

Vilho Hirvonen

GERASTENIA JA BIOLOGISET KELLOT

Lääketieteen ja terveysteknologian tiedekunta
Kandidaatin tutkielma
Huhtikuu 2022

TIIVISTELMÄ

Vilho Hirvonen: Gerastenia ja biologiset kellot
Kandidaatin tutkielma
Tampereen yliopisto
Lääketieteen ja terveysteknologian tiedekunta
Huhtikuu 2022

Ikä on suurin yksittäinen riskitekijä useimmissa kansantaudeissa eikä vanhenemista voida täysin välttää. Vanhan iän huipentumana pidetään gerasteniaa, joka arkikielessä tunnetaan biologisen vanhenemisen aiheuttamana haurautena, mutta näiden välistä suhdetta ei tunneta vielä riittävän hyvin. Tämän työn tavoitteena on selvittää biologisten kellojen ja gerastenian välillä olevia yhteyksiä kirjallisuuden perusteella.

Gerastenia vaikeuttaa hoitoa ja sitä potevalla henkilöllä on huomattavan suuri riski tapaturmilta. Gerastenia tunnistetaan eriävin menetelmin, joista parhaiten tunnetuimpiin kuuluvat frailty-indeksi, Friedin fenotyyppinen indeksi sekä kokonaisvaltainen geriatrinen arvio. Menetelmät eroavat osa-alueitten ja laajuutensa puolesta, mutta ne keskittyvät pääosin tavallisiin vanhenemisen myötä lisääntyvien terveysongelmien mittaamiseen.

Biogerontologisessa tutkimuksessa on ollut pitkään tavoitteena ymmärtää biologisen vanhenemisen prosessia. Toistaiseksi vanhenemiselle ei ole yksiselitteistä vastausta. Tässä työssä käsitellään kolmea biologisen iän mittaria eli epigeneettistä kelloa, jotka perustuvat iän myötä muutuvaan DNA:n metylaatioon.

Horvathin kello on yksi parhaiten tunnetuista ensimmäisen sukupolven epigeneettisistä kelloista. Tämä kello pystyy arvioimaan biologisen iän monista kudoksista ja solutyypeistä. Horvathin kello ei kuitenkaan ole yhtä hyvä arvioimaan vanhenemisen myötä muuttuvaa terveydentilaa kuin toisen sukupolven kellot. DNAm PhenoAge on toisen sukupolven epigeneettinen kello, joka kehitettiin toisen biologisen kellon, PhenoAgen pohjalle. PhenoAge perustuu kliinisiin mittauksiin. GrimAge on myös toisen sukupolven epigeneettinen kello, joka sisältää useamman pienemmän kellon. Nämä kellot mittaavat mm. veriplasman proteiinipitoisuuksia ja tupakoinnin historiaa tutkitavasta.

Kirjallisuuden perusteella, tässä työssä esitellyistä kelloista, GrimAge-kellolla on vahvin yhteys gerastenian kanssa. Yhteyttä biologiseen ikään (ts. kelloihin) on haastavaa löytää mahdollisesti siksi, että gerastenian määrittelmä ja mittaus ei ole yhdenmukaistettua. Biologinen vanheneminen on hyvin monimutkainen prosessi ja vanhenemisen etenemisnopeuden arvioiminen biologisilla kelloilla on ollut edistys prosessin ymmärtämisen kannalta. Ensimmäisen ja toisen sukupolven kellot eroavat suuresti niiden kyvyssä korreloida erilaisten vanhenemisen merkkien ja gerastenian kanssa. Kellot ovat kehittyneet tarkempaan suuntaan sukupolvi sukupolvelta. Tämä viittaa siihen, että epigeneettisillä kelloilla on potentiaalia kehittyä tarkoiksi diagnosointivälineiksi.

Avainsanat: Gerastenia, biologinen ikä, epigeneettinen kello

Tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu Turnitin OriginalityCheck –ohjelmalla.

ALKUSANAT

Tämä kandidaatintutkielma on kirjoitettu Tampereen yliopiston Lääketieteen ja terveysteknologian tiedekuntaan keväällä 2022. Kiitän suuresti ohjaajaani Laura Kanasta, joka antoi erittäin hyviä neuvoja biologisten kellojen osuudessa ja antoi erinomaisia kommentteja. Lisäksi haluan kiittää Esa Jämseniä, joka auttoi työn alussa gerastenian määritelmän ymmärtämisessä. Kiitos kuuluu myös läheisilleni, jotka henkisesti tukivat minua kirjoittamisen vaikeimpina hetkinä.

Tampereella, 29.4.2022

Vilho Hirvonen

SISÄLLYSLUETTELO

1. JOHDANTO	4
2. GERASTENIA.....	5
2.1 Gerastenian tunnistus	6
2.1.1 Frailty-indeksi.....	7
2.1.2 Friedin fenotyyppi-indeksi	9
2.1.3 Kokonaisvaltainen geriatrinen arvio	9
3. BIOLOGINEN IKÄ JA SEN MITTAUS	10
3.1 CpG-metylaatioon perustuvat epigeneettiset kellot	12
3.1.1 Horvathin metylaatiokello	15
3.1.2 DNAm PhenoAge	15
3.1.3 GrimAge	17
4. KELLOJEN YHTEYS GERASTENIAAN.....	18
5. YHTEENVETO	20
6. LÄHDELUETTELO	21

1. JOHDANTO

Ikä on suurin yksittäinen riskitekijä useimmissa kansantaudeissa. Suurten ikäluokkien vanhe-
tessa ikään liittyvien sairauksien merkitys kasvaa vuosi vuodelta. Ennusteiden mukaan vuoteen
2050 mennessä yli 80-vuotiaiden määrä kasvaa nykyisestä 143:sta miljoonasta 426:n miljoon-
aan (YK, 2019). Tämä tarkoittaisi sitä, että joka kuudes olisi yli 80-vuotias. Terveystieteiden
voit ylikuormittua, mikäli vanhuudenhoitoa vaativien määrä kasvaa verrattuna toimintakykyisiin.

lökkäiden ihmisten fenotyyppi voi vaihdella suuresti (Jylhävä, Pedersen ja Hägg 2017). Geneet-
tisillä tekijöillä mutta myös ympäristöllä tiedetään olevan suuri vaikutus ihmisen terveyteen ja
biologisen vanhenemisen nopeuteen, minkä vuoksi edes identtisten kaksosten vanhenemisen
nopeus ei ole samanlainen. Tyypillisesti vanhempaan ikään liitettävät ongelmat kuten sairasta-
vuus ja toimintakyvyn heikkeneminen alkavat vasta 80-ikävuoden jälkeen ja ovat yleisiä yli 90-
vuotiaiden ikäryhmässä (Santoni ym. 2015). Kuitenkaan ihan kaikille ei tule iän myötä missään
vaiheessa terveysongelmia, kun taas jotkut voivat jo keski-ikässä olla toimintakyvyttömiä.

