

УНИВЕРСАЛЬНЫЕ МАРКЕРЫ КЛЕТОЧНОГО И РЕПЛИКАТИВНОГО СТАРЕНИЯ

DOI: 10.37586/2949-4745-3-2024-121-130

УДК: 616-01

Арбатский М.С. *, Баландин Д.Е. 

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России (Пироговский Университет), ОСП «Российский геронтологический научно-клинический центр», Москва, Россия

* Автор, ответственный за переписку Арбатский М.С. E-mail: arbatsky_ms@rgnkc.ru

Резюме

ОБОСНОВАНИЕ. Исследование клеточного и репликативного старения важно для биологии и медицины, особенно в свете роста доли пожилого населения. Понимание механизмов этих типов старения может помочь в разработке стратегий для продления активного долголетия. Сравнение этих процессов выявляет общие и уникальные молекулярные механизмы, что открывает новые подходы для диагностики и терапии возрастных заболеваний. Найденные маркеры старения могут способствовать персонализированной медицине, улучшая диагностику и лечение стареющих клеток. Таким образом, эти исследования значительно способствуют разработке методов борьбы с возрастными заболеваниями.

ЦЕЛЬ. Исследование направлено на анализ клеточного и репликативного старения для выявления общих механизмов старения. Цель — понять взаимосвязь этих процессов и их влияние на возрастные изменения. Задачи включают идентификацию аспектов старения, определение молекулярных маркеров для диагностики и мониторинга возрастных заболеваний. Результаты помогут в предотвращении и лечении возрастных заболеваний и улучшении здоровья населения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Для анализа использовались публичные датасеты E-MTAB-4879 (клеточное старение) и GSE130727 (репликативное старение). Проверка качества осуществлялась с помощью программы FastQC. Удаление адаптеров с помощью последовательной обработки программами cutadapt 2.3 и Trimmomatic-0.38. Картирование с помощью программы bowtie2-2.4.0. Перепроверка результатов картирования с помощью алгоритма псевдовыравнивания kallisto-v0.45.0. Квантификация с помощью featureCounts. Нормализация RPKM (Read Per Kilobase per Million) (для усреднения общего числа прочтений, глубины покрытия и длины гена). Для поиска регулирующих микроРНК использовался онлайн-сервис mirnet.ca

РЕЗУЛЬТАТЫ. Для групп генов, снизивших (7275) и повысивших (5059 генов) свой уровень экспрессии из датасетов E-MTAB-4879 и GSE130727 после фильтрации, были определены биологические процессы, в которых они участвуют. Для списков из 15 топ-генов для каждого приведена информация о его участии в процессе старения. Также для группы общих генов с высокой представленностью были определены функциональные группы по GO. В исследовании сравнили два датасета генов, связанных со старением, и об-

наружили 7275 общих генов с пониженной экспрессией. Из них 1342 гена проявили значительное снижение экспрессии, среди которых выделяются процессы, связанные с сигнализацией G-белков, метаболизмом холестерина и цитокиновой сигнализацией. Некоторые гены влияют на старение через воспалительные реакции, контроль мембранного потенциала, нейродегенерацию и клеточную дифференцировку. Дополнительный анализ выявил 143 нкРНК, связанных со старением и онкогенезом. Среди 1673 генов, увеличивших свою экспрессию, выделяются группы, относящиеся к таким процессам, как биосинтез глицеролипидов, регуляция актиновых филаментов и заживление ран. Из них 194 нкРНК связаны с онкогенезом и остеогенезом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. В заключении нашего исследования мы выявили ключевые различия и сходства между клеточным и репликативным старением, что позволяет глубже понять эти процессы и их роль в возрастных изменениях. Анализ показал, что общие молекулярные механизмы, такие как снижение экспрессии генов, связанных с сигнализацией G-белков и метаболизмом холестерина, оказывают значительное влияние на оба типа старения. Также установлены уникальные особенности, такие как различия в выражении определенных генов и нкРНК, что открывает возможности для развития персонализированных стратегий диагностики и терапии. Идентифицированные маркеры и механизмы могут способствовать не только диагностике, но и мониторингу возрастных изменений, что, в свою очередь, улучшает подходы к лечению возрастных заболеваний. Таким образом, наше исследование значительно продвигает развитие методов борьбы с возрастными заболеваниями, подчеркивая важность изучения общих и уникальных аспектов клеточного и репликативного старения.

Ключевые слова: клеточное старение; репликативное старение; биомаркеры старения.

Для цитирования: Арбатский М.С., Баландин Д.Е. Универсальные маркеры клеточного и репликативного старения. *Проблемы геронауки*. 2024; 3(7): 121–130. doi: 10.37586/2949-4745-3-2024-121-130

UNIVERSAL MARKERS OF CELLULAR AND REPLICATIVE SENESCENCE

Arbatskiy M.S. *, Balandin D.E. 

