

## EPIGENETIC VARIABILITY OF RIBOSOMAL CISTRONS OF ACROCENTRIC CHROMATIDS OF CHROMOSOMES 14 IN FETUSES AND NEWBORNS WITH DOWN SYNDROME

T. LEZHAVA<sup>1,2</sup>, T. BUADZE<sup>1,2</sup>, N. SIGUA<sup>3</sup>,  
T. JOKHADZE<sup>1,2</sup>, M. GAIQZISHVILI<sup>1,2</sup>, T. SIGUA<sup>1,2</sup>,  
N. KULIJANASHVILI<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Genetics, Iv. Javakishvili Tbilisi State University, Tbilisi 0128, Georgia.

<sup>2</sup> Institute of Genetics Iv. Javakishvili Tbilisi State University, Tbilisi 0128, Georgia

<sup>3</sup> Center of Prenatal Diagnostics – «Perinatology» Tbilisi 0128, Georgia  
E-mail: lezhavat@yahoo.com

*Following the completion of the Human Genome Project, the strategic focus of modern genetics shifted towards functional genomics, encompassing non-coding regions of DNA, including total non-coding DNA and satellite stalks with ribosomal cistrons. These consist of repetitive sequences of nucleotides localized in heterochromatin, the functions of which still require clarification. The present study investigates the activity of ribosomal cistrons within chromatid satellite stalks (NOR heterochromatin) of acrocentric chromosomes in patients with Down Syndrome +21 (DS). The study comprised: 29 healthy fetuses (441 metaphases from cultivated amniotic fluid); 8 fetuses with DS (190 metaphases from cultivated amniotic fluid); 10 healthy newborns (290 metaphases from cultivated lymphocytes); 10 newborn patients with DS (273 metaphases from cultivated lymphocytes) including: 5 newborn patients with trisomy DS (81 metaphases) and 5 mosaic form of newborns with DS (46, XX or 46, XY/47, XX, +21 or 47, XY, +21) (192 metaphases). The activity of ribosomal cistrons of chromatid on the 14 chromosomes included in associations in the control group (healthy fetuses and healthy newborns) corresponding to the order: 21>14=22=13>15 and 21>14>22>13>15, respectively. In fetuses with DS (21>22>15>13>14), in newborns with DS (21>13>15=22>14), and with mosaicism of cells of newborns with DS (21>13>15>22>14), a statistically significant decrease in the activity of entering associations of chromatids 14 chromosomes was noted. It is noteworthy that, in fetuses, in newborns, and with mosaicism of cells of newborns with DS activity of entering in associations of 14 chromatids with homologous 14 chromatids were not determined :21>13:13>15:15>22:22>14:14; 21:21>22:22>13:13>15:15>14:14 and 21:21>13:13>*

*22:22>15:15>14:14). In fetuses and newborns (control group), the order was: 21:21>22:22>14:14>13:13=15:15 and 14:14=22:22>21:21>13:13>15:15, respectively. These results indicate that in DS, the ribosomal cistrons of chromatids on chromosomes 14 undergo epigenetic changes, leading to a reduction in the activity of ribosomal cistrons on these chromatids. This provides a crucial foundation for the prevention, diagnosis, and treatment of DS. The study of ribosomal gene activity at the level of different acrocentric chromosomes in pathologies represents a new direction for medicine, offering insights into both disease diagnosis and the development of novel treatment strategies in the future.*

## ЕПІГЕНЕТИЧНА ВАРІАБЕЛЬНІСТЬ РИБОСОМНИХ ЦИСТРОНІВ ХРОМАТИД АКРОЦЕНТРИЧНИХ ХРОМОСОМ 14 У ПЛОДІВ ТА НОВОНАРОДЖЕНИХ ІЗ СИНДРОМОМ ДАУНА

Після завершення Проєкту геному людини стратегічний фокус сучасної генетики перемістився на функціональну геноміку, що охоплює некодуючі частини ДНК, зокрема повні некодуючі ДНК і сателітні основи з рибосомними цистронами. Вони складаються з повторюваних послідовностей нуклеотидів, локалізованих у гетерохроматині, функції якого ще не зовсім з'ясовані. У цьому дослідженні вивчається активність рибосомних цистронів усередині хроматидних сателітних основ (NOR гетерохроматин) акроцентричних хромосом у пацієнтів із синдромом Дауна +21 (СВ). Дослідження охопило: 29 здорових плодів (441 метафаза з культивованої амніотичної рідини); 8 плодів з СД (190 метафаз із культивованої амніотичної рідини); 10 здорових новонароджених (290 метафаз із культивованих лімфоцитів); 10 новонароджених пацієнтів із СД (273 метафази із культивованих лімфоцитів), зокрема 5 новонароджених пацієнтів із трисомією СД (81 метафаза) та 5 мозаїчних форм у новонароджених із СД (46, ХХ або 46, ХУ/47, ХХ, +21 або 47, ХУ, +21) (192 метафази). Активність рибосомних цистронів хроматиди на хромосомі 14 включала в себе асоціації в контрольній групі (здорові плоди і здорові новонароджені), що відповідали такому порядку: 21>14=22=13>15 та 21>14>22>13>15, відповідно. У плодів із СД (21>22>15>13>14), у новонароджених із СД (21>13>15=22>14) та з мозаїцизмом клітин новонароджених із СД (21>13>15>22>14) було зареєстровано статистично значиме зниження активності входження в асоціації хроматид хромосоми 14. Варто відмітити, що ні у плодів, ні в новонароджених, ні при мозаїцизмі клітин новонароджених із СД не було визначено активності входження 14 хроматид в асоціації з гомологічними 14 хроматида-