Nykyisen käsityksen mukaan syntymästä nykypäivään mitattu ikä eli ns. kalenteri-ikä on puut-
teellinen mittapuut arvioimaan vanhenemisen kuvaa. Edeltävänä vuosikymmenenä on kehitetty
lukuisia biologisen iän mittausten menetelmiä, joiden avulla voidaan erilaisten biomarkkereiden pe-
rusteella arvioida yksilön kronologinen ikä ja tämän ikäarvion variaation perusteella suunta an-
tavasti ns. biologinen ikä (Horvath ja Raj 2018). Toistaiseksi epigeneettisiin CpG-
metylaatiomuutoksiin perustuvilla kelloilla on saatu validoiduimpia tuloksia verrattuna muihin
markkereihin perustuviin kelloihin (Jylhävä ym. 2017, Horvath & Raj 2018). Näiden kellojen ikä-
arvioilla on hyvin voimakas yhteys kuolleisuuteen ja moneen ikään liittyvään sairauteen. Voisiko
näistä biologisista kelloista olla apua ikäihmisten terveydentilan arvioinnissa? Terveenä vanhe-
nemista olisi mahdollista edesauttaa herkemmillä biologisen vanhenemisen nopeuden mittaus-
välineillä, koska biologisen iän poikkeavuuksista voidaan esimerkiksi tunnistaa riskiryhmiä en-
naltaehkäisevään terveydenhuoltoon. Terveiden ikävuosien maksimoiminen on inhimillinen ta-
voite. Mittarit auttavat myös ymmärtämään vanhenemisprosessia paremmin.

Biologisen vanhenemisen aiheuttamia vaurioita voidaan havaita ja mitata, mutta niiden todelli-
nen taustalla oleva syy on vielä selvittämättä. Kattavaa selitystä sille, mikä aiheuttaa vanhene-
misen, ei toistaiseksi tiedetä. Ikääntymisen tunnusmerkkejä on tunnistettu yhdeksän erilaista,
mutta näiden välinen vuorovaikutus on vielä jäänyt epäselväksi (López-Otín ym. 2013).

2. GERASTENIA

Gerastenia eli hauraus-raihnaisuusoireyhtymä eli vanhenemisen myötä kehittyvä hauraantuminen on geriatrinen syndrooma, jossa vanhenemiseen liitetyt oireet ovat kulminoituneet (Koivukangas ym. 2017; Cesari, Calvani ja Marzetti 2017). Koivukankaan mukaan haurassa potilaissa resilienssi, eli kyky sietää esimerkiksi muutoksia lääkityksessä, infektoita tai muita vakavia ärsykejä, on huomattavasti heikentynyt. Tämä vaikeuttaa uusien toimenpiteiden kuten uuden lääkityksen suunnittelua ihmiselle, jolla on gerastenia (Koivukangas ym. 2017). Vaikeuksien seurauksena gerastenia voi pidentää potilaan sairaalaoloaika.

Gerastenia heikentää eri kudosten ja elinten toimintakykyä. Luurankolihasen surkastuminen eli sarkopenia on yksi tyypillisimmistä gerastenian oireista. Lisäksi gerasteniaan liitetään usein uupumus, tahaton painonputoaminen, lisääntynyt kaatumisen riski, kognitiiviset häiriöt ja monilääkitys. Gerastenia on moniulotteinen ja sillä voi olla erilaisia vakavuusasteita, jotka voidaan luokitella eriävin diagnosointimenetelmin. (Koivukangas ym. 2017)

Vanhenemisen monipuolisuudesta ja tutkimisen vaikeudesta johtuen vahvoja sensitiivisiä biologisia markkereita ihmisen gerastenialle ei tunneta (Al Saedi ym. 2019). Kuitenkin usean erilaisen biomarkkerin tunnetaan korreloivan gerasteniasta kärsivien alenevan terveydentilan kanssa. Muun muassa vanhuuteen liittyvän tulehduksen, hormonaalisen epätasapainon, glukosäätelyongelmien ja oksidatiivisen stressin on todettu korreloivan gerastenian kanssa, mutta näiden syy-seuraussuhteet gerastenian kannalta ovat toistaiseksi jääneet epäselviksi (Al Saedi ym. 2019). Näistä useista tekijöistä mainittakoon vanhuuteen liitetty matala-asteinen tulehdus, jonka kannalta merkittävimiksi tekijöiksi Al Saedi ja muut listaavat kohonneet arvot c-reaktiivisen proteiinin sekä IL6- ja TNF α -sytokiinien pitoisuuksissa plasmassa. Solujenvälisen kommunikaation vajeet ovatkin yksi biologisen vanhenemisen tunnusmerkeistä, joista tulehdus on yksi merkittävimistä nisäkkäiden vanhenemisen kannalta (López-Otín ym. 2013).

Oikeilla interventioilla gerastenia voi korjaantua, minkä vuoksi on hyvin tärkeää puuttua gerasteniaan mahdollisimman aikaisin (Koivukangas ym. 2021). Koivukankaan ja muiden mukaan gerasteniaa ei valitettavasti aina osata diagnosoida oikein. Diagnosointi ei ole yksiselitteistä, koska ei ole olemassa yhtä yksittäistä tapaa diagnosoida gerastenia. Gerastenia voi myös spontaanisti kumoutua ja terveydentilanmuutokset ovat osa kyseisen oireyhtymän fysiologista luonnetta (Cesari, Calvani ja Marzetti 2017). Seuraavana tässä työssä käsitellään gerastenian tunnistusta kliinisin menetelmien pääpiirteisiin, jonka jälkeen vertailemme eri menetelmien toimintaperiaatteita.

