

Summary

The increase in human average lifespan poses a major challenge for society in the next decades, especially in healthcare, with an increasingly aging population more prone to age-associated disorders. Indeed, the magnitude of increase in human lifespan is still not mirrored in terms of healthspan. Elucidating mechanisms regulating age-associated changes is therefore crucial, with the nematode *Caenorhabditis elegans* being a powerful experimental model in this field of research, particularly in the study of the dynamics of the DDR on both a cell-autonomous and a systemic level. Worms can enter diapause stages, such as dauer, when faced with unfavorable conditions during development. Time spent in dauer arrest can surpass the normal lifespan of a worm without affecting longevity or fertility upon developmental resumption.

In this study, we evaluated how time spent in dauer affects the worms via transcriptome analysis and assessment of post-dauer fitness of tightly synchronized dauer populations. Using the BiT Age transcriptomics-based clock, we observed an increase in predicted biological age as time spent in diapause increased. Surprisingly, upon dauer exit there was a decrease in predicted biological age, with a total reversal in worms arrested in dauer for 4 days after only 24h. We detected no impact in developmental resumption, post-dauer lifespan and post-dauer brood size, in accordance with the majority of previous reports.

Dauer entry was associated with a major decrease in translation, followed by a gradual downregulation of pathways, such as innate immunity and fatty acid metabolism, that was reverted upon dauer exit. However, the dauer exit-associated upregulation of such pathways appeared to be delayed as time spent in dauer increased. Moreover, a significant activation of DNA repair genes was observed at all dauer time-points, and we confirmed this DDR upregulation led to increased repair. Our results suggest DNA repair might play a fundamental role in maintaining tissue functionality during dauer arrest. Knowledge on how proper DDR

activity is sustained under conditions resembling the aging process should be further dissected in future studies, as it could pave the way for novel therapeutic interventions aimed at age-associated conditions.

Zusammenfassung

Die Zunahme der durchschnittlichen Lebenserwartung der Menschen stellt die Gesellschaft in den nächsten Jahrzehnten vor eine große Herausforderung, insbesondere im Bereich der Gesundheitsfürsorge, da eine immer älter werdende Bevölkerung anfälliger für altersbedingte Krankheiten ist. Das Ausmaß des Anstiegs der menschlichen Lebensspanne spiegelt sich noch nicht in der Gesundheitsspanne wider. Die Aufklärung der Mechanismen, die altersbedingte Veränderungen regulieren, ist daher von entscheidender Bedeutung, wobei der Fadenwurm *Caenorhabditis elegans* ein leistungsfähiges experimentelles Modell in diesem Forschungsbereich darstellt, insbesondere bei der Untersuchung der Dynamik der DNA-Schadensantwort (DDR) sowohl auf zellautonomer als auch auf systemischer Ebene. Würmer können in ein Diapausenstadium (z. B. Dauer) übergehen, wenn sie während ihrer Entwicklung ungünstigen Bedingungen ausgesetzt sind. Die Zeit, die im Dauerstadium verbracht wird, kann die normale Lebensspanne eines Wurms übersteigen, ohne die Langlebigkeit oder Fruchtbarkeit bei Wiederaufnahme der Entwicklung zu beeinträchtigen.

In dieser Studie untersuchten wir, wie sich die Zeit im Dauerstadium auf die Würmer auswirkt, indem wir eine Transkriptomanalyse durchführten und die Fitness von stringent synchronisierten Dauerpopulationen nach der Dauerphase beurteilten. Unter Verwendung der auf Transkriptomik basierenden BiT Age-Uhr beobachteten wir einen Anstieg des vorhergesagten biologischen Alters mit zunehmender Zeit in der Diapause. Überraschenderweise kam es beim Verlassen der Dauer zu einer Abnahme des vorhergesagten biologischen Alters, mit einer völligen Umkehrung bei Würmern 24h nach dem Ende einer 4-tägigen Dauerphase. Wir konnten keine Auswirkungen auf die Wiederaufnahmegeschwindigkeit der Entwicklung, die Lebensdauer nach der Dauerphase und die Größe der Brut nach der Dauer feststellen, was mit den meisten früheren Berichten übereinstimmt.

Der Eintritt in die Dauer war mit einem starken Rückgang der Translation verbunden, gefolgt von einer allmählichen Herunterregulierung von Stoffwechsel- und Signalwegen wie der angeborenen Immunantwort und dem Fettsäurestoffwechsel, die sich bei dem Verlassen der Dauer wieder umkehrte. Die mit dem Verlassen der Dauerphase verbundene Hochregulierung solcher Signalwege schien sich jedoch mit zunehmender Zeit in der Dauer zu verzögern. Darüber hinaus wurde zu allen Dauerzeitpunkten eine signifikante Aktivierung von DNA-Reparaturgenen beobachtet, und wir konnten bestätigen, dass diese DDR-Hochregulierung zu einer erhöhten Reparatur führte. Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass die DNA-Reparatur eine grundlegende Rolle bei der Aufrechterhaltung der Gewebefunktionalität während des Dauerstadiums spielen könnte. Das Wissen darüber, wie eine angemessene DDR-Aktivität unter Bedingungen aufrechterhalten wird, die dem Alterungsprozess ähneln, sollte in künftigen Studien weiter untersucht werden, da es den Weg für neuartige therapeutische Interventionen ebnet, die auf altersassoziierte Erkrankungen abzielen.