Russian Gerontology Research and Clinical Centre, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

*Corresponding author Arbatskiy M.S. E-mail: arbatsky_ms@rgnkc.ru

Abstract

The investigation into cellular and replicative aging is crucial for both biology and medicine, particularly in light of the increasing percentage of the older population. Gaining a deeper understanding of the mechanisms of these forms of aging can help develop strategies aimed at prolonging active longevity. By comparing the processes of cellular and replicative aging, researchers can reveal both common

and distinct molecular mechanisms, thus opening innovative approaches for diagnosing and treating age-related diseases. The identified aging markers can contribute to personalized medicine, improving the diagnosis and treatment of aging cells. Thus, these studies enhance developing methods for combating age-related diseases.

AIM. The study aims to analyze cellular and replicative aging in order to identify common mechanisms underlying the aging process. The goal is to understand the relationship between these processes and their influence on age-related changes. Specific objectives include identifying aspects of aging and identifying molecular markers that can be used for the diagnosis and monitoring of age-related disorders. The findings from this study will contribute to the prevention and management of age-related conditions, thereby improving overall population health.

MATERIALS AND METHODS. The public datasets E-MTAB-4879 (cellular senescence) and GSE130727 (replicative senescence) were analysed. Quality control was carried out using the FastQC program. Adapter removal was performed by sequencing using the cutadapt 2.3 and Trimmomatic-0.38 programs. Mapping was done using the bowtie2-2.4.0 program. Re-verification of the mapping results was performed using the kallisto-v0.45.0 pseudo-alignment algorithm. Quantification was done using featureCounts. RPKM (Read Per Kilobase per Million) normalization was applied (to the average total reads, coverage depth, and gene length). The mirnet.ca online service was used to search for regulatory miRNAs.

RESULTS. For groups of genes that showed decreased (7,275) and increased (5,059) expression levels in the E-MTAB-4879 and GSE130727 datasets after filtering, we identified the biological processes they are involved in. For lists of the top 15 genes, we provided information on their role in the aging process. Additionally, for a group of commonly expressed genes, functional groups were determined using GO. The study compared two aging-related gene datasets and identified a total of 7,275 genes with decreased expression. Of these, 1,342 showed significant decreases in expression, with processes related to G-protein signaling, cholesterol metabolism, and cytokine signaling standing out. Some genes affect aging through inflammatory responses, membrane potential control, neurodegeneration, and cell differentiation. Further analyses identified 143 non-coding RNAs associated with aging and cancer. In a separate group, 1,673 genes exhibited increased expression, involving processes such as glycerolipid biosynthesis and actin filament regulation, as well as wound healing. Among these, 194 non-coding RNAs were linked to oncogenesis and osteogenesis.

CONCLUSION. In conclusion, our study has identified key differences and similarities between cellular and replicative aging. This has allowed us to gain a deeper understanding of these aging processes and their roles in age-related changes. The analysis revealed that common molecular mechanisms such as decreased gene expression related to G-protein signaling and cholesterol metabolism significantly influence both forms of aging. Additionally, unique features have been identified, including differences in gene and non-coding RNA expression, which opens up possibilities for the development of personalized diagnostic and treatment strategies. These identified markers and mechanisms have the potential to contribute not only to diagnosis but also to monitoring of age-related changes and improving approaches to age-associated disease treatment. Therefore, our research significantly contributes to the development

of techniques to combat age-associated illnesses by emphasizing the significance of investigating both the common and distinctive features of cellular and replicative aging processes.

Keywords: cellular aging; replicative aging; biomarkers of aging.

For citation: Arbatskiy M.S., Balandin D.E. Universal Markers of Cellular and Replicative Senescence. *Problems of Geroscience*. 2024; 3(7): 121–130. doi: 10.37586/2949-4745-3-2024-121-130