2.1 Gerastenian tunnistus

Kuten aikaisemmin tässä työssä mainittiin, iäkkäiden ihmisten välillä on hyvin paljon variaatiota terveydentilan suhteen. Koska gerastenia on yhteydessä yksilön huonompaan ennusteeseen, on terveydenhuollon asiantuntijoilla ollut tärkeätä pystyä toteamaan iäkkäiden ihmisten haurauden vakavuusaste (Koivukangas ym. 2017). Gerasteniaa koskevien tutkimusten kannalta on myös tärkeätä pystyä vertaamaan eri haurausasteita. Kuitenkaan gerastenian tunnistuksen suhteen ei valitettavasti ole yleispätevää menetelmää.

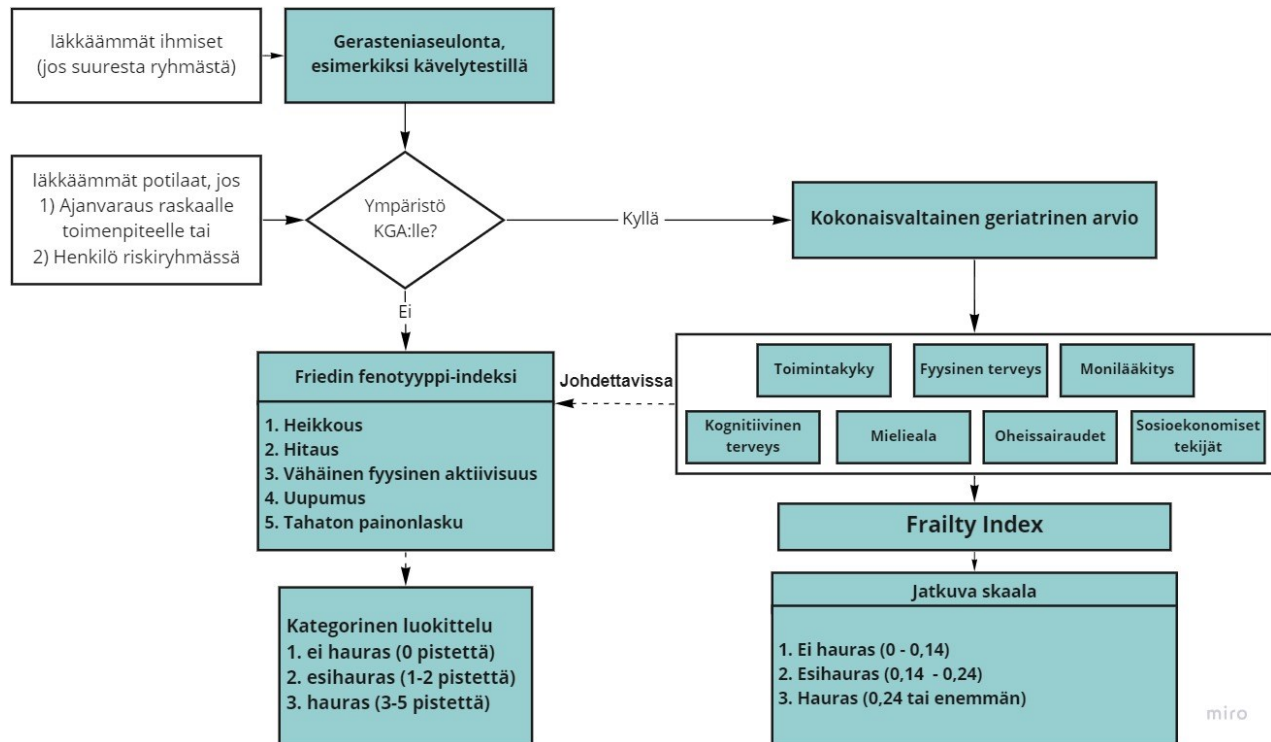
Haurautta mittaavat analysointityökalut keskittyvät pääosin tavallisimpien vaurioiden määrään potilaassa. Esimerkiksi fyysisen toimintakyvyn vajeet voidaan havaita kävelytesteillä ja puristusvoimakkuuden mittauksilla (Koivukangas ym. 2017), mutta toisaalta kävelytestillä ei voi havaita monia esimerkiksi monisairautta. Eriäviä diagnosointivälineitä gerastenialle on useita, mutta tämä työ käsittelee kolmea yleisessä käytössä olevaa menetelmää: frailty-indeksi (FI), kokonaisvaltainen geriatrinen arvio (KGA) sekä Friedin fenotyyppi-indeksi (FFI).

Paras sensitiivisyys olisi kävelytesteillä, mutta väärät positiivit ovat kyseisessä testissä yleisiä (Koivukangas ym. 2017). Kävelytesti on hyvä esimerkki siitä, että testituloksiin voi vaikuttaa jokin biologisesta vanhenemisestä riippumaton tekijä. Tunnistuksessa on erittäin tärkeätä erotella gerastenia muusta sairaudesta tai vauriosta, kuten mm. immuunikadon aiheuttamasta hauraudesta. Kuitenkin esimerkiksi FI:n herkkyys ei rajoitu ainoastaan eläkeikäisiin ja sen avulla voidaan havaita haurautta alle 65-vuotiailla aikuisilla (Mitnitski ja Rockwood 2014).

Gerastenian prevalenssi voi vaihdella määritelmien mukaan ja eroja on myös maiden välillä (Koivukangas ym. 2021). Koivukangas ja muut huomasivat tutkimuksessaan, että Suomessa, alhaisempi elintaso oli yhteydessä korkeampaan gerasteniariikkiin kanssa. Keskimääräisesti naiset elävät pidempään kuin miehet, mutta paradoksaalisesti naisilla havaitaan useimmin gerasteniaa kuin miehillä (Koivukangas ym. 2021). Koivukankaan ja muiden mukaan syytä tälle ei edelleenkään tiedetä, vaikka ilmiö on ollut jo pidemmän aikaa tiedossa.

