

A hétköznapi edzés szisztémás hatásainak rejtvénye:
VO₂ max vagy molekuláris adaptációs útvonalak

Doktori értekezés

Jókai Mátyás Ferenc

Magyar Testnevelési és Sporttudományi Egyetem
Sporttudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Radák Zsolt egyetemi tanár, DSc

Hivatalos bírálók: Prof. Dr. Ács Pongrácz egyetemi tanár, PhD
Dr. Melczer Csaba egyetemi docens, PhD

Budapest

2025

„A sport a test útján nyitja meg a lelket.”

Szent-Györgyi Albert

Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke	4
Ábrák és táblázatok jegyzéke	5
1. Bevezetés	7
2. Irodalmi áttekintés	9
2.1. Öregedési elméletek	9
2.1.1. Genetikai elméletek	9
2.1.2. Mitokondriális öregedési elmélet	12
2.1.3. Oxidatív stressz elmélet.....	13
2.1.4. Telomer elmélet.....	15
2.1.5. Immunológiai elmélet.....	16
2.1.6. Metabolikus elmélet	17
2.1.7. Hormonális elmélet	17
2.1.8. Epigenetikai elmélet	19
2.1.9. Öregedési elméletek összefoglalása	20
2.2. A rendszeres testmozgás szisztémás hatása.....	20
2.3. Fittségi és kognitív paraméterek az életkor viszonylatában	22
2.4. DNS metiláció, mint az emberi hardveren futó szoftver	24
2.5. Az epigenetikai órák első két generációja, a klasszikus epigenetikai órák	25
2.5.1. Horvath epigenetikai óra	25
2.5.2. Hannum epigenetikai óra.....	25
2.5.3. DNA PhenoAge óra.....	26
2.5.4. DNA GrimAge óra	26
2.6. Az irizin és a testedzés kapcsolata.....	28
2.7. Redox-egyensúly mint edzettségi mutató.....	30
3. Célkitűzések	32
4. Módszer	33
4.1. DNAmFitAge kialakítása	33
4.1.1. Fittségi paramétereket mutató DNAm biomarkerek fejlesztése.....	34
4.1.2. A DNAm fittségi paraméterek validálása.....	37
4.1.3. DNAmFitAge: biológiai kormeghatározás.....	38

4.2. Evezős vizsgálati minta elemzése	52
4.2.1. Fiziológias tesztek	54
4.2.2. Vérminták gyűjtése.....	54
4.2.3. Irizin mérés	54
4.2.4. Redox egyensúly meghatározása.....	55
4.2.5. DNS metiláció mérése	55
4.2.6. Statisztikai elemzések.....	56
4.3 Etikai megfontolások.....	57
5. Eredmények.....	58
5.1. DNAm fittségi paraméterek biomarker modelljei.....	58
5.2. DNAm fittségi biomarkerek korfüggő állapotoknál.....	60
5.3. FitAgeAcceleration a korfüggő állapotok esetén	66
5.4. DNAmFitAge kapcsolata a hétköznapi edzéssel.....	67
5.5. Funkcionális CpG helyek jellemzése	70
5.6. Korfüggő fiziológias funkciók és vér markerek az evezős vizsgálati mintán	71
5.7. DNAmFitAge és más DNAm biomarkerek az evezős vizsgálati mintán.....	78
5.8. DNAm fittségi biomarkerek az evezős vizsgálati mintán	80
6. Megbeszélés	82
6.1. Limitációk.....	85
7. Következtetések.....	87
8. Összefoglalás.....	89
9. Summary.....	91
10. Irodalomjegyzék	93
11. Saját publikációk jegyzék.....	107
12. Köszönetnyilvánítás	109

Rövidítések jegyzéke

ROS	Reactive Oxygen Species (reaktív oxigén fajok)
ETC	Electron Transport Chain (elektron transzport lánc)
mTOR	Mammalian Target Of Rapamycin
FOXO	Forkhead Box O
IGF-1	Insulin like Growth Faktor 1
HDL	High Density Lipoprotein
LDL	Low Density Lipoprotein
GH	Growth Hormone
TSH	Thyroid Stimulating
CpG	5'—C—phosphate—G—3
ncRNA	non coding RNA
CMJ	Countermovement Jump
DNAmAge	DNS metilációs életkor
WAT	Fehér zsírszövet
VO2 max	Relatív maximális oxigénkapacitás
FEV1	Erőltetett kilégzés
LRT	Likelihood Ratio Test (valószínűségi eloszlás teszt)
BMI	Body Mass Index (testtömeg index)

Ábrák és táblázatok jegyzéke

1. ábra: Szórásdiagramok DNAm fittségi biomarker modellekről a valós fittségi értékek függvényében a tréning adatbázison	34
2. ábra: Korrelációs mátrix a legnagyobb tréning adathalmazokon (FHS, BLSA) a fittségi paraméterek, DNAm biomarkerek és DNAmFitAge között	36
3. ábra: Scatterplots ábrák a DNAmFitAge és kronológiai kor összefüggéseiről a tréning és teszt adatbázisokon, nemenként elkülönítve	39
4. ábra: Metaanalízis faszor ábrái a FitAgeAcceleration-ről a korfüggő állapotok függvényében kronológiai kor és nem szerint	43
5. ábra: A DNAm fittségi biomarker modellek és a valós fittségi értékek közötti szórásdiagramok a teszt adatkészleteken	58
6. ábra: Metaanalízis faszor-ábra a DNAm fittségi biomarkerekről az életkorral összefüggő állapotokkal kapcsolatban	61
7. ábra: A DNAmFitAge és a naptári életkorok közötti szórásdiagramok, nemenként elkülönítve	63
8. ábra: Metaanalízis faszor ábrák a DNAmFitAge és a DNAm fittségi paraméterek kapcsolatáról a fizikai aktivitással vagy fizikai funkcióval az alacsony és közepes fizikai aktivitású embereknél	68
9. ábra: A kronológiai korral összefüggő csökkenés (A) a VO ₂ max, (B) a GripMax és (C) a JumpMax esetén a magas fittségű (HIGH-FIT) és a közepes-alacsony fittségű (MED-LOW-FIT) férfi és női alanyok esetében	72
10. ábra: Az életkorral összefüggő változások a (A) HDL , (B) LDL és a (C) redox egyensúlyban a magas fittségű (HIGH-FIT) és közepes/alacsony fittségű (MED/LOW-FIT) férfi és női alanyok esetében	74
11. ábra: A (A) HDL és az irizin közötti korreláció, valamint a (B) fittség- és nemfüggő HDL szintek	75
12. ábra: Az egymás közötti összefüggések a verbális rövid távú emlékezet és a fiziológiai, biokémiai és DNAm biomarkerek között	76
13. ábra: A mért és a becsült paraméterek közötti kapcsolat a fittség, a nem és az életkor szerint	77

14. ábra: A fiziológiai és biokémiai paraméterek kapcsolata a FitAge, a GrimAge és a PhenoAge Acceleration-nél	79
1. táblázat: A Horvath, a Hanumm, a PhenoAge és a GrimAge epigenetikai órák rövid jellemzése	28
2. táblázat: A validációs adatbázis null modelljeinek Pearson korrelációs együtthatói és a DNAm biomarkerek szignifikancia szintjei	37
3. táblázat: A DNAm biomarkerek súlya vagyis fontossága	38
4. táblázat: A DNAmFitAge hasznosságának összehasonlítása más DNAm biomarkerekkel a halálozásig eltelt idő és társbetegségek számának függvényében, miután korra és nemre korrigáltuk	42
5. táblázat: FitAgeAcceleration kapcsolata a fenotípusos jellemzőkkel	44
6. táblázat: Férfi kontroll és testépítő minta összehasonlítása a lengyel kutatási adatok alapján	45
7. táblázat: Lineáris modellek, amelyek értékelik az étrend-kiegészítők hatását a DNAmFitAge és a DNAmVO2max szerint férfi mintán a naptári életkorral normalizálva	46
8. táblázat: Étrendkiegészítők használata edzettségi státusz szerint	47
9. táblázat: A legjobb GREAT annotációs eredmények	48
10. táblázat: Teljes GREAT analízis CpG annotációja	48
11. táblázat: A kromatin állapotok dúsulása	49
12. táblázat: Teljes kromatin állapot bemutatása	50
13. táblázat: DNAm fittségi biomarkerek CpG helyeinek átfedései más órákkal	51
14. táblázat: Az evezős mintán vizsgált paraméterek jellemzői és átlag értékei	53
15. táblázat: DNAm fittségi biomarkerek Pearson korrelációja	59
16. táblázat: A DNAmFitAge és a kronológiai életkor teljesítménye a validációs adatkészletekben	64
17. táblázat: DNAm fittségi paraméterek referencia értékei fitt (FitAge gyorsulás ≤ -5 év) és nem fitt (FitAge gyorsulás $\geq +5$ év) egyének számára	65
18. táblázat: A DNAm biomarkerek kapcsolata a fizikai aktivitással és a fizikai funkcióval az alacsony és közepes aktivitási szintű embereknél	69

1. Bevezetés

Azt gondolhatnánk, hogy az öregedés minden élőlényt érint, de a valóság ennél összetettebb. Különböző fajoknál eltérő élettartamot figyelhetünk meg, ami összefügghet a testmérettel, életmóddal és számos más tényezővel. Például a nagytestű emlősök általában hosszabb ideig élnek, mint a kisebb testű társaik, de vannak kivételek is, mint például a csupasz turkálók, (1, 2) illetve felfedeztek már olyan fajt is aminek regenerációs képessége jobb az öregedéssel kapcsolatba hozható mortalitásnál. (3)

Az emberi élettartam is jelentősen változott az évezredek során. A homo sapiens, vagy gondolkodó ember, megjelenését a kutatók megközelítőleg 200 000 évvel ezelőttre becsülik. (4) 2019-ben globálisan a születéskor várható élettartam elérte a 73,3 évet, körülbelül 16 év különbséggel a magas és az alacsony jövedelmű országok között. (5) Lee Goldman 2018-as cikkében három részre osztja az emberi történelmet születéskor várható élettartam szerint: paleolit, ipari és szabadidő szakaszokra. A paleolit időszak 8000 generációval a cikk születése előtt kezdődött. A várható élettartam 33 év volt. A halálozások nagyjából 75%-át fertőzések okozhatták, ezért ebben az időben a cél a túlélés és a betegségekkel való megküzdés lehetett. Második szakaszban az ipari szakaszban az ember által létrehozott problémák gátolták a születéskor várható élettartam maximalizálását. A környezetszennyezés és például a dohányzás (vagyis az életviteli problémák) a várható élettartamot 43-65 évben maximalizálták. Ezeknek a problémáknak ellenére 1850 és a 20. század között a születéskor várható élettartam megkétszereződött. Az utolsó szakasz a szabadidő szakasz, ami a 20. század kezdetétől (a cikk születéséig) számolható. Az egészségügyi vívmányoknak köszönhetően a születéskor várható élettartam napjainkban 70 év fölött van. Ezzel a sikerrel viszont népbetegségek kockázata ütötte fel a fejét, mint a kóros elhízás és a 2-es típusú cukorbetegség. (6)

A civilizált társadalmak tudományos felfedezéseinek, békés együttélésének, higiénias feltételeinek, illetve a gyógyászati eszközök és módszerek felfedezésének kézzelfogható eredménye, hogy átlagosan majdnem kétszeresére növelhetjük a születéskor várható élettartamunkat. Ha elfogadjuk ezeket az állításokat, akkor egyértelműnek tűnik, hogy a környezeti hatásoknak nagy szerepe van az élethossz szempontjából. Az emberi

élettartam maximuma akár 122 év is lehet, (7) amelynek eléréséhez vizsgálni kell az öregedés mögött rejlő fiziológiás változások világát.

Kutatásunkkal célunk, hogy hozzájáruljunk az emberi öregedés megértéséhez, különös tekintettel a fizikai aktivitás szerepére.

2. Irodalmi áttekintés

2.1. Öregedési elméletek

Gunnar egy tanulmánya szerint az öregedést meghatározhatjuk úgy, mint a túléléshez és szaporodáshoz szükséges fiziológias funkciók idővel bekövetkező romlását. Emellett viszont fontos megjegyezni, hogy az öregedéssel járó fenotípusos változásokat nem szabad összetéveszteni az öregedéssel járó betegségekkel, mint például a rák és a szívbetegség, amelyek az egyénekre jellemzőek. (8)

Az öregedési folyamat holisztikus megközelítése során a szakirodalom alapján azt a következtetést vonhatjuk le, hogy ez a folyamat az organikus szervezet funkcióiban változást eredményez, melynek következménye lehet csökkent regenerációs képesség, betegségekre való hajlamosság vagy a biológiai rendszer megszűnése is. (9, 10) Mivel a biológiai rendszerek nagyon komplex működési mechanizmussal rendelkeznek, ezért a folyamat részleteinek teljes körű feltérképezése még további kutatómunkát igényelnek. Ezen folyamatok részletezéséhez a következőkben bemutatjuk az eddig ismert öregedési elméleteket. (11)

2.1.1. Genetikai elméletek

Programozott öregedési elmélet

Az öregedési folyamat magyarázható genetikai elméletekkel. Ilyen elmélet a programozott öregedési elmélet, mely szerint az öregedés előre meghatározott folyamatok szerint zajlik. Az elmélet szerint az életciklusban bekövetkező biológiai változások véletlenszerűsége elhanyagolható, mivel ez egy genetikailag meghatározott folyamat, ahogy az élet megszűnésének időpontja is valamilyen szinten determinált. A

20. század elejéig elfogadott volt, hogy leginkább a környezeti hatások befolyásolják az élet hosszát, ám biológusok felfedeztek olyan kémiai mintákat és útvonalakat, amik genetikailag határozzák meg az öregedést. (12) Az alábbiakban ismertetünk géneket, melyek a hosszú élettartammal mutatnak kapcsolatot.

SIRT1: A SIRT1 a szirtuinek családjába tartozó olyan gén, ami az anyagcsere szempontjából szerepet játszik az UCP2 fehérje útvonalon keresztül az inzulin szabályozásban, illetve a zsír anyagcserében. (13) Emellett a DNS-t javító mechanizmusokban is szerepet vállal szabályozva a HR, NHEJ, MMR, NER és BER útvonalakat. (14) Egér és élesztő modellen megfigyelték, hogy a SIRT1 aktivitás az öregedéssel csökken, illetve, hogy a fokozott expresszió élethossz növekedéssel van kapcsolatban. (15)

CETP: A CETP gén szerepet játszik a zsíryanycserében így a HDL koleszterin szint változásaival mutathat kapcsolatot és bizonyos esetben kimutatható összefüggést regisztráltak a megnövekedett élettartammal is. (16)

IGF1: Az IGF1 gén felelős az IGF1 fehérje szintetizálásáért, mely pozitív hatással lehet a szervrendszerek működésére (testedzéshez hasonló szisztémás hatás), így az élettartam összefüggést mutathat a keringésben mérhető IGF1 szinttel. (17)

mTOR: Az mTOR szerepet játszik a sejtciklus, sejt növekedés, sejtprolifерáció és autofágia folyamatok működésében, mely folyamatok elengedhetetlenek a szervrendszerek és szervek ideális funkcionálásához. Ezáltal összefüggés mutatható ki az mTOR aktivitás és az élettartam között is. (18)

TP53: A TP53 gén kritikus szerepet játszik a sejtosztódásban, DNS javításban vagy az apoptózis szabályozásában. A gén mutációja esetén rákos sejtek számának növekedését és terjedését fokozhatja a szervezetben. Sejtfunkciók szintjét betöltött szerepe miatt a működése összefüggésben állhat az életkorra. (19)

Genetikai mutációk elmélete

A genetikai mutációk öregedés szempontjából történő vizsgálatakor Ronald Aylmer Fisher brit biológus, matematikus munkásságát elengedhetetlen szem előtt tartanunk. Az általa felállított modell alapja, hogy az életkor előrehaladtával növekedhet a genetikai mutációk valószínűsége. Az öregedési folyamat emiatt részben a felhalmozódó olyan mutációknak eredménye lehet, melyeket a szervezet egy idő után már nem képes helyreállítani. (20) A felnőtt szervezetben megtalálható őssejtek - amelyek képesek különböző sejttypusokká differenciálódni - egy adott idő után a genetikai mutáció következtében elveszíthetik ezen funkciójukat. Ennek következtében nem képesek a szervezet megújítását segíteni, melynek oka környezeti tényezőkre, illetve sztochasztikus folyamatokra vezethető vissza. (21)

A genetikai mutációkat és károsodásokat alapul vevő öregedési elmélet azt feltételezi, hogy a szervezetet érő ingerek negatívan befolyásolhatják a gének kifejeződését, ami a sejtek funkcióinak romlását így a teljes szervezet működésének romlását eredményezheti, ezzel előidézve az öregedés folyamatát. (22)

Ezen genetikai elváltozások hátterében állhatnak a sejtek osztódása során felhalmozódó hibák, környezeti hatásként a káros sugárzás, illetve a toxikus vegyületek. (23) Ilyen DNS károsodást indukáló hatásként írják le az UV sugárzást, melynek következményeként a mutálódott DNS szekvencia rákos megbetegedés kialakulásához vezethet. (24) Kapcsolatot találtak továbbá neurológiai megbetegedések és DNS károsodást indukáló oxidatív stresszt kiváltó szabadgyök mechanizmusok között is. (25)

A genetikai mutációk öregedésben játszott szerepének vizsgálata során szem előtt kell tartanunk azokat az összefüggéseket, amelyek a biológiai szervezetben végbemenő folyamatok eredményeként kialakuló DNS károsodás és az öregedési folyamattal összefüggésben kialakuló betegségek között írhatók le. (26) Az ilyen irányú vizsgálatok eredményei arra engednek következtetni, hogy a DNS-t érő olyan hatások, amik

génkifejeződés diszfunkciót idéznek elő, az élettani funkciók romlásához vezethetnek és ez az öregedési folyamatot indukálhatják. (27)

2.1.2. Mitokondriális öregedési elmélet

Több tudományos eredmény bizonyítja, hogy az öregedési folyamat során (egy idő elteltével) a sejtek azon alkotói melyek oxidatív foszforiláció útvonalon keresztül szolgáltatnak energiát, vagyis a mitokondriumok funkciói romolhatnak. (28, 29) Ezek a diszfunkciók például neurodegeneratív betegségek kialakulásához vezethetnek. (30) Ezen funkcióvesztési folyamatban kulcs szerepet játszanak a szervezetet érő oxidatív stresszt indukáló szabadgyökök, melynek következménye a mitokondriumok stabilitásának és hatékonyságának romlása lehet. (31) Ennek következtében a sejtfunkciók csökkenhetnek, ami a szervrendszerek és teljes szervezet funkcióinak romlását (öregedését) eredményezheti. (32)

A mitokondriális öregedés lehetséges okai

A mitokondriumok öregedése mögött állhatnak az úgynevezett reaktív oxigén fajok (ROS), melyek termelődése köthető a mitokondriumok funkcióihoz. (33) Az aerob energianyerés során a mitokondriumban végbemenő Citrát-kör és az elektron-transzport lánc (ETC) során a mitokondrium energiát termel a szervezet számára és emellett szabadgyökök is keletkeznek. (34) A citrát-kör során, ahol a redukált koenzimek elektronokat és hidrogén ionokat adnak le a legfőbb ROS képződési pontok, mivel ezekből reaktív oxidatív vegyületek keletkezhetnek. Az ETC folyamat során főleg az 1. és 3. komplexen szuperoxid anion (O_2^-) jöhet létre, ami erősen reaktív szabadgyökként viselkedhet. (35) Az energianyerési folyamatok alapvetően azért nem ártalmasak, mert a szabadgyök termeléssel (optimális esetben) egyensúlyban vannak az antioxidáns mechanizmusok, amelyek semlegesíteni tudják a szabadgyökök negatív hatását pl. a szuperoxid dizmutáz, kataláz vagy a glutation-peroxidáz enzimek működésével. (36) A szabadgyökök öregedést kiváltó hatása például a strukturális fehérjék vagy akár a mitokondriális gyűrű alakú DNS-t károsító hatásain keresztül képes végbe menni. (37)

Másik ok lehet a mitokondriális biogenezis csökkenése, (38) melynek következménye lehet a károsodott, előregedett mitokondriumok számának növekedése. Az új és jól funkcionáló mitokondriumok hiánya fokozhatja az öregedési folyamatot. (39) Autofágiának nevezzük a sejtek azon önlebontó folyamatait, melynek köszönhetően a sejtalkotók képesek megújulni, aminek eredményeképpen a sejtek működését gátló károsodott sejtalkotók megszűnhetnek, ezáltal lehetőséget biztosítanak új jól funkcionáló sejtek, illetve sejtalkotók (mitokondriumok) létrejöttéhez. (40) Ezen folyamatok lassulása a sejtek diszfunkcionálásához vezethet, amik például energetikai zavarokat, vagyis anyagcsere problémákat eredményezhetnek, így indukálva az öregedési folyamatot. Emellett számos betegséggel és kórképpel fedeztek fel kapcsolatot az autofágia és öregedés kérdéskörében. (41, 42)

A mitokondriumok funkcionális romlása által indukált öregedésnek további okai lehetnek a külső környezetből érkező negatív toxikus hatások vagy akár genetikai markerek is. (43, 44) Ezen negatív hatások befolyásolhatják a mitokondriális DNS funkcióit, amik például mutálódáson keresztül valósulhatnak meg. (45) A mutációk következménye szintén lehet a mitokondriumok funkcióinak csökkenése, ami az öregedési folyamatot gyorsíthatják. (46)

A mitokondriális öregedési elmélet aspektusai között vannak átfedések, így ezek ismeretében érzékelhetjük az elmélet komplexitását, ami a hatásmechanizmusok összefüggéseiben rejlenek. Fontos evidencia, hogy a mitokondriumokat érintő betegségek és a normális öregedés tünetei között összefüggés mutatható ki és emellett a mortalitással is kapcsolatban állhatnak. (30)

2.1.3. Oxidatív stressz elmélet

Az oxidatív stressz által indukált öregedési folyamat megértéséhez első lépésként definiálnunk kell az oxidatív stressz fogalmát. Az oxidatív stressz a sejtekben akkor lép fel, amikor a szabadgyökök vagy reaktív oxigénvegyületek koncentrációja meghaladja a sejtek védekezésért felelős antioxidánsok mennyiségét, illetve az antioxidáns

mechanizmusok kapacitását. Az antioxidánsok olyan vegyületek, amelyek képesek semlegesíteni a szabadgyököket, ezzel megvédve a sejteket a szabadgyökök károsító redukáló vagy oxidáló hatásaitól. (47)

A szabadgyököknek esszenciális szerepe van a szervezet egészséges működésében. Számos biológiai folyamatban fejtenek ki szabályozó hatást, mely a homeosztázis fenntartása során elengedhetetlen szükséglet. Ilyen folyamatok például a kórokozókkal szembeni küzdelem, a sejt szabályozással kapcsolatos folyamatok vagy specifikusabban akár az izmok növekedésében kifejtett funkciók. (48) Az intenzív edzés által a szervezetben termelődhet szuperoxid-anion (O_2^-), hidrogén-peroxid (H_2O_2) vagy hidroxil gyökök (OH^-). Ezen szabadgyökök is szerepet játszhatnak a sejt szintű jelátviteli útvonalak aktiválásában, illetve sejt kommunikációban. Az így aktivált redox receptorok szerepet játszhatnak az izomhipertrófiában, mely útvonal máig nem teljesen tisztázott folyamat. Ilyen molekuláris útvonal például az mTOR (mammalian target of rapamycin), amely fontos szerepet játszik az izom fehérjék szintézisében, illetve hatással lehet sejtek növekedésére is. Amellett, hogy az mTOR kulcs szerepet tölt be az izomhipertrofiában, optimális körülmények között csökkenti a katabolikus folyamatok mértékét is. (49)

A FOXO (forkhead box O) transzkripciós faktorok is szerepet játszhatnak az izomnövekedés szabályozásában. A FOXO fehérjék általában az izomfehérjék bontásáért felelősek, de a szabadgyökök és az oxidatív stressz következtében ezen fehérjék aktivitása csökkenhet, ami elősegítheti az izomzat növekedését. (50)

Meg kell említenünk ebben a témakörben még az IGF-1 (insulin like growth faktor 1) növekedési faktor szerepét is. Az intenzív edzés hatására keletkező szabadgyökök mennyisége és az IGF-1 mennyisége közötti kapcsolat még nem teljesen tisztázott, viszont számos tudományos eredmény bizonyítja, hogy ROS/IGF-1 mennyiségek között összefüggés mutatható ki. (51)

Az izomhipertrófiában nagy szerepet játszhat a szabadgyök-antioxidáns hatásmechanizmus. Az izomhipertrófia mértéke és a teljes testi erő mértéke között kimutatható erős összefüggés. A teljes testi erő becslésére használhatunk kézi szorítóerő

mérő eszközöket. Tudjuk, hogy az öregedési folyamat során a gyors izomrostok hamarabb veszítenek funkciójukból, mint a lassú izomrostok (52) és azt is, hogy a teljes testi erő mértéke összefüggést mutathat az egészségben eltöltött évek számával. (53, 54) Így azt a következtetést vonhatjuk le az öregedési elméletek vizsgálatakor, hogy az oxidatív stressz elmélet elfogadására vannak bizonyítékok és arra is találhatunk eredményeket, hogy a szabadgyök-antioxidáns mechanizmusok fontos szerepet játszanak az egészségben töltött évek számával és az egészség fenntartásával.

Az oxidatív stressz és ROS termelődés számos külső és belső folyamat eredményeként jelenhet meg a szervezetben, melyek negatív hatásait az antioxidáns folyamatok feladata mérsékelni. Az öregedési elméletek közül az oxidatív stressz elmélet azt vizsgálja, hogy az életkorral összefüggő funkcionális veszteségek az ROS-ok által okozott károsodások felhalmozódására vezethető-e vissza. Különböző típusú oxidatív stressz biomarkerek azonosíthatók, melyek kulcs szerepet játszhatnak az öregedési folyamatban, viszont az oxidatív stressz az egészséges életmód fenntartásában szintén fontos szerepet tölthet be. (55)

2.1.4. Telomer elmélet

A telomer a kromoszómák végén található olyan anyaghalmaz, mely fő funkciója a kromoszómák védelme. A sejtosztódással, illetve az öregedéssel járó mechanizmusok során az örökítő anyagot érő károsodásokkal szemben láthatnak védelmi funkciót. A DNS replikáció során nem másolódik tovább a teljes telomer, ezáltal minden sejtosztódáskor a telomer hossza rövidülhet. Ha elér egy kritikus hosszúságot, akkor a sejtosztódási folyamat során problémák léphetnek fel, ami a sejtek működését ronthatja. A sejtciklus működéséhez ezért elengedhetetlen az optimális telomer hossz megléte, ellenkező esetben a megfelelően funkcionáló sejtek száma csökken, vagy rosszindulatú sejtek keletkezése fordulhat elő. (56) A sejtekben például egy telomeráz nevű enzim tudja ellensúlyozni az osztódások során bekövetkező telomer rövidülést úgy, hogy képes visszaépíteni a telomerben ismétlődő nukleinsav sorrendeket. (57) Vannak rá bizonyítékok, hogy a testedzés pozitív hatással lehet a telomeráz enzim

aktivitására/mennyiségére. (58) A telomer hossz és az öregedés között kimutatható eredmények, (59) illetve az edzés és öregedés közötti összefüggések (60) azt sugallják, hogy a fizikai fittség pozitív hatást gyakorol a telomerek hosszának fenntartásában. (58)

Az öregedési folyamat során megfigyelhető lehet a telomer hossz rövidülése. A telomerhossz rövidülésének ritmusa az öregedési sebesség ritmusával összefüggést mutathat, illetve a káros életviteli szokások (dohányzás, fizikai inaktivitás, túlsúly, szennyezett környezet) gyorsíthatják a telomer rövidülését. (61) Ezzel szemben az egészséges életmód - esszenciális összetevőjeként a mindennapos testmozgás - segítheti a telomer hoszt pozitívan befolyásoló biokémiai útvonalak működését, ezzel támogatva az öregedési folyamat lassulását. (62)

2.1.5. Immunológiai elmélet

Az immunológiai öregedési elmélet azt vizsgálja, hogy az öregedési folyamat során hogyan változik meg az immunrendszer működése és ez milyen hatással van a szervezetre. Az idő előrehaladtával az immunrendszer szervezetet védő hatékonysága csökkenhet. (63)

Az elmélet megismerésekor fontos tisztázni az immunosenescia fogalmát. A szó maga az “immunrendszer”-ből illetve az “öregedési folyamat”-ból tevődik össze. Az öregedés természetes folyamatának része az, hogy az immunrendszer funkciói az idő előrehaladtával csökkenhetnek, ezáltal kitettebbé válhat a szervezet a kórokozóknak (vírusoknak, baktériumoknak), illetve más egészséget károsító folyamatoknak. (64)

A folyamat és ezáltal az öregedés lassításának lehetőségei függhetnek genetikai paraméterektől, (65) de számos esetben kimutatták, hogy az egészséges táplálkozás (66, 67) és a rendszeres testmozgás (68, 69) segíthet az immunrendszer funkcióinak hosszabb távú fenntartásában, ami segíthet a hosszabb egészségben töltött élet elérésében.