ВВЕДЕНИЕ

Старение клеток — это сложный процесс, который изучается многими учеными в различных областях биологии. Два ключевых типа старения клеток, которые привлекают особое внимание, — это клеточное старение и старение после прекращения деления, также известное как сенесценция. Клеточное старение — это процесс, при котором клетки постепенно теряют свою способность к делению и регенерации. Этот процесс обычно ассоциируется с накоплением повреждений в ДНК, вызванных различными стрессорами, такими как окислительный стресс, воздействие токсинов и другие внешние факторы. Одной из основных причин клеточного старения является сокращение теломеров. Теломеры — это участки ДНК на концах хромосом, которые уменьшаются после каждого цикла клеточного деления. По мере их укорачивания клетка приходит к конечной точке деления, что в итоге приводит к ее гибели или переходу в состояние сенесценции. Старение после прекращения деления, или сенесценция, представляет собой состояние, при котором клетки перестают делиться, но остаются живыми и активными. Клетки в состоянии сенесценции часто выражают специфические маркеры, свидетельствующие об их функциональном изменении. Этот процесс может быть вызван различными факторами, включая повреждения ДНК, стрессовые сигналы или сигналы от соседних клеток. В отличие от клеток, испытывающих клеточное старение, клетки в состоянии сенесценции могут продолжать выполнять некоторые функции, такие как секреция факторов роста или участие в ремоделировании тканей, хотя их способность к делению ограничена. Клеточное старение и старение после прекращения деления имеют различные механизмы и последствия. В то время как клеточное старение приводит к потере способности к делению и регенерации, сенесценция представляет собой переходное состояние, в котором клетки остаются живыми, но перестают делиться. Кроме того, хотя оба процесса могут быть вызваны повреждениями ДНК, сенесценция также может быть связана с другими стрессовыми факторами, не обязательно связанными с кумулятивными повреждениями генома. В целом понимание различий между этими двумя типами старения клеток помогает более полно понять биологические механизмы старения и разработать подходы к его замедлению или обращению.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Основной целью данного исследования является всесторонний анализ и сравнение клеточного и репликативного старения, чтобы выявить ключевые молекулярные и клеточные механизмы, которые способствуют процессу старения. Задача — понять, как эти два типа старения взаимодействуют и влияют друг на друга, а также как они связаны с возрастными изменениями на уровне организма. Через изучение и сравнение клеточных и репликативных данных старения в статье ставятся следующие задачи:

- идентифицировать общие паттерны и уникальные особенности каждого типа старения;
- определить молекулярные маркеры, которые могут служить индикаторами старения и возраст-ассоциированных заболеваний;
- разработать новые подходы для ранней диагностики и мониторинга возрастных заболеваний на основе выявленных маркеров.

Достижение этих целей позволит не только углубить понимание биологии старения, но и открыть новые перспективы для предотвращения и лечения возрастных заболеваний, что имеет огромное значение для улучшения здоровья и благополучия населения в условиях старения общества.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Датасет E-MTAB-4879 (RNA-seq, paired-end, 2*100bp) содержит информацию о 30 образцах клеток от молодых и пожилых доноров, 22 из которых являются тендогенными, хондрогенными и остеогенными конструкциями. Было использовано 8 образцов мезенхимных стволовых клеток костного мозга. Средний возраст 4 молодых доноров (3 женщины, 1 мужчина) — 21 год, пожилых (4 мужчины) — 65 лет.

Датасет GSE130727 [1] (Illumina HiSeq, RNA-seq, paired-end, 2*150bp) содержит информацию о 37 образцах. Для исследования использованы диплоидные фибробласты легких человека линий WI-38 и IMR-90. Из 37 образцов было использовано 8. 4 образца (Illumina HiSeq 4000) клеток линии IMR-90 (2 образца — PDL15 (population doubling level), 2 образца — PDL52), 4 образца (Illumina HiSeq 2500) клеток линии WI-38 (2 образца — Replicative exhaustion, 2 образца — Proliferating Control).

Проверка качества осуществлялась с помощью программы FastQC. Удаление адаптеров с помощью последовательной обработки программами cutadapt 2.3 и Trimmomatic-0.38. Картирование с помощью программы bowtie2-2.4.0. Перепроверка результатов картирования с помощью алгоритма псевдовыравнивания kallisto-v0.45.0. Квантификация с помощью featureCounts. Нормализация RPKM (Read Per Kilobase per Million). Такая нормализация используется для усреднения общего числа прочтений, глубины покрытия и длины гена. Для поиска регулирующих микроРНК использовался онлайн-сервис mirnet.ca

РЕЗУЛЬТАТЫ

Для сравнения профилей клеточного (мезенхимные стволовые клетки) и репликативного старения (диплоидные фибробласты легких) были использованы результаты экспериментов **E-MTAB-4879** [2] (клеточное старение) и **GSE130727** (репликативное старение).

При сопоставлении результатов эксперимента по клеточному старению E-MTAB-4879 (14 600 генов) с результатами эксперимента по репликативному старению GSE130727 (17 846 генов) в группах генов, **понижающих свой уровень** экспрессии, совпало 7275 генов. После фильтрации по параметру FC < 0,5 (больше чем наполовину) в группе осталось 1342 гена.