Yleispätevästä gerastenian tunnistusmenetelmästä ei ole yksimielisyyttä (Buta ym. 2016). Tärkeintä on tietää mihin tarkoitukseen diagnosointivälinettä halutaan käyttää. Gerastenian etiologisen tutkimuksen kannalta ei ole suositeltavaa käyttää niitä menetelmiä, jotka ottavat huomioon toimintakyvynvajeita, sairauksia ja oheissairauksia (Buta ym. 2016). Vaihtelevien menetelmien vuoksi eri klinikoiden tekemät gerastenia-analyysit eivät välttämättä ole vertailukelpoisia keskenään. Käytännöllisyyden puolesta tunnistusmenetelmien kansainvälisyys ei välttämättä ole kovin merkittävä ominaisuus terveydenhuollossa. Epidemiologisen tutkimusten kannalta KGA antaa erittäin kattavan arvion ja sen monien testien tuloksista voidaan johtaa FI ja FFI. KGA on kuitenkin muihin vaihtoehtoihin verrattuna kallis, sillä arvio voi vaatia useamman asian-

tuntijan lausunnon. Cesari, Calvani ja Marzetti mukaan laajaa kansallista geriatrista seulontaa ei suositella kuitenkaan toistaiseksi (Cesari, Calvani ja Marzetti 2017). Tämä johtuu osaksi siitä, että yleispätevää menetelmää gerastenian tunnistamiselle ei toistaiseksi ole, jolloin tulosten vertailu eri tutkimuksien välillä voi olla hyvin haasteellista eikä terveestä ole myöskään tarpeen mitata gerasteniana. Toisten mukaan olisi kuitenkin toivottavaa saada seulottua gerasteniana kaikilta yli 70-vuotialta (Buta ym. 2016).



Kuva 1: Esimerkki useamman gerasteniatusmenetelmän käytöstä kliinisessä diagnostiikassa. (Muokattu lähteestä Lee, Lee ja Jang 2020)

Gerastenian diagnosointiväline valitaan tilanepohjaisesti, sillä mikään näistä menetelmistä ei ole täydellinen (Lee, Lee ja Jang 2020). Tässä työssä käsiteltävistä menetelmistä KGA kuvailaan Leen ja muiden mukaan hyvin resurssiraskaaksi menetelmäksi. Toisaalta taas FI ja FFI ovat helpompia, mutta myös suppeampia ja niiden tuloksissa väärät positiiviset ovat yleisiä (Koivukangas ym. 2017). Potilastyössä käytetään usein monen diagnosointivälineen yhdistelmää (Kuva 1). Kiteytettynä Lee ja muut ehdottavat potilastyössä FFI:ä alustavaksi arvioksi, kun taas FI ja KGA ovat järkeviä vaihtoehtoja potilaan hoidossa ja seurannassa.

2.1.1 Frailty-indeksi

FI kuvaa gerasteniana erilaisten vanhenemiseen liitettävien vaurioiden (engl. deficit) kertymisestä johtuvana oireyhtymänä (Koivukangas ym. 2017). Käytännössä kyseessä on luettelo erilaisista vaurioista ja toimintavajeista, kuten mm. tarve pukeutumisavulle, yksilön diabetesstatus ja ve-

renpaine. Kysymyksiin vastataan joko kyllä tai ei, mutta tiettyihin kysymyksiin voi vastata jotain siltä väliltä. Vastauksista saa enintään yhden pisteen ja suurempi kokonaispistemäärä viittaa vakavampaan gerasteniaan. Jotkin kysymyksistä voivat olla jatkuvia muuttujia, kuten kysymys liittyen verenpaineeseen. Kyseisten muuttujien luokittelu FI:tä varten riippuu usein sukupuolesta, pituudesta tai painosta. FI on kaikista kysymyksistä saatu pistemäärä jaettuna kokonaispistemäärällä. Kokonaisuudessaan FI voi saada minkä tahansa arvon 0 ja 1 välillä, mutta empiirisesti on todettu 0,7 arvon olevan se raja, jota ei ole mahdollista ylittää (Koivukangas ym. 2017). Indeksien viitearvot eivät aina ole samoja vauriolistan vaihtuvuuden vuoksi, mutta esimerkiksi Leen ja muiden mukaan indeksin arvo alle 0,14 arvoja pidetään hyvän terveyden rajana, 0,15 – 0,24 esihauraana ja yli 0,25 hauraana (Lee, Lee ja Jang 2020).

Indeksissä on suositeltavaa sisällyttää vähintään 30 vaurioon liittyvää kysymystä eri osa-alueista (Martin ja O'Halloran 2020). Martin ja O'Halloran huomauttavat, että kyselyissä käytettävien vaurioiden on oltava yhteydessä huonompaan terveydentilaan ja niiden on myös oltava yleisiä vaivoja tutkittavassa ryhmässä. Käsiteltävistä vaurioista ei ole kansainvälisesti sovittua kaavaa, jolloin vauriot voidaan valita kyselyyn tilannekohtaisesti. Vaikka periaatteessa kyselyn vaurioiden määrälle ei ole ylärajaa, on toisaalta tärkeitä pystyä ajattelemaan asiaa kyseltävän kannalta: jaksako hauras ihminen vastata seitsemäänkymmeneen kysymykseen, jos neljäkymmentä riittää alustavaksi arvioksi? Toisaalta kysymysten määrä ja eri osa-alueiden huomiointi vaikuttaisi olevan tärkeämpi ominaisuus indeksissä kuin tarkkojen kysymysten luonne (Mitnitski ja Rockwood 2014). Kyselyssä on tavoiteltavaa saada mahdollisimman monen vastaamaan mahdollisimman useaan kysymykseen. Terveydenhuollossa FI:n kysymykset rakennetaan kokonaisvaltaisen geriatrisen arvion avulla (Martin ja O'Halloran 2020). Toisaalta tutkimustyössä olisi tärkeitä mitata eri yksilöistä samoja asioita, jolloin useissa tutkimuksissa voidaan käyttää tunnetuista yleisistä vaurioista muodostettua, harmonisoitua FI:ä (mm. Jylhävä ym. 2019).

FI on käytännöllinen, sillä se voidaan mitata standardivälillä, sisältää itseraportoituja mittauksia ja se on jatkuva skaala, jolloin se on herkempi ilmentämään muutoksia ajassa (Lee, Lee ja Jang 2020). Lisäksi FI on hyvä sensitiivisyydeltänsä jopa vähemmän hauraita tutkiessa, jolloin sitä voidaan käyttää myös nuorempien keski-ikäisten tutkimisessa (Li ym. 2019). Lin ja muiden tutkimuksen mukaan 44 kysymystä sisältävä FI on hyvin tehokas ennustamaan kokonaiskuolleisuutta ja kuolemansyykohtaista kuolleisuutta ennen 80 ikävuotta. Lisäksi huomattiin tutkittavilla olevan sitä lyhyempi eliniänodote mitä aikaisemmin tutkittavasta voidaan havaita FI:n avulla haurautta.