2.1.6. Metabolikus elmélet

A metabolikus öregedési elmélet az ok-okozati viszonyt vizsgálja az öregedés és az anyagcsere funkciók között. Sokszor leírták már, hogy az öregedési folyamat során a szervezet anyagcseréje lassulhat. (70) Ennek az élettani funkciónak a romlása megbetegedések okozója lehet, így az élettartam csökkenését válthatja ki. (71)

A mitokondriális diszfunkciókról már esett szó és az öregedési folyamat komplexitásából adódóan a metabolikus elmélet egyik magyarázója a mitokondriumok funkcióinak romlása lehet. (72) A sejtekben található energiaszolgáltató sejtservecskék mechanizmusának romlása magával vonhatja az anyagcsere lassulását, ezen keresztül előidézve a szervezet funkcióinak csökkenését. Az öregedéssel növekszik az inzulinrezisztencia kockázatának valószínűsége, ami a sejtek tápanyag ellátását gátolja így az anyagcsere forgalom nehézségekbe tud ütközni és ez az öregedési folyamat gyorsulását eredményezheti. Az anyagcsere lassulása okozhat elhízást, ami az öregedési folyamatok és betegségek kialakulásának esélyét fokozhatja, így például a szív és érrendszeri megbetegedések kialakulásának esélyét növelheti. (73)

A metabolikus elmélet tisztázása során fontos megemlítenünk a kalória-visszafogás öregedésre kifejtett hatását. Számos esetben leírták, hogy a kalória visszafogás hosszabb életet kölcsönözhet. (74) Az anyagcsere és így az élettartam szabályozásában kulcs szerepet tölthet be (a már megemlített) inzulin-szerű növekedési faktor (IGF-1) jelátviteli útvonal, a sirtuin (SIRT) útvonal vagy a rapamycin (mTOR) útvonal. (75) Ezeknek az útvonalaknak a befolyásolása hatással lehet az öregedés sebességére, ami végbemehet a táplálkozás vagy a testmozgás optimalizálásával. (76) (77)

2.1.7. Hormonális elmélet

A hormonális öregedési elmélet azt vizsgálja, hogy az öregedési folyamat és a hormonális rendszer funkcióinak romlása között milyen kapcsolatok írhatók le. A hormonális

rendszer számos létfontosságú folyamat szabályozásában játszik kulcsszerepet. Az idő előrehaladtával a hormonok termelődése és szabályozása csökkenhet, ami öregedési tünetek kialakulásához vezethet. (78)

Az endokrin rendszer változása során a hormontermelést szabályozó például hypothalamus vagy agyalapi mirigy funkciói romolhatnak, ezért az általuk szabályozott például a növekedési hormon (GH), vagy a pajzsmirigy-stimuláló hormon (TSH) termelődés csökkenhet, ami hatással lehet az energiatermelésre és anyagcserére. Ezen eredmények pedig hozzájárulhatnak az öregedési folyamatok felgyorsulásához. (79)

Az öregedési folyamat során nőknél menopauza állapota férfiaknál andropauza állapota léphet fel, melyek a nemi hormonok termelődésének funkcionális hanyatlását jelentik. Ezen állapotok egészségügyi hanyatlást vonhatnak maguk után, amik szintén felgyorsíthatják az öregedés folyamatát. (80)

Vannak olyan kutatási eredmények, amelyek az öregedéssel hormonszint növekedést írtak le. Például a kortizol stresszhormon szint emelkedett szinten történő jelenléte negatív egészségügyi hatással lehet a szervezetre. Ezen hormon kapcsolatban állhat az immunrendszer funkcióinak gyengülésével, ami indukálhatja az öregedési folyamatot. (81, 82)

Az öregedési folyamat során az egészséges hormonháztartás változásokon megy keresztül. Ennek hatására kialakuló betegségek mérsékléséhez hormon pótlást, illetve ezen hiányok megléte miatt kialakuló betegségek gyógyítását gyógyszerek adagolásával lehet eszközölni. Az ilyen hormonális problémák megelőzésében az egészséges életmód segíthet, miszerint a mindennapos testedzés és kiegyensúlyozott megfelelő táplálkozás kitolhatja az egészséges élet hosszát, ezzel megelőzhető (későbbre tolható) az öregedés során kialakuló hormonális egészségügyi problémák. (83, 84)

2.1.8. Epigenetikai elmélet

Az epigenetikai öregedés elmélet szerint az öregedésben domináns szerepet játszanak olyan biokémiai folyamatok, amelyek során a gének kifejeződése úgy változik meg, hogy a DNS szekvencia változatlan marad. Ilyen változások kialakulhatnak környezeti hatások vagy életviteli sajátosságok hatására is. (85) Több lehetséges változatát ismerjük az epigenetikai módosulatoknak:

Metiláció és demetiláció: A DNS képes metil csoportokat megkötni, melyek az esetek túlnyomó többségében CpG dinukleotidokon (CpG island) történnek. A CpG helyek úgy tűnik, hogy rendszertelenül oszlanak el a genomban. Ezen CpG klasztereket CpG szigeteknek nevezzük. A metilcsoportok DNS-hez történő kapcsolódása általában egy adott gén előtt történik melynek következménye az adott gén kifejeződésének csökkenése lehet. Ellenkező esetben a gén olvasásának lehetősége fokozódhat. (86)

Hisztón epigenetika: Epigenetikai módosulások közé tartoznak a hisztón fehérjéken lerakódó olyan kémiai vegyületek, melyek befolyásolhatják a gének kifejeződését. A hisztón fehérjék felelősek azért, hogy a DNS szál kompakt kromatin szerkezetet tudjon felvenni. Ezen fehérjékről való letekeredés fontos a gének kifejeződése szempontjából, mely folyamat végbemenetelét befolyásolni tudják a hisztón fehérjéken történő foszforiláció, metiláció, acetiláció és ubikvitináció. (87)

Nem kódoló RNS-ek: A szervezetben található nem kódoló RNS-ek (ncRNA) is képesek olyan hatást kiváltani, amik a DNS szekvencia megváltozást nem idézik elő, de tovább örökíthetők és a génexpresszióra is hatással lehetnek. A szóban forgó RNS-ek nem kódolnak funkcionális fehérjét viszont poszt transzkripcionális szinten befolyásolni tudják a gén expressziót. (88)

Az öregedési folyamat során az életvitel és a környezeti hatások epigenetikai nyomokat hagyhatnak a kromoszómákon és ezen nyomok megléte, vagy hiánya segíthet a biológiai kor, illetve betegségekre való hajlam meghatározásában. Az epigenetikai öregedés

elmélet azt vizsgálja, hogy ezen nyomok eltüntetése vagy nagyobb mennyiségben való jelenléte hogyan befolyásolja az öregedés folyamatát.

2.1.9. Öregedési elméletek összefoglalása

Az öregedési elméletek ismeretében elfogadhatjuk azt az átfogó meghatározását, hogy az öregedés nem más, mint élettani változások komplex együttese, amely hosszú távon a biológiai funkciók romlásához, majd az élő szervezet megszűnéséhez vezetnek. Fontos megjegyezni, hogy ennek a folyamatnak az egyre széleskörűbb ismerete szintén az emberi szervezet komplexitására világít rá, számos kérdést hagyva maga után. Ha az eddigi progressziót vizsgáljuk, akkor arra a következtetésre juthatunk, hogy a jövőben újabb öregedési elméletekkel bővíthet ez a kérdéskör.

2.2. A rendszeres testmozgás szisztémás hatása

A testedzés homeosztázist bontó hatása ismert. Az emberi szervezet stresszorokhoz történő alkalmazkodási képessége az egyik lehetséges oka, hogy képesek voltunk kiemelkedni az állatvilágból. Ezen sikerünk egyik kulcsa visszavezethető a testedzéshez. (89) Edzés hatására a szervezet működése megváltozik. Ha a keringési rendszert vizsgáljuk azt tapasztaljuk, hogy testmozgás közben edzettségtől függően húsz-harminc szorosára nőhet a vázizom vérellátása. A máj, vesék, belek, vagyis a legtöbb belső szerv vérellátása drasztikusan tud csökkenni. A szívnek relatív, az agynak pedig abszolút vérellátása mondható állandónak. A bőr ebből a szempontból speciális esetnek mondható, mivel a testmozgás elején a vérellátása nő, viszont a terhelés fokozódásával nem tud lépést tartani és egy kritikus pont után csökkenni kezd. (90)

A mozgás a vérellátás szempontjából változatosan hat a szervrendszereinkre, viszont szisztémás hatással bírhat. Ez azt jelenti, hogy minden szervrendszerünket befolyásolhatja. Függetlenül az edzés alatti vérellátás változásaitól elmondható, hogy a

mindennapos testedzés szisztémás hatása pozitív változást eredményezhet minden szerv funkcióban.

A kardiovaszkuláris rendszer részeként a szív, edzés hatására jobb koszorúér-ellátással, nagyobb üregekkel és vastagabb szívfallal rendelkezhet. Javulhat az anyagcseréje, kontraktilitása és relaxációs képessége is, illetve ezek mellett, az alacsonyabb pulzusszám és a csökkent nyugalmi perctérfogat lehet jellemző. Az erek elasztikussága, teherbírása és alkalmazkodási képessége (stresszorokra való reagálási képessége) edzés hatására javulhat. Ezek mellett a vér mennyisége is nőhet a mindennapos testedzés hatására. (91)

Az edzett szervezet légzése előnyösebb tulajdonságokkal rendelkezhet, mint az edzetlen. Edzés hatására a légzés gazdaságosabbá válhat. Fejlettebb légzőizmok, mélyebb belégzés és kisebb holtter figyelhető meg az edzettség függvényében. Az edzett embereknél gyorsabb hörgőtágulat figyelhető meg terhelés hatására, így az oxigénfelvétel kedvezőbb lehet, mint edzetlen személyeknél. Ennek is köszönhetően később vagy (edzettség és terheléstől függően) egyáltalán nem jelenik meg holtpon a testedzés elején. (92)

A rendszeres testmozgás legfőbb célpontjának mondható az izomrendszer. A kondicionális képességek oldaláról megközelítve (röviden) elmondható, hogy az erő, gyorsaság, állóképesség (és ezek együttes megvalósulása) a teljesítményt befolyásoló képességek, amelyekre a mindennapos testedzés pozitívan hathat. Szisztémás hatás például az izom hipertrófia, mely az erő képességet támogatja, de ilyen hatások még a glikolitikus hatás, az ATP-áz hatás, a szarkoplazmatikus retikulum Ca forgalom és koordináció fejlődése, amelyek leginkább a gyorsaságot tudják támogatni, illetve az izom kapillarizáció, mioglobín koncentráció, glikogén raktározás és zsírbontás fejlettsége, melyek az állóképességet támogathatják. (93)

A rendszeres testedzés emésztőrendszerre gyakorolt hatásának vizsgálata más megközelítést igényel, mint az izom vagy keringési rendszeré. Edzett szív és edzett izom fogalmakkal gyakran találkozhatunk, de edzett emésztőrendszerrel kevésbé. Elmondható viszont, hogy a fizikális fittség és az emésztőrendszeri betegségek között számos esetben mutattak ki fordított arányosságot. Az edzettség és a bél mikrobiom kérdésköre emellett

napjainkban egyre nagyobb népszerűségnek örvendő témakör, mely számos érdekes kérdést vet fel az edzés és emésztőrendszer viszonylatában. (94)

A hormonális szabályozásban kimutatható különbségeket észlelünk, ha edzett és nem edzett mintákat hasonlítunk össze akut terhelés esetén. (95, 96) Ha nyugalmi állapotban vizsgáljuk a különbségeket, akkor az eltérések már nem olyan egyértelműek. Ennek ellenére vannak arra bizonyítékok, hogy például az anyagcserében és növekedésben szerepet játszó hormonok optimálisan emelkedett mennyisége figyelhető meg edzett és edzetlen minták között. (96, 97)

Az idegrendszert vizsgálva, a hétköznapi edzés szisztémás hatásai közé sorolhatók a jobb kognitív funkciók (98) a neurodegeneratív betegségek prevenciója, illetve a lefutás mérséklése (99) és vannak eredmények amellett hogy a mentális stresszel való szembenézés és a relaxációs folyamatokban is szerepet játszhat a fizikális fittség.

Az immunsejtek, különösen a limfociták és monociták anyagcseréjét a környezetükben lévő molekulák, mint a citokinek, az energetikai szubsztrátok és a hormonok irányítják, amelyekre az edzés befolyással lehet. Az ilyen anyagcsere változásai kapcsolódhatnak a jelátviteli útvonalak aktivációjához, meghatározva az immunsejtek működését. A rendszeres fizikai aktivitás és az élethosszig tartó testmozgás elősegíthetik a T-limfociták és a monociták metabolikus és funkcionális alkalmazkodását, csökkentve a gyulladást és lassítva az immunrendszer öregedését. (100)

2.3. Fittségi és kognitív paraméterek az életkor viszonylatában

Az öregedés folyamata során a fittségi és kognitív paraméterek romolhatnak, amelyek befolyással lehetnek az egyén fizikai teljesítőképességére és életminőségére. Az öregedéssel járó változások magukba foglalhatják az izomtömeg és -erő csökkenését, az aerob kapacitás hanyatlását, valamint a kognitív funkciók romlását is. (60)

Az öregedés, a fittségi és a kognitív paraméterekre kifejtett hatását például a következő tesztekkel vizsgálhatjuk:

CMJ (Countermovement Jump) Teszt: Ez a teszt a robbanékony erőt és az alsó végtagok izom erejét méri. A vizsgálat során az alany álló helyzetből csípőretartással indul, majd térdhajlítás után a maximális felugrást produkál. Az öregedés során a robbanékony erő és az izomerő csökkenése miatt a CMJ teszt eredményei általában romlanak. (101)

Kézszorító Erő (Grip Strength): Ez a mérés az általános (teljes testi) izomerőt és a felső végtagok erejét értékeli. A vizsgálat során az alany egy kézi szorítóerő mérőt használ, és a szorítás maximális erejét mérik. Az öregedéssel az izomtömeg és -erő csökkenése következtében a kézszorító erő is jelentősen gyengülhet, ami jelezheti a sarcopeniát és az általános fizikai hanyatlást. (102)

Digit Span Teszt: Ez a teszt a rövid távú verbális memóriát vizsgálja. Az alanynek egy írott számsorozat meghallgatása és visszamondása a feladata, növekvő mennyiségű számokkal. (103) Az öregedés hatására romolhat a rövid távú memória és a kognitív funkciók, ami a digit span teszt eredményeinek romlásában is megnyilvánulhat. (104)

Chester Step Teszt: A Chester Step Teszt az aerob kapacitást és a kardiovaszkuláris fittséget mutathatja. A vizsgálat során az alany egy steplépcsőre lép fel és le adott progresszív intenzitással, miközben a pulzusszáma rögzítésre kerül. A pulzusszám növekedéséből lehet a VO2 max értéket megbecsülni. Az öregedéssel az aerob kapacitás csökkenhet, ami a teszt során magasabb pulzusszámot és korábbi kifáradást eredményezhet, rávilágítva a kardiovaszkuláris és fittségi állapotra. (105)

Ezek a tesztek mind fontos eszközök lehetnek az öregedéssel járó fittségi és kognitív változások nyomon követésében. Számos más teszt létezik fiziológiás funkciók felmérésére, megbecsülésére, de azért ezeket a tesztek soroltuk fel mert könnyen, gyorsan, olcsón és megbízható eredményeket kapva lehet használni őket.

2.4. DNS metiláció, mint az emberi hardveren futó szoftver

A genetikai információk hordozójaként a DNS az emberi biológia alapvető építőeleme, ami egyfajta hardverként képzelhetünk el a szervezetben. A DNS működését azonban nemcsak az öt felépítő 4 különböző bázis nukleotidszekvenciája határozzák meg, hanem a DNS metiláció is lényeges szerepet játszhat benne. A már korábban említett DNS metiláció egy epigenetikai mechanizmus, amely arra szolgál, hogy a DNS szerkezetében bekövetkező változások révén befolyásolja a gének kifejeződését. (106)

A DNS metiláció során metilcsoportok (CH₃) kapcsolódhatnak a DNS citozin bázisaihoz. Ez a kémiai módosulás befolyásolhatja a génkifejeződést. Fontos hangsúlyozni, hogy ez az epigenetikai változás nem változtatja meg a DNS nukleotid szekvenciáját, hanem átmeneti módosítások révén szabályozhatják a gének működését. A metil csoportok a C5 pozícióban tudnak kötődni, mely folyamatot a metiltranszferáz enzim katalizálja és leginkább olyan DNS helyeken megy végbe ahol a citozint guanin bázis követ így alkotva a CpG szigeteket (CpG islands). (107)

A DNS metiláció számos folyamatot befolyásolhat az emberi szervezetben, például a sejtosztódást, az embrionális fejlődést, az immunválaszokat, és a környezeti ingerekre adott reakciókat. A metilációs mintázatok különböző sejttípusokban és körülmények között változhatnak, ez által befolyásolva a gének kifejeződését. Egyes gének aktívak lehetnek, míg mások inaktívak maradnak a metilációs mintázatok alapján. Így a DNS metiláció egyfajta szoftverként működhet, amely szabályozza, hogy mely gének és folyamatok működnek a szervezetünkben. (108)

Fontos megjegyeznünk, hogy a belső és külső környezeti tényezők miatt kialakuló epigenetikai változások részben továbbörökíthetők. (109) Vannak epigenetikai bizonyítékok arra, hogy a káros szokások (mint például a dohányzás) (110), a kognitív stressz, (111) de emellett az egészséges életmód és hétköznapi edzés is (112) befolyással lehetnek az utódokra még a fogantatás előtt.

2.5. Az epigenetikai órák első két generációja, a klasszikus epigenetikai órák

Az úgynevezett "DNS metilációs életkor" (DNAmAge) pontos életkor becslést tesz lehetővé különböző szövetekben (113), és az élet különböző szakaszaiban, valamint az öregedés egyik legígéretesebb biomarkereként tartják számon. (114) Az epigenetikai órák világából 4 olyan órát mutatunk be, melyek sokat kutatott és használt biomarkerek.

2.5.1. Horvath epigenetikai óra

A legszélesebb körben használt epigenetikai óra Steve Horvath epigenetikai órája melyet rák, Alzheimer, öregedés és életvitel kutatásokban is használtak már. (115, 116) Ez volt az első olyan életkor becslő óra, amely különböző sejtekből, szövetekből vagy szervekből nyert DNS-ből is képes volt minden életkorban pontos becslést végrehajtani. 7844 elemszámú, gyermektől felnőttkorig terjedő mintán fejlesztették ki az órát. A folyamat során 51 különböző szövet- és sejt típust vizsgáltak Illumina 27 K vagy 450 K módszerrel, melynek köszönhetően 353 CpG szigetet határoztak meg az óra működéséhez, ahol 193 CpG pozitívan, 160 CpG pedig negatívan korrelált az életkorral. A modell korrelációja a DNAmAge és a kronológiai életkor között 0,96-os, a medián abszolút különbség pedig mindössze 3,6 év volt. (117, 118)

2.5.2. Hannum epigenetikai óra

A Hanumm-féle epigenetikai óra egy vérmintán alapuló DNS metilációt számszerűsítő, életkor becslő óra, amelyet Illumina 450 K metilációs adatbázissal hoztak létre. (113) 71 CpG helyet határoztak meg regressziós eljárással, melyek számba vételével kronológiai életkort lehet becsülni. A DNAmAge és a kronológiai életkor közötti korreláció 0,96 volt, a medián abszolút különbség pedig 3,9 év. Mivel a modellt kizárólag felnőtt vérminták képezték, más szövetekben és gyermekek esetén torzított becsléseket adhat. (119)

Horvath-féle epigenetikai órával összehasonlítva a Hannum-óra pontosabbnak bizonyult a felnőtt vérmintáknál.

2.5.3. DNA PhenoAge óra

Az epigenetikai órák első generációja gyenge kapcsolatot mutatott klinikai jellemzőkkel. Ennek javítására Levine kifejlesztette a DNAm PhenoAge nevű epigenetikai órát, amely a kronológiai életkor helyett biológiai életkort képes becsülni. A modell az Egyesült Államok Nemzeti Egészségügyi és Táplálkozási Felmérés (NHANES III) klinikai adatait használta és 10 klinikai jellemzőt kombinált, mint például az albumin, kreatinin, glükóz, C-reaktív protein szintek, limfocita százalék, átlagos sejttérfogat, vörösvérsejt-eloszlási szélesség, alkalikus foszfatáz és fehérvérsejtszám. Ezeket az adatokat regressziós modell segítségével vetették össze a vér DNS metilációs szintjeivel. (120)

A DNAm PhenoAge 513 CpG helyet vesz figyelembe a működése során, és különböző platformok esetén is használható. Képes megkülönböztetni ugyanazon kronológiai életkorú egyének megbetegedési és halálozási kockázatát és jobban teljesít a 10 és 20 éves halálozási előrejelzésekben, mint a Horvath-féle epigenetikai óra. A Levine féle epigenetikai óra erős kapcsolatot mutat a gének kifejeződésével is, például a gyulladásos és interferon útvonalakkal. (121)

2.5.4. DNA GrimAge óra

A GrimAge a PhenoAge-hez hasonlóan a második generációs epigenetikai órákhoz tartozik. Az óra kialakításához 88 plazmafehérje közül regressziós eljárások segítségével kiválasztották azt a 7 plazmafehérjét, amelyek magas korrelációs együtthatót mutattak DNS metilációs szintekkel. Számba vették az évek alatt elfogyasztott cigaretták mennyiségét is, mert a vizsgált plazmafehérjék mennyisége és a cigaretta jó előrejelzői a mortalitásnak. A plazmafehérjék a következők voltak: cystatin C, leptin,

metalloproteináz 1 (TIMP1) gátló szöveti inhibitor, adrenomedullin (ADM), béta-2-mikroglobulin (B2M), növekedés-differenciáló faktor 15 (GDF15), és a plazminogén aktivátor inhibitor 1 (PAI1). Ezeket az adatokat 2356 személy vérmintájából nyerték a Framingham szívvizsgálat (FHS) Offspring Cohort csoportjából. Cox regressziós modelleket használva végül 1030 CpG helyet határoztak meg a GrimAge óra működéséhez. (122)

A GrimAge a vizsgált paraméterek miatt gyulladásokat, (123) szív- és érrendszeri betegségeket, vese- és kognitív funkciókat (124) tükrözi. Mivel a GrimAge jobban fókuszál az életvitel biomarkereire és a korfüggő állapotokra, ezért az előtte létezett órákhoz képest jobb előrejelzésre képes az élethossz becslésében. (122)

Az epigenetikai órák világában az első generációhoz tartoznak a kronológiai életkort becsülő órák vagy Horvath és Hannum órája. A második generációs órákhoz tartozik a PhenoAge és GrimAge órák, melyek biológiai életkort becsülnek és az öregedés sebességére is képesek reflektálni. Az 1. táblázatban látható egy rövid összegzés ezekről az órákról. Az első sorból leolvasható, hogy az órák különböző mennyiségű CpG helyet vesznek alapul a becsléséhez (Horvath: 353, Hannum: 71, DNAm PhenoAge: 513, DNAm GrimAge: 1030). A vizsgált pontok között vannak átfedések, de eltérések is. A PhenoAge építéséhez használt 513 CpG és Horvath 353 CpG helye között csak 41 azonos található. A PhenoAge és a Hannum óra pedig mindösszesen 5 megegyező CpG helyet használ. (120) Vannak bizonyítékok arra, hogy minél több CpG helyet használ az óra a számítása során, annál robosztusabb és pontosabbak lesznek. (125) Ezzel szemben olyan eredményeket is publikáltak, amik alacsony CpG hely mellett pontosabb eredményeket mutatott, mint robosztusabb társaik. (121) Összességében elmondható, hogy egy nagy potenciállal rendelkező, gyors iramban fejlődő metodika kezdeti fejlődését láthatjuk, melynek jelen pillanatban könnyen észlelhetők a hibái, viszont az eddigi metodikákhoz képest pontosabb kormeghatározási faktornak látszanak.

1. táblázat: A Horvath, a Hannum, a PhenoAge és a GrimAge epigenetikai órák rövid jellemzése

Clock	Horvath's clock	Hannum's clock	PhenoAge	GrimAge
N of CpGs	353	71	513	1030
Illumina Array	27K, 450K	450K	27K, 450K, 850K	450K, EPIC
N of Subjects	7844	482	9926	6935
Age	0–100	19–101	0–100	46–78
Tissue	51 healthy tissues and cell types	whole blood	whole blood	whole blood
Training Phenotype	chronological age	chronological age	lifespan	lifespan
Regression	penalized regression model (elastic net)	penalized regression model	Cox penalized regression model	elastic net Cox regression model
Prediction Accuracy (r)	0.960	0.905	-	-
Year and Reference	2013[1]	2013[2]	2018[3]	2019[4]

Forrás: Duan, R. Duan R, Fu Q, Sun Y, Li Q.. (2022). Epigenetic clock: A promising biomarker and practical tool in aging. Ageing research reviews, 81, 101743. Table 1.

2.6. Az irizin és a testedzés kapcsolata

Az irizin egy 2012-ben Boström és munkatársai által felfedezett myokin. Jelentős érdeklődést váltott ki a tudományos közösségen belül a testmozgás és a metabolikus egészség közötti kapcsolatban betöltött szerepe miatt. Ez a hormon, amelyet elsősorban a vázizomsejtek termelnek fizikai aktivitás hatására, alapvető szerepet játszik a testmozgás jótékony hatásainak közvetítésében. (126)

Testmozgás során, különösen állóképességi és erő edzések alatt, a FNDC5 (fibronectin III típusú domén tartalmú fehérje 5) kifejeződése fokozódik az izomszövetekben. Az FNDC5 ezután hasad, és irizin keletkezik, amely a vérkeringésbe kerül. A véráramba kerülve az irizin számos fiziológiás hatást fejt ki, amelyek hozzájárulhatnak az általános egészségi állapot és a fittség javulásához. (127)

Az irizin egyik fő funkciója, hogy elősegíti a fehér zsírszövet (WAT) barnulását. A barnulás arra a folyamatra utal, amely során a fehér zsírsejtek, amelyek általában energiát tárolnak, barna színű zsírsejteké alakulnak át, amelyek energiát használnak fel és hőt termelnek. Ez a hőtermelő hatás a zsírszövetek mitokondriumainak uncoupling protein 1 (UCP1) fehérje útvonalaán keresztül valósul meg. Ennek eredményeként a szervezet növelheti az energiafelhasználást, ami segítheti a testzsír csökkentését és az elhízás elleni küzdelmet. (128)

Az irizin emellett fokozhatja a glükóz felvételét és javíthatja az inzulin érzékenységet, ami alapvető tényező a metabolikus rendellenességek, például a 2-es típusú cukorbetegség kezelésében és megelőzésében. Az irizin növeli a glükóz transzporter 4 (GLUT4) kifejeződését az izomsejtekben, így elősegítve a glükóz felvételét a véráramból, ezáltal csökkentve a vércukorszintet, és közvetetten segíthet az inzulinrezisztencia kialakulásában. (129)

A testmozgás által kiváltott irizin termelés gyulladáscsökkentő tulajdonságokat is mutat, amelyek enyhíthetik az elhízással és a metabolikus betegségekkel járó krónikus gyulladást. Ez a gyulladáscsökkentő hatás hozzájárulhat a fizikailag aktív egyéneknél megfigyelt általános kardiovaszkuláris egészség javulásához. (130)

A metabolikus előnyök mellett valószínűsíthető, hogy az irizin neuroprotektív hatással is rendelkezik. Tanulmányok azt sugallják, hogy az irizin képes átlépni a vér-agy gáton és elősegítheti a kognitív funkciókat az agyi származású neurotróf faktor (BDNF) termelődésének serkentésével, amely hozzájárulhat a neurogenesishez és a szinaptikus plaszticitáshoz. (131)

Az irizin szint összefüggésben állhat az öregedéssel is. Idős populációban az irizin szint alacsonyabb lehet, amely összefügghet a csökkent fizikai aktivitással és az öregedéssel járó metabolikus változásokkal. Az irizin szint növelése időskori edzéssel hozzájárulhat a metabolikus egészség javításához és az öregedéssel járó fiziológias romlás mérsékléséhez. (132)

Ezen túlmenően, az irizin hatást gyakorolhat a csontok ásványianyag tartalmára. Az irizin elősegítheti az osteoblastok, azaz a csontképző sejtek aktivitását, ami növelheti a csontsűrűséget és csökkentheti a csonttrikulás kockázatát. Ez a mechanizmus rávilágít a testmozgás szerepére a csontok egészségének megőrzésében. (133)

2.7. Redox-egyensúly mint edzettségi mutató

A redox egyensúly, amely a szabadgyökök és az antioxidánsok közötti egyensúlyt jelenti, alapvető szerepet játszik az általános egészség fenntartásában, és fontos mutatója a fizikai fittségnek. A szabadgyökök instabil molekulák, amelyek oxidatív stresszt okozhatnak, ha felhalmozódnak a szervezetben. Az antioxidánsok ezzel szemben semlegesíthetik ezeket a szabadgyököket, így fenntartva a sejtek egészségét. A jól kiegyensúlyozott redox állapot elengedhetetlen az optimális sejtfunkciók fenntartásához és a betegségek megelőzéséhez. (134)

Testmozgás során a szabadgyökök termelése fokozódhat, a megnövekedett energiafelhasználás és az oxidatív anyagcsere miatt. Azonban a rendszeres és megfelelő intenzitású edzés javítja a szervezet antioxidáns kapacitását, ami segíthet fenntartani a redox egyensúlyt. Az edzett egyének szervezete hatékonyabban tudja kezelni az oxidatív stresszt, mivel az edzés növeli az endogén antioxidáns enzimek, például a (már említett) szuperoxid dizmutáz (SOD), a glutation peroxidáz (GPx) és a kataláz aktivitását. Ez az alkalmazkodás elősegítheti a sejtek védelmét és mérsékelni tudja a káros oxidatív hatásokat. (135)

Az öregedéssel a szervezet redox egyensúlya gyakran felborulhat. Idősebb szervezet kevésbé hatékonyan tudja semlegesíteni a szabadgyököket, ami fokozott oxidatív stresszt

eredményezhet. Ez hozzájárulhat számos kedvezőtlen egészségi állapothoz, mint például a krónikus gyulladások, az érrendszeri betegségek, a neurodegeneratív betegségek és a rák kialakulása. (136)

A redox egyensúly és az antioxidáns kapacitás fenntartása különösen fontos idősebb korban. A rendszeres testmozgás javíthatja a redox egyensúlyt azáltal, hogy stimulálja az antioxidáns rendszerek működését és csökkenti az oxidatív stressz szintjét. Az edzés által kiváltott antioxidáns védelem nemcsak az oxidatív károsodások megelőzésében segít, hanem hozzájárulhat az általános egészségi állapot és az életminőség javításához is. (137)

A redox egyensúly az edzettség egyik fontos mutatója, amely kulcsszerepet játszhat a sejtfunkciók fenntartásában és a betegségek megelőzésében. A rendszeres testmozgás elősegítheti az antioxidáns kapacitás növekedését és az oxidatív stressz csökkentését, ami különösen fontos az öregedéssel járó káros hatások ellensúlyozásában. Az edzéssel elért jobb redox egyensúly hozzájárulhat a hosszabb és egészségesebb élethez.

3. Célkitűzések

A biológiai öregedés vizsgálatára több lehetőség létezik. A kutató csoportunk ezek közül a DNS metilációs mintázaton alapuló epigenetikai órákat veszi górcső alá. Az eddig rendelkezésünkre álló tudományos eredmények alapján elmondható, hogy a hétköznapi edzés, vagyis a rendszeres testmozgás szisztémás hatásai közé tartozik a hosszabb egészségben töltött élet, ezért indokoltnak tűnik, hogy az élethosszt vizsgáló epigenetikai órák világában megjelenjen egy olyan vizsgálati módszer is, ami a fittséget is számba veszi.

Célul tűztük ki, hogy ezen hiánypótló kutatást elvégezzük, illetve hogy további megvilágításba helyezzük az edzés indukált fiziológiás változások és az öregedés kapcsolatát.

Céljaink eléréséhez a következő hipotéziseket állítottuk fel:

H1 - Részben új metilációs helyek használatával létrehozható olyan epigenetikai óra, mely számba veszi a fizikális fittséget.

H2 - Az új fittségi biomarkerek az egészségi állapot független előrejelzőjeként tudnak működni.

H3 - Az új epigenetikai óra erősebb összefüggést mutat fittségi paraméterekkel, mint az eddig létezett DNAmGrimAgeAccel. és DNAmPhenoAgeAccel.

H4 - Az új DNAm biomarkerek segítségével különbséget lehet kimutatni a minták fittsége között.

4. Módszer

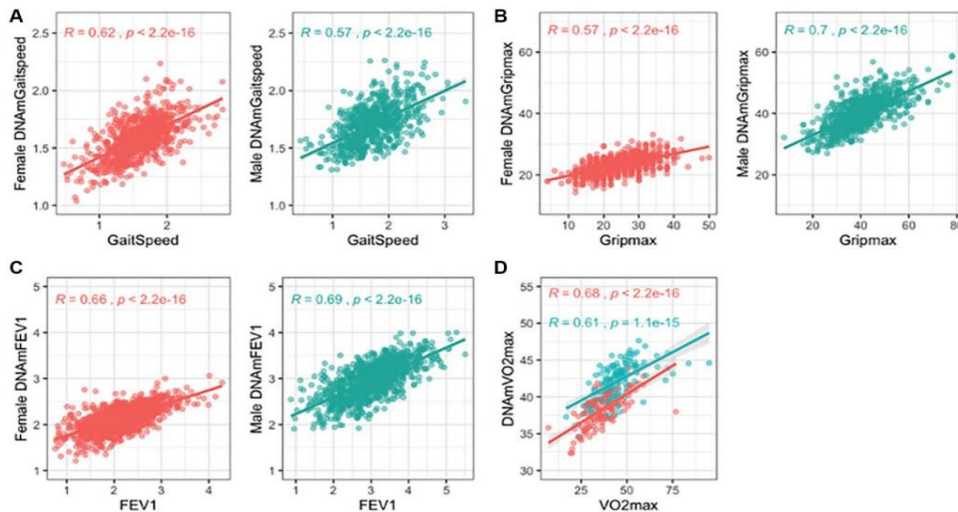
4.1. DNAmFitAge kialakítása

Az egész életen át tartó edzés epigenetikai hatásainak vizsgálatához először létrehoztunk egy olyan DNS metilációt vizsgáló epigenetikai órát, amely számba vesz fittségi mutatókat is, mivel a vizsgálatunk kezdetéig létezett epigenetikai órák fittségi paramétereit nem vették számításba. Ehhez négy fittségi mutatóból alakítottunk ki DNAm biomarkereket. A fittségi mutatók a sétálási sebesség (gait speed), a maximális szorítóerő (maximum handgrip strength), az erőltetett kilégzés (FEV 1), és a maximális oxigénkapacitás (VO2 max) voltak.