Среди 1342 генов самыми распространенными процессами оказались GO:0007186 G protein-coupled receptor signaling pathway, GO:0008203 Cholesterol metabolic process, GO:0019221 Cytokine-mediated

signaling pathway. Ниже, в таблице 1, приводится список 15 топ-генов, с максимально низким уровнем экспрессии.

Перечисленные гены играют разнообразные роли в процессах клеточного и репликативного старения. Например, CXCL6 и IL1B участвуют в воспалительных реакциях, которые могут ускорять старение клеток за счет хронического воспаления. KCNK3, кодирующий калиевый канал, может влиять на старение через контроль мембранного потенциала и гомеостаза. MLC1, SHISA2 и TAFA5 связаны с функциями головного мозга и могут способствовать старению через нейродегенеративные изменения. HOXA6 и SLITRK6 участвуют в развитии и дифференцировке клеток, что может влиять на старение через эти пути. CRHBP и CSMD1 могут влиять на старение через метаболические и иммунные пути, связанные с хроническим воспалением и нейродегенерацией.

При сопоставлении результатов эксперимента по клеточному старению E-MTAB-4879 (7724 гена) с результатами эксперимента по репликативному старению GSE130727 (22 946 генов) в группах генов, **повышающих свой уровень** экспрессии, совпало 5059 генов. После фильтрации по параметру FC > 2 в группе осталось 1673 гена.

Среди 1673 генов самыми распространенными процессами оказались GO:0045017 Glycerolipid biosynthetic process, GO:0008202 Steroid metabolic process, GO:0110053 Regulation of actin filament organization, GO:0043269 Regulation of ion transport, GO:1901135 Carbohydrate derivative metabolic process, GO:0045765 Regulation of angiogenesis и GO:0061041

Таблица 1.

Топ-15 генов, понизивших свой уровень экспрессии (FC < 0,5)

Ген	Аннотация	E-MTAB-4879 FC	GSE130727 FC
CXCL6	C-X-C motif chemokine ligand 6	0,21875	0,001416832
KCNK3	potassium two pore domain channel subfamily K member 3	0,02247191	0,005898123
MLC1	modulator of VRAC current 1	0	0,017566688
TMEM100	transmembrane protein 100	0,270588235	0,020072993
CRHBP	corticotropin releasing hormone binding protein	0,375	0,022062879
IL1B	interleukin 1 beta	0,258426966	0,023088023
SHISA2	shisa family member 2	0,263736264	0,023417173
MDFI	MyoD family inhibitor	0,5	0,025776603
CSMD1	CUB and Sushi multiple domains 1	0,419354839	0,035714286
TAFA5	TAFA chemokine like family member 5	0,295652174	0,041666667
SLITRK6	SLIT and NTRK like family member 6	0,4	0,050297645
KIF26B-AS1	KIF26B antisense RNA 1	0,238095238	0,053333333
Z93242.1	calcium binding protein P22 (CHP) pseudogene	0,428571429	0,053475936
HOXA6	homeobox A6	0,379032258	0,05635148
PTGES	prostaglandin E synthase	0,358738828	0,05636583

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Regulation of wound healing. Ниже, в таблице 2, приводится список 15 топ-генов с максимально высоким уровнем экспрессии.

Перечисленные гены играют разнообразные роли в процессах клеточного и репликативного старения. Например, SERPINB7, LBP, ACKR участвуют в иммунных реакциях и воспалении. PDK4 и SLC28A3 — в регуляции метаболизма и энергетического баланса. OSTN, GDF6 — в развитии и старении скелета. PNMA2 и NPAS3 — в нейронных функциях и нейродегенерации. CCND2 участвуют в регуляции клеточного цикла и деления. TMEM229B, CCDC81 — в структурной организации и транспорте молекул. TENT5C — в белковом гомеостазе и синтезе белка. MMP3 — в разрушении внеклеточного матрикса и тканевом старении. GCNT4 участвуют в гликозилировании белков и клеточных сигнальных путях.

АНАЛИЗ ОБОГАЩЕНИЯ ПО GO В КЛАСТЕРАХ С НАИБОЛЬШЕЙ ПРЕДСТАВЛЕННОСТЬЮ

В данном разделе было введено биологически обоснованное понятие «представленности кластеров». Известно, что кластеры в системе аннотации GO содержат постоянное число входящих в них генов. Чем больше генов в анализируемой выборке войдет в данный кластер, тем выше будет его представленность и тем выше для клетки в данный момент значимость процесса, в который эти гены вовлечены.

При анализе совпадающих генов, понизивших свой уровень экспрессии, по GO (Biological process)

наиболее представлены кластеры (процент представленности более 1%) генов, отвечающих за эмбриональное развитие опорно-двигательной системы, подавление клеточного развития и клеточную дифференцировку (табл. 3).