ми (21:21>13:13>15:15>22:22>14:14; 21:21>22:22>13:13>15:15>14:14 та 21:21>13:13>22:22>15:15>14:14). У плодах і новонароджених (контрольна група) порядок був таким: 21:21>22:22>14:14>13:13=15:15 та 14:14=22:22>21:21>13:13>15:15, відповідно. Ці результати вказують на те, що при СД рибосомні цистрони хроматид на хромосомі 14 проходять епігенетичні зміни, що призводять до зниження активності рибосомних цистронів на цих хроматидах. Це забезпечує надзвичайно важливу основу для попередження, діагностики та лікування СД. Вивчення активності рибосомних генів на рівні різних акроцентричних хромосом при патологіях визначає новий напрямок розвитку медицини, поглиблюючи розуміння діагностики хвороби і сприяючи розвитку новітніх стратегій лікування в майбутньому.

#### REFERENCES

- Baranov VC, Kuznecova TV (2006) Cytogenetics of human embryonic development. Published by Nauka, Leningrad
- Bartova E (2010) Structure and EPIGENETICS nucleoli compared with unusual nucleolar compartments. *J Histochem Cytochem* 391:4033–4045
- Bull M (2020) Dawn Syndrome. *N Engl J Med* 382, 24: 2344–2352
- Caudron-Herger M, Diederichs S (2018) Mitochondrial mutations in human cancer: curation of translation. *RNA Biol* 15(1):62–69
- Caudron-Herger M, Pankert T, Seiler J et al (2015) Alu element- containing RNAs maintain nucleolar structure and function. *EMBO J* 34:2758–2774
- Cong R, Das S, Ugrinova I et al (2012) Interaction of nucleolin with ribosomal RNA genes and its role in RNA polymerase I transcription. *Nucleic Acid Res* 19:9441–9454
- Connolly M, Paul R, Farre-Garros R, Natanek S et al (2018) miR- 424–5p reduces ribosomal RNA and protein synthesis in muscle wasting. *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 9(2):400–416
- Donati G, Montanaro L, Derenzini M (2012) Ribosome biogenesis and control of cell proliferation: p53 is not alone. *Cancer Res* 72:1602–1607
- Espada J, Ballestar E, Santoro R et al (2007) Epigenetic disruption of ribosomal RNA genes and nucleolar architecture in DNA methyltransferase 1(Dnmt1) deficient cells. *Nucleic Acids Res* 35(7):2191–2198
- Ginisty H, Sicard H, Roger B, Bouvet P (1999) Structure and functions of nucleolin. *J Cell Sci* 112:761–772.
- Grummt I, Pikaard CS (2003) Epigenetic mechanisms controlling RNA polymerase I transcription. *Nature Rev Mol Cell Biol* 4:641–649
- Hatch-Stain J, Zemel B, Prasad D et al (2016) Body composition and BMI growth charts in children with Dawn syndrome. *Pediatrics* 138,4: e20160541
- Héliot L, Mongelard F, Klein C et al (2000) Nonrandom distribution of metaphase AgNOR staining patterns on human acrocentric chromosomes. *J Histochem Cytochem* 48:13–20
- Hirota K, Miyoshi T, Kugou K et al (2008) Stepwise chromatin remodeling by a cascade of transcription initiation of non-coding RNA. *Nature* 456:130–134.
- Kalpna V, Sai Ram G, Soujanya P (2017) Robertsonian Translocations t(21q;21q) and t(14q;21q) in Down Syndrome. *Inter J Med Res Health Sci* 6(12):53–58
- Kang J, Brajanovski N, Chan KT et al (2021) Ribosomal proteins and human diseases: molecular mechanisms and targeted therapy. *Sig Transduct Target Ther* 6:323. <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00728-8>
- Khatter H, Myasnikov A, Natchiar S, Klaholz B (2015) Structure of the human 80S ribosome. *Nature* 520: 640–645
- Kim J, Dilthey A et al (2018) Variation in human chromosome 21 ribosomal RNA genes characterized by TAR cloning and longread sequencing. *Nucl Acid Res* 46:6712–6725
- Lemos B, Araripe LO, Hartl D (2008) Polymorphic Y chromosomes harbor cryptic variation with manifold functional consequences. *Science* 319:91–93
- Lezhava A, Jokhadze A, Monaselidze J (2012) The functioning of «aged» heterochromatin, Edited by Tetsuji Nagata/Senescence. *Intech Open Science Chapter* 26:631–664
- Lezhava T (2006) Human chromosomes and aging: from 80 to 114 Years. Nova Science Publisher, New York, 177 p
- Lezhava T, Buadze T, Jokhadze T et al (2019) Normalization of epigenetic change in the genome by peptide bioregulator (Ala- Glu-Asp-Glu) in pulmonary tuberculosis. *Int J Pept Res Ther* 25:555–563
- Lezhava T, Buadze T, Mikaia N et al (2021) Epigenetic activation of ribosomal cistrons in chromatids of acrocentric chromosome 15 in lung cancer. *Cytol Genet* 55(5):491–497
- Lezhava T, Buadze T, Monaselidze J et al (2020) Epigenetic changes of activity of the ribosomal cistrons of human acrocentric chromatids in fetuses, middle-aged (22–45 years) and old individuals (80–106 years). *Cytol Genet* 54(3):233–242
- Lezhava T, Chavinson V T, Jokhadze T et al (2023) Epigenetic Activation of Ribosomal Cistrons in Chromatids of Acrocentric Chromosome 15<sup>th</sup> in Ductal Breast Cancer. *Inter J Peptide Res Therapeut* 29 (2):1–9. <https://doi.org/10.1007/s10989-023-10489-3>
- Li H, Li Y, Zhao R et al (2019) Cytogenetic Analysis of Amniotic Fluid Cells in 4206 Cases of High-Risk Pregnant Women. *Iran J Public Health* 48(1):126–131
- Liu Y, Chern Y (2021) Contribution of energy dysfunction