Három vizsgálatból származó adatokat használtuk fel ahhoz, hogy új DNAm fittséget is számba vevő biomarkereket alakítsunk ki: Framingham Heart Study Offspring (FHS, n = 1830), Baltimore Longitudinal Study on Aging (BLSA, n = 820), és a Velencei Tónál végzett evezős vizsgálatunk (n = 307). Az FHS vizsgálat szív és érrendszeri longitudinális kutatás eredményeit dolgozza fel. (138) A BLS vizsgálat egészséges felnőttek öregedését vizsgálta. (139) A különböző kutatások eredményeinek egyszerre történő használatához Key és mtsa. módszerét használtuk, (140) röviden újra centralizáltuk és megszoroztuk a szórás értékek arányával az egyes fittségi paramétereit, így azonos átlagot és szórást kaptunk. A validációs vizsgálatainkat hat további kutatás eredményein végeztük el: két Lothian Birth Cohort vizsgálat (LBC1921, n = 692; LBC1936, n = 2797), Comprehensive Assessment of Long-term Effects of Reducing Intake of Energy (CALERIE, n = 578), InChianti (n = 924), Jackson Heart Study (JHS, n = 1746) és Women's Health Initiative (WHI, n = 2117). A validálás folyamatának metodikáját már korábban publikálták. (141, 142) Az új fittségi biomarkerek ellenőrzését egy Lengyel testépítőket és kontroll csoportot vizsgáló epigenetikai kutatás eredményein végeztük. (143)

4.1.1. Fittségi paramétereket mutató DNAm biomarkerek fejlesztése

Mind a négy fittségi DNAm biomarker fejlesztéséhez LASSO regressziós eljárást használtunk tízszeres keresztvalidációs eljárással. Az eljárás során a fittségi paraméterek voltak a függő, a CpG helyeken mért DNAm szintek és a kronológiai kor pedig a független változók. LASSO regressziót használtunk a vizsgálathoz, mert a LASSO regresszió használatakor a modell működésének szempontjából releváns változók nagy hangsúlyt kapnak. Ez a módszer hasznos a változók szelekciójában és a prediktív modell javításában. A gait speed, FEV1, VO2max és szorítóerő modelleket külön állítottuk fel nőkre és férfiakra, hogy meghatározzuk a nem-specifikus CpG helyeket, ezzel reflektálva a fittségben mutatkozó nemek függvényében megvalósuló különbségekre. A kiválasztott kovariánsokat és becsült együtthatókat használtuk a fittségi paramétereket előrejelző algoritmus megalkotására. A DNAmGaitspeed, DNAmGrpimax, DNAmFEV1, és DNAmVO2max algoritmusok előre jelzik a fittségi állapotokat. Ezen DNAm biomarkerek és a mért fittségi paraméterek korrelációja az 1. ábrán látható.



1. ábra: Szórásdiagramok DNAm fittségi biomarker modellekről a valós fittségi értékek függvényében a tréning adatbázison

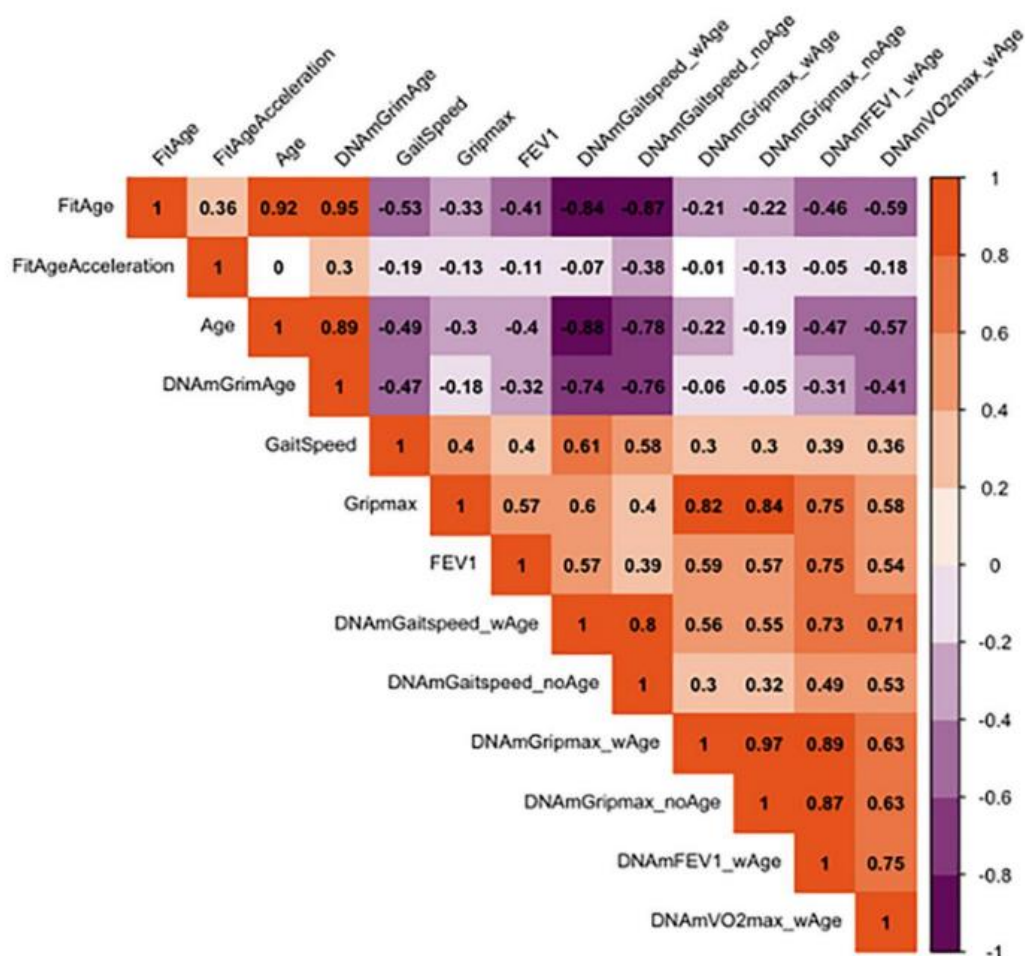
A piros pontok jelölik a nőket a zöld pontok pedig a férfiakat. Minden panel a kronológiai korrall épített DNAm biomarkerek teljesítményét mutatja a Pearson korreláció és a p-értékek segítségével.

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. *Aging (Albany NY)*, 10:3904-3938.

Supplementary Figure 3.

A VO2 max vizsgálatához szükséges biomarker megalkotása nem volt kivitelezhető a nemek szerinti válogatás során kialakult alacsony elemszám miatt. A nemek szerinti válogatás következtében a VO2 max elemszámok mennyisége alacsony volt. A VO2 max vizsgálatához szükséges biomarker megalkotását úgy végeztük, hogy az algoritmusból kivettük a nemet, mint változót és a LASSO regressziós folyamatra bíztuk, hogy meghatározza azokat az X kromoszómán található markereket, amik a legjobban kifejezik a nők és férfiak közötti különbséget.

Két-két modellt állítottunk fel a DNAmGaitspeed és a DNAmGripmax biomarkerek meghatározásához. Az egyiket a kronológiai korról, mint potenciális kovariáns, a másikat a kronológiai kor nélkül. A DNAm biomarkerek között felfedezett viszonylag magas kollinearitás orvoslása a kor kihagyásával végeztük a LASSO regressziót, hogy a DNAmFitAge modell létrejöhesse. (2. ábra)



2. ábra: Korrelációs mátrix a legnagyobb tréning adathalmazokon (FHS, BLSA) a fittségi paraméterek, DNAm biomarkerek és DNAmFitAge között.

Az ábráról a változók közötti Person r korrelációs együtthatók olvashatók le. A VO2 max értékek azért nincsenek feltüntetve, mert ezeken az adatbázisokon ez a biomarker nem állt rendelkezésre. A “_wAge” azt jelenti, hogy a használt modellekben a kronológiai életkor számításba került. A “_noAge” pedig azokat a változókat jelöli, ahol csak CpG helyek voltak figyelembe véve a kronológiai kor nélkül.

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. *Aging (Albany NY)*, 10:3904-3938. Supplementary Figure 4.

4.1.2. A DNAm fittségi paraméterek validálása

Két validációs analízist használtunk a DNAm fittségi biomarkerek igazolásához. Ehhez 5 független adatbázist használtunk. Először korreláltattuk a DNAm értékeket a mért fittségi paraméterekkel. Másodszor értékeltük annak a jelentőségét, hogy a DNAm biomarkerek a null modellekhez képest (nem és kor) jobb előrejelzőként funkcionálnak-e. A null modellek Pearson korrelációja a 2. táblázatban láthatók.

2. táblázat: A validációs adatbázis null modelljeinek Pearson korrelációs együtthatói és a DNAm biomarkerek szignifikancia szintjei

DNAm Biomarker	Sex	Age in Model	LBC1921		LBC1936		CALERIE		InChianti		WHI		Meta Analysis p-value
			Null R	DNAm p-value	Null R	DNAm p-value	Null R	DNAm p-value	Null R	DNAm p-value	Null R	DNAm p-value	
Gaitspeed	Females	Y		0.437		0.118		0.519		0.011		1.7E-05	0.082
		N	0.412	0.069	0.382	0.230	0.100*	0.736	0.478*	0.427	0.107*	0.0002	0.051
	Males	Y		0.092		0.118		0.519		0.011			0.0048
		N	0.418	0.011	0.413	0.230	0.264*	0.736	0.334*	0.427			0.0037
Gripmax	Females	Y		0.556		7.7E-05		0.258				0.012	0.056
		N	0.422	0.0014	0.114	0.028	0.170	0.312			0.128*	0.430	0.056
	Males	Y		0.026		0.034		0.095					0.702
		N	0.363	0.0037	0.203	0.005	0.115	0.939					0.0015
FEV1	Females	Y		0.163^		0.0017		0.0061		0.193		4.3E-05	1.99E-04
	Males	Y		0.196^		0.0001		0.206^		0.483		0.655	2.01E-09
VO2max	Overall	Y		0.623^		0.0065		0.809		0.706		0.00013	-

* *kompozit lábizomerő, + fizikai funkcionalitás, ^FEV*

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. *Aging (Albany NY)*, 10:3904-3938.

Table 1.

A p-értékek a DNAm által becsült biomarkerek szignifikancia szintjét mutatja, mint fittségi paramétereket. A p-értékeket metaanalízis során kereszt validációs eljárással határoztuk meg a különálló adathalmazokon keresztül. A DNAmGaitSpeed és DNAmFEV1 kalkulációkat az LBC1921 és LBC1936 adatbázisokon, a DNAmGripmax kalkulációt a CALERIE, WHI, LBC1936 és LBC1921 adatbázisokon határoztuk meg. A DNAmVO2max biomarker validálásához nem használtunk metaanalízist, mert csak egy validációs adatbázisban voltak mért VO2max eredmények.

4.1.3. DNAmFitAge: biológiai kormeghatározás

DNAm FitAge fejlesztése

A biológiai kor indikátoraként határoztuk meg a DNAmFitAge-et, amihez Kleméra és Doubal metodikáját követtük. (144) Röviden a Kleméra-Doubal modell arra épül, hogy egy közvetlenül nem megfigyelhető tulajdonság (biológiai kor) összefüggést mutathat egy megfigyelhető tulajdonsággal (kronológiai kor) és más változókkal. Emiatt állíthatja azt a modellt, hogy a biológiai életkor a kronológiai életkor köré csoportosul. A súlyozott legkisebb négyzetek statisztikai módszerét használják ahhoz, hogy meg lehessen becsülni a kapcsolat minőségét a biológiai életkor és a további változók között, ahol a statisztikai súlyozást a változók és a kronológiai kor között lévő korrelációból lehet meghatározni.

A DNAmFitAge biomarkert külön férfiakra és nőkre határoztuk meg. Ehhez három DNAm változót (DNAmGripmax, DNAmGaitsSpeed és DNAmVO2max) és a DNAmGrimAge (mortalitási biomarkert) használtuk. (122) A biológiai kort (a feljebb leírt) Kleméra Doubal metodikával becsültük meg, ehhez WGCNA R csomagból a TrueTrait funkciót használtuk. A változók súlyát/fontosságát a 3. táblázat mutatja.

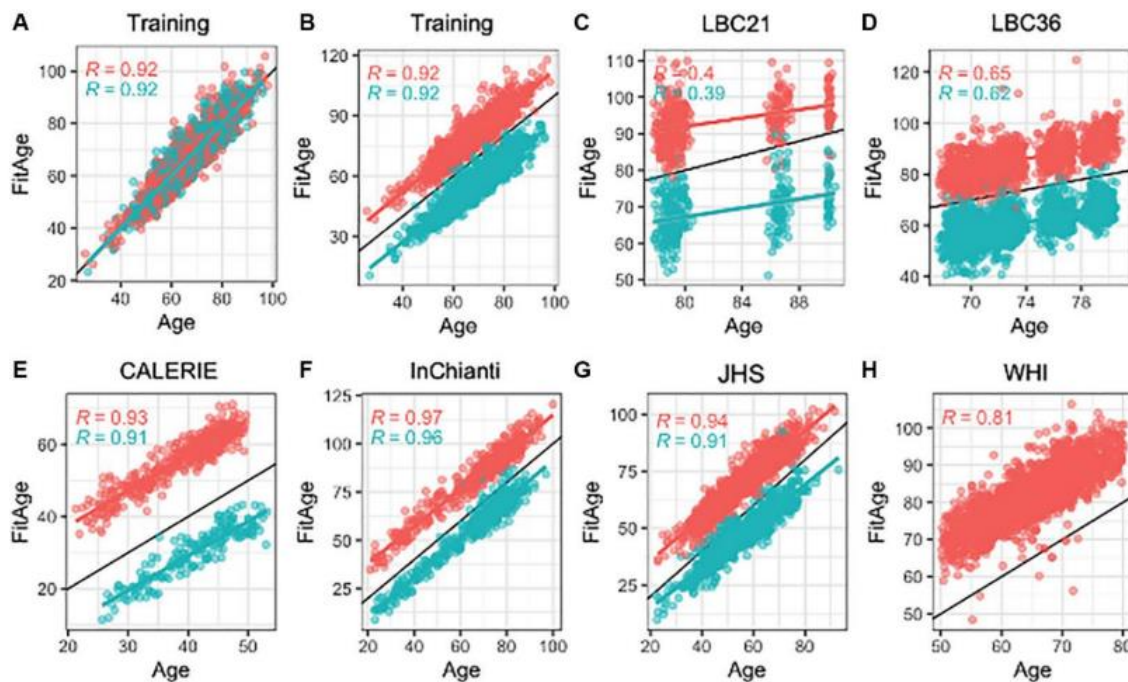
3. táblázat: A DNAm biomarkerek súlya vagyis fontossága

Variable	Female weights	Male weights
DNAmGripmax	0.174	0.179
DNAmGaitSpeed	0.228	0.159
DNAmVO2max	0.104	0.139
DNAmGrimAge	0.493	0.523

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. Aging (Albany NY), 10:3904-3938.

Table 2A.

A Person's féle korrelációs együtthatók a fittségi mutatók, DNAm biomarkerek és az FHS + BLSA adatbázisok DNAmFitAge értékei között a 3. ábrán láthatók. A DNAmFitAge és kronológiai életkor közötti korreláció eredményeit a 3. ábra A és B panelje mutatja.



3. ábra: Scatterplots ábrák a DNAmFitAge és kronológiai kor összefüggéseiről a tréning és teszt adatbázisokon, nemenként elkülönítve.

Piros pontok jelölik a nőket, zöld pontok a férfiakat. Minden panel a DNAmFitAge korrelációs teljesítményét és az ehhez tartozó p-értéket mutatja az egyes adatbázisokon a kronológiai életkor viszonylatában. (A) DNAmFitAge teljesítménye a tréning adatbázison mindkét nemnél. (B–H) DNAmFitAge modellek a felépítéssel ellentétes nemre való használatkor. (DNAmFitAge ami a nőkre volt felépítve a férfiakon használva és fordítva). A nőket idősebbnek a férfiakat fiatalabbnak becsülte a modell mint amennyi a kronológiai életkoruk, mind a tréning mind a teszt adatbázisokon.

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. *Aging (Albany NY)*, 10:3904-3938. Supplementary Figure 2.

Végül megalkottuk a FitAgeAcceleration-t, ami röviden nem más mint a DNAmFitAge és a kronológiai kor közötti különbség. A FitAgeAcceleration az epigenetikai kor öregedési sebességét mutatja meg. Ha egy pozitív értéket kapunk az azt jelenti, hogy a biológiai kor magasabb a kronológiai kornál, ha negatív értéket kapunk az pedig, hogy

kevesebb mint a kronológiai kor. Ideális eredménynek tekinthető, ha az epigenetikai öregedés negatív előjellel bír.

DNAmFitAge validálása

A DNAmFitAge validációs analízise három részből állt: DNAmFitAge korreláltatása a kronológiai korrall, a fizikai aktivitás és a FitAge kapcsolatának vizsgálata, illetve a FitAge Acceleration és korrall összefüggésbe hozható változók kapcsolata, validációs adatbázisokon. A felállított modellben a biológiai kor a kronológiai kor köré összpontosul, ezért a validációs vizsgálatoknál jó korrelációnak kell lennie a DNAmFitAge és a kronológiai kor között. Mivel a DNAmFitAge magába foglal fittségi paramétereket is, ezért a DNAmFitAge-nek összefüggést kell mutatnia a fizikai aktivitással és fizikai funkciókkal. A DNAmFitAge eredmény az öregedésre enged következtetni a fittségi tények figyelembevételével, ezért a FitAgeAcceleration kapcsolatot kell hogy mutasson az öregedés-függő fenotípusokkal.

Alacsony és közepes fittségű egyéneknél teszteltük, hogy milyen összefüggés mutatható ki a fizikai aktivitás/funkciók és a FitAgeAcceleration, illetve a DNAm biomarkerek között. Az elemzést azért szűkítettük alacsony és közepes fittségű populációra, hogy megnézzük érzékenyebb-e a FitAgeAcceleration a kis mértékű fittségi változásokra, mint az eddigi DNAm biomarkerek. Az LBC1921, LBC1936 és JHS tanulmányok fizikai aktivitást a WHI és InChianti tanulmányok pedig fizikai funkciókat vizsgáltak. Minden esetben a változók magasabb értéke magasabb aktivitást vagy jobb fizikai funkciókat határoztak meg. További DNAm biomarkerek, amik a fizikai egészséget vizsgálják: DNAmPhenoAge, DNAmGrimAge, DNAmPAI-1 és DNAmGDF-15.

A DNAmFitAge kapcsolatát több öregedéssel kapcsolatos változóval teszteltük a validációs adatbázisokban. Végrehajtottunk regressziós elemzést a fizikai aktivitás, az elhalálozási idő, a koszorúér-betegség kialakulásáig eltelt idő, az életkorrall összefüggést mutató betegségek száma (arthritis, szürkehályog, rák, koszorúér-betegség, szívelégtelenség, tüdő emfizéma, zöldhályog, lipid állapot, csontritkulás), a menopauza

kezdeté, rák, magas vérnyomás, 2-es típusú cukorbetegség és betegségmentes állapot között. A betegségek kialakulásának kockázati arányának becsléséhez az egészség megváltozásáig eltelt időt Cox-regresszióval elemeztük; a folytonos eredményeket lineáris regresszióval elemeztük. Az egyenesek becsléséhez a dichotóm eredményeket logisztikus regresszióval elemeztük a következmények becsléséhez (OR) és az ordinális eredményeket multinomiális regresszióval elemeztük az OR becsléséhez. A vizsgálati kohorszok közül a InChianti, a LBC1921 és a LBC1936 longitudinális méréseket tartalmazott. Ezekben az esetekben a lineáris regressziós modelleket személy szintű véletlenszerű értékekkel hajtottuk végre az azonos egyén belüli korreláció beállításához. A logisztikus regressziós modelleket általánosított becselő egyenletek segítségével becsültük meg az R gee funkcióval. A multinomiális modelleket R multinom funkcióval hajtottuk végre.

A FitAgeAcceleration-t is vizsgáltuk az elhalálozási idő és a komorbiditások számának magyarázatára azokon túl, amit más epigenetikai órák rögzítenek. A DNAmFitAge-t a DNAmGrimAge segítségével építettük, mivel tudjuk, hogy a DNAmGrimAge és más epigenetikai órák kapcsolatot mutatnak az életkorral összefüggő állapotokkal. A FitAgeAcceleration összehasonlításra került más epigenetikai biomarkerekkel egy Likelihood Ratio Test (LRT) segítségével két beágyazott modellezésben, amelyek nemi alapon lettek kialakítva; az egyik az életkort és egy másik epigenetikai órát tartalmazza, a másik az életkort, másik epigenetikai órát és a FitAge Acceleration-t. Az LRT-k és az azokhoz tartozó p-értékek láthatók a validációs adatokban a 4. táblázatban, a DNAmGrimAge, DNAmPAI1, DNAmGDF15, DNAmAgeHannum és DNAmAgeSkinBloodClock viszonylataiban.

4. táblázat: A DNAmFitAge hasznosságának összehasonlítása más DNAm biomarkerekkel a halálozásig eltelt idő és társbetegségek számának függvényében, miután korra és nemre korrigáltuk.

		LBC1921		LBC1936		InChianti		WHI		JHS	
Time-to-Death Model Comparison		LRT	LRT p-value	LRT	LRT p-value	LRT	LRT p-value	LRT	LRT p-value	LR T	LRT p-value
DNAmGrimAge + DNAmFitAge to DNAmGrimAge	Females	0.5	0.479	2.9	0.091	7.2	0.007	1.1	0.286	4.6	0.032
	Males	3.7	0.054	2.6	0.110	7.7	0.005			0.2	0.628
DNAmPhenoAge + DNAmFitAge to DNAmPhenoAge	Females	9.1	0.003	36.0	1.98E-09	1.2	0.269	17.0	3.70E-05	30.4	3.53E-08
	Males	11.3	7.64E-04	91.0	< 1.0E-16	26.4	2.76E-07			4.3	0.039
DNAmPAII + DNAmFitAge to DNAmPAII	Females	9.8	0.002	51.1	8.67E-13	7.3	0.007	17.0	3.76E-05	38.5	5.36E-10
	Males	30.4	3.49E-08	83.6	< 1.0E-16	22.9	1.67E-06			7.1	0.008
DNAmGDF15 + DNAmFitAge to DNAmGDF15	Females	5.2	0.023	44.8	2.16E-11	6.1	0.014	23.1	1.54E-06	46.6	8.88E-12
	Males	25.0	5.78E-07	70.7	< 1.0E-16	14.1	1.73E-04			4.4	3.66E-02
DNAmAgeHannum + DNAmFitAge to DNAmAgeHannum	Females	13.2	2.79E-04	60.8	6.11E-15	2.0	0.157	31.5	1.95E-08	41.6	1.11E-10
	Males	15.0	1.09E-04	104.0	< 1.0E-16	22.0	2.70E-06			7.0	0.008
DNAmAgeSkinBlood Clock + DNAmFitAge to DNAmAgeSkinBlood Clock	Females	16.4	5.05E-05	92.3	< 1.0E-16	3.6	0.058	34.7	3.79E-09	57.2	3.89E-14
	Males	22.4	2.17E-06	133.8	< 1.0E-16	21.8	3.01E-06			10.9	9.46E-04
Number of Comorbidities Model Comparison											
DNAmGrimAge + DNAmFitAge to DNAmGrimAge	Females	2.1	0.148	1.2	0.269	0.4	0.513	3.4	0.065	0.0	0.910
	Males	2.5	0.117	3.1	0.080	0.05	0.828			1.2	0.267
DNAmPhenoAge + DNAmFitAge to DNAmPhenoAge	Females	0.05	0.828	2.6	0.110	3.4	0.067	2.9	0.091	8.6	0.003
	Males	5.2	0.023	38.7	4.98E-10	0.01	0.927			0.7	0.412
DNAmPAII + DNAmFitAge to DNAmPAII	Females	0.7	0.401	1.3	0.255	0.9	0.344	1.4	0.230	2.7	0.101
	Males	1.4	0.233	26.5	2.70E-07	0.1	0.800			0.1	0.817
DNAmGDF15 + DNAmFitAge to DNAmGDF15	Females	0.5	0.476	5.3	0.021	0.01	0.944	6.7	0.010	22.1	2.61E-06
	Males	2.6	0.105	31.6	1.86E-08	0.6	0.453			4.2	0.041
DNAmAgeHannum + DNAmFitAge to DNAmAgeHannum	Females	0.03	0.871	2.4	0.123	0.7	0.411	6.5	0.011	13.1	2.88E-04
	Males	2.6	0.108	39.2	3.78E-10	0.2	0.624			1.1	0.305
DNAmAgeSkinBlood Clock + DNAmFitAge to DNAmAgeSkinBlood Clock	Females	0.3	0.596	5.6	0.018	0.2	0.682	8.3	0.004	16.5	4.83E-05
	Males	1.3	0.256	55.0	1.21E-13	0.2	0.676			2.9	0.089

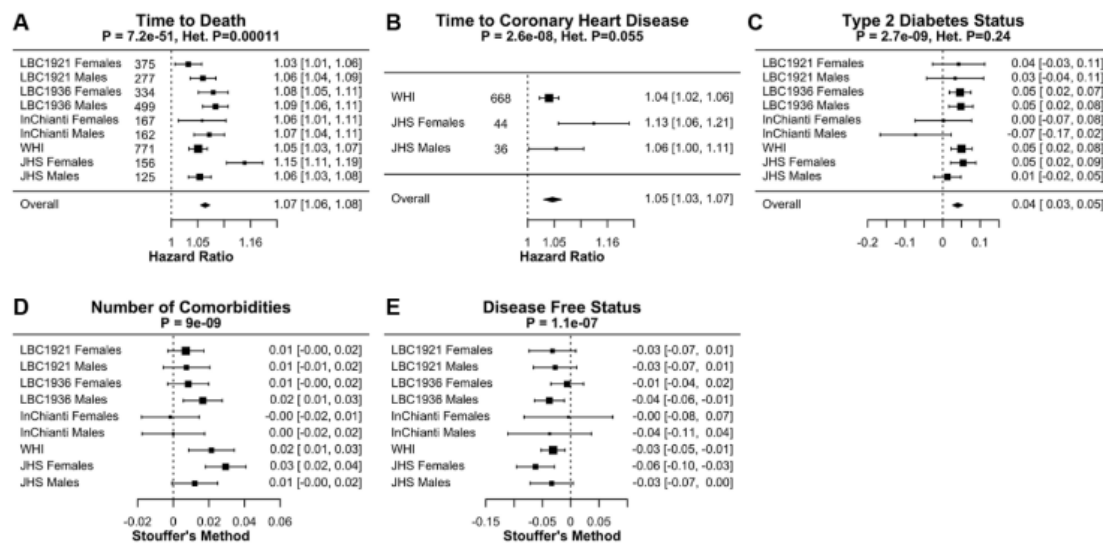
Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. *Aging (Albany NY)*, 10:3904-3938.

Table 3.

Meta-analízis

A validációs tanulmányok eredményeit összevontuk fix hatású modellek vagy Stouffer meta-analízis módszer segítségével, ami a metafor R funkcióval végeztünk. A fix hatású

modellek az inverz varianciát használják a becslések súlyozásához, a Stouffer módszer pedig a minta méretének négyzetgyökét használja ehhez. Az utóbbit akkor alkalmaztuk, ha nem volt kivitelezhető a kohortok harmonizációja; például a fizikai aktivitás változói, az életkorral erős összefüggést mutató állapotok száma, a betegségmentes állapot és a menopauza kezdete esetén. A kor és nem változókra korrigált FitAgeAcceleration kockázati arányokat/együtthatókat fasor ábrán vizualizáltuk, amit a 4. ábra és az 5. táblázat mutat.



4. ábra: Metaanalízis fasor ábrái a FitAgeAcceleration-ról a korfüggő állapotok függvényében kronológiai kor és nem szerint.

Minden panel egy metaanalízis fasor ábrát mutat, ahol a kockázati arányokat vagy a regressziós koeficienseket kombináljuk az adatbázisok kohorszain. (A) Halálozásig eltelt idő az események számával, (B) Koszorúér szívbetegségig eltelt idő az események számával, (C) kettes típusú cukorbetegség, (D) társbetegségek száma, és (E) betegségmentes állapot. Metaanalízis p-értékei a panelek felső részén vannak feltüntetve és a heterogenitás Cochran Q test p-értékei is feltüntetésre kerültek a fix hatású modelleknél. Fix hatású modelleket használtunk A-C paneleknél és Stouffer metodikát D,E paneleknél.

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. Aging (Albany NY), 10:3904-3938.

Figure 4.

5. táblázat: FitAgeAcceleration kapcsolata a fenotípusos jellemzőkkel

Meta analysis <i>p</i> -values		Time to death [*]	Time to coronary heart disease [*]	Type 2 diabetes	Number of comorbidities	Disease free status	Total cholesterol	Age at menopause	Any cancer	hypertension
		<i>p</i> = 7.2 E-51	<i>p</i> = 2.6 E-8	<i>p</i> = 2.7 E-9	<i>p</i> = 9.0 E-9	<i>p</i> = 1.1 E-7	<i>p</i> = 0.00048	<i>p</i> = 6.6 E-9	<i>p</i> = 0.157	<i>p</i> = 8.7 E-5
LBC1921 Females	Coefficients	1.03		0.042	0.007	0.009	-0.039			
	<i>p</i> -values	0.013		0.230	0.171	0.922	0.0017			
	No. of events	375		16	96	266	-			
LBC1921 Males	Coefficients	1.06		0.033	0.007	-0.027	-0.027			
	<i>p</i> -values	1.62E-06		0.392	0.273	0.161	0.029			
	No. of events	277		21	102	157	-			
LBC1936 Females	Coefficients	1.08		0.046	0.008	-0.006	-0.010	-0.081		
	<i>p</i> -values	3.76E-08		0.0015	0.153	0.672	0.112	0.043		
	No. of events	334		109	1171	179	-	-		
LBC1936 Males	Coefficients	1.09		0.048	0.017	-0.038	-0.011			
	<i>p</i> -values	9.24E-12		0.0032	0.0031	0.0048	0.045			
	No. of events	499		183	1219	211	-			
InChianti Females	Coefficients	1.06		0.018	-0.002	-0.006	-0.046	-2.96	-0.059	0.0037
	<i>p</i> -values	0.011		0.635	0.842	0.868	0.223	0.00034	0.176	0.881
	No. of events	167		33	235	104	-	-	37	140
InChianti Males	Coefficients	1.07		-0.070	2.11E-05	-0.045	-0.004		0.045	0.026
	<i>p</i> -values	1.01E-06		0.135	0.998	0.215	0.905		0.292	0.219
	No. of events	162		33	221	87	-		31	143
WHI	Coefficients	1.05	1.04	0.050	0.021	-0.031	-0.008	-0.060	0.025	0.024
	<i>p</i> -values	8.06E-09	1.20E-05	0.00052	0.0011	0.0041	0.570	3.82E-05	0.063	0.014
	No. of events	771	2117	392	1539	793	-	-	388	918
JHS Females	Coefficients	1.15	1.13	0.054	0.029	-0.062	-0.116	0.747**		0.057
	<i>p</i> -values	1.96E-15	0.00025	0.0016	4.12E-07	0.00024	0.696	0.152		0.00071
	No. of events	156	1001	267	721	352	-	-		664
JHS Males	Coefficients	1.06	1.06	0.012	0.012	-0.034	-1.148			0.021
	<i>p</i> -values	9.25E-07	0.041	0.495	0.066	0.082	0.0006			0.232
	No. of events	125	579	135	406	226	-			363

*Kockázati arányok; **Nem a menopauza alatti életkor, a menopauza státusza; a komorbiditások száma azokat jelöli, akiknél legalább 1 komorbiditás jelen van

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. Aging (Albany NY), 10:3904-3938.

Supplementary Table 3.

DNAmFitAge értékelése testépítőknél

Egy független tanulmányban értékeltük, hogy a DNAm fittségi biomarkerek és a DNAmFitAge jelentősen különböznek-e az edzett testépítő férfiak és a kontroll csoport között. Összesen 66 férfi testépítőt és 149 férfi kontroll személyt vizsgáltunk, akik hasonló életkori eloszlással rendelkeztek (p -érték $> 0,05$). Mindkét csoport beszámolt arról, hogy hány éve edzenek rendszeresen, hetente átlagosan hány intenzív edzésben vesznek részt és összesen 88 résztvevő számolt be arról, hogy milyen táplálékkiegészítőket vagy gyógyszereket szednek. Kruskal-Wallis teszt segítségével megvizsgáltuk, hogy a DNAm fittségi biomarkerek, a DNAmFitAge és a FitAge Acceleration különbözik-e a kontroll és edzett csoportoknál. (6. táblázat)

6. táblázat: Férfi kontroll és testépítő minta összehasonlítása a lengyel kutatási adatok alapján

	Mean control ($n = 149$)	Mean body builder ($n = 66$)	Control - body builder	Kruskal wallis p -value
Intensity trainings per week	3	4.1	-1.1	9.43E-07
Years regular training	6.6	12	-5.4	2.61E-06
DNAmFitAge	41.1	38.4	2.74	0.041
FitAgeAcceleration	0.15	-0.56	0.72	0.08
DNAmGaitspeed	1.99	2.02	-0.03	0.055
DNAmGripmax	46.5	47.2	-0.69	0.075
DNAmVO2max	44	44.4	-0.4	0.023
DNAmFEV1	3.82	3.87	-0.05	0.199
DNAmGrimAge	44.1	41.8	2.24	0.063
DNAmPhenoAge	26.7	24.7	2.01	0.181
DNAmPAI1	19033	18238	795	0.009
DNAmGDF15	701.8	680.4	21.4	0.447

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. *Aging (Albany NY)*, 10:3904-3938.