При анализе совпадающих генов, повысивших свой уровень экспрессии, по GO (Biological process) и KEGG (метаболические пути) (процент представленности более 3%) представлены кластеры генов, отвечающих за адгезию клеток к субстрату и организацию внеклеточного матрикса (табл. 4).

АНАЛИЗ МИКРОРНК

При сопоставлении результатов эксперимента по клеточному старению E-MTAB-4879 с результатами эксперимента по репликативному старению GSE130727 в группах генов, понижающих свой уровень экспрессии, совпало 7275 генов из 14 600. После фильтрации по параметру FC < 0,5 в группе осталось 1342 гена, из которых 326 были распознаны онлайн-ресурсом mirnet.ca и использовались для поиска регулирующих эти гены микроРНК. Список микроРНК, гены которых понизили свой уровень экспрессии. Из списка 326 генов, с FC < 0,5, в дальнейший анализ попало 143.

Среди микроРНК, встречающихся в списке генов, понизивших свой уровень экспрессии, есть hsa-mir-335-5p, hsa-mir-106b-5p, hsa-mir-20a-5p и hsa-mir-106a-5p. По литературным данным, они связаны со старением. hsa-mir-192-5p, hsa-mir-215-5p, hsa-mir-20b-5p являются онкогенными. hsa-mir-92a-3p

Таблица 2.

Топ-15 генов, повысивших свой уровень экспрессии (FC > 2)

Ген	Аннотация	E-MTAB-4879 FC	GSE130727 FC
SERPINB7	serpin family B member 7	4,564516129	167,88
OSTN	osteoerin	3,7	106,25
LBP	lipopolysaccharide binding protein	10,21428571	103,1111111
GDF6	growth differentiation factor 6	2,18639329	101,9285714
PNMA2	PNMA family member 2	2,393030794	57,32012195
MMP3	matrix metalloproteinase 3	5,714285714	56,22419929
PDK4	pyruvate dehydrogenase kinase 4	4,714285714	45,41666667
ACKR3	atypical chemokine receptor 3	2,59375	45,22222222
SLC28A3	solute carrier family 28 member 3	2,277777778	36,9
NPAS3	neuronal PAS domain protein 3	3,25	36,78571429
TENT5C	terminal nucleotidyltransferase 5C	2,048192771	33,69767442
CCND2	cyclin D2	9,775413712	32,30428056
GCNT4	glucosaminyl (N-acetyl) transferase	2,270588235	30,64
TMEM229B	transmembrane protein 229B	2,157894737	29,76666667
CCDC81	coiled-coil domain containing 81	11,77777778	28,30357143

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Таблица 3.

Топ-10 кластеров (гены, понизившие свой уровень экспрессии)

GO: Biological process	Функциональность класса	Размер класса	Число анализируемых генов	Число вошедших в кластер генов	Представленность генов в кластере
GO:BP	embryonic skeletal system morphogenesis	97	151	7	0,072164948
GO:BP	negative regulation of cell development	350	151	13	0,037142857
GO:BP	cell morphogenesis involved in differentiation	769	151	20	0,026007802
GO:BP	regulation of nervous system development	963	151	25	0,02596054
GO:BP	regulation of cell development	991	151	23	0,02320888
GO:BP	cell-cell signaling	1699	151	35	0,020600353
GO:BP	generation of neurons	1574	151	32	0,020330368
GO:BP	neurogenesis	1679	151	33	0,019654556
GO:BP	cell development	2215	151	41	0,018510158
GO:BP	anatomical structure morphogenesis	2820	151	50	0,017730496

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Таблица 4.

Топ-10 кластеров (гены, повысившие свой уровень экспрессии)

GO: Biological process	Функциональность класса	Размер класса	Число анализируемых генов	Число вошедших в кластер генов	Представленность генов в кластере
GO:BP	chondrocyte differentiation	125	235	11	0,088
GO:BP	connective tissue development	281	235	15	0,053381
GO:BP	extracellular matrix organization	375	235	17	0,045333
GO:BP	extracellular structure organization	376	235	17	0,045213
GO:BP	second-messenger-mediated signaling	446	235	19	0,042601
GO:BP	cell adhesion	1440	235	48	0,033333
GO:BP	biological adhesion	1447	235	48	0,033172
GO:BP	positive regulation of phosphorylation	1107	235	34	0,030714
GO:BP	positive regulation of protein phosphorylation	1032	235	31	0,030039

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

отвечает за изменения в соединительной ткани (табл. 5).

В группах, повышающий свой уровень экспрессии, совпало 5059 генов из 7727. После фильтрации по параметру FC > 2 в группе осталось 1673 гена, из которых 352 были распознаны mirnet.ca и использовались для поиска регулирующих эти гены микроРНК. Список микроРНК, гены которых повысили свой уровень экспрессии. Из списка 352 генов, с FC > 2, в дальнейший анализ попало 194.

