алексеева Департамента здравоохранения города Москвы»
117152, г. Москва, Россия, Загородное шоссе, д. 2

Ранее обнаружено, что в лейкоцитах крови больных шизофренией по сравнению с контролем значительно снижено содержание tandemного повтора – субфракции сателлита III (SatIII), который входит в состав прицентромерного гетерохроматина первой хромосомы (район 1q12). Одной из причин низкого содержания повтора в ДНК больных может являться низкий уровень транскрипции SatIII в условиях стресса. В работе показано, что клеточный стресс в культивируемых фибробластах кожи больных шизофренией и здоровых людей, вызванный повышением температуры культивирования, значительно блокирует транскрипцию SatIII (1q12) и увеличивает в десятки раз уровень транскрипции SatIII на хромосоме 9. В клетках больных шизофренией снижение содержания SatIII(1q12) в ДНК положительно коррелирует со снижением количества РНК SatIII. В контрольных клетках содержание SatIII(1q12) в ДНК при стрессе не изменялось. Блокировка транскрипции SatIII в условиях стресса потенциально может быть одной из причин снижения содержания повтора SatIII(1q12) в ДНК больных шизофренией.

Ключевые слова: шизофрения, сателлит III, 8-oxodG, γH2AX.

Для цитирования: Салимова Н.А., Вейко Н.Н., Ершова Е.С., Захарова Н.В., Костюк С.В. Клеточный стресс блокирует транскрипцию сателлита III на первой хромосоме и снижает содержание сателлита III в ДНК культивируемых фибробластов кожи больных шизофренией. *Медицинская генетика* 2022; 21(12): 23-25.

Автор для корреспонденции: Салимова Наталья Агарагимовна; **e-mail:** mgnc119@yandex.ru

Финансирование. Работа выполнена в рамках проекта РНФ № 18-15-00437 П РНФ.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила: 19.11.2022

Cellular stress blocks the transcription of satellite III on the first chromosome and reduces the content of satellite III in the DNA of cultured skin fibroblasts in patients with schizophrenia

Salimova N.A.¹, Veiko N.N.¹, Ershova E.S.¹, Zaharova N.V.², Kostyuk S.V.¹

1 – Research Centre for Medical Genetics
1, Moskvorechye str., Moscow, 115522, Russian Federation

2 – N.A. Alexeev Clinical Psychiatric Hospital No. 1
2, Zagorodnoye shosse, Moscow, 117152, Russian Federation

It was previously found that in the blood leukocytes of patients with schizophrenia, compared to the control, the content of the tandem repeat - the subfraction of satellite III (SatIII), which is part of the pericentromeric heterochromatin of the first chromosome (region 1q12) - is significantly reduced. One of the reasons behind the low repeat level in the DNA of patients may be the low level of SatIII transcription under stress conditions. The study shows that cellular stress in cultured skin fibroblasts of patients with schizophrenia and healthy people, caused by an increase in cultivation temperature, significantly blocks the transcription of SatIII (1q12) and increases the transcription level of SatIII on the 9th chromosome tenfold. For cells of patients with schizophrenia, a decrease in the content of SatIII(1q12) in DNA positively correlates with a decrease in the amount of SatIII RNA. In control cells, the content of SatIII in DNA did not change under stress. Blocking of SatIII transcription under stress conditions can potentially be one of the reasons for the decrease in the content of the SatIII repeat in the DNA of patients with schizophrenia.

Keywords: schizophrenia, satellite III, 8-oxodG, γH2AX.

For citation: Salimova N.A., Veiko N.N., Ershova E.S., Zaharova N.V., Kostyuk S.V. Cellular stress blocks the transcription of satellite III on the first chromosome and reduces the content of satellite III in the DNA of cultured skin fibroblasts in patients with schizophrenia. *Medical genetics [Medicinskaya genetika]* 2022; 21(12): 23-25. (In Russ.)

Corresponding author: Salimova N.A.; e-mail: mgnc119@yandex.ru

Funding. The Russian Science Foundation (grant № 18-15-00437 (II)) supported this research.

Conflict of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Accepted: 19.11.2022

Введение

Шизофрения относится к многофакторным заболеваниям. К развитию патологии приводят генетические нарушения и внешние факторы [1]. Заболевание сопровождается системным окислительным стрессом и воспалением [2]. Ранее было показано, что в лейкоцитах крови больных шизофренией, по сравнению с контролем, значительно снижено содержание тандемного повтора — субфракции сателлита III, который входит в состав прицентромерного гетерохроматина первой хромосомы [SatIII(1)] [3]. Число копий повтора SatIII(1) в ДНК человека не является стабильным генетическим признаком. Авторы полагают [4], что в вариабельности содержания SatIII в ДНК большую роль играет процесс транскрипции сателлитного фрагмента в условиях стресса. Далее с участием обратной транскриптазы фрагменты РНК SatIII могут образовывать ДНК-РНК-гибриды, которые встраиваются в область, где локализован SatIII. Сравнение уровней РНК SatIII(1) и содержания SatIII(1) в ДНК в клетках человека в условиях стресса является одним из подходов к проверке этой гипотезы. Ранее было показано, что уровень транскрипции фрагмента SatIII, расположенного на 9-й хромосоме [SatIII(9)], значительно возрастает после нагревания клеток до 42°C, а также при других видах стресса, включая окислительный стресс [5]. В качестве фактора стресса, потенциально индуцирующего транскрипцию SatIII, выбрали нагревание клеток.

Цель работы: сравнить количество РНК SatIII(1) и содержание ДНК повтора SatIII(1) в культивируемых фибробластах кожи человека в условиях индуцированного повышением температуры клеточного стресса.