Table 4.

Lineáris regressziós modell segítségével vizsgáltuk, hogy az edzett testépítő férfiak esetében a DNAmFitAge és a DNAmVO2max javulása magyarázható-e a szedett táplálékkiegészítőkkel, ahol a DNAmFitAge vagy a DNAmVO2max volt az eredmény, az életkor, mint kovariáns, a szupplementáció és az edzettségi státusz (testépítő) pedig

mint indikátor változók voltak jelen. Az életkort a modellben korrekcióra használtuk, mert az életkor szignifikánsan kapcsolódott bizonyos táplálékkiegészítők szedéséhez, így ha az életkort nem számoltuk a modellben, akkor a DNAmFitAge vagy a DNAmVO2max függvényében megfigyelt különbségek valójában a táplálékkiegészítők szedése közötti különbségeket mutatták. A lineáris modell eredményeit az 7. táblázatban mutatjuk be.

7. táblázat: Lineáris modellek, amelyek értékelik az étrend-kiegészítők hatását a DNAmFitAge és a DNAmVO2max szerint férfi mintán a naptári életkorral normalizálva

Supplement in model		Outcome: DNAmFitAge		Outcome: DNAmVO2max	
		Supplement	BodyBuilder	Supplement	BodyBuilder
Multivitamins	coefficient	-0.32	-0.62	0.68	0.07
	p-value	0.690	0.208	0.041	0.746
Proteins	coefficient	-0.05	-0.65	0.45	0.10
	p-value	0.961	0.184	0.241	0.607
Energy	coefficient	0.16	-0.66	0.24	0.13
	p-value	0.852	0.175	0.518	0.513
Magnesium	coefficient	-1.03	-0.60	-0.12	0.15
	p-value	0.213	0.219	0.727	0.472
Vitamin D	coefficient	-0.56	-0.62	-0.32	0.16
	p-value	0.570	0.207	0.439	0.431
Omega-3	coefficient	-1.23	-0.46	0.33	0.08
	p-value	0.157	0.366	0.355	0.687

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. Aging (Albany NY), 10:3904-3938. Supplementary Table 5.

Ahhoz, hogy a statisztikai próbák megfelelőek legyenek, úgy határoztuk meg mind az edzett, mind a kontroll csoportokat, hogy minimum 10 fő használt szupplementációt. Csak hat táplálékkiegészítő felelt meg ennek a kritériumnak: multivitaminok (n = 19), fehérje (n = 17), energia (n = 17) (kreatin, edzés előtti készítmények, energia gélek), magnézium (n = 16), D-vitamin (n = 14) és omega-3 (n = 12). Továbbá Fisher Exact teszt segítségével értékeltük, hogy ezeket a kiegészítőket aránytalan mértékben fogyasztják-e a testépítők a kontroll csoporthoz képest. (8. táblázat)

8. táblázat: Étrendkiegészítők használata edzettségi státusz szerint

		Control	Body builder	Fisher's exact <i>p</i> -value
Multivitamins	No	141	55	0.016
	Yes	8	11	
Proteins	No	140	58	0.169
	Yes	9	8	
Energy	No	145	53	6.81E-05
	Yes	4	13	
Magnesium	No	140	59	0.265
	Yes	9	7	
Vitamin D	No	143	58	0.036
	Yes	6	8	
Omega-3	No	144	59	0.050

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. Aging (Albany NY), 10:3904-3938.

Supplementary Table 6.

Funkcionális CpG-k jegyzéke

Biológiai megvilágítást adtunk annak a 627 egyedi CpG helynek, amelyek a DNAm biomarkereink létrehozásában szerepet játszottak azzal, hogy elemeztük a teljes humán genomot a speciális kromatin helyeket szem előtt tartva, a már használatban lévő CpG lokációk és koefficiensek függvényében. A GREAT elemzési szoftvert használtuk a széleskörű genomikus elemzéshez. (145) Ez a szoftver képes elemezni a speciális CpG helyeket, illetve a helyek közötti genomot is. Az elemzés során a gének mérete között létező különbségekből adódó zavar elkerülése érdekében a GREAT algoritmus binomiális tesztet végeztük el a genomikus régiókban. Az elemzést az alapértelmezett beállítások szerint végeztük (Proximal: 5.0 kb kezdőpont, 1.0 kb végpont, plusz Distal: akár 1000 kb) a hg19-nek (human genom version 19) megfelelően. A biológiai, sejti, molekuláris és gén funkciókra vonatkozó nominális, Bonferroni és FDR p-értékeket a 9. táblázat mutatja, a komplett eredmények pedig a 10. táblázatban találhatók.

9. táblázat: A legjobb GREAT annotációs eredmények

	Observed regions	Fold enrichment	Binomial <i>p</i> -value	Bonferroni <i>p</i> -value
Genes				
ZNRD1	4	77.9	2.75E-07	0.0051
HLA-G	4	55.0	1.09E-06	0.020
Cellular				
MHC protein complex	9	25.1	1.86E-10	3.11E-07
Integral component of endoplasmic reticulum membrane	21	3.7	4.49E-07	0.00075
Intrinsic component of endoplasmic reticulum membrane	21	3.6	6.39E-07	0.0011
MHC class II protein complex	5	26.9	1.56E-06	0.0026
Integral component of luminal side of Endoplasmic reticulum membrane	7	12.7	1.81E-06	0.0030
Molecular				
Peptide antigen binding	6	13.3	7.71E-06	0.032
Tapasin binding	2	421.0	1.12E-05	0.047

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. *Aging (Albany NY)*, 10:3904-3938.

Table 5A.

10. táblázat: Teljes GREAT analízis CpG annotációja

Genes	Observed Regions	Fold Enrichment	Binomial <i>p</i> -value	Bonferroni <i>p</i> -value	FDR Q-value
ZNRD1	4	77.9	2.8E-07	0.0051	0.0051
HLA-G	4	55.0	1.1E-06	0.020	0.010
KCNS1	3	93.3	5.4E-06	0.100	0.033
HOXA2	2	518.0	7.4E-06	0.138	0.034
TAP2	2	421.0	1.1E-05	0.208	0.042
Cellular					
MHC protein complex	9	25.1	1.9E-10	3.1E-07	3.1E-07
integral component of endoplasmic reticulum membrane	21	3.7	4.5E-07	7.5E-04	3.7E-04
intrinsic component of endoplasmic reticulum membrane	21	3.6	6.4E-07	0.0011	3.5E-04
MHC class II protein complex	5	26.9	1.6E-06	0.0026	6.5E-04
integral component of luminal side of endoplasmic reticulum membrane	7	12.7	1.8E-06	0.0030	6.0E-04
MHC class I protein complex	4	23.1	3.2E-05	0.054	0.0089
TAP complex	2	195.9	5.2E-05	0.086	0.012
DNA-directed RNA polymerase I complex	5	12.2	6.7E-05	0.112	0.014
MHC class I peptide loading complex	2	169.4	6.9E-05	0.115	0.013
A band	10	4.2	1.7E-04	0.286	0.029
lysosomal membrane	30	2.0	2.9E-04	0.479	0.044
Molecular					
peptide antigen binding	6	13.3	7.7E-06	0.032	0.032
tapasin binding	2	421.0	1.1E-05	0.047	0.023
MHC class II receptor activity	4	28.5	1.4E-05	0.060	0.020
antigen binding	11	4.8	2.8E-05	0.116	0.029
peptide antigen-transporting ATPase activity	2	249.6	3.2E-05	0.133	0.027
DNA-directed 5'-3' RNA polymerase activity	8	6.7	3.5E-05	0.148	0.025
5'-3' RNA polymerase activity	8	6.5	4.4E-05	0.185	0.026

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. *Aging (Albany NY)*, 10:3904-3938. Supplementary Table 7.

A DNAm fittségi biomarkerekhez használt CpG-eket a kromatin pozíciók alapján annotáltuk, egy állapotot rendelve a CpG-khez a humán genom részletes univerzális ChromHMM kromatin állapot annotációjával, amelyben a kromatin szerkezete és azokhoz társított jellemzők voltak irányadóak. (146) Az annotáció 100 különböző állapotot generált 1032 kísérlet alapján, 16 fő kategóriára bontva, például aktív és gyenge enhanszerek (EnhA, EnhW), bivalent állapotok a promoterekkel kapcsolatban (BivProm), a promóterek melletti állapotok (PromF), polycomb csendesítés a H3K27me3-mal kapcsolatban (ReprPC), valamint állapotok az exonok és a transzkripció kapcsán. A kromatin állapotokhoz tartozó genomikus CpG régiókat a 450K-s tömbből használtuk háttérként ($n = 483,090$). A DNAm fittségi biomarker CpG helyek genomikus régióit a kromatin állapot információval használtuk ($n = 626$), amely csak egy CpG-t zárt ki. Ez egyoldalú hipergeometriai p-értékeket eredményezett, amire nincsenek zavaró hatással a génen belüli CpG-k számai. A kromatin állapotot, a metilált CpG helyek számát, az esély hányadosokat és a hipergeometriai p-értékeket a 11. táblázatban mutatjuk be, a teljes eredmények pedig a 12. táblázatban.

11. táblázat: A kromatin állapotok dúsulása

State	Description	Number of CpG loci	Odds ratio	Hypergeometric p-value
PromF4	Promoter; heavily acetylated - flanking tss downstream bias	25	0.45	6.5E-06
TSS1	TSS more acetylated and active	15	0.37	6.8E-06
BivProm2	Weak bivalent promoter- stronger on H3K27me3	43	1.76	0.00057
TxEx3	Exon; H3K36me3 strong	4	0.30	0.0030
DNase1	DNase I only	13	2.41	0.0041
ReprPC1	Polycomb repressed; H3K27me3 strong and H3K4me1 weak	21	1.87	0.0065
BivProm1	Weak bivalent promoter - more balanced H3K4me3/H3K27me3	43	1.50	0.0092

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. *Aging (Albany NY)*, 10:3904-3938.

Table 5B.

12. táblázat: Teljes kromatin állapot bemutatása

	State	Number of CpG loci	Odds Ratio	Hypergeometric p -value		State	Number of CpG loci	Odds Ratio	Hypergeometric p -value
1	PromF4	25	0.45	6.5E-06	51	Acet1	5	1.43	0.277
2	TSS1	15	0.37	6.8E-06	52	EnhA1	8	1.30	0.280
3	BivProm2	43	1.76	0.00057	53	EnhA16	4	1.49	0.286
4	TxEx3	4	0.30	0.0030	54	HET9	0	0.00	0.287
5	DNase1	13	2.41	0.0041	55	EnhA12	2	0.56	0.312
6	ReprPC1	21	1.87	0.0065	56	GapArtf2	1	2.64	0.316
7	BivProm1	43	1.50	0.0092	57	znf2	2	1.74	0.320
8	ReprPC5	18	1.87	0.011	58	HET3	1	2.47	0.334
9	EnhA3	9	2.53	0.011	59	Tx2	1	0.44	0.336
10	TxWk1	0	0.00	0.014	60	EnhWk2	8	1.22	0.338
11	PromF6	11	2.13	0.018	61	HET8	1	0.44	0.338
12	EnhA8	11	2.09	0.020	62	TxEx1	2	0.59	0.342
13	ReprPC7	21	1.66	0.021	63	Acet4	5	1.29	0.346
14	PromF2	17	1.70	0.028	64	EnhA14	3	0.67	0.350
15	BivProm4	12	1.82	0.039	65	Quies4	3	1.43	0.352
16	EnhA18	11	1.87	0.039	66	Tx1	3	1.40	0.364
17	Acet2	0	0.00	0.042	67	Acet3	3	0.69	0.367
18	TxEnh5	6	0.49	0.044	68	PromF5	25	0.91	0.368
19	TxEnh2	0	0.00	0.047	69	ReprPC3	3	0.69	0.374
20	TxEnh8	8	2.02	0.049	70	PromF3	23	0.91	0.380
21	BivProm3	20	1.51	0.053	71	TxWk2	10	0.86	0.382
22	TxEx2	4	0.44	0.054	72	EnhA9	5	1.23	0.386
23	EnhWk8	2	0.32	0.055	73	ReprPC9	3	1.30	0.408
24	EnhWk6	5	2.42	0.060	74	EnhWk1	1	0.50	0.408
25	EnhWk4	0	0.00	0.083	75	EnhA11	1	0.50	0.408
26	Tx7	0	0.00	0.086	76	ReprPC4	4	0.78	0.418
27	Quies3	4	0.49	0.089	77	Acet6	2	0.66	0.420
28	ReprPC6	5	0.53	0.096	78	Acet7	4	0.78	0.420
29	Quies2	0	0.00	0.102	79	TSS2	23	0.93	0.422
30	TxEnh1	0	0.00	0.106	80	Tx4	1	0.52	0.425
31	EnhA4	6	1.84	0.114	81	TxEnh6	2	0.67	0.427
32	EnhA2	2	0.39	0.119	82	EnhA17	6	1.11	0.456
33	EnhA15	5	1.86	0.136	83	EnhA10	3	0.78	0.464
34	TxEx4	6	1.74	0.136	84	PromF7	2	0.71	0.465
35	TxEnh7	8	1.59	0.139	85	TxEnh4	8	1.06	0.482
36	Tx3	6	1.72	0.142	86	HET7	4	0.85	0.489
37	EnhA6	1	0.30	0.150	87	EnhA19	6	1.03	0.529
38	HET5	0	0.00	0.185	88	Tx5	5	1.03	0.534
39	HET6	7	1.50	0.191	89	Acet8	3	1.07	0.534
40	Tx8	1	0.34	0.204	90	HET2	10	0.96	0.538
41	Quies1	0	0.00	0.208	91	GapArtf1	1	0.68	0.566
42	HET1	5	1.59	0.210	92	ReprPC2	5	0.96	0.579
43	EnhWk3	2	0.48	0.215	93	TxEnh3	3	0.93	0.595
44	Tx6	0	0.00	0.222	94	EnhA13	1	0.73	0.601
45	EnhA7	8	1.38	0.233	95	Quies5	1	1.03	0.623
46	Acet5	1	0.36	0.235	96	EnhA20	0	0.00	0.630
47	PromF1	12	1.26	0.251	97	znf1	1	0.79	0.638
48	EnhA5	4	1.56	0.257	98	ReprPC8	1	0.85	0.672
49	EnhWk5	3	1.68	0.266	99	EnhWk7	1	0.94	0.714
50	HET4	1	3.16	0.272	100	GapArtf3	0	0.00	0.720

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. *Aging (Albany NY)*, 10:3904-3938. Supplementary Table 10.

Végül összehasonlítottuk a DNAm fittségi biomarkerek kialakításához használt CpG helyeket és modelleket a DNAmPhenoAge, DNAmAge Horvath, DNAmAge Hannum és DNAmAgeSkinBlood által használt CpG helyekkel. A 13. táblázat mutatjuk be a DNAm fittségi biomarker együtthatóit, más órák együtthatóit és ezekkel való átfedéseket valamint azt, hogy az együtthatók iránya azonos-e, a más epigenetikai órák esetében is használt CpG helyek függvényében.

13. táblázat: DNAm fittségi biomarkerek CpG helyeinek átfedései más órákkal

	CpG	DNAm Fitness Coefficient	Clocks Present in	Same Coefficient Direction	PhenoAge Coefficient	DNAmAge Coefficient	Hannum Coefficient	Skin and Blood Coefficient	DNAm Fitness Model
					(n = 7)	(n = 2)	(n = 15)	(n = 23)	
1	cg26842024	-0.16	3	0	0.06	0.36		0.48	DNAmGaitspeed Males no Age
2	cg00748589	-0.37	2	0			8.21	0.17	DNAmGaitspeed Males no Age
3	cg02867102	0.32	2	0			-12.50	-0.12	DNAmGaitspeed Males no Age
4	cg03607117	-0.63	2	0			10.70	0.17	DNAmGaitspeed Females no Age
		-6.47	2	0			10.70	0.17	DNAmGripmax Females no Age
5	cg04424621	0.01	2	1	-14.45			0.04	DNAmGaitspeed Males no Age
6	cg04875128	-4.72	2	1			-4.37	0.0004	DNAmGripmax Males no Age
7	cg06639320	-8.60	2	0			8.95	0.02	DNAmGripmax Males no Age
8	cg07082267	0.22	2	1			2.87	-0.47	DNAmGaitspeed Males no Age
9	cg10917602	0.02	2	0	-2.82			-0.02	DNAmGaitspeed Females w/ Age
		-0.23	2	1			-1.60	0.11	DNAmGaitspeed Females no Age
10	cg16419235	-3.81	2	1			-1.60	0.11	DNAmGripmax Females no Age
		-0.21		0			10.80	0.90	DNAmGaitspeed Males no Age
		-1.26		0			10.80	0.90	DNAmGaitspeed Females no Age
11	cg16867657	-8.32	2	0			10.80	0.90	DNAmGripmax Males no Age
		-12.72		0			10.80	0.90	DNAmGripmax Females no Age
12	cg20822990	1.53	2	0			-15.70	-0.01	DNAmGripmax Males no Age
13	cg22454769	-0.17	2	0			4.85	0.05	DNAmGaitspeed Males no Age
14	cg23500537	-0.22	2	0			5.67	0.23	DNAmGripmax Males no Age
15	cg25410668	-1.90	2	0			3.87	0.28	DNAmGripmax Males no Age
16	cg26581729	4.08	2	1	-4.00			0.02	DNAmGripmax Males no Age
17	cg00481951	-0.52	1	1			-2.72		DNAmGaitspeed Males no Age
18	cg05228408	0.05	1	0	-4.49				DNAmGaitspeed Females w/ Age
19	cg07502389	-0.36	1	0				0.32	DNAmGaitspeed Females no Age
20	cg08622677	-4.43	1	0				0.23	DNAmGripmax Females no Age
21	cg12753631	0.11	1	0				-0.34	DNAmGaitspeed Males no Age
22	cg12864235	0.06	1	1	0.66				DNAmFEV1 Females w/ Age
		-4.04		0				0.04	DNAmGripmax Females no Age
23	cg13649056	-0.43	1	0				0.04	DNAmGaitspeed Females no Age
		-0.32		1				-0.07	DNAmGaitspeed Females no Age
24	cg17110586	-7.53	1	1				-0.07	DNAmGripmax Females no Age
		-12.20		0	4.54				DNAmGripmax Males no Age
25	cg18691434	-0.13	1	0	4.54				DNAmGaitspeed Males no Age
		-3.40		0	4.54				DNAmGripmax Males w/ Age
26	cg18933331	0.06	1	0				-0.23	DNAmGaitspeed Males no Age
27	cg19702785	-0.23	1	0				0.13	DNAmGaitspeed Males no Age
28	cg22285878	-4.14	1	1			-20.70		DNAmGripmax Females no Age
29	cg25101936	0.004	1	0		-0.06			DNAmGaitspeed Females w/ Age
30	chr13.39564907R	0.30	1	0			-20.60		DNAmGaitspeed Males no Age

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. *Aging (Albany NY)*, 10:3904-3938.

Supplementary Table 8.

A DNAm fittségi biomarker építésében használt összes együtttható és CpG hely teljes listája a GitHub felületen található meg: <https://github.com/kristenmcgreevy/DNAmFitAge>.

4.2. Evezős vizsgálati minta elemzése

A Magyarországon végzett felmérésünkben összesen 303 önkéntes adatait vizsgáltuk. Mindannyian kitöltötték a beleegyezői nyilatkozatot az önkéntes alapon történő részvételről és a kutatást jóváhagyta a Nemzeti Népegészségügyi Intézet (25167-6/2019/EÜIG). A vizsgálatban a legtöbb jelentkező a Velencei tónál megrendezésre került World Rowing Masters Regatta versenyen vett részt (n=203), a teljes minta és részvétel a Magyar Testnevelési és Sporttudományi Egyetem kampuszán vált véglegessé. A kutatásban résztvevők 33-88 év közötti személyek voltak. A felmérések során kitöltöttek egy kérdőívet, mely az edzettségi múltjukat, egészségügyi állapotukat, életmódjukat és végzettségüket vizsgálta. Az evezős világbajnokságon résztvevő alanyok heterogén mintát alkottak, mivel voltak, akik heti egyszer, de olyanok is, akik minden nap edzettek, ezért a mintát a VO2 max eredményeik szerint csoportosítottuk. A 75. percentilis alapján két csoportot határoztunk meg: közepes-alacsony fittségű (MED-LOW FIT) (férfi n = 50, nő = 62) csoport és magas fittségű (HIGH-FIT) (férfi n = 93, nő n = 91) csoport. (147)

14. táblázat: Az evezős mintán vizsgált paraméterek jellemzői és átlag értékei

		Female med-low	Female high	Male med-low	Male high
Age	<i>n</i>	63	91	52	97
	Mean	64.651	58.132	60.173	60.608
	SD	11.929	8.597	13.279	11.210
VO ₂ max (Est.)	<i>n</i>	50	91	47	97
	Mean	28.101	42.542	35.051	50.154
	SD	5.435	7.520	6.060	10.029
MaxGrip (kg)	<i>n</i>	63	91	52	97
	Mean	28.240	31.701	49.473	50.545
	SD	6.024	5.567	11.177	8.456
MaxJump (cm)	<i>n</i>	62	91	50	97
	Mean	22.061	26.022	30.316	33.427
	SD	6.687	5.737	8.259	7.238
BMI	<i>n</i>	63	91	51	97
	Mean	26.526	24.340	27.312	25.474
	SD	4.968	3.436	3.678	2.556
VSTM	<i>n</i>	62	91	52	96
	Mean	5.806	6.176	5.942	6.458
	SD	1.304	1.226	1.406	1.305
FitAge	<i>n</i>	62	91	50	93
	Mean	69.599	61.639	63.172	61.949
	SD	12.481	9.042	13.232	10.919
FitAgeAccel	<i>n</i>	62	91	50	93
	Mean	1.783	0.241	0.263	− 1.600
	SD	3.631	3.094	2.910	3.487
GrimAge	<i>n</i>	62	91	50	93
	Mean	62.768	57.136	60.753	61.107
	SD	9.799	7.236	11.026	9.103
GrimAgeAccel	<i>n</i>	62	91	50	93
	Mean	− 0.696	− 1.186	1.170	1.067
	SD	2.947	2.952	2.822	2.718
PhenoAge	<i>n</i>	62	91	50	93
	Mean	52.850	46.857	48.306	48.827
	SD	12.375	8.274	13.145	10.720
PhenoAgeAccel	<i>n</i>	62	91	50	93
	Mean	0.206	− 0.097	0.011	− 0.048
	SD	5.739	5.150	5.032	4.809
LDL	<i>n</i>	63	91	50	94
	Mean	3.797	3.546	3.677	3.405
	SD	0.961	0.858	0.772	0.752
HDL	<i>n</i>	63	91	50	94
	Mean	1.634	1.877	1.373	1.654
	SD	0.394	0.387	0.281	0.336
Redox balance	<i>N</i>	59	69	41	64
	Mean	5.159	5.569	6.057	6.415
	SD	0.995	0.979	1.009	0.936
Irisin	<i>n</i>	29	57	25	44
	Mean	11.759	12.450	12.441	13.446
	SD	2.438	2.349	2.225	1.936

Forrás: Jokai M, Torma F, McGreevy KM, Koltai E, Bori Z, Babszki G, Bakonyi P, Gombos Z, Gyorgy B, Aczel D, Toth L, Osvath P, Fridvalszy M, Teglas T, Posa A, Kujach S, Olek R, Kawamura T, Seki Y, Suzuki K, Tanisawa K, Goto S, Kerepesi C, Boldogh I, Ba X, Davies KJA, Horvath S, Radak Z.KJA, Horvath S, Radak Z.. (2023) DNA methylation clock DNAmFitAge shows regular exercise is associated with slower aging and systemic adaptation. Geroscience, 5:2805-2817. Table 1.

4.2.1. Fiziológias tesztek

A rövidtávú memória vizsgálatához Digit span tesztet hajtottunk végre. A maximális erő meghatározásához kézi szorítóerő mérőt használtunk (EH101, gyártási hely: Kína, gyártási év: 2017), az alsó testfél robbanékony erejének vizsgálatához CMJ tesztet hajtottunk végre linear ncoder segítségével (gyártási hely: Egyesült Államok, gyártási év: 2012). A testösszetétel és súly mérésére BF214 Omron mérleget használtunk (gyártási hely: Japán, gyártási év: 2015). Maximális oxigénkapacitás vizsgálatához a Chester step test protokoll szerint lépegető tesztet végeztünk, mely progresszív intenzitás mellett pulzusértékek alapján becsüli meg a relatív oxigénkapacitást.

4.2.2. Vérminták gyűjtése

A résztvevőktől vért vettünk a VO₂ max teszt előtt. Attól függően kezeltük a levett vérmintákat, hogy milyen méréshez használtuk őket. A vizsgálatokig a vérmintákat eppendorf csövekben -80 °C-on tároltuk.

4.2.3. Irizin mérés

Az irizin vizsgálatához a vért EDTA vérvételi csőbe vettük, majd a tárolás előtt aprotinint kevertünk a vérhez 10:1 arányban. Ezután centrifugáltuk a mintákat 1600 g-n 15 percig 4 °C-on. A centrifugálás után a vérplazmát elraktuk -80 °C-os fagyasztóba. Az irizin értékeket ELISA kit segítségével határoztuk meg (EK-067-29, Irisin Recombination, Phoenix Pharmaceuticals, Inc, Burlingame, USA). Egy alanytól származó mintákat mindig ugyanazon a platen vizsgáltuk (inter-assay). Az inter- és intra-assay vizsgálatok közötti variációs koefficiens 4.1% és 15.2 % között volt.

4.2.4. Redox egyensúly meghatározása

A vérben található természetes hidroperoxidok mennyiségét spektrofotometriával határoztuk meg d-Rom teszt segítségével. (148) A koncentrációkat Carratelli egységekben határoztuk meg (UCarr) ahol 1 UCarr 0.8 mg/L hidrogén peroxidnak felel meg. A d-Roms teszt FREE Carpe Diem analízissel zajlott (Wismerll Co., Ltd., Tokyo, Japan). (149) Az antioxidáns kapacitás meghatározásához BAP (biological antioxidant power) tesztet hajtottunk végre. A vizsgálathoz vas(III)-klorid volt összekeverve tiocianát származékkal, ami egy speciális kromogén szubsztrát. Ehhez a reakció keverékhez adtunk 10 µl vérplazmát és 5 percig 37 °C-on inkubáltuk. A vas ion redukciójának mértékét az 505 nm-en történő abszorbancia mértékével számszerűsítettük. A BAP teszt FREE Carpe Diem analízissel is elvégeztük. A redox egyensúlyt a BAP/dROM aránnyal határoztuk meg.

4.2.5. DNS metiláció mérése

A DNS metiláció méréséhez Infinium MethylationEPIC BeadChip eljárást használtunk (Illumina Inc., San Diego, CA). Az eljárás során EZ-96 DNA Methylation MagPrep Kit-et használtunk, ami 500 ng dns biszulfít konverzió eljárást használ. A minták randomizált sorrendben kerültek a vizsgált lemezekre. A biszulfít konverzió során a DNS-t 15 µL MagBinding Bead-ekhez kötődik. A konverziós eljárás során az inkubálási ciklusok a következő protokoll szerint történtek: 16 db 95 °C-os ciklus 30 mp-ig, amit 1 óra 50 °C-os ciklus követett. A kötődési folyamat után a dns további 10 perc 4 °C inkubáción esett át. A következő lépésben (Illumina Inc., San Diego, CA protokoll szerint) a dns mintákat Illumina MethylationEPIC BeadChip eljárás szerint hibridizáltuk, ahol 8 µL biszulfít kezelt dns volt a kiindulási anyag.

A dns metilációs adatok minőségi ellenőrzéséhez minfi, Meffil és ewastool csomagokat használtuk R (4.0.0. verzió) programozási nyelven. Az Illumina által meghatározott kritériumoknak nem megfelelő mintákat kizártuk. R programnyelven a “noob” normalizációs metodikát használtuk a metilációs szintek meghatározásához. (150) A

DNA_m adatok részletezéséhez és az öregedés, illetve az öregedés ritmusának meghatározásához Horvath internetes kor kalkulátorát használtunk (<https://dnamage.genetics.ucla.edu/>).

4.2.6. Statisztikai elemzések

A kapcsolat meghatározásához a cél és előrejelző változók között többszörös lineáris regressziót használtunk a kor és a nem kontrollálása mellett. A statisztikai vizsgálatokhoz Statistica 13 szoftvert használtunk. Az irizin elemzés során a lehetséges batch effect hatást úgy kontroláltuk, hogy a statisztikai vizsgálat során a lemezek külön változót kaptak. A fittségi csoportok közötti különbséget kétutas ANOVA teszttel vizsgáltuk, ahol a nemet és a fittségi csoportot külön vizsgálati faktorként kezeltük; a csoportátlagokat Tukey HSD próbával hasonlítottuk össze. Ha az adatok nem követték a Shapiro-Wilk teszttel értékelt normál eloszlást, a Kruskal-Wallis tesztet alkalmaztuk helyette. A verbális rövid távú memória és a biokémiai/fiziológiai markerek közötti összefüggést Spearman rho és Kendall tau számolással elemeztük.

Két mintás t-próbát és nem-parametrikus Kruskal-Wallis tesztet használtunk, hogy megállapítsuk szignifikáns különbség van-e a high-fit és a low-med-fit csoportok között a DNA_m biomarkerek viszonylatában.

A csoportok között megfigyelhető kor hatás kiküszöbölésére a korral korrigált DNA_m változókat használtuk (FitAge Acceleration, GrimAge Acceleration és PhenoAge Acceleration). T-tesztet és Kruskal-Wallis teszteket hajtottuk végre a fittségi paramétereken, mint a szorítóerő és a felugrás (abszolút és relatív), hogy referencia értéként szolgáljanak a DNA_m alapú helyettesítő biomarkereknek.

A VO₂ max ki volt zárva a táblázatból, mivel ezt a változót használtuk a csoportok kialakításához. Ezen kívül a DNA_mVO₂max-ot azért is kellett kizárni, mert a vizsgálatban részt vevő alanyokat felhasználtuk a DNA_mVO₂max biomarker megalkotásához, így a csoportok között megfigyelt különbségek a biomarker létrehozásának eredményei.

