

## Деконструкция механизмов старения и долголетия с помощью генных сетей

Холдина Д.А.<sup>1\*</sup>, Дмитриев С.Е.<sup>3</sup>, Тышковский А.Э.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Факультет биоинженерии и биоинформатики, Московский государственный университет, Москва, Россия

<sup>2</sup> Brigham and Women's Hospital, Медицинская Школа Гарварда, Бостон, США

<sup>3</sup> НИИ физико-химической биологии им. А.Н. Белозерского, Московский государственный университет, Москва, Россия

\* dashakholdina@gmail.com

**Ключевые слова:** часы старения; транскриптомные часы; генные сети; биомаркеры старения

**Мотивация и цель:** В области исследования старения за последние годы наблюдаются значительные достижения, такие как разработка количественных молекулярных биомаркеров биологического возраста и продолжительности жизни [1, 2], а также открытие различных интервенций, способных увеличить продолжительность жизни млекопитающих [3, 4], как правило, путем воздействия на один или несколько установленных признаков старения [5]. Хотя молекулярные инструменты, такие как эпигенетические часы, продемонстрировали свою способность предсказывать возраст и смертность, всестороннее понимание точных механизмов, лежащих в основе этих предсказаний, остается туманным. В данной работе мы руководствовались целью деконструировать возраст-зависимые изменения генной экспрессии на функционально интерпретируемые ко-регулируемые составляющие.

**Методы и алгоритмы:** Чтобы создать более интерпретируемую альтернативу традиционным эпигенетическим часам, наша лаборатория разработала транскриптомные часы. Эти модели предсказывают биологический возраст и ожидаемую смертность млекопитающих, используя данные об экспрессии генов из более чем 4 500 образцов, собранных из 26 тканей мышей и крыс разного возраста и пола, а также животных, подвергшихся различным вмешательствам, регулирующим продолжительность жизни, таким как прогерия, ограничение калорийности и применение рапамицина. Для того, чтобы получить ко-регулируемые наборы генов, мы использовали данные, использовавшиеся для построения общих часов, и кластеризовали гены по характеру изменения их экспрессии с помощью метода Weighted Gene Co-expression Network Analysis (WGCNA) [6]. Далее для каждого функционально интерпретируемого модуля генов были построены собственные транскриптомные часы, которые затем применялись к данным о генной экспрессии различных возраст-зависимых заболеваний.

**Результаты:** Наш анализ выявил более 20 модулей генов, которые в значительной степени коррелируют со старением и смертностью, а также связаны с отдельными функциональными процессами клетки. Так, среди них были обнаружены модули, которые участвуют в воспалительной реакции, интерфероном ответе, клеточном дыхании, липидном обмене, клеточном цикле и организации внеклеточного матрикса. Используя выявленные подмножества ко-регулируемых генов, мы

построили часы хронологического возраста, смертности и продолжительности жизни для отдельных компонентов транскриптома и применили их для характеристики молекулярных механизмов, ответственных за про- или антивозрастной эффект различных возраст-зависимых заболеваний мышей (болезнь Альцгеймера, диабет и другие). В согласии с предсказанием общих часов, большинство модульных часов показало статистически значимое увеличение биологического возраста в образцах болезней по сравнению с контрольными образцами того же хронологического возраста. Модулями, внесшими наибольший вклад в повышение возраста в большинстве моделей, оказались модули воспалительного ответа, интерферонового сигнального пути и энергетического метаболизма (окислительное фосфорилирование, клеточное дыхание). Интересно, что в данных по раку, несмотря на уменьшение общего транскриптомного возраста, мы наблюдали повышение возраста для отдельных модулей, в то время как модуль, связанный с организацией внеклеточного матрикса и дифференциацией клеток, показал противоположный эффект. Известно, что хотя рак тесно связан со старением, его фенотип включает в себя как признаки старого организма, так и черты молодых де-дифференцированных клеток, которые, как было неоднократно показано ранее, ассоциированы с уменьшением биологического возраста. В контексте таких многофакторных и гетерогенных состояний, как раковые опухоли, особенно важно иметь возможность деконструировать общую оценку биологического возраста на отдельные интерпретируемые компоненты, что и отображают разработанные нами модульные часы.

**Выводы:** В нашей работе были идентифицированы функционально однородные ко-регулируемые модули генов, ассоциированные со старением и долголетием млекопитающих. Для этого эффективным оказалось использование метода WGCNA, благодаря которому удалось идентифицировать 26 кластеров, обогащенные генами, ответственными за воспалительный ответ, клеточное дыхание, организацию внеклеточного матрикса и другие функции. Для каждого из модулей были построены часы хронологического возраста и смертности, что позволяет деконструировать эффект композитных транскриптомных часов на отдельные функциональные компоненты и лучше интерпретировать эффект различных интервенций и заболеваний на различные механизмы старения.