Erään tutkimuksen mukaan, vaurioiden kertymismallin eli FI:n avulla on myöskin mahdollista arvioida laskennallisesti kalenteri-ikä (Mitnitski ja Rockwood 2014). Kyseisessä tutkimuksessa

hyödynnettiin 70 vauriota kattavaa kertymismallia, jonka vastauksien perusteella rakennettu algoritmi toimi myös nuoremmilla aikuisilla. Nuoremmilla korkeampi FI oli harvemmin pysyvä tila. Näihin kliinisiin biologisen iän mittareihin ei kuitenkaan perehdytä sen syvemmin, sillä tämä työ käsittelee pääosin biomarkkereihin perustuvia kelloja.

2.1.2 Friedin fenotyyppi-indeksi

Friedin fenotyyppisen mallin haurausindeksi (FFI) on kirjallisuudessa yksi käytetyimmistä menetelmistä tunnistaa gerastenia (Buta ym. 2016). FFI sisältää viisi kriteeriä gerastentialle. Nämä ovat itsekoettu uupumus, tahaton painonlasku, puristusvoimakkuus, kävelynopeus ja fyysisen aktiivisuuden vähäisyys (mm. Koivukangas ym. 2017). Tarkasteltava henkilö lasketaan FFI:n mukaan hauraaksi, mikäli hänellä todetaan olevan vähintään kolme näistä ominaisuuksista, esihauraaksi yhden tai kahden täytyessä ja vastaavasti ei-hauraaksi, jos mikään näistä ei täyty. FFI on läheisessä yhteydessä sarkopeniaan, neuroendokriinisen säätelyn heikkenemiseen ja heikompaan ennusteeseen (Lee, Lee ja Jang 2020).

Etuja tässä mallissa on se, että FFI on suhteellisen helposti ja nopeasti mitattavissa (Lee, Lee ja Jang 2020). Mittaukset vaativat vain tavanomaisia terveydenhuollon mittausvälineitä. Hauraan tutkittavan näkökulmasta FFI on myös suhteellisen helposti toteutettavissa verrattuna KGA:on. Toisaalta FFI on suhteellisen suppea ja sen kysymykset eivät ole kovin laaja-alaisia. Tämän indeksi ei esimerkiksi ota huomioon oheissairauksien määrää, mutta kuten aikaisemmin todettiin, gerastenian etiologisessa tutkimuksessa tämä ei ole suotava diagnosointivälineen ominaisuus.

2.1.3 Kokonaisvaltainen geriatrinen arvio

KGA on ollut jo kolme vuosikymmentä yksi merkittävimmistä geriatrisen tilan arviointivälineistä (Lee, Lee ja Jang 2020). KGA:n peruspylväitä ovat toiminnallinen tila, kognitiivinen ja tunnepohjainen tila, ravitsemus, monisairaus ja monilääkitys sekä geriatriset syndroomat, kuten lisääntynyt kaatumisen riski. Yleisestä käytöstä huolimatta Leen ja muiden mukaan KGA vaatii suhteellisen paljon resursseja, osaamista eri toimialoilta ja voi olla tutkittavan kannalta raskas. Tämän vuoksi KGA:ta ei suositella ensisijaisesti henkilölle, jolla on vain yksittäinen terveystapahuma lyhyellä seurantavälillä (Lee, Lee ja Jang 2020). KGA voidaan räätälöidä myös potilaskohteisesti sopivaksi, mikäli joitain alueita ei kyetä mittaamaan. Arvio on moniulotteinen ja monialainen ja sen pohjalta voidaan tehdä potilaalle hoitosuunnitelma (Koivukangas ym. 2017). Lisäksi sen monialaisista tuloksista on mahdollista johtaa FI ja FFI (Kuva 1).