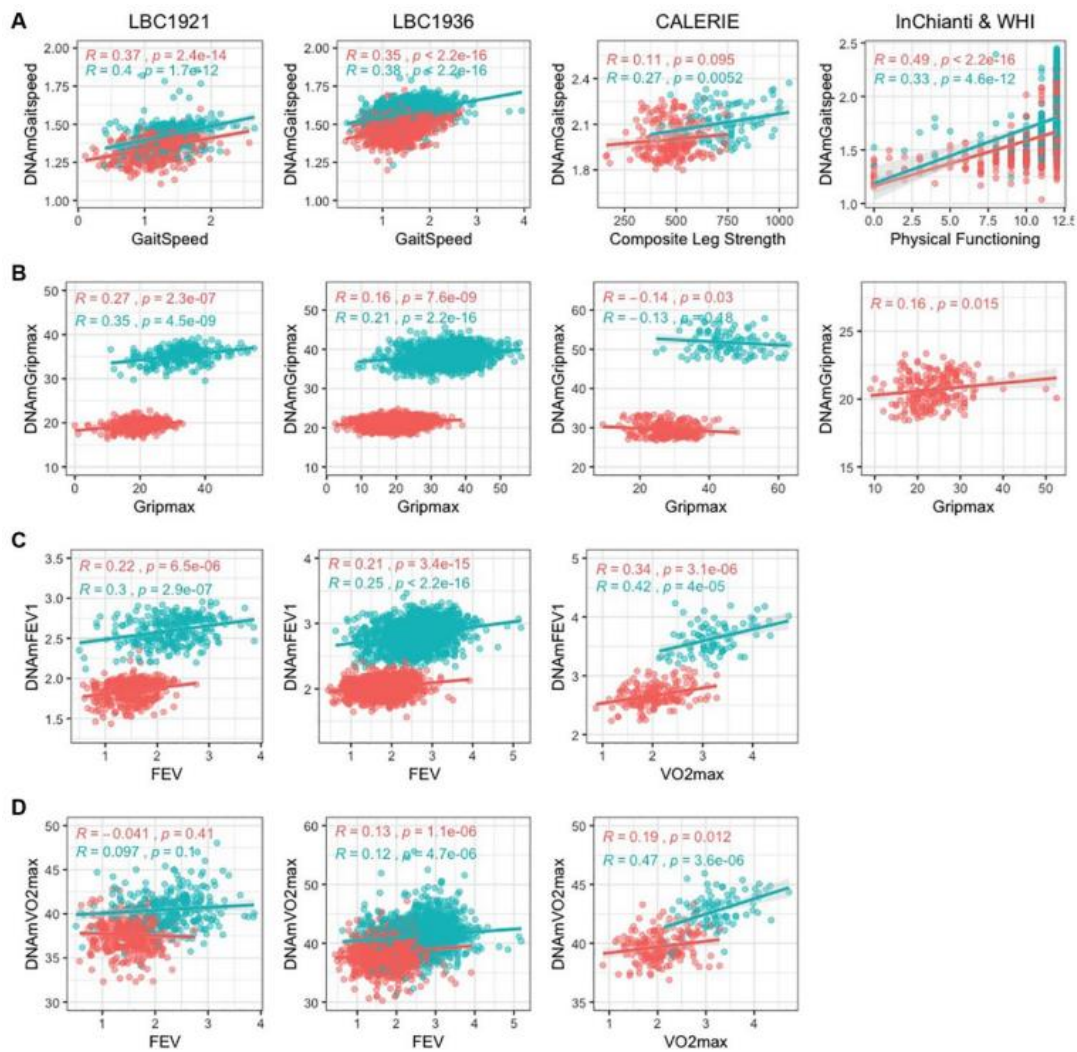
4.3 Etikai megfontolások

A Helsinki Deklaráció iránymutatásai szerint végeztük a kutatásunkat. Az etikai irányelvek kimondják, hogy humán vizsgálatok esetén biztosítani kell a résztvevők jogait és védelmét, emellett az emberi méltóság tiszteletben tartása mellett végezhetjük a felméréseket. Az általunk felhasznált (online elérhető) adatok mindegyikénél megtalálható, az adatgyűjtést végző szervezetek működéséhez szükséges etikai engedély, továbbá az általunk végzett evezős felméréshez a Nemzeti Népegészségügyi Központ a 36661-7/2018/EUIG iktatószámú dokumentumával jóváhagyta a vizsgálatunkat.

5. Eredmények

5.1. DNAm fittségi paraméterek biomarker modelljei

A DNS metilációs mintázaton alapuló DNAm biomarkerek a fittségi paraméterekkel átlagosan 0.16-0.48 értékek közötti korrelációs eredményeket mutattak (5. ábra, 15. táblázat).



5. ábra: A DNAm fittségi biomarker modellek és a valós fittségi értékek közötti szórásdiagramok a teszt adatkészleteken.

A piros pontok a nőket, a zöld pontok a férfiakat jelöli. Amikor az eredeti változók nem álltak rendelkezésre, a legjobb alternatív változókat ábrázoltuk a DNAm fittséghez

becslésekhez képest. Mindegyik panel egy DNAm-alapú modell teljesítményét mutatja be a teszt adatkészleteken, kronológiai életkorral számolva, Pearson korrelációval és p-értékekkel feltüntetve. (A) DNAmGaitspeed teljesítménye az InChianti adatkészletben, (B) DNAmGripmax teljesítménye a WHI adatkészletben, (C) DNAmFEV1, (D) DNAmVO2max. (A–C) (DNAmGaitspeed, DNAmGripmax és DNAmFEV1) készültek mindkét nem esetében, míg (D) (DNAmVO2max) közösen készült mindkét nem számára.

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. Aging (Albany NY), 10:3904-3938. Figure 1 .

15. táblázat: DNAm fitsségi biomarkerek Pearson korrelációja

DNAm biomarker	CpG	Age in model	Sex	FHS + BLSA	Budapest	LBC 1921	LBC 1936	CALERIE	InChianti	WHI	Average test R
Gait speed	42	Y	Females	0.61	0.61	0.37	0.34	0.11*	0.49 ⁺	0.15 ⁺	0.34
	26	Y	Males	0.43	0.59	0.40	0.38	0.27*	0.33 ⁺		0.39
	53	N	Females	0.56	0.56 [^]	0.17	0.17	0.095*	0.43 ⁺	0.12 ⁺	0.26
	59	N	Males	0.60	0.53 [^]	0.23	0.21	0.26*	0.34 ⁺		0.31
Gripmax	52	Y	Females	0.66	0.54	0.27	0.16	-0.14		0.16	0.20
	52	Y	Males	0.68	0.50	0.35	0.19	-0.089			0.24
	91	N	Females	0.66	0.52	0.22	0.10	-0.16		0.12	0.16
	93	N	Males	0.66	0.43	0.21	0.14	-0.078			0.18
FEV1	77	Y	Females	0.59	0.50 ^v	0.21 [^]	0.20 [^]	0.34			0.31
	73	Y	Males	0.63	0.30 ^v	0.30 [^]	0.25 [^]	0.42			0.32
VO2max	40	Y	Both	0.52 ^S	0.70	0.43 [^]	0.40 [^]	0.55			0.48

A felső indexek azt jelzik, hogy a korreláció a legközelebbi elérhető fitness paraméterrel készült: 'Jumpmax, *Kompozit Lábizomerő, +Fizikai Funkcionálás, ^FEV, \$FEV1, vVO2max. A dőlt betűk a tréning adatkészletet jelölik.

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. Aging (Albany NY), 10:3904-3938. Table 1.

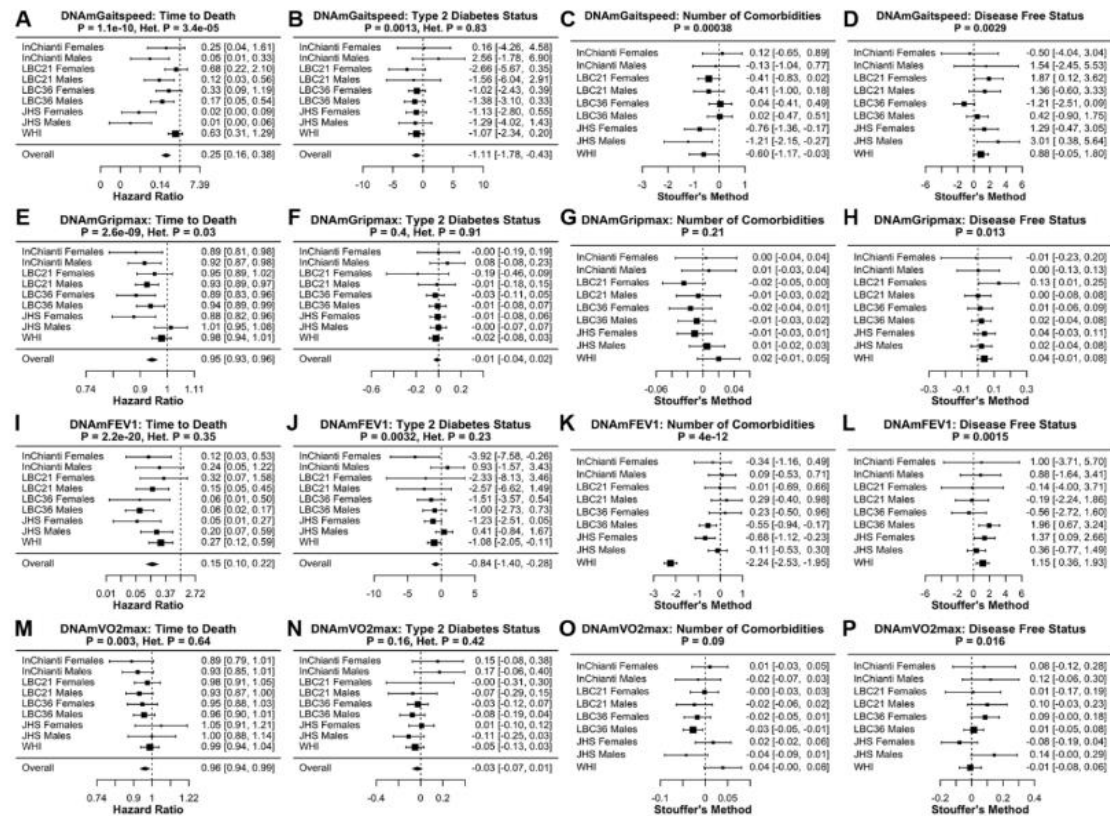
A DNAmGripmax a férfiaknál és a nőknél is közepes korrelációt mutatott a validációs adatbázisokon, kivéve a CALERIE adatbázist. Ezt az eredményt a szigorú beválogatási kritériumokkal lehet magyarázni, mivel abban a vizsgálatban csak olyanok vehettek részt, akik nem elhízottak, mentesek a krónikus betegségektől és relatívan fiatalnak mondhatók.

Ezek a paraméterek a fittségi mutatók alacsony varianciáját eredményezhetik. A DNAmVO2max és az erőltetett kilégzés között gyenge korrelációt tapasztaltunk a LBC1921 és LBC1936 adatoknál, ami mindkét esetben a szűk korcsoportokkal magyarázható. Emellett fontos megemlíteni, hogy a VO2 max elsősorban a kardiovaszkuláris rendszer fittségét mutatja, az erőltetett kilégzés pedig a tüdő és légzőrendszer állapotát. A VO2max és a DNAmVO2max között jó korrelációt tapasztaltunk (együttvéve $R=0.55$) a CALERIE adatbázison, ahol a DNAmVO2max validációt el tudtuk végezni. A DNAm biomarkerek jobb becslést mutatnak a fittségi mutatókra vonatkozóan mint, amit a kor és a nem képes. (2. táblázat)

Az 15. táblázat mutatja, hogy a LASSO regressziós eljárás segítségével 26 és 93 CpG hely lett kiválasztva a fittségi paraméterek meghatározásához. Ha a kort nem használtuk a modellben, mint kovariánst, akkor több CpG-re volt szükség (53-93). A DNAmVO2max modell sok olyan CpG helyet használ, amik az X kromoszómán találhatóak, ezért a nem hatását is számba veszi. Érdekes, hogy a DNAmGaitspeed és a DNAmGripmax modellek, ha nem tartalmazzák a naptári kort mint kovariánst, akkor alacsonyabb korrelációs együtthatóval rendelkeznek a fittségi állapottal, mint azok a modellek, amik számításba veszik. Viszont szélesebb fittségi varianciát képesek magyarázni a naptári életkor nélkül. Ez azt jelentheti, hogy a DNAm biomarkerek más információkat dolgoznak fel, mint a nem és a naptári kor ahhoz, hogy a fittségi paramétereket jellemezzék.

5.2. DNAm fittségi biomarkerek korfüggő állapotoknál

Az összes DNAm fittségi biomarker független előrejelzője a mortalitásnak, a betegség nélküli állapotnak, és van olyan, ami a kettes típusú cukorbetegségnek. Magasabb fittségi értékeket mutató DNAmGaitspeed naptári kor nélkül ($p=1.1E-10$), DNAmGripmax naptári kor nélkül ($p=2.6E-9$), DNAmFEV1 ($p=2.2E-20$) és DNAmVO2max ($p=0.003$) szignifikancia szint mellett mutat összefüggést a csökkent mortalitási aránnyal. (6. ábra)



6. ábra: Metaanalízis fasor-ábra a DNAm fitsségi biomarkerekről az életkorral összefüggő állapotokkal kapcsolatban.

Minden sor egy metaanalízis fasor-ábrát mutat, amely egyesíti a kockázati arányokat vagy regressziós együtthatókat az egyes adatkészlet kohorszok között a DNAm biomarker becslés alapján. (A–D) DNAmGaitSpeed kor nélkül, (E–H) DNAmGripmax kor nélkül, (I–L) DNAmFEV1, és (M–P) DNAmVO2max. A halálozásig eltelt idő, 2-es típusú cukorbetegség, társbetegségek száma és a betegségmentes állapot kerül bemutatásra. A metaanalízis p-értékei minden panel tetején található, és a heterogenitás teszt Cochran Q teszt p-értékei (Het. P) a fix hatású modellek esetében kerülnek megjelenítésre. Fix hatású modelleket használtunk a halálozásig eltelt idő és a 2-es típusú cukorbetegség esetében, míg Stouffer-módszert alkalmaztunk a komorbiditások száma és a betegségmentes állapot esetében. Minden DNAm fitsségi biomarker előrejelzi a halálozást, és a DNAmGaitSpeed és a DNAmFEV1 előrejelzik a komorbiditások számát.

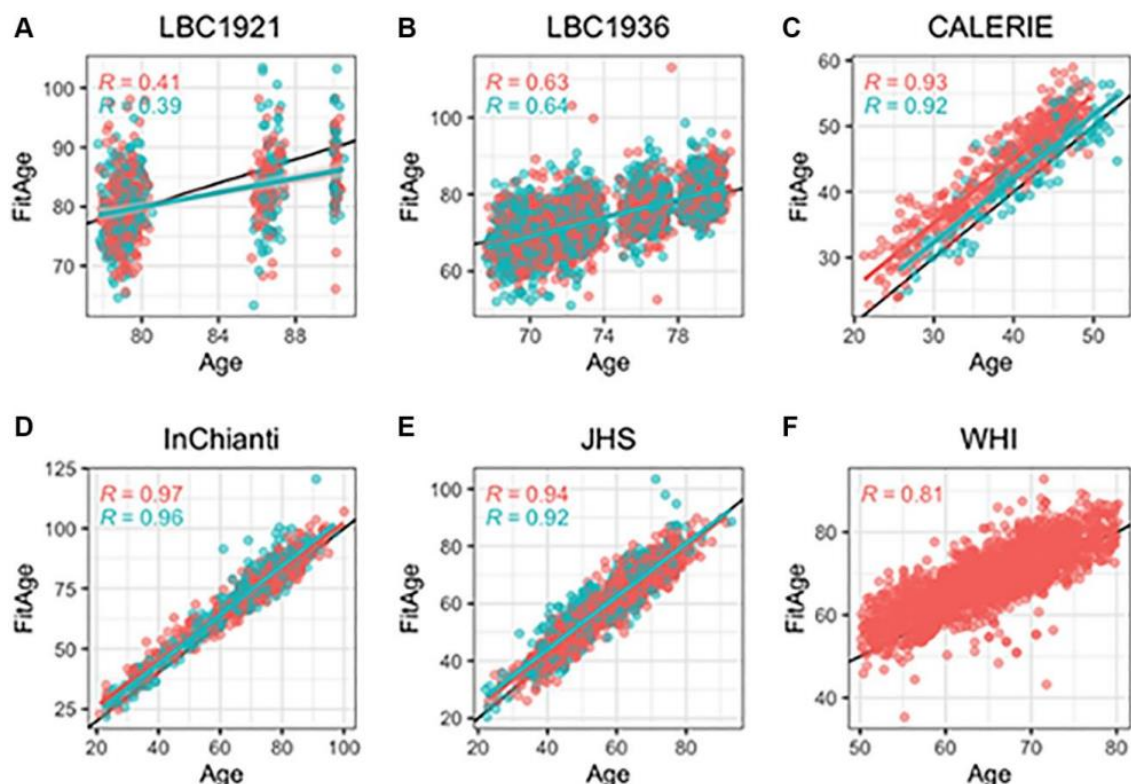
Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. Aging (Albany NY), 10:3904-3938.

Supplementary Figure 1.

Átlagosan minden 1 kg DNAmGripmax növekedés 5% mortalitási kockázat csökkenéssel jár az azonos naptári korú és nemű egyéneknél (kockázati arány = 0.95, konfidencia intervallum = [0.93, 0.96]). A DNAmGaitspeed és a DNAmFEV1 a kettes típusú cukorbetegség előrejelzőjeként is működik ($p = 0.0013$, $p = 0.0032$), illetve társbetegségek számával is összefüggést mutatnak ($p = 0.0004$, $p = 4E-12$). Minden jobb DNAm fittségi biomarker összefüggésben áll a betegségmentes állapottal. Az összes DNAm biomarker kapcsolata a halálig eltelt idővel, kettes típusú cukorbetegséggel, társbetegségek számával, és betegségmentes állapottal a naptári kor és nem függvényében a kiegészítő ábra 1.-en látható.

A DNAmFitAge

A DNAmFitAge a biológiai életkor becslését szolgálja, míg a FitAgeAcceleration az epigenetikai életkor gyorsulásának mérőszáma. A DNAmFitAge erős korrelációt mutatott a kronológiai életkorral a validációs adatbázisokban. Az átlagos Pearson r érték a DNAmFitAge és a kronológiai életkor között a validációs adatbázisokban 0,77 volt (7. ábra), és az alacsonyabb korreláció az LBC1921 ($r = 0,38$) és az LBC1936 ($r = 0,68$) esetében a szűk életkori tartománynak tudható be.



7. ábra: A DNAmFitAge és a naptári életkorok közötti szórásdiagramok, nemenként elkülönítve.

A piros pontok a nőket, a zöld a férfiakat jelölik. (A–F) Mindegyik panel a DNAmFitAge teljesítményét mutatja be egy validációs adatkészletben, a kronológiai életkorhoz viszonyított Pearson korrelációval és a megfelelő p-értékekkel megjelenítve.

A DNAmFitAge modelleket ugyanazon nemre alkalmaztuk, amelyeken azokat felépítettük (azaz a nőknél felépített DNAmFitAge-t nőknél, és a férfiaknál felépített DNAmFitAge-t férfiaknál teszteltük). A DNAmFitAge a kronológiai életkor körül centralizálódik, és magas korrelációt mutat minden tesztkészletben.

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. *Aging (Albany NY)*, 10:3904-3938. Supplementary Figure 2.

Az LBC1921 életkori tartománya 77 és 90 év között volt, míg az LBC1936-é 67 és 80 év között. Az LBC kohorszokat kizárva az átlagos r érték 0,92 volt. A DNAm fittségi biomarkerek 319 egyedi CpG helyet határoztak meg a DNAmFitAge kialakításához, a

DNAm fittségi biomarkerek esetén férfiaknál nagyon hasonló (13,9–17,9%), míg nőknél kicsit magasabb eltéréssel (10,4–22,4%). A DNAmGripmax, DNAmVO2max és DNAmGaitspeed körülbelül 50%-ban járultak hozzá a DNAmFitAge becsléséhez mindkét nem esetében, míg a DNAmGrimAge a fennmaradó 50%-ot tette ki. (3. táblázat)

Emellett minden validációs adatbázis alacsony medián abszolút eltérést mutatott (a kronológiai életkor és a biológiai életkor közötti abszolút különbségek mediánja), amely 2,3 és 4,9 év között változott (16. táblázat). Az életkori tartományon belüli reprodukálhatóság (21 éves kortól a CALERIE-ben egészen 100 éves korig az InChianti-ban) azt mutatja, hogy a DNAmFitAge kalibrálása széles felnőttkori tartományban pontos.

16. táblázat: A DNAmFitAge és a kronológiai életkor teljesítménye a validációs adatkészletekben.

		Females	Males	Male model in females	Female model in males
Training Data	Median Absolute Deviation	2.7	3.0	11.9	13.5
	Mean Deviation	0.0	0.0	−12.2	13.1
	R	0.923	0.925	0.925	0.922
LBC1921	Median Absolute Deviation	3.7	4.8	11.0	14.5
	Mean Deviation	0.8	1.1	−11.1	13.8
	R	0.409	0.386	0.404	0.391
LBC1936	Median Absolute Deviation	3.2	3.4	11.6	13.3
	Mean Deviation	0.0	0.2	−11.9	12.9
	R	0.635	0.635	0.647	0.624
CALERIE	Median Absolute Deviation	4.9	2.3	17.1	11.0
	Mean Deviation	−5.0	−2.0	−17.1	11.0
	R	0.926	0.915	0.928	0.912
InChianti	Median Absolute Deviation	3.9	3.9	16.0	9.6
	Mean Deviation	−3.8	−4.3	−16.1	9.1
	R	0.969	0.964	0.969	0.963
JHS	Median Absolute Deviation	2.9	3.4	13.6	9.2
	Mean Deviation	−1.6	−2.8	−13.9	8.6
	R	0.937	0.917	0.940	0.914
WHI	Median Absolute Deviation	3.8		16.8	
	Mean Deviation	−3.4		−16.8	
	R	0.808		0.812	

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. Aging (Albany NY), 10:3904-3938.

Supplementary Table 2.

A DNAmFitAge modellek ellentétes nemre történő alkalmazása erős korrelációt mutat az életkorral, ugyanakkor jelentős alábecslést eredményez nőknél és túlbecslést férfiaknál (16. táblázat, B–H panelek 3. ábrán). Az alul- és felülbecslést a férfi és a női fittségi paraméterek közötti egyetemes különbségek magyarázzák. A nők általában alacsonyabb fittségi paraméterekkel rendelkeznek, mint a férfiak, így a férfiaknál fiatalabb kort prediktált a női DNAmFitAge modell.

A fit DNAmFitAge-hez használt referencia DNAm fittségi biomarker értékek az életkor és nem kategórián belül az edzetlen DNAmFitAge-hez képest a 17. táblázatban találhatóak. A "fit" kategóriába tartozik az a biológiai életkor, amely 5 évvel fiatalabb a vártnál ($\text{FitAgeAcceleration} \leq -5$), míg az "unfit" kategóriába tartozik az a biológiai életkor, amely 5 évvel idősebb a vártnál. Az átlagos különbségek (Fit – Unfit) minden életkor és nem kategóriában 0,2 m/s-nál gyorsabb DNAmGaitSpeed, 5,1 kg-mal erősebb DNAmGripmax és 2,0 mL/kg/min-nál jobb DNAmVO2max értékeket mutatnak. Összességében a magasabb vagy fizikailag fittebb DNAmGaitSpeed, DNAmGripmax vagy DNAmVO2max értékek fiatalabb becsült biológiai korhoz kapcsolódnak a férfiaknál és a nőknél egyaránt.

17. táblázat: DNAm fittségi paraméterek referencia értékei fitt (FitAge gyorsulás ≤ -5 év) és nem fitt (FitAge gyorsulás $\geq +5$ év) egyének számára.

Age	Females							
	DNAmGaitSpeed		DNAmGripmax		DNAmVO2max		DNAmGrimAge	
	Fit	Unfit	Fit	Unfit	Fit	Unfit	Fit	Unfit
<40	2.1	2.0	34.6	30.5	42.8	40.1	37.1	40.9
40–59	1.9	1.7	31.3	26.9	39.2	37.9	49.2	60.5
60–79	1.7	1.5	28.8	22.4	37.6	36.1	63.2	72.4
80+	1.6	1.3	23.9	19.1	37.0	35.4	74.7	81.8
Age	Males							
	DNAmGaitSpeed		DNAmGripmax		DNAmVO2max		DNAmGrimAge	
	Fit	Unfit	Fit	Unfit	Fit	Unfit	Fit	Unfit
<40	2.1	1.8	49.3	43.8	45.1	44.9	34.8	52.9
40–59	1.9	1.7	46.6	42.5	43.9	42.3	47.5	60.1
60–79	1.7	1.5	41.3	36.8	43.1	39.5	68.0	77.9
80+	1.6	1.3	39.3	32.0	41.3	37.7	78.0	86.7

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. *Aging (Albany NY)*, 10:3904-3938.

Table 2B.

5.3. FitAgeAcceleration a korfüggő állapotok esetén

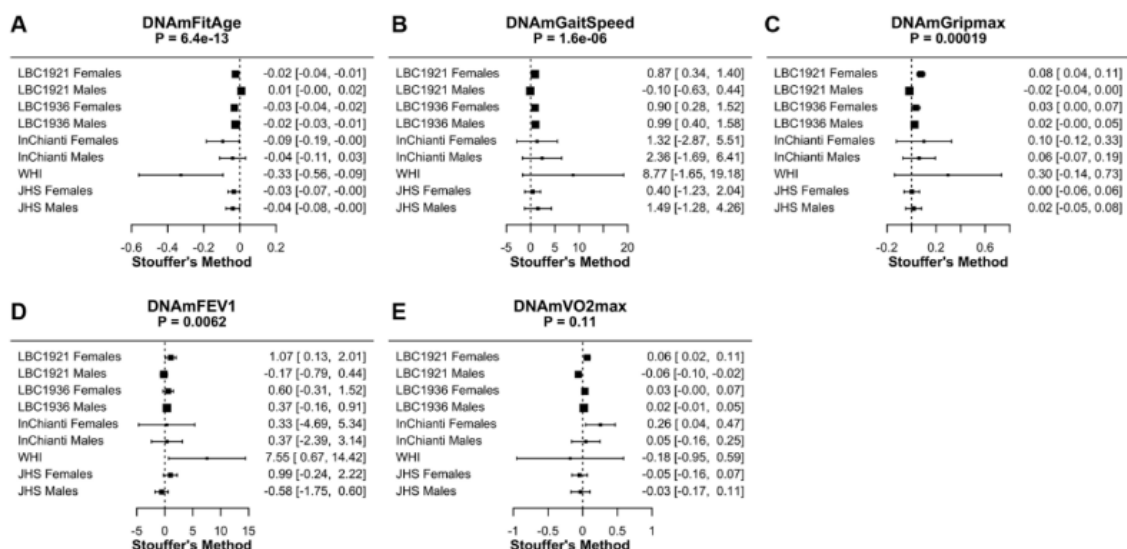
Megállapítottuk, hogy a FitAge korrekciózott változata, a FitAgeAcceleration jelentős előrejelzője a halálozási kockázatnak (minden okból bekövetkező halálozás), a koszorúér-betegségnek és más életkorral összefüggő állapotoknak. Cox Proportional Hazard modellek kimutatták, hogy a FitAgeAcceleration erős előrejelzője az időpontig tartó halálozásnak ($p = 7.2E-51$) és a koszorúér-betegség kialakulásáig eltelt időnek ($p = 2.6E-8$). A FitAgeAcceleration általános kockázati aránya 1,07 volt (1,06, 1,08) (8. ábra). Így a 10 éves FitAgeAcceleration érték majdnem megduplázta a halálozási kockázatot azonos korú és nemű személyekhez képest ($1,07^{10} = 1,97$ kockázat). Hasonlóképpen, a FitAgeAcceleration növekedése magasabb komorbiditással ($p = 9.0E-9$), magas vérnyomással ($p = 8.7E-5$) és korábbi menopauzával ($p = 6.6E-9$) járt együtt (8. ábra, 5. táblázat). Az alacsony FitAgeAcceleration betegségmentes állapottal ($p = 1.1E-7$) és alacsonyabb koleszterinszinttel ($p = 0.0005$) társult (5. táblázat).

Minden kapcsolat a vártak megfelelő volt, mivel azoknak, akiknek alacsony volt a FitAgeAcceleration értéke, a biológiai életkoruk fiatalabb, mint a kronológiai életkoruk. Ennek köszönhetően azok az emberek, akiket a DNAm biomarkerek fizikailag fittebbnek jósoltak, mint amit a kronológiai életkoruk sugallna, jobb életkorhoz kapcsolódó kimenetekkel rendelkeztek. Ezek a kapcsolatok megmutatják, hogy az epigenetikai életkor gyorsulása jól magyarázható a DNAm fittségi biomarkerekkel, és a FitAgeAcceleration praktikus eszközt nyújt a fittség és az öregedési folyamat összefüggésének vizsgálatára.

A FitAgeAcceleration több információt nyújt a halálozási kockázattal kapcsolatban az AgeAccelGrim mellett a JHS nőknél és az InChianti férfiaknál és nőknél, amikor az LRT p-értékeket összehasonlítjuk (4. táblázat). A FitAgeAcceleration szinte mindig több információt nyújt az időpontig tartó halálozásra vonatkozóan más epigenetikai órákhoz képest, de csak néha nyújt több információt a komorbiditások számának magyarázatában az eddig létezett epigenetikai órákon túl. Általánosságban az eredményeink azt mutatják, hogy a FitAgeAcceleration informatív a halálozási kockázatra nézve, és kiegészítőként (nem helyettesítőként) működhet az AgeAccelGrim mellett.

5.4. DNAmFitAge kapcsolata a hétköznapi edzéssel

A FitAgeAcceleration, DNAmGaitspeed, DNAmGripmax és DNAmFEV1 az elvárásoknak megfelelően mutatnak összefüggést a rendszeres edzéssel alacsony és közepes fittségű egyéneknél. Az együttthatók azt jelzik, hogy egy-egy DNAm fittségi biomarker egy egységnyi növekedése milyen hatással van a fizikai aktivitásra, azonos korosztályú és nemű egyének esetében az életkor figyelembevételével (18. táblázat, 8. ábra). A DNAmFitAge-hez való viszonyuk szintén az elvárásoknak megfelelő; akinek magasabb a FitAgeAcceleration értéke, az idősebb becsült biológiai életkorral rendelkezik és ez alacsonyabb fizikai aktivitáshoz vagy fizikai teljesítőképességhez kapcsolódik (17. táblázat). Hasonlóképpen, azok a férfiak és nők, akiknél gyorsabb a DNAmGaitspeed, erősebb a DNAmGripmax és nagyobb a DNAmFEV1 értékek, fizikailag aktívabbak azonos korú társaiknál. Összefoglalva, a fizikailag aktívabb férfiak és nők "fittebb" értékeket mutattak a FitAgeAcceleration és a DNAm fittségi biomarkerek tekintetében.



8. ábra: Metaanalízis fasor ábrák a DNAmFitAge és a DNAm fittségi paraméterek kapcsolatáról a fizikai aktivitással vagy fizikai funkcióval az alacsony és közepes fizikai aktivitású embereknél.

Minden panel a Stouffer-féle metaanalízis p-értékeit mutatja, amely a csoportok közötti együtthatók kombinálására szolgál, a kronológiai életkorhoz való igazítás után. (A) DNAmFitAge, (B) DNAmGaitSpeed, (C) DNAmGripmax, (D) DNAmFEV1, és (E) DNAmVO2max. A DNAmFitAge, DNAmGaitSpeed, DNAmGripmax és DNAmFEV1 előrejelzi a fizikai aktivitást az alacsony és közepes fizikai aktivitási szintű egyéneknél.

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. Aging (Albany NY), 10:3904-3938.

Figure 4.

18. táblázat: A DNAm biomarkerek kapcsolata a fizikai aktivitással és a fizikai funkcióval az alacsony és közepes aktivitási szintű embereknél.

Outcome		Females					Males				Meta analysis p-value
		LBC 1921	LBC 1936	InChianti	JHS	WHI	LBC 1921	LBC 1936	InChianti	JHS	
DNAmFitAge	coefficient	-0.024	-0.031	-0.095	-0.033	-0.237	0.008	-0.024	-0.041	-0.040	6.37E-13
	p-value	2.3E-04	3.7E-06	0.042	0.046	0.014	0.199	2.0E-05	0.272	0.044	
DNAmGaitSpeed w/ Age	coefficient	-0.51	2.82	8.76	3.07	26.67	-3.31	1.99	4.97	1.78	1.82E-03
	p-value	0.567	0.002	0.084	0.165	0.025	2.4E-04	0.022	0.429	0.672	
DNAmGaitSpeed w/o Age	coefficient	0.87	0.90	1.32	0.40	8.77	-0.10	0.99	2.36	1.49	1.60E-06
	p-value	0.001	0.004	0.536	0.627	0.099	0.725	0.001	0.255	0.293	
DNAmGripmax w/ Age	coefficient	0.10	-0.06	0.14	-0.03	0.24	0.00	0.03	0.17	0.02	0.029
	p-value	0.036	0.201	0.635	0.821	0.035	0.943	0.256	0.291	0.801	
DNAmGripmax w/o Age	coefficient	0.076	0.035	0.10	0.002	0.30	-0.02	0.02	0.06	0.02	1.85E-04
	p-value	4.3E-06	0.043	0.379	0.953	0.181	0.125	0.058	0.364	0.617	
DNAmFEV1	coefficient	1.07	0.60	0.33	0.99	4.98	-0.17	0.37	0.37	-0.58	0.0062
	p-value	0.026	0.197	0.898	0.114	0.005	0.585	0.173	0.791	0.337	
DNAmVO2max	coefficient	0.06	0.03	0.26	-0.05	-0.47	-0.06	0.02	0.05	-0.03	0.113
	p-value	0.003	0.090	0.019	0.423	0.215	0.002	0.281	0.667	0.654	
DNAmGrimAge	coefficient	-0.01	-0.03	-0.08	-0.05	-0.30	-0.01	-0.03	-0.01	-0.05	1.25E-12
	p-value	0.524	5.7E-06	0.157	0.002	0.027	0.390	2.3E-05	0.794	0.007	
DNAmPhenoAge	coefficient	0.00	-0.01	-0.12	-0.02	-0.07	7.1E-05	-0.01	-0.01	-0.01	1.26E-06
	p-value	0.568	0.012	4.2E-04	0.063	0.354	0.989	0.004	0.764	0.425	
DNAmPAII	coefficient	-3.4E-05	-4.4E-05	-7.5E-05	-1.1E-04	-3.4E-04	-1.8E-06	-2.8E-05	7.5E-05	-6.2E-05	6.36E-10
	p-value	0.021	0.002	0.358	2.5E-08	0.076	0.908	0.032	0.382	0.009	
DNAmGDF15	coefficient	-8.5E-05	-1.3E-03	-2.9E-03	-8.5E-04	-1.0E-02	-1.2E-03	-5.9E-04	-3.5E-03	-6.7E-04	6.16E-08
	p-value	0.802	0.0005	0.082	0.147	0.047	5.4E-04	0.054	0.117	0.373	

Forrás: McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S.. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. Aging (Albany NY), 10:3904-3938.