Среди микроРНК, встречающихся только в списке генов, повысивших свой уровень экспрессии, есть hsa-mir-30b-3p, hsa-mir-98-5p и hsa-mir-20a-5p, отвечающие за онкогенез, hsa-mir-149-3p и hsa-mir-1827,

участвующие в процессе остеогенеза и развитии патологии соединительной ткани (табл. 6).

ОБСУЖДЕНИЕ

Клеточное и репликативное старение представляют собой два важных аспекта процесса старения на клеточном уровне. Глубокое понимание этих процессов позволяет пролить свет на механизмы старения и возможные подходы к лечению связанных с возрастом заболеваний.

Клеточное старение связано с постепенным снижением функциональности клетки, обусловленным множеством факторов, включая накопление повреждений ДНК, окислительный стресс и гликацию. Эти

Таблица 5.

Список микроРНК, для которых полученные 143 гена являются мишенями

микроРНК	Количество мишеней	Функция, гены-мишени
hsa-mir-335-5p	31	Main senescence-associated miRNAs [3], Downregulates antioxidant enzymes in the mitochondria [4] EPHA4, PLCG2, HMGCS1, KCTD12, C21orf62, ZNF711, CCL20, VANGL2, DCHS2, IL21R, GPR37, B4GALT6, CNTNAP3, CGNL1, SPP1, MDFI, BACH2, PRKG2, PTGES, KLRK1, GUCY1A2, GNGT1, HOXA2, TNIK, MLC1, LINC00470, LRRC19, C7orf69, C12orf56, RSP02, CNTNAP3B
hsa-mir-192-5p	18	Expression is induced by p53. Reduced in cancerous conditions [3]
hsa-mir-215-5p	15	Expression is induced by p53. Reduced in cancerous conditions [2], Tumor Suppression [3]
hsa-mir-106b-5p	15	Human mammary epithelial cells, Replicative cell aging models [2], Tumor suppression; aging Inhibits tumor suppression by targeting p21 [3]
hsa-mir-17-5p	13	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-20a-5p	13	Replicative cell aging models [2], Oxidative stress/mitochondrial dysfunction; tumor suppression; neurodegenerative disease [3]
hsa-mir-106a-5p	13	down-regulated in human aging [3]
hsa-mir-16-5p	12	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-26b-5p	12	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-93-5p	12	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-124-3p	11	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-20b-5p	11	Autistic disorder, Hepatocellular carcinoma, Lung neoplasm, Stomach Neoplasm [5]
hsa-mir-24-3p	10	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-92a-3p	10	Upregulated in patients with chronic venous disease [4]

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

Таблица 6.

Список микроРНК, для которых полученные 194 гена являются мишенями

микроРНК	Количество мишеней	Функция, гены-мишени
hsa-mir-335-5p	54	CCND2, CCR7, EGR3, RRAD, PDK4, RPH3AL, CSGALNACT1, EREG, F3, MYPN, DAAM2, C6orf132, LBP, NTRK2, MPIG6B, ANO3, CD36, GCNT2, CDK18, LMCD1, TNS4, FRMD4B, ACKR3, PARP15, SULT1C2, CXCL3, COL8A2, CABP1, RIPOR3, CYP39A1, SYNPO2, TRIM73, RASD1, IGSF10, CD14, COL11A1, EPHA1, RDH5, PMEL, TBX15, PLPPR4, WBP1, LMOD1, RGS22, GCNT4, XAF1, PCSK4, ТЕКТ3, GRIP2, TМЕМ178А, TTC23L, NKAIN2, NLRP10, SRRM2-AS1
hsa-mir-124-3p	29	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-26b-5p	25	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-16-5p	13	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-93-5p	13	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-8485	13	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-30b-3p	12	TRAIL-induced apoptosis in glioma cells [3]
hsa-mir-149-3p	12	Downregulated in the chondrocytes of osteoarthritic patients [2]
hsa-mir-3689a-3p	12	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-3689b-3p	12	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-3689c	12	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-4728-5p	12	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-6779-5p	12	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-6780a-5p	12	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-6785-5p	12	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-6883-5p	12	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-1273h-5p	12	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-98-5p	11	NEAT1/hsa-mir-98-5p/МАРК6 axis is involved in non-small-cell lung cancer development [6]
hsa-mir-665	11	
hsa-mir-1827	11	miR-1827 inhibits osteogenic differentiation by targeting IGF1 in MSMSCs [7]
hsa-mir-17-5p	10	Нет упоминаний о функции в публикациях
hsa-mir-20a-5p	10	Oxidative stress/mitochondrial dysfunction; tumor suppression; neurodegenerative disease [2], regulates ASK1 expression and TLR4-dependent cytokine release in rheumatoid fibroblast-like synoviocytes [3]

Таблица составлена авторами по собственным данным / The table is prepared by the authors using their own data

процессы ведут к изменению экспрессии генов и утрате клеточных функций, что, в свою очередь, влияет на здоровье организма в целом.