3. BIOLOGINEN IKÄ JA SEN MITTAUS

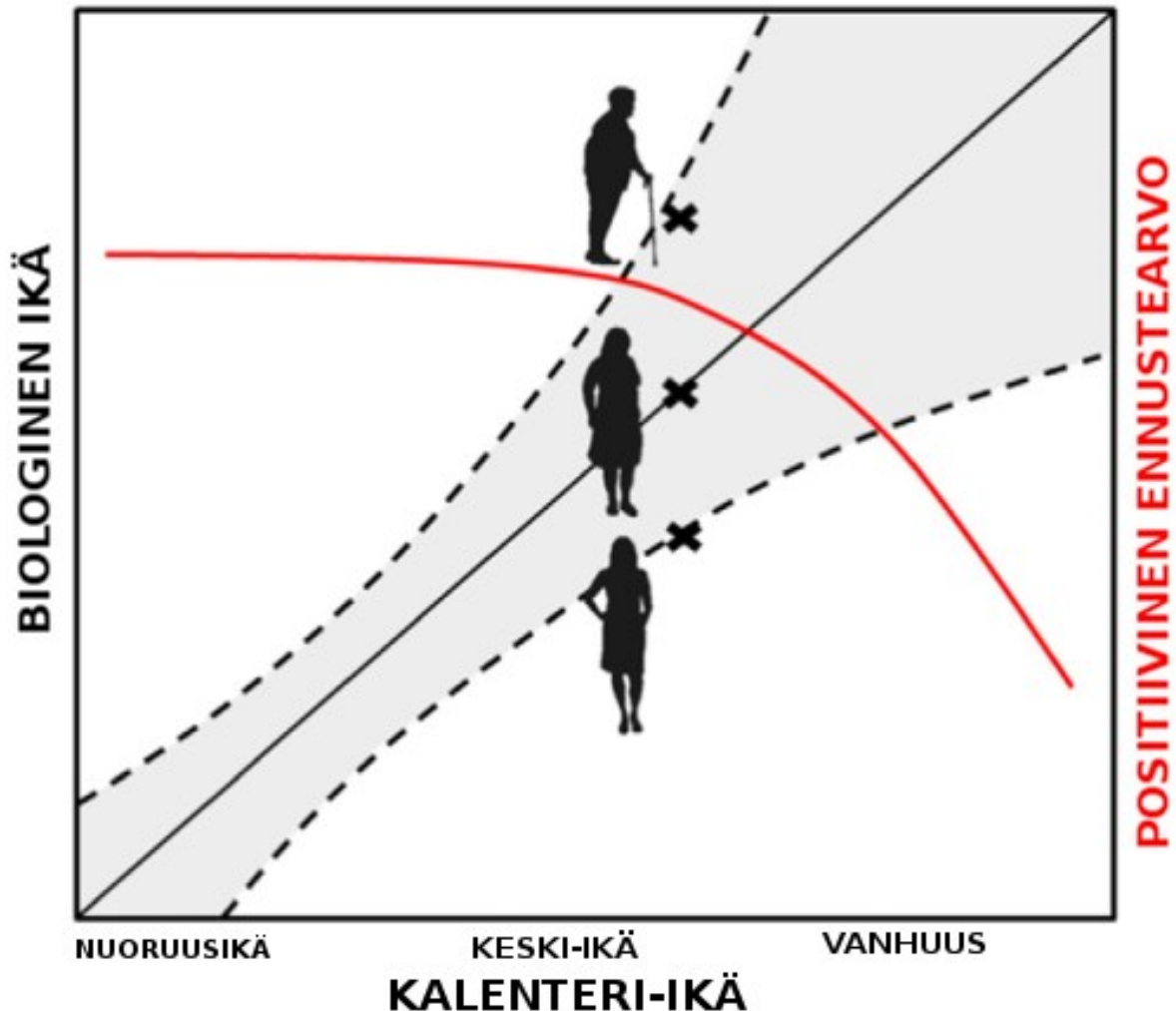
Kuolleisuus kasvaa voimakkaasti kalenteri-ikä karttuessa. Kuitenkaan pelkkä kronologinen ikä ei kerro yksilön terveydentilasta kaikkea, sillä ikäihmisten terveydentilassa on hyvin paljon variaatiota. Biologinen vanhenemisen prosessi on ilmiö, jonka etenemisnopeus vaihtelee yksilöstä toiseen sekä ympäristön aiheuttamista että geneettisistä tekijöistä johtuen (mm. Jylhävä, Pedersen ja Hägg 2017). Ihminen ei kuitenkaan voi välttää vanhenemistä. Itse vanhenemisen prosessiin on ollut vaikeata puuttua, koska biologisen vanhenemiseen näyttäisi vaikuttavan hyvin moni tekijä ja kaikkien näiden välisiä vuorovaikutuksia ei vielä ymmärretä riittävällä tasolla (López-Otín ym. 2013).

Ikäihmisten keskuudessa on havaittu ns. terveenä vanhenemistä, jossa yksilössä huomataan vähän vanhenemiseen liittyviä vaurioita eikä gerasteniaa verrattuna muihin ikätovereihinsa (mm. Koivukangas ym. 2021). Mistä johtuu se, että toiset haurastuvat ajan kuluessa, kun taas toiset eivät? Jos tähän kysymykseen tiedettäisiin vastaus, voisi olla mahdollista edistää terveenä vanhenemistä yleisellä tasolla. Terveen ikääntymisen edistämiseksi olisi suuri edistys ihmisten hyvinvoinnille, erityisesti jos vanhenemiseen voisi puuttua mahdollisimman aikaisin ennen vanhenemisprosessin aiheuttamia vaurioita. Tämän vuoksi on ollut tavoitteena kehittää menetelmiä, joiden avulla on mahdollista mitata yksilöiden vanhenemisen vaihetta eli biologista ikää, mikä antaisi paremman kuvan biologisesta vanhenemisestä.

Vanhenemisprosessin eteneminen pitkällä aikavälillä voidaan havaita eräillä biologisilla markkereilla, joita kutsutaan biologisiksi kelloiksi (Jylhävä, Pedersen ja Hägg 2017). Mikä tahansa vuosien mittaan lisääntyvä oire tai vaurio ei kuitenkaan kelpaa tällaiseksi biomarkeriksi, kuten esimerkiksi hiusten harmaantuminen, joka voi olla iästä riippumaton tekijä. Hyvälle biologiselle kellolle on esitetty useampi kriteeri: 1) kello pystyy kuvaamaan biologisen vanhenemisen nopeutta ja tällöin myös selittämään eliniän pituuden paremmin kuin kronologinen ikä, 2) sen kuuluu mitata vanhenemistä taustalla olevista sairauksista riippumatta, 3) se pystytään mittaamaan toistuvasti vahingoittamatta tutkittavaa yksilöä ja 4) tutkimuskäyttöä ajatellen, sen täytyy toimia ihmisten lisäksi myös laboratorioeläimissä (Jylhävä, Pedersen ja Hägg 2017). Kun kalenteri-ikä ei vaikuta muu kuin kulunut aika syntymästä, biologinen kello taas ottaa huomioon tarkemmin yksilöidenvälisiä eroja, jotka voivat olla luonteeltaan solutasoisia tai fysiologisia.

Aikuisiän vanhenemisen biologisen taustan tutkimus on ollut haastavaa sen monimuotoisuuden ja standardisoidujen kvantifiointimenetelmien puutteen vuoksi. Hyvään tieteelliseen käytäntöön kuuluu tutkimustulosten toistettavuus, mutta tämä on melkein mahdotonta ilman luotettavasti mitattavaa arvoa. Lisäksi ihmisten vanhenemisessä on huomattava pitkäikäisyys: pitkäaikaisia

muutoksia ihmisessä on hyvin hidasta tutkia. Biologisten kellojen pääasiallinen tavoite onkin luoda standardi biologiselle iälle, jota voisi käyttää kalenteri-ian rinnalla ja jonka avulla olisi mahdollista tutkia vanhenemisen prosessiin liittyviä muutoksia (Jylhävä, Pedersen ja Hägg 2017).