Table 3.

Ezenkívül a DNAmFitAge (Stouffer p-érték = 6.4E-13) enyhén felülmúlja a jelenlegi DNAm biomarkereket, ha meta-analízis p-értékeket hasonlítunk össze; a DNAmFitAge javulása a DNAmGrimAge-hez képest (p-érték = 1.2E-12) marginális, azonban a DNAmPhenoAge-hez (p-érték = 1.3E-6) és a DNAmGDF-15-höz (p-érték = 6.2E-8) képest jelentősebb. Ezen kívül a DNAmFitAge, amely a biológiai életkor mutatója, jobban értelmezhető öregedési biomarkerként, mint a DNAmGrimAge, amely az élettartamot méri. Ezek az összehasonlítások megmutatják, hogy a DNAmFitAge képes megragadni a fizikai aktivitással kapcsolatos összefüggéseket és javulást nyújthat a jelenlegi DNAm biomarkerek arzenáljában.

5.5. Funkcionális CpG helyek jellemzése

A DNAm biomarkerek becslésére használt 627 CpG genomikus hely dúsítva volt 5 génkészletben, 11 sejtes folyamatban és 7 molekuláris folyamatban, amelyek többsége gyulladásal kapcsolatos. A GREAT elemzésből származó legfontosabb dúsítási eredmények, amelyek megfeleltek a Bonferroni p-érték küszöbértékének ($< 0,05$), az 5A táblázatban láthatók, a teljes GREAT eredmények pedig a Kiegészítő táblázat 7-ben szerepelnek. Ezen gének közé tartozik a ZNRD1 (Bonferroni $p = 0,005$) és a szövettani kompatibilitás antigén (HLA-G; $p = 0.02$). A sejtes folyamatok a fő hisztokompatibilitási komplex (MHC) fehérjékkel kapcsolatosak ($p = 3.1E-7$), míg a molekuláris folyamatok a peptidek antigén kötésével ($p = 0.032$) és a tapazin kötésével kapcsolatosak ($p = 0.047$). A tapazin egy MHC I. osztályú antigén-feldolgozó molekula, amely az endoplazmatikus retikulum lumenében van jelen. (151) A gyulladás alapú gének például HLA, MHC és tapazin közötti kapcsolatok támasztják alá a fizikális fittség és a szisztémás gyulladás közötti összefüggésre vonatkozó hipotéziseket. (152) Ezenkívül korábbi kutatások kimutatták, hogy a gyulladásos válasz és az endoplazmatikus retikulum stressz-szintje csökkent 12 hetes állóképességi edzésprogramot követően az edzést nem végző kontroll csoporthoz képest. (153) Mindkét biológiai megállapítás érdekes, és iránymutatást adhat a fittségi paraméterek által módosítható metiláció tanulmányozására.

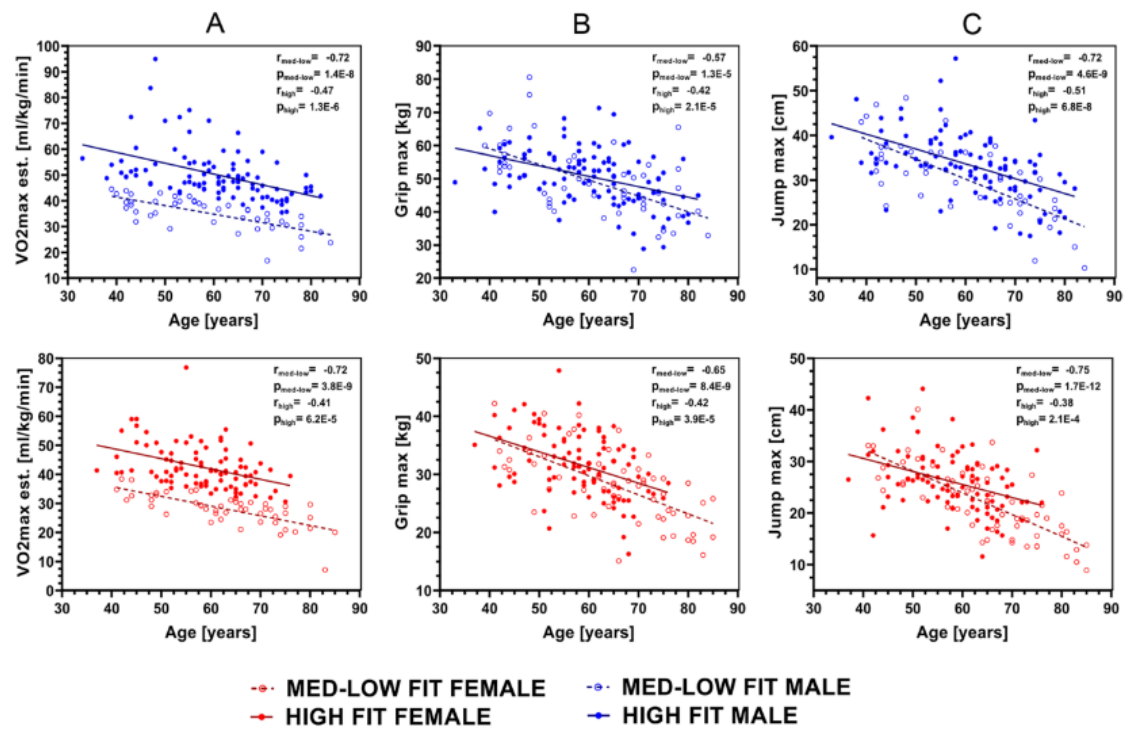
Ezután megvizsgáltuk a genomikus régiók kromatin állapotát a DNS fittségi biomarker konstrukcióhoz használt 627 CpG helyeken. Megállapítottuk, hogy a CpG helyek jelentősen csökkent mennyiségben fordulnak elő erősen acetilált promoterek és transzkripció kezdőpontok (TSS) környékén, és nagyobb mennyiségben vannak a polycomb repressive complex 2 (PRC2) kötésénél. Az esély arányok (OR) jelentősen egy alattiak voltak a PromF4 kromatin állapotban (erősen acetilált promoterek, $OR = 0.45$, hypergeometric $p = 6.5E-6$) és a TSS1 (acetilált TSS, $OR = 0.37$, $p = 6.8E-6$) állapotban (11. táblázat). A BivProm1 ($OR = 1.50$, $p = 0.009$), BivProm2 ($OR = 1.76$, $p = 0.0006$), és ReprPC1 ($OR = 1.87$, $p = 0.007$) régiók CpG helyekkel dúsítva vannak a DNS metiláció fittségi biomarkerekben, és ismert PRC2 kötőhelyeken. (146) A BivProm1 és a BivProm2 gyenge kétértékű promoterek, és a ReprPC1 polycomb pedig repressziós régió. A kétértékű kromatid domének szabályozzák a HOX és egyéb fejlődéshez kapcsolódó

gének kifejeződését minden gerinces élőlényben. A PRC2 a fő polycomb repressziós komplexek (PRC) egyike, amely negatív epigenetikai transzkripció szabályozóként működik, vagyis segíthet a génkifejeződés csendesítésében a H3K27 metiláció révén. (154) Ezek az eredmények egybeesnek azzal a megfigyeléssel, hogy a fejlődési folyamat kapcsolódhat az epigenetikai öregedéshez, és hogy a PRC2 helyek nagyobb számban vannak az életkortól függő metilomban emberben és emlősökben. (117)

A DNS fitsségi biomarkerek felépítéséhez használt CpG helyek körülbelül 10%-a megtalálható más epigenetikai órákban, és 25%-ban azonos irányú együttthatókkal rendelkeznek. Ötvenhat (a 627-ből) CpG hely megtalálható legalább egy másik epigenetikai órában; 7 a DNAmPhenoAge-ban, 2 a DNAmAge-ban, 15 a DNAmAgeHannum-ban, 23 a DNAmAgeSkinBlood-ban (13. táblázat), és 14 a DNAmGrimAge-ban. A cg26842024 egy CpG hely, amit a férfi DNAmGaitspeed modellben használtunk, és minden órában megtalálható, kivéve a Hannum órát. A többi DNS fitsségi modellben kiválasztott CpG helyek több együttthatóval rendelkeznek az epigenetikai órák összehasonlítására. Összesen 11 együtttható volt azonos irányban, mint más órákban. A fennmaradó CpG helyek, vagyis az új DNAm biomarkerek CpG helyeinek 90% - a új tanulmányozási területeket sugallhatnak az epigenom számára, amelyek reagálhatnak a hétköznapi edzésre.

5.6. Korfüggő fiziológias funkciók és vér markerek az evezős vizsgálati mintán

Az új öregedést vizsgáló biomarker létrehozása mellett, az evezős mintákon vizsgáltuk a korábbiakban megemlített fiziológias paramétereket, illetve vér markereket. Az öregedéssel minden vizsgált fiziológias paraméter csökkent eredményt mutattak, mind a MED-LOW-FIT mind a HIGH-FIT csoportnál. (9. ábra)



9. ábra: A kronológiai korrall összefüggő csökkenés (A) a VO₂max, (B) a GripMax és (C) a JumpMax esetén a magas fittségű (HIGH-FIT) és a közepes-alacsony fittségű (MED-LOW-FIT) férfi és női alanyok esetében.

A fitességi szinttől függetlenül a VO₂max, a GripMax és a JumpMax értékek csökkentek az öregedés következtében; azonban a csökkenés magasabb értékekről indult és a magas fitességi szintű csoportba tartozó alanyok értékék a közepes/alacsony fittségű alanyok értékeit, akik kronológiailag több mint 20 évvel idősebbek voltak. A Pearson korrelációs együtthatót a férfi és női alanyok esetében a fitességi kategória szerint megjelölve mutatja az ábra (VO₂max esetében: férfi HIGH-FIT n=97, női HIGH-FIT n=91, férfi MED-LOW-FIT n=47, női MED-LOW n=50; Gripmax esetében: férfi HIGH-FIT n=97, női HIGH-FIT n=91, férfi MED-LOW-FIT n=52, női MED-LOW n=63; Jumpmax esetében: férfi HIGH-FIT n=97, női HIGH-FIT n=91, férfi MED-LOW-FIT n=50, női MED-LOW n=62).

Forrás: Jokai M, Torma F, McGreevy KM, Koltai E, Bori Z, Babszki G, Bakonyi P, Gombos Z, Gyorgy B, Aczel D, Toth L, Osvath P, Fridvalszky M, Teglas T, Posa A, Kujach S, Olek R, Kawamura T, Seki Y, Suzuki K, Tanisawa K, Goto S, Kerepesi C, Boldogh I, Ba X, Davies KJA, Horvath S, Radak Z.KJA, Horvath S, Radak Z.. (2023) DNA methylation clock DNAmFitAge shows regular exercise is associated with slower aging and systemic adaptation. Geroscience, 5:2805-2817. Fig. 1.

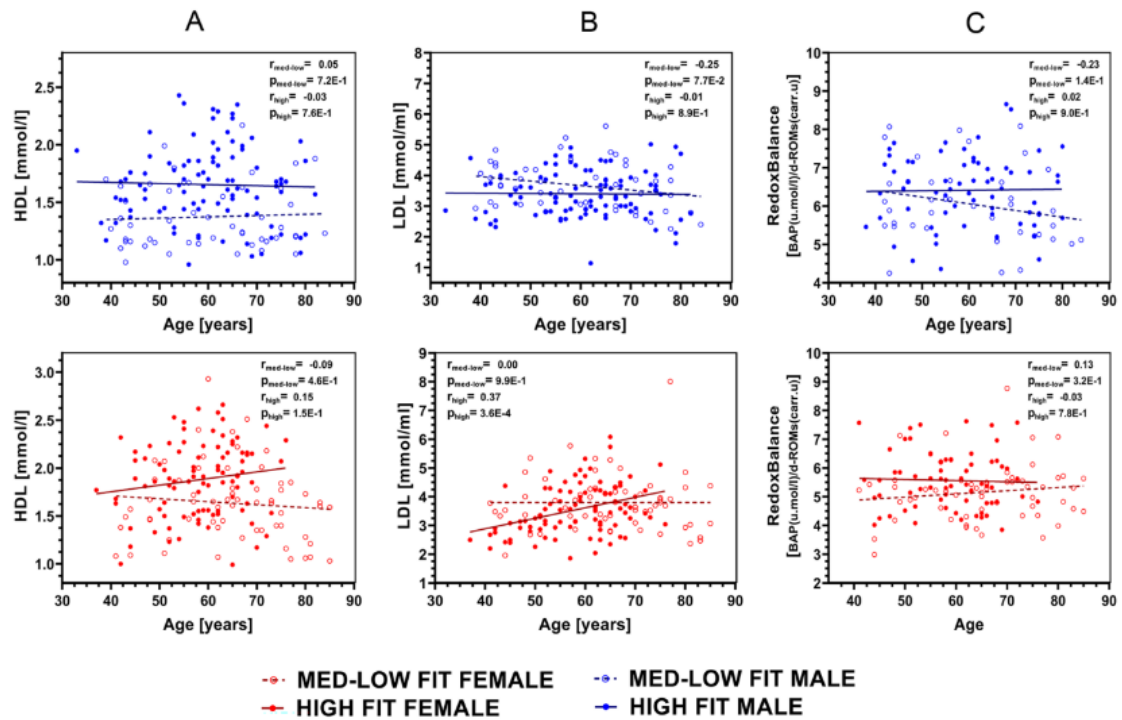
Az öregedés sebessége alacsonyabbnak tűnik a HIGH-FIT csoportnál, főleg az idősebb korosztálynál, de csak a felugrási magasság különbözött a fittségi szint szerint. A felugrási magasság (ami az anaerob teljesítmény egyik mutatója) az egyetlen olyan mutató, aminek az öregedéssel kimutatható romlását a fittség mérsékelni tudta. Az LDL, HDL, redox egyensúly változásokat a nem és fittségi állapot függvényében a 10. ábra mutatja.

Az LDL szint konstansnak mondható a férfiaknál kortól és edzettségtől függetlenül, viszont a HDL szint a fittebb férfiaknál magasabb értékeket mutatnak, mint a kevésbé fitt társaiknál. A 11. ábra a szérum irizin szintek többszörös lineáris regressziós eredményeit mutatja.

Azt olvashatjuk le az ábráról, hogy a HDL és az irizin szintek között pozitív összefüggés van, illetve a HDL szintek között szignifikáns különbség jelentkezik a fittségi szint viszonylatában (mindkét nemnél).

A rövidtávú memóriát digit span tesztel vizsgáltuk, ami verbális memórián alapul és nemtől független vizsgálat. Az erre vonatkozó eredményeket a 12. ábra mutatja. A legjobb rövid távú memória eredményeket a vékony, fiatal és fitt vizsgálati személyek produkálták.

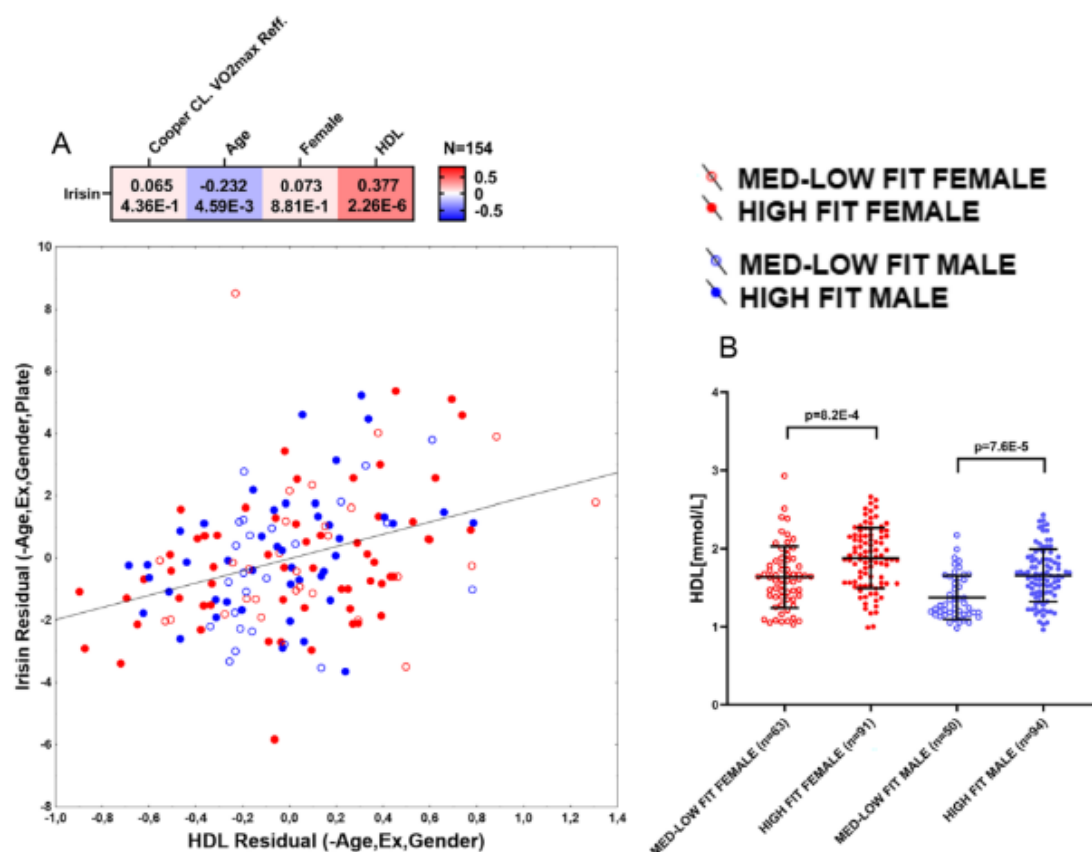
Magasabb VO₂max ($p=0.0013$), JumpMax ($p=0.028$), GripMax ($p=0.0056$) és HDL szint ($p=0.0011$) jobb rövidtávú memória eredménnyel mutatott összefüggést. Fontos eredményünk volt, hogy az új FitAgeAcceleration biomarker fordított korrelációt mutatott a digit span teszt eredményeivel ($p=0.0002$), vagyis a jobb verbális memória lassabb öregedéssel volt összefüggésben.



10. ábra: Az életkorral összefüggő változások a (A) HDL , (B) LDL és a (C) redox egyensúlyban a magas fittségű (HIGH-FIT) és közepes/alacsony fittségű (MED/LOW-FIT) férfi és női alanyok esetében.

A HIGH-FIT férfiaknál a HDL szintek magasabbak voltak, mint a MED/LOW-FIT csoportnál, és az életkorral összefüggő változások nem voltak szignifikánsak. A nőknél mind a HDL, mind az LDL szintek hajlamosak voltak növekedni az öregedéssel. A redox egyensúly mindkét nem esetében változatlan maradt az öregedés hatására. A Pearson korrelációs együtthatót a férfi és női alanyok esetében a fittségi kategória szerint mutatja az ábra. (HDL max esetén: férfi HIGH-FIT $n=94$, női HIGH-FIT $n=91$, férfi MED-LOW-FIT $n=50$, női MED-LOW $n=63$; LDL esetén: férfi HIGH-FIT $n=94$, női HIGH-FIT $n=91$, férfi MED-LOW-FIT $n=50$, női MED-LOW $n=63$; redox egyensúly esetén: férfi HIGH-FIT $n=64$, női HIGH-FIT $n=69$, férfi MED-LOW-FIT $n=41$, női MED-LOW $n=59$).

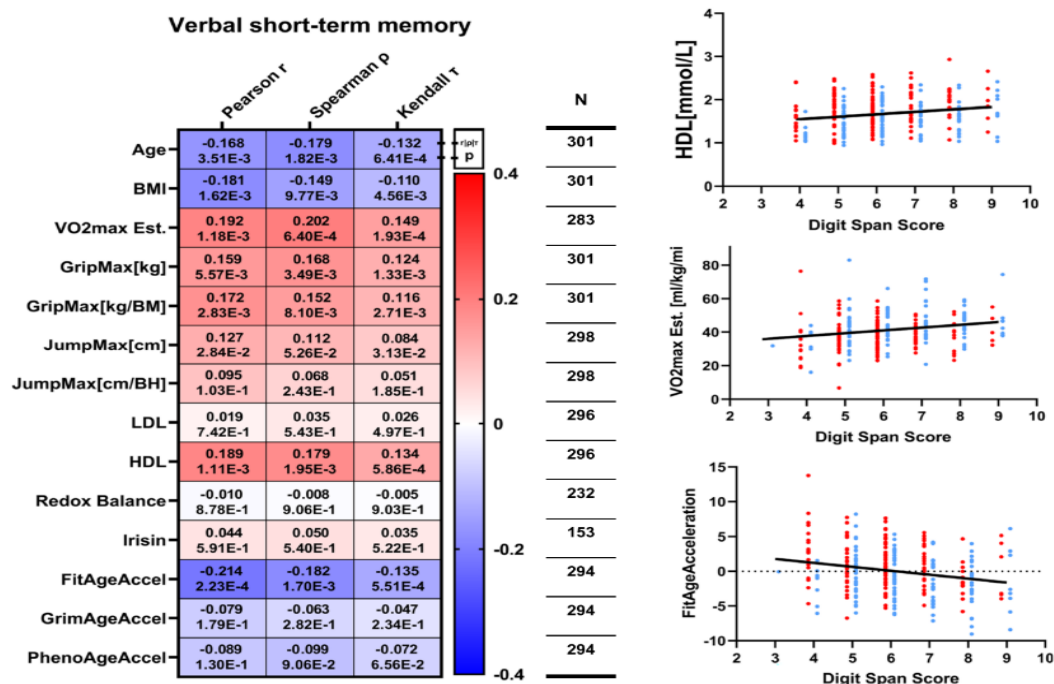
Forrás: Jokai M, Torma F, McGreevy KM, Koltai E, Bori Z, Babszki G, Bakonyi P, Gombos Z, Gyorgy B, Aczel D, Toth L, Osvath P, Fridvalszky M, Teglas T, Posa A, Kujach S, Olek R, Kawamura T, Seki Y, Suzuki K, Tanisawa K, Goto S, Kerepesi C, Boldogh I, Ba X, Davies KJA, Horvath S, Radak Z.KJA, Horvath S, Radak Z.. (2023) DNA methylation clock DNAmFitAge shows regular exercise is associated with slower aging and systemic adaptation. *Geroscience*, 5:2805-2817. Fig. 2.



11. ábra: A (A) HDL és az irizin közötti korreláció, valamint a (B) fittség- és nemfügő HDL szintek.

A korrelációs mátrix (heatmap) a HDL és az irizin szintek közötti korrelációt mutatja, korhoz, nemhez, fitsségi szinthez és batch-hez igazítva, a megfelelő korrelációs együtthatóval és p-értékekkel. A grafikon az irizin ~ életkor+nem+fitnesz szint+tábla modell maradékait a HDL ~ életkor+nem+fitnesz szint modell maradékaival ábrázolja. Az összesített grafikonok a HDL szintek adateloszlását és a csoportos különbségeket mutatják. Az adatokat többszörös regresszióval elemeztük; a csoportos különbségeket Kruskal-Wallis teszttel számítottuk ki (férfi HIGH-FIT n=44, női HIGH-FIT n=57, férfi MED-LOW-FIT n=24, női MED-LOW n=29).

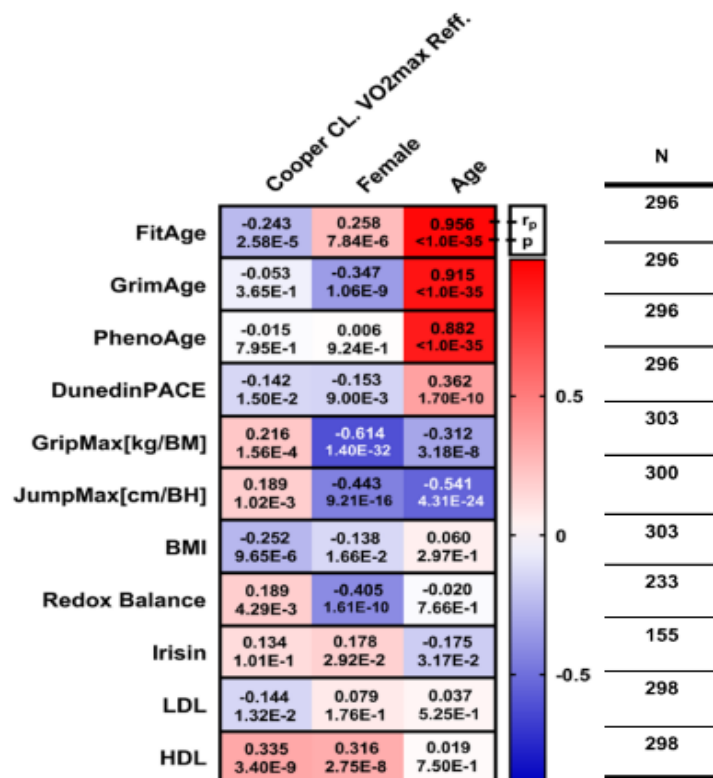
Forrás: Jokai M, Torma F, McGreevy KM, Koltai E, Bori Z, Babszki G, Bakonyi P, Gombos Z, Gyorgy B, Aczel D, Toth L, Osvath P, Fridvalszky M, Teglas T, Posa A, Kujach S, Olek R, Kawamura T, Seki Y, Suzuki K, Tanisawa K, Goto S, Kerepesi C, Boldogh I, Ba X, Davies KJA, Horvath S, Radak Z.KJA, Horvath S, Radak Z.. (2023) DNA methylation clock DNAmFitAge shows regular exercise is associated with slower aging and systemic adaptation. Geroscience, 5:2805-2817. Fig. 3.



12. ábra: Az egymás közötti összefüggések a verbális rövid távú emlékezet és a fiziológiai, biokémiai és DNAm biomarkerek között.

A heatmap Pearson r korrelációs együtthatója (r), Spearman rang korreláció együtthatója (rho) és Kendall rang korreláció együtthatója (tau), illetve a hozzájuk tartozó p értékek vannak feltüntetve. A szórásábrák mutatják a digit span pontszámokat a megjelölt fiziológiai paraméterekkel kapcsolatban, a piros pontok a nőket, míg a kék pontok a férfiakat jelölik (életkor, BMI, GripMax: férfi HIGH-FIT n=96, nő HIGH-FIT n=91, férfi MED-LOW-FIT n=52, nő MED-LOW n=62; VO2Max: férfi HIGH-FIT n=96, nő HIGH-FIT n=91, férfi MED-LOW-FIT n=47, nő MED-LOW n=49; JumpMax: férfi HIGH-FIT n=96, nő HIGH-FIT n=91, férfi MED-LOW-FIT n=50, nő MED-LOW n=61; LDL, HDL: férfi HIGH-FIT n=93, nő HIGH-FIT n=91, férfi MED-LOW-FIT n=50, nő MED-LOW n=62; DNAmAgeAcceleration: férfi HIGH-FIT n=92, nő HIGH-FIT n=91, férfi MED-LOW-FIT n=50, nő MED-LOW n=61; redox egyensúly: férfi HIGH-FIT n=64, nő HIGH-FIT n=69, férfi MED-LOW-FIT n=41, nő MED-LOW n=58; irizin: férfi HIGH-FIT n=43, nő HIGH-FIT n=57, férfi MED-LOW-FIT n=25, nő MED-LOW n=28).

Forrás: Jokai M, Torma F, McGreevy KM, Koltai E, Bori Z, Babszki G, Bakonyi P, Gombos Z, Gyorgy B, Aczel D, Toth L, Osvath P, Fridvalszky M, Teglas T, Posa A, Kujach S, Olek R, Kawamura T, Seki Y, Suzuki K, Tanisawa K, Goto S, Kerepesi C, Boldogh I, Ba X, Davies KJA, Horvath S, Radak Z.KJA, Horvath S, Radak Z.. (2023) DNA methylation clock DNAmFitAge shows regular exercise is associated with slower aging and systemic adaptation. *Geroscience*, 5:2805-2817. Fig. 4.



13. ábra: A mért és a becsült paraméterek közötti kapcsolat a fittség, a nem és az életkor szerint.

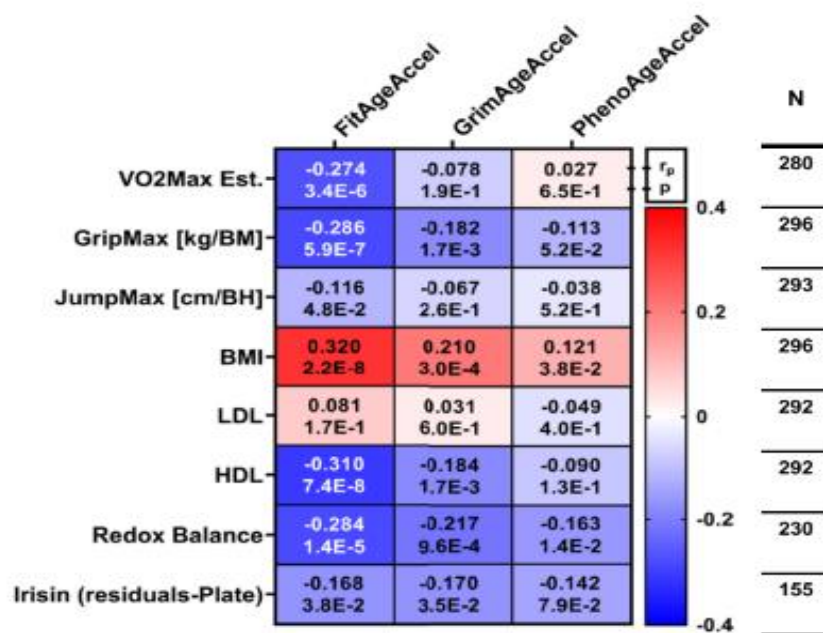
Többlépcsős lineáris regressziós modellek eredményei láthatók a cellákban. A sorcímek a függő változókat, míg az oszlopcímek az független változókat jelentik. Minden sor egy többlépcsős lineáris regressziós modellt reprezentál, a cellák részleges korrelációs együtthatókat (145) és a hozzájuk tartozó p értékeket tartalmazzák. Az n értékek minden sor végén a rendelkezésre álló minta méretét mutatják az összes négy változóra vonatkozóan a modellben (DNAmAge biomarkerek: férfi HIGH-FIT n=93, nő HIGH-FIT n=91, férfi MED-LOW-FIT n=50, nő MED-LOW n=62; GripMax, BMI: férfi HIGH-FIT n=97, nő HIGH-FIT n=91, férfi MED-LOW-FIT n=52, nő MED-LOW n=63; JumpMax: férfi HIGH-FIT n=97, nő HIGH-FIT n=91, férfi MED-LOW-FIT n=50, nő MED-LOW n=62; redox egyensúly: férfi HIGH-FIT n=64, nő HIGH-FIT n=69, férfi MED-LOW-FIT n=41, nő MED-LOW n=59; LDL és HDL: férfi HIGH-FIT n=94, nő HIGH-FIT n=91, férfi MED-LOW-FIT n=50, nő MED-LOW n=63; irizin: férfi HIGH-FIT n=44, nő HIGH-FIT n=57, férfi MED-LOW-FIT n=25, nő MED-LOW n=29).

