

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

Doktori értekezés - absztrakt füzet

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

1. Bevezetés és irodalmi áttekintés

Az öregedés nem egyformán érint minden élőlényt, mivel az élettartamot számos tényező befolyásolja, mint a testméret, életmód és környezeti hatások. Az emberi élettartam is jelentősen változott az évezredek során, a civilizáció fejlődésével és az egészségügy fejlődésével egyre hosszabbá vált. Az átlagos élettartam növekedett, mi új egészségügyi kihívásokat vont maga után. A kutatásunk célja az volt, hogy újszerűen feltárjuk az emberi öregedést, különös tekintettel a fizikai aktivitás szerepére, hogy így hozzájáruljunk a hosszabb egészségesebb töltött élettartamhoz.

1.1. Öregedési elméletek

Gunnar meghatározása szerint az öregedés (egy adott idő után) a szervezet működésének fokozatos romlása, ami a túléléshez és szaporodáshoz szükséges képességek csökkenéséhez vezet. Fontos megkülönböztetni az öregedést az öregkori betegségektől.

Az öregedés egy komplex folyamat, amely számos szinten befolyásolja a szervezetet, és számos elmélet próbál rá magyarázatot adni. Ezek az elméletek genetikai, sejtszintű, anyagcsere és hormonális változásokat is vizsgálnak.

Az öregedésről alkotott képünk folyamatosan változik, amely során az újabb kutatások újabb elméleteket hozhatnak. Az öregedés megértése egy összetett feladat, amely még számos megválaszolatlan kérdést rejt magában.

1.2. A rendszeres testmozgás szisztémás hatása

A testedzés jelentős hatással van a szervezetre. A szív- és érrendszer jobb teljesítményre lehet képes, a légzés hatékonyabbá válhat, az izmok erősebbek lehetnek. Az emésztés, a hormonrendszer és az idegrendszer működése is javulhat. Az immunrendszer is erősödhet, ami segíthet a betegségek elleni védekezésben. Összességében a rendszeres testmozgás számos szervrendszer működését javítja és hozzájárul az egészséghez, vagyis szisztémásan pozitív hatást fejt ki.

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

A DNS metiláció egy olyan epigenetikai folyamat, mely során a DNS-hez metilcsoportok kapcsolódnak, és ezáltal befolyásolják a gének kifejeződését. Ez a folyamat kulcs szerepet játszhat az emberi fejlődésben, az öregedésben és a betegségek kialakulásában.

Az epigenetikai órák a DNS metilációs mintázatokat elemezve képesek megbecsülni a kronológiai és a biológiai kort. Az első generációs órák Horvath és Hannum órái voltak, melyek kronológiai életkort becsültek. Hasonló pontossággal különböző életkorban és mintákon képesek a naptári kor becslésére. A második generációs órák már biológiai életkort voltak képesek becsülni, melyek megalkotásánál a metilációs mintázaton kívül életviteli és egészségügyi faktorokat is számba vettek. Horvath munkatársai Levin és Lu munkájának köszönhetően jött létre a PhenoAge és GrimAge órák. Ezeknek köszönhetően a biológiai korban tapasztalt gyorsult vagy lassult öregedésből, a betegségek kialakulásának esélyére is lehetett következtetéseket levonni.

1.4. Az irizin és a testedzés kapcsolata

Az irizin egy olyan hormon, amelyet dominánsan az izmok termelnek fizikai aktivitás hatására. Ezen fehérje szerepet játszhat az elraktározott zsír felhasználásában, a vércukorszint szabályozásában, gyulladások csökkentésében, kognitív funkciók védelmében és a csontsűrűség fejlesztésében, megóvásában. A hatásai miatt kapta a „sposrhormon” nevet, mivel jó összefüggés mutatható ki az egészséges életvitel és az emelkedett hormonszint között.