Kuva 2 Biologinen ikä havainnollistettuna. Samaan ikäryhmään kuuluvat voivat erota toisistaan suuresti vanhenemisprofiililtaan. Terveystilan variaatio on merkittävin vanhemmissa ikäryhmissä. Kuva muokattu lähteestä Jylhävä, Pedersen ja Hägg 2017

Epidemiologisessa vanhenemiseen keskittyvässä tutkimisessä esimerkiksi toimintakykytestiä ei voi mitata uudelleen alkuperäisestä aikapisteestä vuosien kuluttua käyttäen päivitettyä mittaustavasta. Seurannassa on pitäydettävä samassa, alkuperäisessä mittaustavassa, jotta aikapisteitä voi verrata toisiinsa. Lisäksi vanhenemisen merkkejä on vaikeampaa havaita kliinisin menetelmin nuoremmista ihmisistä. Biologisten kellojen osalta asia on kuitenkin toisin. Biopankkeissa säilytettäviä näytteitä on kuitenkin mahdollista tutkia biologisten kellojen avulla vuosia näytteen ottamisen jälkeen (Lu ym. 2019; Bell ym. 2019). Tällöin saman näytteen datasta voidaan mitata biologinen ikä useammalla erilaisella kellolla, mikä mahdollistaa ajantasaisimpien

kellojen käytön vanhoissakin näytteissä. Pitkittäistutkimusten toteutus on haaste vanhenemisen tutkimuksen kannalta, mutta retroaktiivinen biologinen data voi tulevaisuudessa helpottaa tätä tarkoilla biologisilla kelloilla.

Kalenteri-ian poikkeamaa mitatusta kelloiästä kutsutaan ikäkihtymäksi (AA, AgeAccelleration) (mm. Horvath ja Raj 2018). Toisin sanoen kellojen AA-arvo kuvaa yksilön suhteellista ikääntymistä verrattuna ikäryhmänsä keskiarvoon. Eriävien AA-arvojen perusteella on mahdollista tarkkailla vanhenemiseen vaikuttavia tekijöitä, kuten sairauksia ja elämäntapoja, jotka aiheuttavat muutoksia biologisissa kelloissa (Horvath ja Raj 2018). Näiden AA-arvojen avulla on mahdollista suunnitella biologista vanhenemistä hidastavia menetelmiä.

Kuten aikaisemmin tässä työssä mainittiin, biologisen vanhenemisen aiheuttamat vauriot voivat ilmetä hyvin monella eri tapaa, mikä monimutkaistaa biologisen vanhenemisen tutkimista. Vanhenemistä voidaan nykyisten menetelmien avulla kuvailla useilla erilaisilla biomarkkereilla. Biologisen iän voi arvioida erilaisten bioprosessien pohjalta, joihin kuuluvat mm. proteomiikka (Menni ym. 2015), metabonomiikka (Hertel ym. 2016) ja kliinisesti mitattujen vaurioiden määrä (Mitnitski ja Rockwood 2014). Vaikka tässä työssä ei käydä näitä kelloja lävitse, on hyvä tuoda vanhenemisen moninainen luonne, joka vaikuttaa useaan eri kudokseen ja prosessiin. Useat tutkimusartikkelit ovat sitä mieltä, että CpG-metylaatioon perustuvat kellot ovat nykyisistä kelloista luotettavimpia osoittamaan biologista ikää (mm. Bell ym. 2019; Horvath ja Raj 2018). Seuraavaksi tässä työssä esitellään CpG-metylaatiokellojen toimintaperiaatetta, jonka jälkeen käsitellään kolmea kyseiseen mekanismiin perustuvaa kelloa.

3.1 CpG-metylaatioon perustuvat epigeneettiset kellot

Yksilön ja solun ilmiasuun vaikuttavat geneettisten tekijöiden lisäksi ympäristötekijät (Kane ja Sinclair 2019). Geenien ja ympäristötekijöiden välinen keskustelu tapahtuu epigeneettisillä tekijöillä. Epigenetiikka nykytarkoituksessaan viittaa ei-geneettisen informaation säilymiseen eliössä, kuten mm. histonien post-translationalisiin muokkauksiin ja kromatiinin pakkautumisen rakenteeseen. Tämän työn kannalta tärkein epigeneettinen tekijä on sytosiini-fosfaatti-guaaniinin (CpG) metylaatio.

CpG-metylaation yhteyttä kalenteri-ikään on tukittu suhteellisen paljon verrattuna muihin epigeneettisiin säätelytekijöihin (Kane ja Sinclair 2019). Kyseisen biologisen mekanismin perusteella on kehitetty lukuisia kelloja, jotka korreloivat erittäin voimakkaasti kalenteri-ian kanssa. Epigeneettisten kellojen etuja verrattuna esimerkiksi kliinisiin mittauksiin on ainakin se, että biologinen ikä voidaan mitata kaikenikäisiltä ihmisiltä ja myös eläimiltä (Horvath ja Raj 2018). Näiden epigeneettisten kellojen avulla voidaan arvioida biologinen ikä jopa jakautumattomista soluista,

mikä on toisin verrattuna mitoottisiin telomeerien lyhenemiseen perustuviin kelloihin (Jylhävä, Pedersen ja Hägg 2017). Joidenkin epigeneettisten kellojen ikäarvojen on myös havaittu olevan yhteydessä muiden vanhenemisen tunnusmerkkien kanssa kuten telomeerien lyhenemisen kanssa (Lu ym. 2019).

DNA:n sytosiinien metylaatio CpG-dinukleotideissa on tärkeässä roolissa geeniekspressiossa ja histonimuokkaavien entsyymien rekrytoinnissa (mm. Kane ja Sinclair 2019). CpG-metylaatioissa sytosiiniin liitetään yksi metyyliryhmä lisää, mutta metylaatio voidaan myös kumota, mikäli sytosiiniin liitetty metyyliryhmä hydroksyloidaan. Eri kudoksissa sytosiinien metylaatio hiljentää geenejä, mikäli kyseisen geenin ekspressiota ei tarvita (Kane ja Sinclair 2019). Kane ja Sinclair tähdentävät, että tämän takia solujen CpG-metylaation säätely on hyvin tärkeässä asemassa kudoksen kehityksen kannalta. Geenien promoottorialueilla CpG-metylaatio hiljentää transkriptiota ja auttaa tiiviimmän kromatiinin muodostumista. Vastaavasti hyvin paljon ilmennetyt geenit ovat tyypillisesti ilman CpG-dinukleotidien metyloitua muotoa ja kromatiini on höllemmin kiinni alueella mahdollistaen transkriptiotekijöiden sitoutumista.