Forrás: Jokai M, Torma F, McGreevy KM, Koltai E, Bori Z, Babszki G, Bakonyi P, Gombos Z, Gyorgy B, Aczel D, Toth L, Osvath P, Fridvalszky M, Teglas T, Posa A, Kujach S, Olek R, Kawamura T, Seki Y, Suzuki K, Tanisawa K, Goto S, Kerepesi C, Boldogh I, Ba X, Davies KJA, Horvath S, Radak Z.KJA, Horvath S, Radak Z.. (2023) DNA methylation clock DNAmFitAge shows regular exercise is associated with slower aging and systemic adaptation. Geroscience, 5:2805-2817. Fig. 5.

A fiziológiás, biokémiai és DNAm biomarkerek kapcsolatai a nemmel, korrall és fittséggel megfeleltek a vártaknak (13. ábra). Minden DNAm biomarker (DNAmFitAge, DNAmGrimAge, DNAmPhenoAge) erős kapcsolatot mutatott a kronológiai korrall ($p < 1.0E-35$). A rögzített fittségi változók, vagyis a VO₂max, JumpMax és GripMax negatívan korreláltak a korrall, ahol a nők alacsonyabb átlagokkal rendelkeztek mint a férfiak. Fontos eredmény, hogy a jobb fittségi kategóriába tartozó egyének fiatalabb DNAmFitAge biomarkerrel ($p = 2.6E-5$), alacsonyabb BMI-vel ($p = 9.7E-6$), erősebb relatív szorító erővel (GripMax) ($p = 1.6E-4$), magasabb maximális felugrással (JumpMax), magasabb HDL szinttel ($p = 3.4E-9$) és magasabb redox egyensúllyal ($p = 4.3E-3$) rendelkeztek, mint alacsonyabb fittségi kategóriába tartozó társaik.

5.7. DNAmFitAge és más DNAm biomarkerek az evezős vizsgálati mintán

A FittAgeAcceleration biomarker erősebb kapcsolatot mutatott a fittségi, BMI és vér szérum mutatókkal a GrimAge és PhenoAgeAcceleration biomarkerekhez képest. (14. ábra)



14. ábra: A fiziológiai és a biokémiai paraméterek kapcsolata a FitAge, a GrimAge és a PhenoAge Acceleration-nél.

Többlépcsős lineáris regressziós modellek eredményei láthatók az ábrán, nem szerint csoportosítva. Minden sor (függő változó) és oszlop (független változó) metszéspontja egy többlépcsős lineáris regressziós modell eredménye (a nem változóval, ami nincs megjelenítve), a cellák részleges korrelációs együtthatókat (145) és a hozzájuk tartozó p értékeket tartalmaznak. Az n értékek minden sor végén a minták számát mutatják az összes 3 változóra vonatkozóan a modellben. Az irizin esetében a batch-hez igazított maradékértékeket is számoltuk a többlépcsős regressziós modellezéskor (VO2max: férfi HIGH-FIT n=93, nő HIGH-FIT n=91, férfi MED-LOW-FIT n=46, nő MED-LOW n=50; GripMax, BMI: HIGH-FIT n=93, nő HIGH-FIT n=91, férfi MED-LOW-FIT n=50, nő MED-LOW n=62; JumpMax: férfi HIGH-FIT n=93, nő HIGH-FIT n=91, férfi MED-LOW-FIT n=48, nő MED-LOW n=61; redox egyensúly: férfi HIGH-FIT n=63, nő HIGH-FIT n=69, férfi MED-LOW-FIT n=40, nő MED-LOW n=58; LDL és HDL: férfi HIGH-FIT n=91, nő HIGH-FIT n=91, férfi MED-LOW-FIT n=48, nő MED-LOW n=62; irizin: férfi HIGH-FIT n=44, nő HIGH-FIT n=57, férfi MED-LOW-FIT n=25, nő MED-LOW n=29).

Forrás: Jokai M, Torma F, McGreevy KM, Koltai E, Bori Z, Babszki G, Bakonyi P, Gombos Z, Gyorgy B, Aczel D, Toth L, Osvath P, Fridvalszky M, Teglas T, Posa A, Kujach S, Olek R, Kawamura T, Seki Y, Suzuki K, Tanisawa K, Goto S, Kerepesi C, Boldogh I, Ba X, Davies KJA, Horvath S, Radak Z.KJA, Horvath S, Radak Z.. (2023) DNA methylation clock DNAmFitAge shows regular exercise is associated with slower aging and systemic adaptation. Geroscience, 5:2805-2817. Fig. 6.

Továbbá az öregedési ritmus a vártak megfelelő adatokat mutattak. A pozitív FitAgeAcceleration magasabb biológiai kort predesztinál, mint a kronológiai életkor, ezzel szemben a negatív FitAgeAcceleration pedig fiatalabb (fittebb) biológiai kort becsült. Minden 1 év növekedés FitAgeAcceleration átlagosan 0.29 (kg/testsúly) szorítóerő csökkenéssel, 0.12 cm (cm/testmagasság) felugrási magassággal, 0.31 HDL szinttel, 0.28 redox egyensúly csökkenéssel, 0.32 BMI és 0.17 vér irizin szint növekedéssel járt. Az összefüggések iránya megegyezett az eddig már létező biomarkerekkel, mint a GrimAge és PhenoAge, viszont az újonnan létrehozott FitAge biomarkerrel volt a legerősebb az összefüggés.

Az említett 3 biomarker közül csak a FitAgeAcceleration mutatott szignifikáns különbséget a High-Fit és a Medium-Low-Fit csoportok között. Nőknél 1.5 évvel fiatalabb volt a FitAgeAcceleration a HF csoportnál mint a MLF csoportnál ($p=0.005$), férfiaknál 2.0 év volt a különbség ($p=0.0007$). GrimAgeAcceleration és PhenoAgeAcceleration is fiatalabb biológiai kort mutatott az edzettebb csoportok javára mind a férfiaknál, mind a nőknél, viszont egyik nemnél sem volt szignifikáns az eltérés ($0.25 < p < 0.82$). Ezekből az eredményekből azt tudjuk kiolvasni, hogy a magas fittségű nők és férfiak átlagosan 1.5-2 évvel fiatalabbak az alacsony vagy közepes fittségű társaiknál, biológiai életkor szempontjából.

5.8. DNAm fittségi biomarkerek az evezős vizsgálati mintán

A DNAm fittségi biomarkerek közül a DNAmGripmax, DNAmGaitSpeed és DNAmFEV1 változók alapján különbséget lehetett tenni a női minta résztvevőinek fittségi állapota között (High-Fit / Med-Low-Fit), de a férfi minta esetében ez nem volt kimutatható. Annak szem előtt tartása nélkül, hogy a DNAm biomarker kialakítása során a kronológiai kor része-e a számolásnak, hasonló becsült különbségek mutathatók ki a férfi fittségi csoportok között: 1.49 és 1.44 DNAmGripmax, 0.1 és 0.09 DNAmGaitSpeed, 0.14 és 0.15 DNAmFEV1. Arra a következtetésre jutottunk, hogy a

férfi mintánál azért nem mutattak ki különbséget a felsorolt DNAm biomarkerek mert ezen fittségi változók nem különböztek számottevően a férfi mintánál (relatív szorítóerő $p=0.049$, maximális felugrás $p=0.07$).

6. Megbeszélés

A DNAm biomarkereket korábban már kidolgozták a vérsejtszám, (155) az életkor, (113) a dohányzás (122) és más tényezők esetében, azonban eddig nem léteztek DNAm biomarkerek a fittségi paraméterekre. Munkánk eredményeképpen új DNAm biomarkereket hoztunk létre a maximális kézszorító erő, járási sebesség, FEV1 és VO2max fittségi paraméterek használatával. Ezek a DNAm biomarkerek új eszközöket jelentenek azon kutatók számára, akik a fizikális fittség epigenetikai összetevőit szeretnék tanulmányozni.

A DNAm biomarkerek javultak a fenotípusos információk bevonásával (120), azonban a fizikális fittség bevonása eddig nem történt meg. A DNAmFitAge a kutatók számára egy új biológiai életkor mutatót nyújt, amely kombinálja a fizikális fittséget és az epigenetikai egészséget. Ez a biomarker integrálja a már meglévő DNAm halálozási kockázat előrejelzést (DNAmGrimAge) az újonnan kifejlesztett DNAm fittségi előrejelzőkkel. A magasabb DNAmGaitspeed, DNAmGripmax, DNAmFEV1 és DNAmVO2max értékek, amelyek jobb fizikai fittséget tükröznek, fiatalabb becsült biológiai életkorhoz kapcsolódnak férfiaknál és nőknél egyaránt. A fizikailag fitt életmód fiatalabb biológiai életkorhoz és fittebb DNAm fittségi biomarkerekhez vezetnek, amit az alacsony és közepes fizikai aktivitási szintű egyének öt nagy léptékű validációs adatbázisából, valamint intenzíven sportoló testépítők adatbázisából alakítottunk ki. A férfi testépítők biológiailag fiatalabbak és fizikailag fittebbek voltak kortársaikhoz képest. A DNS-metilációs vizsgálatok alapján a testépítők átlagosan több mint két évvel fiatalabbnak bizonyultak és az oxigénfelvételi képességük is magasabb volt. Az eredmények továbbá azt mutatták, hogy a multivitaminok szedése összefüggésben állhat a jobb oxigénfelvételi képességgel. Azonban a multivitaminok önmagukban nem magyarázzák teljes mértékben a testépítők fiatalabb biológiai életkorát. Más tényezők, például a megnövekedett fizikai aktivitás és a csökkent testzsír valószínűleg markánsabb szerepet játszhatnak ebben.

A FitAgeAcceleration szorosan összefügg számos életkorral kapcsolatos állapottal, előrejelzi a halálozási időt és a koszorúér-betegség kezdetét a validációs adatbázisokban.

A FitAgeAcceleration egy új mérőszáma az epigenetikai életkor gyorsulásának, amely érzékeny lehet a hétköznapi testedzés hatásaira.

A DNAmGaitspeed, DNAmGripmax, DNAmFEV1, DNAmVO2max és a DNAmFitAge epigenetikai megvilágításba helyezi a fizikális fittség értékelését. A fizikailag fitt emberek fiatalabb DNAmFitAge és fiatalabb FitAgeAcceleration értékekkel rendelkeznek és a fiatalabb értékek magasabb fizikai aktivitáshoz, illetve egészségesebb kortól függő állapotokhoz kapcsolódik. Kutatásaink arra utalnak, hogy a testmozgás és a jobb fittségi paraméterek védelmet nyújtanak a DNAmFitAge számára mindkét nem esetében. Úgy véljük, hogy a DNAmFitAge hasznos biomarker lehet a fittségi állapot számszerűsítésére epigenetikai szinten, és alkalmazható lehet a testmozgáson alapuló beavatkozások fejlesztésében.

Az egészséges életvitel, ami magába foglalja például az egészséges táplálkozást és gyakori testedzést csökkentheti a halálozás esélyét és lassíthatja az öregedési folyamatot. A DNAmFitAge epigenetikai óra rámutat a hétköznapi edzés epigenomra kifejtett hatására egészséges és edzett felnőtteknél. A DNAmFitAge az előtte létező kockázat előrejelző epigenetikai órákkal együtt (DNAmGrimAge és DNAmPhenoAge) előrejelzi a szív és érrendszeri betegség kockázatát, társbetegségek kockázatát, illetve a betegségmentes állapotot. (143)

A FitAgeAcceleration biomarkerrel rámutattunk a már létezők mellett arra, hogy képes lehet ez az új epigenetikai óra kifejezni az edzés indukált adaptációt, amely a DNS metilációs mintázaton alapul, mind egyéni mind csoport szinten. A FitAgeAcceleration erősebb összefüggést mutat a verbális memória, HDL, BMI, redox egyensúly, VO2max, maximális felugrás és maximális szorítóerő változókkal, mint a már létezett epigenetikai biomarkerek. Ebből arra lehet következtetni, hogy érdemes nagyobb figyelmet szentelni az edzett felnőttek epigenetikai vizsgálatainak során az olyan epigenetikai biomarkereknek (illetve biomarkerek fejlesztésének), amelyek magukba foglalják a fittségi paramétereket is mutató epigenetikai mintázatot. A verbális memória és a FitAgeAcceleration közötti összefüggés olyan kutatásokat validál, amelyek az edzés hatását vizsgálják a kognitív képességekre. A kutatásunk eredményei mutatták ki először, hogy a DNAmFitAge nem

csak az edzett állapottal van összefüggésben, de a kognitív állapot indikátoraként is funkcionál. Ez a megállapítás egy új felhasználási területre világít rá, az új biomarkernek köszönhetően.

A kutatásunk eredményeként igazoltuk a vizsgálati mintán, hogy a több éven át tartó (akár évtizeden át tartó) rendszeres testmozgás mérsékelheti az öregedéssel összefüggő fiziológias funkciók romlását, ideértve a rövid távú verbális memóriát, a teljes testi erőt, a robbanékony erőt és a kardiovaszkuláris fittséget. Ez azt jelentheti, hogy azok az egyének akik jobb fiziológias funkciókkal rendelkeznek magasabb életminőséggel rendelkezhetnek és így alacsonyabb lehet a mortalitási esélyük. (156) Emellett a DNAmFitAge biomarker a vizsgálati mintánkon azt mutatta, hogy magasabb szintű fiziológias funkciók összefüggést mutathatnak az öregedés sebességének csökkenésével. A magas fittséggel rendelkező egyéneknél 1.5 - 2 év közötti időtartammal fiatalabb biológiai kort becsült az új biomarker, mint a hasonló nemű és naptári korú, de alacsony vagy közepes fittséggel rendelkező társaiknál. Ezek az eredmények is igazolják azt a feltételezést, hogy az edzés hozzájárulhat az egészség megőrzéséhez és a lassabb öregedéshez.

A HDL és irizin vegyületek komplex hatásmechanizmussal rendelkeznek a szervezetben. Pozitív összefüggést figyeltünk meg az edzés és az említett vegyületek között, melyek egészségre kifejtett védelmi mechanizmusa a cukor anyagcserére kifejtett hatásuk miatt valósulhat meg. A HDL szerepet játszhat az idegrendszer védelmében, gyulladásos és oxidatív stressz folyamatokban, NO termelésben, illetve a vérplazma glükóz homeosztázis szabályozásában. (157) Ezek a molekuláris útvonalak magyarázatot nyújthatnak az edzés-indukált magasabb HDL és irizin szint védő mechanizmusaira a glükóz homeosztázis viszonylatában.

A magas HDL szint továbbá szerepet játszhat a neurodegeneratív betegségek megelőzésében. Ebben a kutatásunkban összefüggést találtunk a HDL szint, a VO2 max és a rövidtávú memória között. A fiatalabb FitAgeAcceleration jobb rövidtávú memóriával állt összefüggésben, ami szintén az edzés indukált kognitív egészségre kifejtett pozitív hatást támasztja alá.

Az irizin hormon hatására a fehér zsírszövet barna zsírszövetté tud átalakulni. A folyamat során a UCP1 fehérje mennyisége megnő a fehér zsírsejtekben, aminek eredménye (röviden) az lehet, hogy a barna zsírszövetben található mitokondriumok nem ATP-t hanem hőt termelnek. Emellett a keringő irizin nanomoláris szinten segítheti az energiafelhasználást, javíthatja a glükóz toleranciát, elhízással és cukorbetegséggel ellentétes hatásmechanizmusokat serkenthet. (126) Egér modellen vizsgálták az irizin abláció hatását, melynek eredménye alacsony barna zsírszövet, hiperlipidémia, inzulinrezisztencia, alacsony HDL szint és csökkent csonttömeg lett. (11) A vizsgálatunk során korfüggő irizin szint csökkenést figyeltünk meg, melyet az edzés mérsékelni tud. A már korábban regisztráltakhoz hasonlóan, mi is azt állapítottuk meg, hogy szoros kapcsolat mutatható ki a keringő irizin szint és a HDL szint között, viszont a kapcsolat leírása az irizin szint, GrimAgeAcceleration és FitAgeAcceleration között a mi kutatásunkban jelent meg először. A vizsgálatunk továbbá rávilágít az irizin öregedési folyamatban betöltött biológiai szerepének fontosságára, illetve a telomer hosszal való kapcsolatra. (158)

6.1. Limitációk

Az eredményeink értelmezésekor érdemes szem előtt tartani, hogy az edzett csoportok eredményeit közepes fittségű csoportokhoz tudtuk hasonlítani, nem pedig inaktív csoportokhoz, ahol még markánsabb különbségeket feltételezhetünk. Az újonnan megalkotott DNAm biomarkerek további fittségi kategóriákon végrehajtott tesztelése ezek alapján indokolt, továbbá a vizsgálati korcsoportok esetén is felmerül a kérdés, hogy a DNAmFitAge milyen biológiai kort predesztinál fiatalokú edzett vagy inaktív alanyoknál.

A nemek között regisztrált biológiai öregedésben kimutatott különbségek magyarázatára nem feltétlenül az új vizsgálati módszerben kell keresnünk a választ. A vizsgálatunk humán mintán történt, melyben a részvétel önkéntes alapú volt. A férfiak és a nők születéskor várható élettartamában kimutatható eltérések számos kérdést vethetnek fel. Egyik magyarázata ennek a különbségnek a nők egészségtudatosabb életvitele. A vizsgálatunk limitációs tényezői közé tartozik az előbb felsoroltak függvényében, hogy a

résztvevőink egészségtudatos, alapvetően az átlagnál egészségesebb populáció. Érdemes lehet a kutatás megismétlése más beválogatási feltételeket előíró vizsgálatban, illetve az általunk vizsgált populáció felmérésének megismétlése.

A DNAm fittségi biomarkerek csak mérsékelt javulást eredményeznek a fittségi paraméterek becslésében az életkor és a nem kovariánsként való figyelembevételkor. A biomarkerek korlátozott korrelációja miatt a DNAm fittségi biomarkerek nem helyettesíthetik a valós fittségi paramétereket. Ehelyett a fő előnyük abban rejlik, hogy megmutatják, a fizikai fittséghez kapcsolódó vér epigenetikai változásokat. Ezek a biomarkerek elősegíthetik a testmozgás előnyeinek molekuláris megértését, amely minden bizonnyal a hétköznapi edzést folytató populációkban jelentkezik.

7. Következtetések

Mivel be tudtuk bizonyítani, hogy a DNAmFitAge képes az eddig létezett biológiai kormeghatározó órákhoz képest fizikai aktivitást érzékelni és ezáltal az élet minőségének meghatározásában is szerepet tud vállalni, vagyis az eddig létezett órákhoz hasonlóan képes funkcionálni, az első hipotézisünket igazoltuk. Miszerint:

Részben új metilációs helyek használatával létrehozható olyan epigenetikai óra, mely számba veszi a fizikális fittséget. **IGAZ**

Az újonnan létrehozott DNAm biomarkerekről elmondható, hogy a validációs adatbázisokon szignifikáns összefüggést mutattak a mortalitással, a betegség mentes állapottal, magas vérnyomással, halálozásig eltelt idővel és a kettes típusú cukorbetegséggel is. Emellett meg lehetett határozni százalékos javulási esélyt (a vizsgált egészségügyi változók eseteiben) az adott fittségi biomarkerek eredményeinek függvényében. A becslő eljárás ha 10 évvel mutatott idősebb biológiai kort, mint a kronológiai életkor, akkor azonos nemű és naptári korú egyénekhez képest kétszeresére becsülte a mortalitás esélyét. Összességében elmondható, hogy a jobb DNAm fittségi biomarkerek összefüggést mutatnak a betegségmentes állapot esélyével. Ezek alapján a második hipotézisünket is igazoltuk.

Az új fittségi biomarkerek az egészségi állapotok független előrejelzőjeként tudnak működni. **IGAZ**

A FitAgeAcceleration eredményeink a vártak megfelelőek voltak, abból a szempontból, hogy a fizikálisan fittebb alanyok öregedési sebességét lassabbnak becsülte az azonos paraméterekkel rendelkező, kevésbé fitt vizsgálati személyekhez képest. A vizsgálat során felmerült limitációs tényezők miatt a kérdéskör további feltérképezése indokolt. A vizsgálati paraméterek értékelésekor a GrimAgeAccel és a PhenoAgeAccel órákkal hasonló irányú összefüggést regisztrált a FitAgeAccel is, viszont az új biomarker erősebb kapcsolatot mutatott az LDL, HDL, fittségi paraméterek, irizin szint, redox egyensúly és BMI változók között. Ezen eredmények alapján a hipotézist igazolni tudtuk, vagyis:

Az új epigenetikai óra erősebb összefüggést mutat fittségi paraméterekkel, mint az eddig létezett DNAmGrimAgeAccel. és DNAmPhenoAgeAccel. **IGAZ**

Az eredményeink összegzése után levonhatjuk azt a következtetést, hogy az új biomarker nem csak az öregedési sebesség és egészségi állapotok vizsgálatára alkalmas, hanem arra is, hogy különbséget tegyen minták között a fizikális fittség szempontjából. A FitAgeAccel eredmények vizsgálatával szignifikáns különbséget lehetett kimutatni az evezős vizsgálati mintán, mind a férfi, mind a női személyeknél, a vo2 max szerint szétválogatott csoportok között. Ezzel az eredménnyel az utolsó feltételezésünket is igazolni tudtuk.

Az új DNAm biomarkerek segítségével különbséget lehet kimutatni a minták fittsége között. **IGAZ**

8. Összefoglalás

Kutatásunk célja az volt, hogy feltárjuk a rendszeres fizikai aktivitás mélyreható hatásait a biológiai öregedésre és más, a fittséghez kapcsolódó molekuláris folyamatokra. Ehhez egészséges felnőttek és elkötelezett sportolók fizikai állapotát vizsgáltuk részletesen. A vizsgálatokba bevontuk az élettani paraméterek, a biokémiai markerek, a kognitív funkciók és a DNS-metiláció elemzését. Az új DNS-metilációs biomarkerünket, a DNAmFitAge-et kifejlesztve, túlléptünk a meglévő módszereken. Eredményeink azt mutatják, hogy a rendszeres testmozgás fiatalabb biológiai életkorral, jobb memóriával és egészségesebb vérképpel jár együtt. Ezek az összefüggések azt sugallják, hogy a DNAmFitAge biomarkerként szolgálhat a fizikai aktivitás és a molekuláris biológiai folyamatok közötti kapcsolat feltárásában.

A DNAmFitAge kifejlesztésével új fejezetet nyitottunk az epigenetikai öregedéskutatásban. Új biomarkerünk a szorítóerő, a járási sebesség, a vitálkapacitás és az oxigénfelvételi képesség számba vételével képes megbecsülni a biológiai kort. Ez azért jelent újdonságot, mert korábbi modellek a fizikai fittséget nem vették figyelembe. A DNAmFitAge a fizikai fittséget és az epigenetikát ötvözve kínál egy új megközelítést a biológiai kor mérésére. A biomarker a már ismert, halálozási kockázatot becslő DNAmGrimAge-re és az újonnan kifejlesztett, fittségi paraméterekre épülő DNAm biomarkerekre támaszkodik. Az eredmények azt mutatják, hogy a jobb fittségi biomarker értékek fiatalabb biológiai kort jelentenek mind férfiaknál, mind nőknél. Öt különböző adatbázisban validáltuk eredményeinket, amelyek alacsony és közepes fizikai aktivitású egyéneket tartalmaztak. A kutatás során azt is megállapítottuk, hogy a FitAgeAcceleration, egy új, a fizikai fittségre érzékeny epigenetikai öregedési sebességet kifejező biomarker, amely szoros kapcsolatban áll a korral járó betegségekkel, valamint képes előrejelezni a halálozási időt és a szív és érrendszeri betegségek kialakulásának idejét. Eredményeink alátámasztják, hogy a rendszeres testmozgás lassíthatja az öregedési folyamatokat és javíthatja az egészséget.

A hétköznapi edzés rendkívül komplex hatást gyakorol szervezetünkre, melynek háttérében minden bizonnyal molekuláris szintű adaptációk állnak. Az egyik legfontosabb hatás az oxigénfelhasználási képesség növekedése, amely számos szervrendszer hatékonyabb működéséhez járul hozzá. Az átlagosnál magasabb fizikai fittség pedig szoros összefüggésben áll a hosszabb élettartammal. Kutatásunk célja, hogy mélyebben megértsük az öregedés, az edzettség és a mögöttük álló biokémiai folyamatok közötti összetett kapcsolatot. Vizsgálatainkkal új perspektívát nyitunk az emberi szervezet működésének megismerésében, különös tekintettel az epigenetikai és öregedési folyamatokra.

Az általunk megalkotott új biomarkerek hasznosak lehetnek a jövőben a DNS metiláción alapuló fittség megállapítására, illetve akár edzés intervenciós programok kialakítására is, mint például egy olyan irizin szint növelő terápia (edzés indukált irizin szint növekedés), ami az öregedési folyamatok lassítását is eredményezheti.

9. Summary

Our research aimed to gain a deeper understanding of how physical fitness, particularly the systemic effects of everyday exercise, relates to aging as examined by DNAm biomarkers, as well as other molecular and fitness-related adaptive pathways. We examined the relationship between the physical fitness of healthy adults and lifelong athletes with various physiological parameters, biochemical tests, memory tests, and DNAm-based biomarkers. The newly created DNAmFitAge outperformed existing DNA methylation-based biomarkers and revealed that regular physical activity might be associated with a younger biological age, better memory, and blood serum with more efficient and anti-aging mechanisms. Based on these correlations, DNAmFitAge could serve as an important indicator of health status, functioning as a biomarker of the association between human exercise-dependent molecular biology and physical fitness.

In creating DNAmFitAge, we developed DNAm biomarkers that account for fitness parameters such as grip strength, walking speed, vital capacity, and oxygen capacity separately. This was an innovation because, although existing epigenetic clocks included phenotypic characteristics, they did not encompass physical fitness indicators. DNAmFitAge examines the concept of biological age from a new perspective, considering both physical fitness and epigenetically grounded health. This new biomarker integrates the already established epigenetic biomarker for mortality, DNAmGrimAge, and newly developed DNAm fitness precursors. Better DNAm fitness biomarker values indicate better physical fitness in both male and female adult populations, and estimate a younger biological age compared to their less fit counterparts. Our findings were validated across five databases representing low and medium fitness populations. The DNAm fitness biomarkers indicated that a physically fit lifestyle could result in a younger biological age. Additionally, a significant finding was that FitAgeAcceleration shows a strong correlation with age-dependent conditions and can predict the time of mortality as well as the onset of cardiovascular diseases. FitAgeAcceleration is a novel epigenetic aging speed biomarker that, unlike existing ones, is sensitive to physical fitness, i.e., everyday exercise.

Molecular adaptation mechanisms certainly underlie the systemic effects of everyday exercise. The direct impact of daily physical activity could be the elevated oxygen capacity, which may correlate with healthier and more efficient organ functions realized as the systemic effect of exercise. Above-average fitness is also associated with increased lifespan, raising further important questions at the molecular level in the realms of epigenetics and free radicals.

Our study sheds new light on the complexity of the human body through mapping the biochemical pathways behind aging, fitness, and these underlying processes.

In summary, the newly created DNAm biomarkers can provide insights into human sample fitness based on DNA methylation patterns. Moreover, the new epigenetic clock, DNAmFitAge, and the biomarker expressing the aging speed, FitAgeAcceleration, also correlate with age-dependent conditions. Since these new testing methods take into account DNA methylation patterns when establishing the pace of aging and biological age, which were not considered by previous biomarkers, it is worthwhile to examine the results of the FitAge epigenetic clock in research involving fit samples like ours. The new biomarkers we developed may be useful in the future for determining fitness based on DNA methylation and even for designing exercise intervention programs.

10. Irodalomjegyzék

1. Healy K, Guillerme T, Finlay S, Kane A, Kelly SB, McClean D, Kelly DJ, Donohue I, Jackson AL, Cooper N. (2014) Ecology and mode-of-life explain lifespan variation in birds and mammals. *Proc Biol Sci*, 1784:20140298.
2. Ruby JG, Smith M, Buffenstein R. (2018) Naked Mole-Rat mortality rates defy gompertzian laws by not increasing with age. *Elife*.
3. Liu S, Takemasa E, Suzuki Y, Mogi M. (2024) Exploring an immortal *Turritopsis* sp. as a less conventional natural system for study of aging. *Biochem Biophys Rep*:101613.
4. Stringer C. (2016) The origin and evolution of *Homo sapiens*. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 1698.
5. Martinez R, Morsch P, Soliz P, Hommes C, Ordunez P, Vega E. (2021) Life expectancy, healthy life expectancy, and burden of disease in older people in the Americas, 1990-2019: a population-based study. *Rev Panam Salud Publica*:e114.
6. Goldman L. (2018) Three Stages of Health Encounters Over 8000 Human Generations and How They Inform Future Public Health. *Am J Public Health*, 1:60-62.
7. Blagosklonny MV. (2021) No limit to maximal lifespan in humans: how to beat a 122-year-old record. *Oncoscience*:110-119.
8. De Winter G. (2015) Aging as disease. *Medicine, health care, and philosophy*, 2:237-243.
9. Rose MR, Flatt T, Graves JL, Greer LF, Martinez DE, Matos M, Mueller LD, Shmookler Reis RJ, Shahrestani P. (2012) What is Aging? *Front Genet*:134.
10. Takahashi Y, Kuro OM, Ishikawa F. (2000) Aging mechanisms. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 23:12407-12408.
11. Luo Y, Qiao X, Ma Y, Deng H, Xu CC, Xu L. (2020) Disordered metabolism in mice lacking irisin. *Sci Rep*, 1:17368.
12. Ljubuncic P, Reznick AZ. (2009) The evolutionary theories of aging revisited--a mini-review. *Gerontology*, 2:205-216.
13. Rahman S, Islam R. (2011) Mammalian Sirt1: insights on its biological functions. *Cell Commun Signal*:11.

14. Alves-Fernandes DK, Jasiulionis MG. (2019) The Role of SIRT1 on DNA Damage Response and Epigenetic Alterations in Cancer. *Int J Mol Sci*, 13.
15. Chen C, Zhou M, Ge Y, Wang X. (2020) SIRT1 and aging related signaling pathways. *Mech Ageing Dev*:111215.
16. Barzilai N, Atzmon G, Schechter C, Schaefer EJ, Cupples AL, Lipton R, Cheng S, Shuldiner AR. (2003) Unique lipoprotein phenotype and genotype associated with exceptional longevity. *JAMA*, 15:2030-2040.
17. Vitale G, Pellegrino G, Vollery M, Hofland LJ. (2019) ROLE of IGF-1 System in the Modulation of Longevity: Controversies and New Insights From a Centenarians' Perspective. *Front Endocrinol (Lausanne)*:27.
18. Papadopoli D, Boulay K, Kazak L, Pollak M, Mallette FA, Topisirovic I, Hulea L. (2019) mTOR as a central regulator of lifespan and aging. *F1000Res*.
19. Feng Z, Lin M, Wu R. (2011) The Regulation of Aging and Longevity: A New and Complex Role of p53. *Genes Cancer*, 4:443-452.
20. Edwards AW. (2000) The genetical theory of natural selection. *Genetics*, 4:1419-1426.
21. Rodriguez-Rodero S, Fernandez-Morera JL, Menendez-Torre E, Calvanese V, Fernandez AF, Fraga MF. (2011) Aging genetics and aging. *Aging Dis*, 3:186-195.
22. Vijg J. (2000) Somatic mutations and aging: a re-evaluation. *Mutat Res*, 1:117-135.
23. Halliday GM. (2005) Inflammation, gene mutation and photoimmunosuppression in response to UVR-induced oxidative damage contributes to photocarcinogenesis. *Mutat Res*, 1-2:107-120.
24. Cadet J, Douki T. (2018) Formation of UV-induced DNA damage contributing to skin cancer development. *Photochem Photobiol Sci*, 12:1816-1841.
25. Raza MU, Tufan T, Wang Y, Hill C, Zhu MY. (2016) DNA Damage in Major Psychiatric Diseases. *Neurotox Res*, 2:251-267.
26. Wilson DM, 3rd, Bohr VA, McKinnon PJ. (2008) DNA damage, DNA repair, ageing and age-related disease. *Mech Ageing Dev*, 7-8:349-352.
27. Yousefzadeh M, Henpita C, Vyas R, Soto-Palma C, Robbins P, Niedernhofer L. (2021) DNA damage-how and why we age? *Elife*.