## **From genes to gears: exploring the mechanics of aging and longevity through transcriptomic clocks and network analysis**

Kholdina D.A.<sup>1\*</sup>, Dmitriev S.E.<sup>3</sup>, Tyshkovskiy A.E.<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston, USA

<sup>3</sup> Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Moscow State University, Moscow, Russia

\* dashakhholdina@gmail.com

**Key words:** aging clocks; transcriptomic clocks; gene networks; aging biomarkers

*Motivation and Aim:* The field of aging research has seen significant advances in recent years, such as the development of quantitative molecular biomarkers of biological age and longevity [1, 2], and the discovery of various interventions that can increase mammalian longevity [3, 4], typically by targeting one or more established hallmarks of aging [5]. Although molecular tools such as epigenetic clocks have demonstrated their ability to predict age and mortality, a comprehensive understanding of the precise mechanisms underlying these predictions remains obscure. In this work, we were motivated by the goal of deconstructing age-dependent changes in gene expression into functionally interpretable co-regulated components.

*Methods and Algorithms:* To create a more interpretable alternative to traditional epigenetic clocks, our lab has developed transcriptomic clocks. These models predict mammalian biological age and expected mortality using gene expression data from more than 4,500 samples collected from 26 tissues from mice and rats of different ages and sexes, as well as animals subjected to various lifespan-regulating interventions such as progeria, caloric restriction, and rapamycin administration. In order to obtain co-regulated gene sets, we used the data used to construct a common clock and clustered genes according to the nature of their expression changes using the Weighted Gene Co-expression Network Analysis (WGCNA) method [6]. Next, a custom transcriptome clock was constructed for each functionally interpretable gene module, which was then applied to gene expression data for various age-related diseases.

*Results:* Our analysis identified more than 20 gene modules that are significantly correlated with aging and mortality and are also associated with distinct functional processes of the cell. Thus, among these, we found modules that are involved in inflammatory response, interferon response, cellular respiration, lipid metabolism, cell cycle and organisation of the extracellular matrix. Using the identified subsets of co-regulated genes, we constructed chronological age, mortality and lifespan clocks for individual components of the transcriptome and applied them to characterise the molecular mechanisms responsible for the pro- or anti-aging effects of various age-related diseases in mice (Alzheimer's disease, diabetes and others). In agreement with the prediction of a common clock, most of the modular clocks showed a statistically significant increase in biological age in disease samples compared to control samples of the same chronological age. The modules that contributed most to the increase in age in most models were found to be those of the inflammatory response, interferon signalling pathway and energy metabolism (oxidative phosphorylation, cellular respiration). Interestingly, in the cancer data, despite a decrease in total transcriptome age, we observed an increase in age for individual modules, while a module related to extracellular matrix organisation and cell differentiation showed the opposite effect. It is known that although cancer is closely associated with aging, its phenotype includes both features of an old organism and features of young de-differentiated cells, which have been repeatedly shown previously to be associated with a decrease in biological age. In the context of multifactorial and heterogeneous conditions such as cancer, it is particularly important to be able to deconstruct the overall estimate of biological age into individual interpretable components, which is what the modular clock we developed displays.

*Conclusion:* Our work identified functionally homogeneous co-regulated gene modules associated with aging and longevity in mammals. The WGCNA method was effective for this purpose, and we were able to identify 26 clusters enriched with genes responsible for inflammatory response, cellular respiration, extracellular matrix organisation and

other functions. A chronological age and mortality clock was constructed for each module, allowing us to deconstruct the effect of the composite transcriptome clock on individual functional components and to better interpret the effect of different interventions and diseases on different aging mechanisms.

### *Список литературы/References*

1. Lu A.T., Fei Z., Haghani A. et al. Universal DNA methylation age across mammalian tissues. *Nat Aging*. 2023;3(9):1144-1166
2. Tyshkovskiy A., Ma S., Shindyapina A.V. et al. Distinct longevity mechanisms across and within species and their association with aging. *Cell*. 2023;186(13):2929-2949.e20
3. Strong R., Miller R.A., Cheng C.J. et al. Lifespan benefits for the combination of rapamycin plus acarbose and for captopril in genetically heterogeneous mice. *Aging Cell*. 2022;21(12):e13724
4. Miller R.A., Harrison D.E., Allison D.B. et al. Canagliflozin extends life span in genetically heterogeneous male but not female mice. *JCI Insight*. 2020;5(21):e140019
5. López-Otín C., Blasco M.A., Partridge L., Serrano M., Kroemer G. Hallmarks of aging: An expanding universe. *Cell*. 2023;186(2):243-278
6. Langfelder P., Horvath S. WGCNA: an R package for weighted correlation network analysis. *BMC Bioinformatics*. 2008;9(1):559