Репликативное старение, напротив, связано с потерей клетками способности к делению после определенного числа размножений. Оно вызвано укорочением теломер, что приводит к остановке деления клетки.

Основные различия между этими двумя типами старения заключаются в том, что клеточное старение охватывает широкий спектр молекулярных и клеточных изменений, в то время как репликативное старение фокусируется именно на потере способности клетки к делению из-за укорачивания теломер. Оба процесса оказывают глубокое воздействие на старение организма и связаны с изменениями, наблюдаемыми при различных заболеваниях.

Исследование общих признаков для этих двух типов старения — задача непростая, поскольку данные процессы существенно пересекаются на молекулярном уровне. В нашей работе для анализа процессов клеточного и репликативного старения были использованы данные из различных наборов: E-MTAB-4879 для клеточного старения и GSE130727 для репликативного старения. Каждый из них содержал разные типы клеток, что повлияло на результаты и акцентировало внимание на разности генов, участвующих в этих процессах.

Для сравнения профилей клеточного старения (мезенхимные стволовые клетки) и репликативного старения (диплоидные фибробласты легких) были проанализированы данные из экспериментов E-MTAB-4879 и GSE130727.

В частности, при рассмотрении измененных генов, уровень экспрессии которых понизился, были обнаружены общие процессы, такие как пути сигнальных каскадов, ассоциированных с рецепторами, и метаболизм холестерина. В числе самых снижающихся генов оказались CXCL6 и IL1B, участвующие в воспалительных реакциях, что подтверждает роль хронического воспаления в старении.

Среди генов, уровень экспрессии которых увеличился, наибольшую представленность имели процессы, связанные с биосинтезом глицеролипидов и регуляцией транспорта ионов. Это подчеркивает важность метаболических процессов и регуляции клеточной морфологии в процессе старения.

Сравнение представленных генов показало значительные изменения в экспрессии генов-супрессоров опухолей, что указывает на возможную связь между старением и повышенным риском онкогенеза. Также были выявлены гены, связанные с разрушением внеклеточного матрикса и внеклеточной структурой, что может указывать на структурные изменения в тканях, происходящие с возрастом.

При сопоставлении данных также были выявлены микроРНК, влияющие на экспрессию генов, связанных со старением. Например, среди них hsa-мир-335-5p и hsa-мир-106a-5p, которые играют значимую роль

в регуляции генов, ассоциированных с сохранением клеточной структуры и метаболизма.

Эти результаты подчеркивают сложность и многогранность процессов старения. Необходимы дальнейшие исследования, чтобы детально изучить молекулярные механизмы, лежащие в основе клеточного и репликативного старения, и определить потенциал терапевтических стратегий для борьбы с возрастными заболеваниями. Стратегии, направленные на замедление или обращение этих процессов, могут оказаться ключом к улучшению качества жизни стареющей популяции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В датасете **E-MTAB-4879** (клеточное старение) (7724 гена) с датасетом **GSE130727** (репликативное старение) (22 946 генов) совпало 7275 генов, **снизивших свой уровень** экспрессии. После фильтрации по параметру FC < 0,5 (больше чем наполовину) в группе осталось 1342 гена. Среди 1342 генов самыми распространенными процессами оказались GO:0007186 G protein-coupled receptor signaling pathway, GO:0008203 Cholesterol metabolic process, GO:0019221 Cytokine-mediated signaling pathway. Из топ-15 генов 10 играют разнообразные роли в процессах клеточного и репликативного старения. CXCL6 и IL1B участвуют в воспалительных реакциях, которые могут ускорять старение клеток за счет хронического воспаления. KCNK3, кодирующий калиевый канал, может влиять на старение через контроль мембранного потенциала и гомеостаза. MLC1, SHISA2, и Tafa5 связаны с функциями головного мозга и могут способствовать старению через нейродегенеративные изменения. NOXA6 и SLITRK6 участвуют в развитии и дифференцировке клеток, что может влиять на старение через эти пути. CRNBP и CSMD1 могут влиять на старение через метаболические и иммунные пути, связанные с хроническим воспалением и нейродегенерацией.