28. Payne BA, Chinnery PF. (2015) Mitochondrial dysfunction in aging: Much progress but many unresolved questions. *Biochim Biophys Acta*, 11:1347-1353.
29. Srivastava S. (2017) The Mitochondrial Basis of Aging and Age-Related Disorders. *Genes (Basel)*, 12.
30. Haas RH. (2019) Mitochondrial Dysfunction in Aging and Diseases of Aging. *Biology (Basel)*, 2.
31. Seo AY, Joseph AM, Dutta D, Hwang JC, Aris JP, Leeuwenburgh C. (2010) New insights into the role of mitochondria in aging: mitochondrial dynamics and more. *J Cell Sci*, Pt 15:2533-2542.
32. Campisi J. (2013) Aging, cellular senescence, and cancer. *Annu Rev Physiol*:685-705.
33. Murphy MP. (2009) How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochem J*, 1:1-13.
34. Nolfi-Donagan D, Braganza A, Shiva S. (2020) Mitochondrial electron transport chain: Oxidative phosphorylation, oxidant production, and methods of measurement. *Redox Biol*:101674.
35. Zhao RZ, Jiang S, Zhang L, Yu ZB. (2019) Mitochondrial electron transport chain, ROS generation and uncoupling (Review). *Int J Mol Med*, 1:3-15.
36. Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, Crowe SE. (2014) Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiol Rev*, 2:329-354.
37. Juan CA, Perez de la Lastra JM, Plou FJ, Perez-Lebena E. (2021) The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies. *Int J Mol Sci*, 9.
38. Chistiakov DA, Sobenin IA, Revin VV, Orekhov AN, Bobryshev YV. (2014) Mitochondrial aging and age-related dysfunction of mitochondria. *Biomed Res Int*:238463.
39. Miwa S, Kashyap S, Chini E, von Zglinicki T. (2022) Mitochondrial dysfunction in cell senescence and aging. *J Clin Invest*, 13.
40. Das G, Shrivage BV, Baehrecke EH. (2012) Regulation and function of autophagy during cell survival and cell death. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 6.

41. Barbosa MC, Grosso RA, Fader CM. (2018) Hallmarks of Aging: An Autophagic Perspective. *Front Endocrinol (Lausanne)*:790.
42. Aman Y, Schmauck-Medina T, Hansen M, Morimoto RI, Simon AK, Bjedov I, Palikaras K, Simonsen A, Johansen T, Tavernarakis N, Rubinsztein DC, Partridge L, Kroemer G, Labbadia J, Fang EF. (2021) Autophagy in healthy aging and disease. *Nat Aging*, 8:634-650.
43. Jia G, Aroor AR, Martinez-Lemus LA, Sowers JR. (2015) Mitochondrial functional impairment in response to environmental toxins in the cardiorenal metabolic syndrome. *Arch Toxicol*, 2:147-153.
44. Chinnery PF, Hudson G. (2013) Mitochondrial genetics. *Br Med Bull*, 1:135-159.
45. Ryzhkova AI, Sazonova MA, Sinyov VV, Galitsyna EV, Chicheva MM, Melnichenko AA, Grechko AV, Postnov AY, Orekhov AN, Shkurat TP. (2018) Mitochondrial diseases caused by mtDNA mutations: a mini-review. *Ther Clin Risk Manag*:1933-1942.
46. Zapico SC, Ubelaker DH. (2013) mtDNA Mutations and Their Role in Aging, Diseases and Forensic Sciences. *Aging Dis*, 6:364-380.
47. Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, Squadrito F, Altavilla D, Bitto A. (2017) Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxid Med Cell Longev*:8416763.
48. Abdal Dayem A, Hossain MK, Lee SB, Kim K, Saha SK, Yang GM, Choi HY, Cho SG. (2017) The Role of Reactive Oxygen Species (ROS) in the Biological Activities of Metallic Nanoparticles. *Int J Mol Sci*, 1.
49. Damiano S, Muscariello E, La Rosa G, Di Maro M, Mondola P, Santillo M. (2019) Dual Role of Reactive Oxygen Species in Muscle Function: Can Antioxidant Dietary Supplements Counteract Age-Related Sarcopenia? *Int J Mol Sci*, 15.
50. Fukuoka H, Iida K, Nishizawa H, Imanaka M, Takeno R, Iguchi G, Takahashi M, Okimura Y, Kaji H, Chihara K, Takahashi Y. (2010) IGF-I stimulates reactive oxygen species (ROS) production and inhibits insulin-dependent glucose uptake via ROS in 3T3-L1 adipocytes. *Growth Horm IGF Res*, 3:212-219.
51. Handayaningsih AE, Iguchi G, Fukuoka H, Nishizawa H, Takahashi M, Yamamoto M, Herningtyas EH, Okimura Y, Kaji H, Chihara K, Seino S, Takahashi Y. (2011) Reactive oxygen species play an essential role in IGF-I

- signaling and IGF-I-induced myocyte hypertrophy in C2C12 myocytes. *Endocrinology*, 3:912-921.
52. Akasaki Y, Ouchi N, Izumiya Y, Bernardo BL, Lebrasseur NK, Walsh K. (2014) Glycolytic fast-twitch muscle fiber restoration counters adverse age-related changes in body composition and metabolism. *Aging Cell*, 1:80-91.
 53. Forrest KY, Zmuda JM, Cauley JA. (2007) Patterns and correlates of muscle strength loss in older women. *Gerontology*, 3:140-147.
 54. Kim S, Lockhart T, Roberto K. (2009) The effects of 8-week balance training or weight training: For the elderly on fear of falling measures and social activity levels. *Qual Ageing*, 4:37-48.
 55. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, Gargiulo G, Testa G, Cacciatore F, Bonaduce D, Abete P. (2018) Oxidative stress, aging, and diseases. *Clin Interv Aging*:757-772.
 56. Satyanarayana A, Wiemann SU, Buer J, Lauber J, Dittmar KE, Wustefeld T, Blasco MA, Manns MP, Rudolph KL. (2003) Telomere shortening impairs organ regeneration by inhibiting cell cycle re-entry of a subpopulation of cells. *EMBO J*, 15:4003-4013.
 57. Betts D, Bordignon V, Hill J, Winger Q, Westhusin M, Smith L, King W. (2001) Reprogramming of telomerase activity and rebuilding of telomere length in cloned cattle. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 3:1077-1082.
 58. Song S, Lee E, Kim H. (2022) Does Exercise Affect Telomere Length? A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Medicina (Kaunas)*, 2.
 59. Rizvi S, Raza ST, Mahdi F. (2014) Telomere length variations in aging and age-related diseases. *Curr Aging Sci*, 3:161-167.
 60. Lazarus NR, Lord JM, Harridge SDR. (2019) The relationships and interactions between age, exercise and physiological function. *J Physiol*, 5:1299-1309.
 61. Shamas MA. (2011) Telomeres, lifestyle, cancer, and aging. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 1:28-34.
 62. Schellnegger M, Lin AC, Hammer N, Kamolz LP. (2022) Physical Activity on Telomere Length as a Biomarker for Aging: A Systematic Review. *Sports Med Open*, 1:111.

63. Castelo-Branco C, Soveral I. (2014) The immune system and aging: a review. *Gynecol Endocrinol*, 1:16-22.
64. Lee KA, Flores RR, Jang IH, Saathoff A, Robbins PD. (2022) Immune Senescence, Immunosenescence and Aging. *Front Aging*:900028.
65. Lazzaro BP, Schneider DS. (2014) The genetics of immunity. *Genetics*, 2:467-470.
66. Munteanu C, Schwartz B. (2022) The relationship between nutrition and the immune system. *Front Nutr*:1082500.
67. Chandra RK. (1997) Nutrition and the immune system: an introduction. *Am J Clin Nutr*, 2:460S-463S.
68. Nieman DC, Wentz LM. (2019) The compelling link between physical activity and the body's defense system. *J Sport Health Sci*, 3:201-217.
69. Simpson RJ, Campbell JP, Gleeson M, Kruger K, Nieman DC, Pyne DB, Turner JE, Walsh NP. (2020) Can exercise affect immune function to increase susceptibility to infection? *Exerc Immunol Rev*:8-22.
70. Palmer AK, Jensen MD. (2022) Metabolic changes in aging humans: current evidence and therapeutic strategies. *J Clin Invest*, 16.
71. Zhang K, Ma Y, Luo Y, Song Y, Xiong G, Ma Y, Sun X, Kan C. (2023) Metabolic diseases and healthy aging: identifying environmental and behavioral risk factors and promoting public health. *Front Public Health*:1253506.
72. Federico M, De la Fuente S, Palomeque J, Sheu SS. (2021) The role of mitochondria in metabolic disease: a special emphasis on heart dysfunction. *J Physiol*, 14:3477-3493.
73. Prasun P. (2020) Mitochondrial dysfunction in metabolic syndrome. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 10:165838.
74. Redman LM, Ravussin E. (2011) Caloric restriction in humans: impact on physiological, psychological, and behavioral outcomes. *Antioxid Redox Signal*, 2:275-287.
75. Mazucanti CH, Cabral-Costa JV, Vasconcelos AR, Andreotti DZ, Scavone C, Kawamoto EM. (2015) Longevity Pathways (mTOR, SIRT, Insulin/IGF-1) as Key Modulatory Targets on Aging and Neurodegeneration. *Curr Top Med Chem*, 21:2116-2138.

76. Zullo A, Simone E, Grimaldi M, Musto V, Mancini FP. (2018) Sirtuins as Mediator of the Anti-Ageing Effects of Calorie Restriction in Skeletal and Cardiac Muscle. *Int J Mol Sci*, 4.
77. Weijenberg MP, Hughes LA, Bours MJ, Simons CC, van Engeland M, van den Brandt PA. (2013) The mTOR Pathway and the Role of Energy Balance Throughout Life in Colorectal Cancer Etiology and Prognosis: Unravelling Mechanisms Through a Multidimensional Molecular Epidemiologic Approach. *Curr Nutr Rep*, 1:19-26.
78. Pataky MW, Young WF, Nair KS. (2021) Hormonal and Metabolic Changes of Aging and the Influence of Lifestyle Modifications. *Mayo Clin Proc*, 3:788-814.
79. Xing Y, Xuan F, Wang K, Zhang H. (2023) Aging under endocrine hormone regulation. *Front Endocrinol (Lausanne)*:1223529.
80. Martelli M, Zingaretti L, Salvio G, Bracci M, Santarelli L. (2021) Influence of Work on Andropause and Menopause: A Systematic Review. *Int J Environ Res Public Health*, 19.
81. Lupien S, Lecours AR, Lussier I, Schwartz G, Nair NP, Meaney MJ. (1994) Basal cortisol levels and cognitive deficits in human aging. *J Neurosci*, 5 Pt 1:2893-2903.
82. Lavretsky H, Newhouse PA. (2012) Stress, inflammation, and aging. *Am J Geriatr Psychiatry*, 9:729-733.
83. Janssen JA. (2016) Impact of Physical Exercise on Endocrine Aging. *Front Horm Res*:68-81.
84. Sellami M, Bragazzi NL, Slimani M, Hayes L, Jabbour G, De Giorgio A, Dugue B. (2019) The Effect of Exercise on Glucoregulatory Hormones: A Countermeasure to Human Aging: Insights from a Comprehensive Review of the Literature. *Int J Environ Res Public Health*, 10.
85. Alegria-Torres JA, Baccarelli A, Bollati V. (2011) Epigenetics and lifestyle. *Epigenomics*, 3:267-277.
86. Kiselev IS, Kulakova OG, Boyko AN, Favorova OO. (2021) DNA Methylation As an Epigenetic Mechanism in the Development of Multiple Sclerosis. *Acta Naturae*, 2:45-57.
87. Henikoff S, Smith MM. (2015) Histone variants and epigenetics. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 1:a019364.

88. Wei JW, Huang K, Yang C, Kang CS. (2017) Non-coding RNAs as regulators in epigenetics (Review). *Oncol Rep*, 1:3-9.
89. Mattson MP. (2012) Evolutionary aspects of human exercise--born to run purposefully. *Ageing Res Rev*, 3:347-352.
90. Saltin B, Radegran G, Koskolou MD, Roach RC. (1998) Skeletal muscle blood flow in humans and its regulation during exercise. *Acta Physiol Scand*, 3:421-436.
91. Jensen D, Webb KA, O'Donnell DE. (2007) Chemical and mechanical adaptations of the respiratory system at rest and during exercise in human pregnancy. *Appl Physiol Nutr Metab*, 6:1239-1250.
92. Beutler E, Beltrami FG, Boutellier U, Spengler CM. (2016) Effect of Regular Yoga Practice on Respiratory Regulation and Exercise Performance. *PLoS One*, 4:e0153159.
93. Fitts RH, Troup JP, Witzmann FA, Holloszy JO. (1984) The effect of ageing and exercise on skeletal muscle function. *Mech Ageing Dev*, 2:161-172.
94. Bi L, Triadafilopoulos G. (2003) Exercise and gastrointestinal function and disease: an evidence-based review of risks and benefits. *Clin Gastroenterol Hepatol*, 5:345-355.
95. Thornton JR. (1985) Hormonal responses to exercise and training. *Vet Clin North Am Equine Pract*, 3:477-496.
96. Sutton JR, Young JD, Lazarus L, Hickie JB, Maksvytis J. (1969) The hormonal response to physical exercise. *Australas Ann Med*, 2:84-90.
97. Bonier F, Cox RM. (2020) Do hormone manipulations reduce fitness? A meta-analytic test of the Optimal Endocrine Phenotype Hypothesis. *Mol Cell Endocrinol*:110640.
98. Kashihara K, Maruyama T, Murota M, Nakahara Y. (2009) Positive effects of acute and moderate physical exercise on cognitive function. *J Physiol Anthropol*, 4:155-164.
99. Bonanni R, Cariati I, Tarantino U, D'Arcangelo G, Tancredi V. (2022) Physical Exercise and Health: A Focus on Its Protective Role in Neurodegenerative Diseases. *J Funct Morphol Kinesiol*, 2.
100. Padilha CS, Figueiredo C, Minuzzi LG, Chimin P, Deminice R, Kruger K, Rosa-Neto JC, Lira FS. (2021) Immunometabolic responses according to physical

- fitness status and lifelong exercise during aging: New roads for exercise immunology. *Ageing Res Rev*:101341.
101. Caserotti P, Aagaard P, Puggaard L. (2008) Changes in power and force generation during coupled eccentric-concentric versus concentric muscle contraction with training and aging. *Eur J Appl Physiol*, 2:151-161.
 102. Sternang O, Reynolds CA, Finkel D, Ernsth-Bravell M, Pedersen NL, Dahl Aslan AK. (2015) Factors associated with grip strength decline in older adults. *Age Ageing*, 2:269-274.
 103. Hawkins HL, Kramer AF, Capaldi D. (1992) Aging, exercise, and attention. *Psychol Aging*, 4:643-653.
 104. Karakas S, Yalin A, Irak M, Erzen OU. (2002) Digit span changes from puberty to old age under different levels of education. *Dev Neuropsychol*, 2:423-453.
 105. Leger LA, Mercier D, Gadoury C, Lambert J. (1988) The multistage 20 metre shuttle run test for aerobic fitness. *J Sports Sci*, 2:93-101.
 106. Mattei AL, Bailly N, Meissner A. (2022) DNA methylation: a historical perspective. *Trends Genet*, 7:676-707.
 107. Moore LD, Le T, Fan G. (2013) DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacology*, 1:23-38.
 108. Razin A, Cedar H. (1991) DNA methylation and gene expression. *Microbiol Rev*, 3:451-458.
 109. Gonzalez-Recio O, Toro MA, Bach A. (2015) Past, present, and future of epigenetics applied to livestock breeding. *Front Genet*:305.
 110. Miller LL, Henderson J, Northstone K, Pembrey M, Golding J. (2014) Do grandmaternal smoking patterns influence the etiology of childhood asthma? *Chest*, 6:1213-1218.
 111. Rogers-LaVanne MP, Bader AC, de Flamingh A, Saboowala S, Smythe C, Atchison B, Moulton N, Wilson A, Wildman DE, Boraas A, Uddin M, Worl R, Malhi RS. (2023) Association between gene methylation and experiences of historical trauma in Alaska Native peoples. *Int J Equity Health*, 1:182.
 112. Ehlert T, Simon P, Moser DA. (2013) Epigenetics in sports. *Sports Med*, 2:93-110.

113. Hannum G, Guinney J, Zhao L, Zhang L, Hughes G, Sadda S, Klotzle B, Bibikova M, Fan JB, Gao Y, Deconde R, Chen M, Rajapakse I, Friend S, Ideker T, Zhang K. (2013) Genome-wide methylation profiles reveal quantitative views of human aging rates. *Mol Cell*, 2:359-367.
114. Jylhava J, Pedersen NL, Hagg S. (2017) Biological Age Predictors. *EBioMedicine*:29-36.
115. Levine ME, Hosgood HD, Chen B, Absher D, Assimes T, Horvath S. (2015) DNA methylation age of blood predicts future onset of lung cancer in the women's health initiative. *Aging (Albany NY)*, 9:690-700.
116. McCartney DL, Stevenson AJ, Walker RM, Gibson J, Morris SW, Campbell A, Murray AD, Whalley HC, Porteous DJ, McIntosh AM, Evans KL, Deary IJ, Marioni RE. (2018) Investigating the relationship between DNA methylation age acceleration and risk factors for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement (Amst)*:429-437.
117. Horvath S. (2013) DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biol*, 10:R115.
118. Oblak L, van der Zaag J, Higgins-Chen AT, Levine ME, Boks MP. (2021) A systematic review of biological, social and environmental factors associated with epigenetic clock acceleration. *Ageing Res Rev*:101348.
119. Simpkin AJ, Howe LD, Tilling K, Gaunt TR, Lyttleton O, McArdle WL, Ring SM, Horvath S, Smith GD, Relton CL. (2017) The epigenetic clock and physical development during childhood and adolescence: longitudinal analysis from a UK birth cohort. *Int J Epidemiol*, 2:549-558.
120. Levine ME, Lu AT, Quach A, Chen BH, Assimes TL, Bandinelli S, Hou L, Baccarelli AA, Stewart JD, Li Y, Whitsel EA, Wilson JG, Reiner AP, Aviv A, Lohman K, Liu Y, Ferrucci L, Horvath S. (2018) An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan. *Aging (Albany NY)*, 4:573-591.
121. Horvath S, Raj K. (2018) DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. *Nat Rev Genet*, 6:371-384.
122. Lu AT, Quach A, Wilson JG, Reiner AP, Aviv A, Raj K, Hou L, Baccarelli AA, Li Y, Stewart JD, Whitsel EA, Assimes TL, Ferrucci L, Horvath S. (2019) DNA

- methylation GrimAge strongly predicts lifespan and healthspan. *Aging* (Albany NY), 2:303-327.
123. Liabeuf S, Lenglet A, Desjardins L, Neiryneck N, Glorieux G, Lemke HD, Vanholder R, Diouf M, Choukroun G, Massy ZA; European Uremic Toxin Work Group (EUTox). (2012) Plasma beta-2 microglobulin is associated with cardiovascular disease in uremic patients. *Kidney Int*, 12:1297-1303.
 124. Ferguson TW, Komenda P, Tangri N. (2015) Cystatin C as a biomarker for estimating glomerular filtration rate. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 3:295-300.
 125. Lin Q, Weidner CI, Costa IG, Marioni RE, Ferreira MR, Deary IJ, Wagner W. (2016) DNA methylation levels at individual age-associated CpG sites can be indicative for life expectancy. *Aging* (Albany NY), 2:394-401.
 126. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Boström EA, Choi JH, Long JZ, Kajimura S, Zingaretti MC, Vind BF, Tu H, Cinti S, Højlund K, Gygi SP, Spiegelman BM. (2012) A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*, 7382:463-468.
 127. Jandova T, Buendia-Romero A, Polanska H, Hola V, Rihova M, Vetrovsky T, Courel-Ibanez J, Steffl M. (2021) Long-Term Effect of Exercise on Irisin Blood Levels-Systematic Review and Meta-Analysis. *Healthcare* (Basel), 11.
 128. Shen S, Liao Q, Chen X, Peng C, Lin L. (2022) The role of irisin in metabolic flexibility: Beyond adipose tissue browning. *Drug Discov Today*, 8:2261-2267.
 129. Yano N, Zhao YT, Zhao TC. (2021) The Physiological Role of Irisin in the Regulation of Muscle Glucose Homeostasis. *Endocrines*, 3:266-283.
 130. Slate-Romano JJ, Yano N, Zhao TC. (2022) Irisin reduces inflammatory signaling pathways in inflammation-mediated metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol*:111676.
 131. Orlacchio A. (2024) Special Issue "Neurogenetics in Neurology". *Int J Mol Sci*, 2.
 132. Zhang H, Wu X, Liang J, Kirberger M, Chen N. (2022) Irisin, an exercise-induced bioactive peptide beneficial for health promotion during aging process. *Ageing Res Rev*:101680.
 133. Liu L, Guo J, Chen X, Tong X, Xu J, Zou J. (2021) The Role of Irisin in Exercise-Mediated Bone Health. *Front Cell Dev Biol*:668759.

134. Shapiro HM. (1972) Redox balance in the body: an approach to quantitation. *J Surg Res*, 3:138-152.
135. de Melo-Marins D, Farinha JB, Rodrigues-Krause J, Laitano O, Reischak-Oliveira A. (2021) Redox balance during exercise in the heat in healthy adults: A systematic review. *J Therm Biol*:102943.
136. Hagen TM. (2003) Oxidative stress, redox imbalance, and the aging process. *Antioxid Redox Signal*, 5:503-506.
137. Keogh JW, Palmer BR, Taylor D, Kilding AE. (2015) ACE and UCP2 gene polymorphisms and their association with baseline and exercise-related changes in the functional performance of older adults. *PeerJ*:e980.
138. Dawber TR, Meadors GF, Moore FE, Jr. (1951) Epidemiological approaches to heart disease: the Framingham Study. *Am J Public Health Nations Health*, 3:279-281.
139. Ferrucci L. (2008) The Baltimore Longitudinal Study of Aging (BLSA): a 50-year-long journey and plans for the future. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 12:1416-1419.
140. Key TJ, Appleby PN, Allen NE, Reeves GK. (2010) Pooling biomarker data from different studies of disease risk, with a focus on endogenous hormones. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 4:960-965.
141. Taylor AM, Pattie A, Deary IJ. (2018) Cohort Profile Update: The Lothian Birth Cohorts of 1921 and 1936. *Int J Epidemiol*, 4:1042-1042r.
142. Manson JE, Chlebowski RT, Stefanick ML, Aragaki AK, Rossouw JE, Prentice RL, Anderson G, Howard BV, Thomson CA, LaCroix AZ, Wactawski-Wende J, Jackson RD, Limacher M, Margolis KL, Wassertheil-Smoller S, Beresford SA, Cauley JA, Eaton CB, Gass M, Hsia J, Johnson KC, Kooperberg C, Kuller LH, Lewis CE, Liu S, Martin LW, Ockene JK, O'Sullivan MJ, Powell LH, Simon MS, Van Horn L, Vitolins MZ, Wallace RB. (2013) Menopausal hormone therapy and health outcomes during the intervention and extended poststopping phases of the Women's Health Initiative randomized trials. *JAMA*, 13:1353-1368.
143. McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S. (2023)

- DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. *Aging* (Albany NY), 10:3904-3938.
144. Klemra P, Doubal S. (2006) A new approach to the concept and computation of biological age. *Mech Ageing Dev*, 3:240-248.
 145. Taylor HA, Jr., Wilson JG, Jones DW, Sarpong DF, Srinivasan A, Garrison RJ, Nelson C, Wyatt SB. (2005) Toward resolution of cardiovascular health disparities in African Americans: design and methods of the Jackson Heart Study. *Ethn Dis*, 4 Suppl 6:S6-4-17.
 146. Vu H, Ernst J. (2022) Universal annotation of the human genome through integration of over a thousand epigenomic datasets. *Genome Biol*, 1:9.
 147. Jokai M, Torma F, McGreevy KM, Koltai E, Bori Z, Babszki G, Bakonyi P, Gombos Z, Gyorgy B, Aczel D, Toth L, Osvath P, Fridvalszky M, Teglas T, Posa A, Kujach S, Olek R, Kawamura T, Seki Y, Suzuki K, Tanisawa K, Goto S, Kerepesi C, Boldogh I, Ba X, Davies KJA, Horvath S, Radak Z. (2023) DNA methylation clock DNAmFitAge shows regular exercise is associated with slower aging and systemic adaptation. *Geroscience*, 5:2805-2817.
 148. Quan H, Koltai E, Suzuki K, Aguiar AS, Jr., Pinho R, Boldogh I, Berkes I, Radak Z. (2020) Exercise, redox system and neurodegenerative diseases. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 10:165778.
 149. Tsuchiya M, Sato EF, Inoue M, Asada A. (2008) Open abdominal surgery increases intraoperative oxidative stress: can it be prevented? *Anesth Analg*, 6:1946-1952.
 150. Triche TJ, Jr., Weisenberger DJ, Van Den Berg D, Laird PW, Siegmund KD. (2013) Low-level processing of Illumina Infinium DNA Methylation BeadArrays. *Nucleic Acids Res*, 7:e90.
 151. Vigneron N, Peaper DR, Leonhardt RM, Cresswell P. (2009) Functional significance of tapasin membrane association and disulfide linkage to ERp57 in MHC class I presentation. *Eur J Immunol*, 9:2371-2376.
 152. Silverman MN, Deuster PA. (2014) Biological mechanisms underlying the role of physical fitness in health and resilience. *Interface Focus*, 5:20140040.
 153. Munters LA, Loell I, Ossipova E, Raouf J, Dastmalchi M, Lindroos E, Chen YW, Esbjörnsson M, Korotkova M, Alexanderson H, Nagaraju K, Crofford LJ,

- Jakobsson PJ, Lundberg IE. (2016) Endurance Exercise Improves Molecular Pathways of Aerobic Metabolism in Patients With Myositis. *Arthritis Rheumatol*, 7:1738-1750.
154. Margueron R, Reinberg D. (2011) The Polycomb complex PRC2 and its mark in life. *Nature*, 7330:343-349.
 155. Houseman EA, Accomando WP, Koestler DC, Christensen BC, Marsit CJ, Nelson HH, Wiencke JK, Kelsey KT. (2012) DNA methylation arrays as surrogate measures of cell mixture distribution. *BMC Bioinformatics*:86.
 156. Kyu HH, Bachman VF, Alexander LT, Mumford JE, Afshin A, Estep K, Veerman JL, Delwiche K, Iannarone ML, Moyer ML, Cercy K, Vos T, Murray CJ, Forouzanfar MH. (2016) Physical activity and risk of breast cancer, colon cancer, diabetes, ischemic heart disease, and ischemic stroke events: systematic review and dose-response meta-analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *BMJ*:i3857.
 157. Constantinou C, Karavia EA, Xepapadaki E, Petropoulou PI, Papakosta E, Karavyraki M, Zvintzou E, Theodoropoulos V, Filou S, Hatziri A, Kalogeropoulou C, Panayiotakopoulos G, Kypreos KE. (2016) Advances in high-density lipoprotein physiology: surprises, overturns, and promises. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 1:E1-E14.
 158. Rana KS, Arif M, Hill EJ, Aldred S, Nagel DA, Nevill A, Randeva HS, Bailey CJ, Bellary S, Brown JE. (2014) Plasma irisin levels predict telomere length in healthy adults. *Age (Dordr)*, 2:995-1001.

11. Saját publikációk jegyzék

Disszertációhoz kapcsolódó publikációk jegyzéke:

Jokai M, Torma F, McGreevy KM, Koltai E, Bori Z, Babszki G, Bakonyi P, Gombos Z, Gyorgy B, Aczel D, Toth L, Osvath P, Fridvalszy M, Teglas T, Posa A, Kujach S, Olek R, Kawamura T, Seki Y, Suzuki K, Tanisawa K, Goto S, Kerepesi C, Boldogh I, Ba X, Davies KJA, Horvath S, Radak Z. (2023) DNA methylation clock DNAmFitAge shows regular exercise is associated with slower aging and systemic adaptation. *Geroscience*, 5:2805-2817.

McGreevy KM, Radak Z, Torma F, Jokai M, Lu AT, Belsky DW, Binder A, Marioni RE, Ferrucci L, Pośpiech E, Branicki W, Ossowski A, Sitek A, Spólnicka M, Raffield LM, Reiner AP, Cox S, Kobor M, Corcoran DL, Horvath S. (2023) DNAmFitAge: biological age indicator incorporating physical fitness. *Aging (Albany NY)*, 10:3904-3938.

Disszertációtól független közlemények jegyzéke:

Torma F, Kerepesi C, Jokai M, Babszki G, Koltai E, Ligeti B, Kalcsevszki R, McGreevy KM, Horvath S, Radak Z. (2024) Alterations of the gut microbiome are associated with epigenetic age acceleration and physical fitness. *Aging Cell*, 4:e14101.

Kawamura T, Radak Z, Tabata H, Akiyama H, Nakamura N, Kawakami R, Ito T, Usui C, Jokai M, Torma F, Kim HK, Miyachi M, Torii S, Suzuki K, Ishii K, Sakamoto S, Oka K, Higuchi M, Muraoka I, McGreevy KM, Horvath S, Tanisawa K. (2024) Associations between cardiorespiratory fitness and lifestyle-related factors with DNA methylation-based ageing clocks in older men: WASEDA'S Health Study. *Aging Cell*, 1:e13960.

Torma F, Gombos Z, Jokai M, Takeda M, Mimura T, Radak Z. (2019) High intensity interval training and molecular adaptive response of skeletal muscle. *Sports Med Health Sci*, 1:24-32.

Skugor K, Gilic B, Karnincic H, Jokai M, Babszky G, Ranisavljev M, Stajer V, Roklicer R, Drid P. (2023) What Determines the Competitive Success of Young Croatian Wrestlers: Anthropometric Indices, Generic or Specific Fitness Performance? *J Funct Morphol Kinesiol*, 3.

Torma F, Gombos Z, Jokai M, Berkes I, Takeda M, Mimura T, Radak Z, Gyori F. (2020) The roles of microRNA in redox metabolism and exercise-mediated adaptation. *J Sport Health Sci*, 5:405-414.

Teglas T, Abraham D, Jokai M, Kondo S, Mohammadi R, Feher J, Szabo D, Wilhelm M, Radak Z. (2020) Exercise combined with a probiotics treatment alters the microbiome, but moderately affects signalling pathways in the liver of male APP/PS1 transgenic mice. *Biogerontology*, 6:807-815.

Torma F, Bakonyi P, Regdon Z, Gombos Z, Jokai M, Babszki G, Fridvalszki M, Virág L, Naito H, Iftikhar Bukhari SR, Radak Z. (2021) Blood flow restriction during the resting periods of high-intensity resistance training does not alter performance but decreases MIR-1 and MIR-133A levels in human skeletal muscle. *Sports Med Health Sci*, 1:40-45.

Seki Y, Aczel D, Torma F, Jokai M, Boros A, Suzuki K, Higuchi M, Tanisawa K, Boldogh I, Horvath S, Radak Z. (2023) No strong association among epigenetic modifications by DNA methylation, telomere length, and physical fitness in biological aging. *Biogerontology*, 2:245-255.

Aczel D, Torma F, Jokai M, McGreevy K, Boros A, Seki Y, Boldogh I, Horvath S, Radak Z. (2023) The Circulating Level of Klotho Is Not Dependent upon Physical Fitness and Age-Associated Methylation Increases at the Promoter Region of the Klotho Gene. *Genes (Basel)*, 2.

12. Köszönetnyilvánítás

Elsősorban szeretném megköszöni Prof. Dr. Radák Zsoltnak, hogy tanulmányaim során bizalommal fordult felém. Támogatása és tudása nélkül nem lett volna lehetőségem elvégezni a feladataimat. Bízom abban, hogy a jövőben is számít majd a munkámra. Remélem egyszer én is olyan sokat tudok majd tenni a Tf-ért és a Tf-es hallgatókért mint Ő.

Szeretném megköszönni a Tf-en kívüli munkatársainknak, hogy közösen dolgozhattunk a kutatásainkon, kiemelten Steve Horvathnak és Kristen M. McGreevynek úttörő eredményeikért.

Köszönettel tartozom a Magyar Testnevelési és Sporttudományi Egyetem, Molekuláris Edzésélettani Kutató Központ és Doktori Iskola munkatársainak is, kiemelten Dr. Torma Ferencnek, akire mentorként tekintek és aki folyamatosan segíti karrierem előrehaladását.

Végül hálával tartozom a családomnak, kiemelten a szüleimnek, akik mindig mellettem állnak.