Методы

Исследовали 10 линий культивируемых фибробластов кожи ранних пассажей (не более четырех пассажей), полученных из образцов кожи пяти больных шизофренией (SZ, нелеченные больные, диагноз

F20.00 по МКБ-10) и пяти здоровых добровольцев (группа К). Клетки культивировали в обычных условиях (10 % сыворотки) до субконфлюентного состояния. Далее температуру в CO₂ инкубаторе повышали до 42°C на 1 час. После этого клетки культивировали при 37°C еще три часа. Из клеточной массы выделяли РНК и ДНК. Анализ РНК SatIII проводили методом ПЦР в реальном времени. В качестве внутреннего стандарта использовали ген *TBP*. Анализ содержания SatIII(1) в ДНК проводили методом нерадиоактивной количественной гибридизации с биотинированным ДНК-зондом. Статистическую обработку проводили с использованием программы Excel Microsoft Office и StatGraph. Для сравнения применили тест Манна—Уитни.

Результаты

Прежде всего мы подтвердили полученный ранее результат: нагревание клеток индуцирует значительное увеличение транскрипции SatIII(9) [5]. SZ-клетки и К-клетки не различались по уровню РНК SatIII(9) при нормальном культивировании ($p > 0,1$). Нагревание индуцировало увеличение в SZ- и К-клетках количества РНК SatIII(9), соответственно, в 54 и 44 раза. В отличие от РНК SatIII(9), количество РНК SatIII(1) в клетках в условиях термального стресса значительно уменьшалось. В SZ-клетках количество РНК SatIII(1) снизилось с 57 ± 9 ед. до 18 ± 12 ед. (~3 раза), в К-клетках — с 38 ± 9 ед. до 6 ± 2 ед. (~6 раз). При нормальной температуре культивирования количество РНК SatIII(1) коррелировало с количеством РНК SatIII(9) в ДНК клеток ($R_s = +0,77$; $p = 0,008$; $n = 10$). После термального стресса наблюдали более выраженную положительную корреляцию между РНК SatIII(1) и РНК SatIII(9) в SZ-группе ($R_s = +0,99$; $p = 0,0001$; $n = 5$) и отсутствие корреляции в К-группе ($R_s = +0,20$; $p = 0,7$; $n = 5$).

Содержание SatIII(1) в ДНК клеток SZ-группы снижалось после стресса на 5–15 %, в К-группе стресс

практически не влиял на содержание SatIII в ДНК. В SZ-группе снижение количества РНК SatIII(1) после стресса положительно коррелировало со снижением содержания SatIII в ДНК клеток ($p < 0,05$).

Заключение

Стресс, вызванный высокой температурой культивирования фибробластов кожи, активирует транскрипцию сателлита III из области прицентромерного гетерохроматина 9-й хромосомы и блокирует транскрипцию сателлита III из области прицентромерного гетерохроматина 1-й хромосомы. Для клеток больных шизофренией снижение содержания SatIII(1) в ДНК положительно коррелирует со снижением количества РНК SATIII(1). Блокировка транскрипции SatIII(1) в условиях стресса потенциально может быть причиной снижения содержания повтора SatIII(1) в ДНК. Поскольку при шизофрении имеет место системный окислительный стресс, затрагивающий все клетки организма, то низкий уровень ДНК SATIII(1) в лейкоцитах крови больных можно объяснить низким уровнем транскрипции повтора в условиях стресса.

Литература / References

1. Imamura A., Morimoto Y., Ono S., Kurotaki N., Kanegae S., Yamamoto N., Kinoshita H., Tsujita T., Okazaki Y., Ozawa H. Genetic and environmental factors of schizophrenia and autism spectrum disorder: insights from twin studies. *J Neural Transm (Vienna)*. 2020 Nov;127(11):1501-1515. doi: 10.1007/s00702-020-02188-w.
2. Ermakov E.A., Dmitrieva E.M., Parshukova D.A., Kazantseva D.V., Vasilieva A.R., Smirnova L.P. Oxidative Stress-Related Mechanisms in Schizophrenia Pathogenesis and New Treatment Perspectives. *Oxid Med Cell Longev*. 2021 Jan 23;2021:8881770. doi: 10.1155/2021/8881770.
3. Ershova E.S., Malinovskaya E.M., Golimbet V.E., Lezheiko T.V., Zakharova N.V., Shmarina G.V., Veiko R.V., Umriukhin P.E., Kostyuk G.P., Kutsev S.I., Izhevskaya V.L., Veiko N.N., Kostyuk S.V. Copy number variations of satellite III (1q12) and ribosomal repeats in health and schizophrenia. *Schizophr Res*. 2020 Sep;223:199-212. doi: 10.1016/j.schres.2020.07.022.
4. Bersani F., Lee E., Kharchenko P.V., Xu A.W., Liu M., Xega K., MacKenzie O.C., Brannigan B.W., Wittner B.S., Jung H., Ramaswamy S., Park P.J., Maheswaran S., Ting D.T., Haber D.A. Pericentromeric satellite repeat expansions through RNA-derived DNA intermediates in cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Dec 8;112(49):15148-53. doi: 10.1073/pnas.1518008112.
5. Valgardsdottir R., Chiodi I., Giordano M., Rossi A., Bazzini S., Ghigna C., Riva S., Biamonti G. Transcription of Satellite III non-coding RNAs is a general stress response in human cells. *Nucleic Acids Res*. 2008 Feb;36(2):423-34. doi: 10.1093/nar/gkm1056.