- to impaired protein translation in neurodegenerative diseases. *Front Cell Neurosci* 15:PMC8355359
- Malinovskaya E, Ershova E, Golimbet V et al (2018) Copy number of human ribosomal genes with aging: unchanged mean, but narrowed range and decreased variance in elderly group. *Front Genet* 9:306. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00306>
- Mayer C, Grummt I (2006) Ribosome biogenesis and cell growth: mTOR coordinates transcription by all three classes of nuclear RNA polymerases. *Oncogene* 48:6384–6391
- Mazin AL (2009) Suicidal function of DNA methylation in age-related genome disintegration. *Ageing Res Rev* 8:314–327
- McStay B, Grummt I (2008) The epigenetics of rRNA genes: from molecular to chromosome biology. *Ann Rev Cell Dev Biol* 24:131–135
- Németh A, Längst G (2011) Genome organization in and around the nucleolus. *Trends Genet* 4:149–156.
- Olson M (2011) The nucleolus. Springer Science, LLC, pp 3–103
- Patterson D (2009) Molecular genetic analysis of Down syndrome. *Hum Genet* 126(1):195–214
- Porokhovnik L, Gerton J (2019) Ribosomal DNA-connecting ribosome biogenesis and chromosome biology. *Chromosome Res* 27(1–2):1–3. <https://doi.org/10.1007/s10577-018-9601-4>
- Porokhovnik L, Lyapunova N (2019) Dosage effects of human ribosomal genes (rDNA) in health and disease. *Chromosome Res* 27:5–17
- Prokofyeva-Belgovskaya A (1986) Heterochromatin regions of chromosomes. M. Nauka
- Savkur RS, Olson MO (1998) Protein B23 endoribonuclease could play a role in pre-rRNA processing. *Nucl Acid Res* 26:4508–4515
- Schmitz K, Schmit N, Hoffmannrobrer U et al (2009) TAF12 recruits Gadd45a and the nucleotide excision repair complex to the promoter of rRNA genes leading to active DNA demethylation. *Mol Cell* 33:344–353
- Sluis M, Vuuren C, Mangan H et al (2020) NORs on human acrocentric chromosome p-arms are active by default and can associate with nucleoli independently of rDNA. *PNAS* 117:10368–10377
- Storck S, Shukla M, Dimitrov S et al (2007) Functions of the histone chaperone nucleolin in diseases. *Biochem* 41:125–144
- Sullivan G, Bridger G, Cuthbert A et al (2001) Human acrocentric chromosomes with transcriptionally silent nucleolar organizer regions associate with nucleoli. *EMBO J* 20:2867–2877
- Tsou A, Bulova P, Capone G et al (2020) Global Dawn Syndrome foundation medical care guidelines for adult with Down syndrome: clinical guideline. *JAMA*, 20, 324, 15:1543–1556
- Valori V, Tus K, Laukaitis C et al (2020) Human rDNA copy number is unstable in metastatic breast cancers. *Epigenetics* 15:85–106
- Weijerman M, de Winter PJ (2010) Clinical practice. The care of children with Down syndrome. *Eur J Pediatr* 169(12):1445–1452

Received February 19, 2024

Received February 29, 2024

Accepted September 18, 2024