1.5. Redox-egyensúly mint edzettségi mutató

A redox egyensúly, vagyis a szabadgyökök és antioxidánsok közötti egyensúly alapvető az egészség szempontjából. A rendszeres testmozgás növeli a redox kapacitást, így védelmet nyújthat a káros szabadgyökökkel szemben. Az edzett szervezet könnyebben kezeli az egészségre káros oxidatív stresszt. Az öregedéssel ez az egyensúly felborulhat, de a rendszeres mozgás segíthet a fenntartásában. Az egészséges redox egyensúly a hosszú és egészséges élet egyik kulcsa lehet.

2. Célkitűzés

A biológiai öregedés vizsgálatára több lehetőség létezik. A kutató csoportunk ezek közül a DNS metilációs mintázaton alapuló epigenetikai órákat vette 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 fiziológias 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.

3. Módszer

3.1. 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 paramétereket nem vettek 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. A BLS vizsgálat egészséges felnőttek öregedését vizsgálta. A különböző kutatások eredményeinek egyszerre történő használatához Key és mtsa. módszerét használtuk, röviden újra centralizáltuk és megszoroztuk a szórás értékek arányával az egyes fittségi paramétereket, 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). Az új fittségi biomarkerek ellenőrzését egy Lengyel testépítőket és kontroll csoportot vizsgáló epigenetikai kutatás eredményein végeztük.

3.2. 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.

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.

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.

3.3. 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.

3.4. Fiziológias tesztek, vérminta gyűjtése

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.

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.

3.5. 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.

3.6. Redox egyensúly meghatározása

A vérben található természetes hidroperoxidok mennyiségét spektrofotometriával határoztuk meg d-Rom teszt segítségével. 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. Az antioxidáns kapacitás meghatározásához BAP (biological antioxidant power) tesztet hajtottunk végre. A vizsgálatához 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.

3.7. 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 lemezre. 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. A DNAm

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

3.8. 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 DNAm biomarkerek viszonylatában.

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

A VO2 max ki volt zárva a táblázatból, mivel ezt a változót használtuk a csoportok kialakításához. Ezen kívül a DNAmVO2max-ot azért is kellett kizárni, mert a vizsgálatban részt vevő alanyokat felhasználtuk a DNAmVO2max biomarker megalkotásához, így a csoportok között megfigyelt különbségek a biomarker létrehozásának eredményei.

4. Eredmények

4.1. DNAmFitAge kapcsolata a hétköznapi edzéssel

A testépítőkön végzett elemzésünk szerint a FitAgeAcceleration, DNAmGaitspeed, DNAmGripmax és DNAmFEV1 az elvárásoknak megfelelően mutatnak összefüggést a rendszeres edzéssel alacsony és közepes fittségű egyéneknél. Az együtthatók azt jelzik, hogy egy-egy DNAm fittségi biomarker egy egységnyi növekedése milyen hatással van a fizikai aktivitásra, azonos korosztályú egyének esetében az életkor figyelembevételével. 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. Hasonlóképpen, , akiknél gyorsabb a DNAmGaitspeed, erősebb a DNAmGripmax és nagyobb a DNAmFEV1 értékek, fizikailag aktívabbak azonos korú társaiknál. Összefoglalva, a fizikailag aktívabb egyének "fittebb" értékeket mutattak a FitAgeAcceleration és a DNAm fittségi biomarkerek tekintetében.

4.2. Korfüggő fiziológiás funkciók és vér markerek az evezős vizsgálati mintán

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

Az öregedés sebessége alacsonyabb volt 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 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 HDL és az irizin szintek között pozitív összefüggést tudtunk detektálni,

illetve a HDL szintek között szignifikáns különbség jelentkezik a fittségi szint viszonylatában (mindkét nemnél).

A rövid távú memória eredmények értékelésekor azt figyeltük meg, hogy a legjobb eredményeket a vékony, fiatal és fitt vizsgálati személyek produkálták.

4.3. 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. 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.

4.4. 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 $p=0.07$).

5. 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**

6. 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 DNaMGrinAge-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 korrall 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 hátterében 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 fitness 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.

7. Saját publikációk jegyzéke

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, 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.

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.