При фильтрации с двойным условием из списка 1342 генов для анализа нкРНК попало 326 генов, из которых платформой mirnet.ca было распознано 143 гена. Среди микроРНК, встречающихся в списке генов, понизивших свой уровень экспрессии, есть hsa-mir-335-5p, hsa-mir-106b-5p, hsa-mir-20a-5p и hsa-mir-106a-5p. По литературным данным, они связаны со старением. hsa-mir-192-5p, hsa-mir-215-5p, hsa-mir-20b-5p являются онкогенными. hsa-mir-92a-3p отвечает за изменения в соединительной ткани.

В группе генов, **повысивших свой уровень** экспрессии, совпало 5059 генов. После фильтрации по параметру FC > 2 (больше чем в два раза) в группе осталось 1673 гена. Среди 1673 генов самыми распространенными процессами оказались GO:0045017 Glycerolipid biosynthetic process, GO:0008202 Steroid metabolic process, GO:0110053 Regulation of actin filament organization, GO:0043269 Regulation of ion transport, GO:1901135 Carbohydrate derivative metabolic process, GO:0045765 Regulation

of angiogenesis и GO:0061041 Regulation of wound healing. Топ-15 генов играют разнообразные роли в процессах клеточного и репликативного старения. SERPINB7, LBP, ACKR участвуют в иммунных реакциях и воспалении. PDK4 и SLC28A3 — в регуляции метаболизма и энергетического баланса. OSTN, GDF6 — в развитии и старении скелета. PNMA2 и NPAS3 участвуют в нейронных функциях и нейродегенерации. CCND2 — в регуляции клеточного цикла и деления. TMEM229B, CCDC81 — в структурной организации и транспорте молекул. TENT5C — в белковом гомеостазе и синтезе белка. MMP3 участвуют в разрушении внеклеточного матрикса и тканевом старении. GCNT4 — в гликозилировании белков и клеточных сигнальных путях.

При фильтрации с двойным условием из списка 1673 генов для анализа нкРНК попало 352 гена, из которых платформой mirnet.ca было распознано 194 гена. Среди микроРНК, встречающихся только в списке генов, повысивших свой уровень экспрессии, есть hsa-mir-30b-3p, hsa-mir-98-5p и hsa-mir-20a-5p, отвечающие за онкогенез, hsa-mir-149-3p и hsa-mir-1827, участвующие в процессе остеогенеза и развитии патологии соединительной ткани.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источники финансирования. Источники финансирования отсутствуют.

Acknowledgments. The study did not have sponsorship.

Конфликт интересов. Конфликт интересов отсутствует

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Участие авторов. Все авторы одобрили финальную версию статьи перед публикацией.

Благодарности. Благодарность журналу «Проблемы геронауки» за возможность публикации статьи «Сравнение клеточного и репликативного старения»

ORCID АВТОРОВ:

Арбатский М.С. — 0000-0003-4188-1898

Баландин Д.Е. — 0009-0008-6274-5602

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Casella G., Munk R., Kim K.M., Piao Y, De S., Abdelmohsen K., Gorospe M. Transcriptome signature of cellular senescence. *Nucleic Acids Res.* 2019 Aug 22;47(14):7294-7305. doi: 10.1093/nar/gkz555. Erratum in: *Nucleic Acids Res.* 2019 Dec 2;47(21):11476. doi: 10.1093/nar/gkz879
2. Peffers M.J., Liu X., Clegg P.D. Age-related changes in mesenchymal stem cells identified using a multi-omics approach. *Eur Cell Mater.* 2016;30:136-159
3. Olivieri F., Rippo M.R., Procopio A.D., Fazioli R. MicroRNAs linking inflamm-aging, cellular senescence, and cancer. *Ageing Res Rev.* 2013 Dec;12(4):1056-1068
4. Zalewski D.P., Pawlak A., Damasiewicz-Bodzek A., et al. Dysregulations of MicroRNA and Gene Expression in Chronic Venous Disease. *J Clin Med.* 2020 May;9(5):1251
5. Xi X., Chu Y., Liu N., et al. Joint bioinformatics analysis of underlying potential functions of hsa-let-7b-5p and core genes in human glioma. *J Transl Med.* 2019 Apr 17;17(1):129. doi: 10.1186/s12967-019-1882-7
6. Wu F., Mo Q., Wan X., Dan J., Hu H. NEAT1/hsa-mir-98-5p/ MAPK6 axis is involved in non-small-cell lung cancer development. *J Cell Biochem.* 2019 Mar;120(3):2836-2846. doi: 10.1002/jcb.26442
7. Zhu S., Peng W., Li X., et al. miR-1827 inhibits osteogenic differentiation by targeting IGF1 in MSMSCs. *Sci Rep.* 2017 Apr 7;7:46136. doi: 10.1038/srep46136