Vanhenemisen kannalta on huomattava se, että nuorissa soluissa CpG-dinukleotideista suurempi osa on metyloituneessa muodossa (Kane ja Sinclair 2019). Kane ja Sinclair mainitsevat, että vanhenevissa kudoksissa solujen metylaatioaste alenee kokonaisvaltaisesti erityisesti toisjaksoisilla alueilla. Toisaalta alle 35-vuotiaiden ja yli 65-vuotiaiden väliset DNA:n metylaatioasteerot ovat keskimäärin vain noin 3,2 % (Horvath ja Raj 2018). Kudoskohtaisesti metyloituneet DNA-alueet kontrolloivat erilaistumista ja kehitystä, koodaavat transkriptiofaktoreita tai ovat transkriptiofaktoreiden sitoutumisalueita (Kane ja Sinclair 2019). Vaikka tiedetään monien kymmenien tuhansien CpG-dinukleotidien olevan yhteydessä vanhenemiseen, on yksittäisten dinukleotidien kokonaismetylaatiomuutos ajassa hyvin vähäinen (Horvath ja Raj 2018).

Tässä työssä käsiteltävät kolme epigeneettistä kelloa ovat Horvathin metylaatiokello, DNAm PhenoAge ja GrimAge. Rajaus on tehty laajakäyttöisyyden (mm. Lu ym. 2019), kellojen kehitys- sukupolvien välisen variaation ja näitä kelloja koskevien työn kannalta relevanttien tutkimusten määrän perusteella. Nämä käsiteltävät kellot kykenevät arvioimaan biologisen iän verinäytteenä ja ennustavat hyvin kuolleisuutta, mutta joidenkin toimivuus rajoittuu ihmisistä saatuihin näytteisiin, jolloin ne eivät täytä kaikkia edellisessä luvussa listattuja biologisen kellon kriteerejä.

CpG-metylaatiomuoto ei ole luomakunnassa universaali ilmiö sillä esimerkiksi *caenorhabditis elegans*-madolla ei olla havaittu CpG-metylaatiota (Horvath ja Raj 2018). Kyseinen eliö vanhenee tästä huolimatta, vaikkakin hiukan eri muodossa. Eliökunnalla on sekä paljon yhteneväisyyksiä että eriävyyksiä vanhenemisen muodoissa. Miksi siis ihmisen vanheneminen vaikuttaa CpG:n metylaatioon ja mitkä kyseistä mekanismia säätelevät tekijät tekevät muutoksia

epigenomiin kuluvan ajan myötä? On myös mahdollista, että vanhenemisen aiheuttamat epigeneettiset muutokset ovat joko syy tai seuraus vanhenemiselle – ehkä jopa molempia. Valitettavasti vanhenemisen ja metylaatiomuutosten todellista suhdetta toisiinsa ei kuitenkaan vielä ymmärretä (Horvath ja Raj 2018). Kenties epigeneettisten kellojen avulla nämä interaktiot tulevat selkeämmiksi tulevaisuudessa.

Epigeneettiset kellot kehitetään regressoimalla metylaatiotietojen kanssa halutut muuttujat, kuten esimerkiksi kalenteri-ikä. Koneoppivien algoritmien ja statististen menetelmien avulla monien tuhansien CpG-lokusten joukosta seulotaan parhaiten muuttujien kanssa korreloivat CpG-alueet (mm. Horvath 2013). Tuhansista alueista voi jäädä tuloksiin jopa vain yhteen CpG:n metylaatiotasoon perustuva kello (Horvath ja Raj 2018). Vaikka periaatteessa CpG-alueiden vähäisyydellä ei tietyissä tapauksissa ole yhteyttä kellon toiminnallisuuden kannalta, on niiden arviot vähemmän luotettavia useissa eri kudoksissa, Horvath ja Raj huomauttavat.

Tavallisimmin epigeneettinen metylaatiotieto saadaan erilaisilla Illuminan kehittämällä sirulla (Maksimovic, Phipson ja Oshlack 2017). Tämän työn epigeneettiset kellot ovat pääosin mitattavissa joko Illumina 27k, Illumina 450k tai Illumina EPIC-siruisissa. Illumina-sirujen perusprotokollassa DNA-näytteen bisulfiittikäsittely vaihtaa perimän CpG-dinukleotidien sytosiinin tyymiiniksi, mikäli kyseinen sytosiini ei ole metyloitunut (Maksimovic, Phipson ja Oshlack 2017). Tämä tyymiinimuutos tai muuttumatta jääminen tunnistetaan joko Infinium I tai Infinium II-kemiaan perustuen edellä listatuissa Illuminan siruisissa. Infinium I:ssä käytetään kahta eri bead-tyyppiä, joista toinen tunnistaa metyloidun ja toinen metyloimattoman CpG:n (Maksimovic Phipson ja Oshlack 2017). Sekvensoinnin yhteydessä kumpikin näistä bead-yksiköistä emittoi samaa fluoresenssistä valoa, joka luetaan sekvensointilaitteen avulla. Vastaavasti Infinium II-kemiaan perustuvassa mittaustavassa käytetään vain yhtä bead-tyyppiä, mutta leimauksessa käytettävä fluoresoiva nukleotidi on joko G tai A halutulla kohdalla ja erottuu siten itsestään dinukleotidin metylaatiotilastaan mukaan (Maksimovic, Phipson ja Oshlack 2017).

Illumina 27k-mikrosiru perustuu Infinium I-kemiaan, mutta Illumina 450k ja Illumina EPIC käyttävät sekä Infinium I että II-tyypin kemioita (Maksimovic, Phipson ja Oshlack 2017). Mitatut CpG-kohtaiset metylaatiotasoiarvot ovat joko β - tai M-arvoja, joista ensin mainittu on metylaation prosentuaalinen määrä DNA-näytteessä. On huomattava, että β - ja M-arvot ovat koko näytteen kaikkien solujen keskiarvo, jolloin kyseisellä sirulla on mahdotonta tutkia yksittäisten solujen metylaatioarvoja. Tällöin myös solujen välinen epigeneettinen kirjo jää epäselväksi. Metylaation polyygeenisyyden huomioiminen tutkimuksessa on yksi epigeneettisten kellojen haasteista, joka ratkeaa tulevaisuudessa yhden solun sekvensointimenetelmien kehittyessä (Horvath ja Raj 2018).

3.1.1 Horvathin metylaatiokello

Steve Horvath kehitti epigeneettisen kellonsa julkisesti saatavilla olevista metylaatioidoista koneoppivien algoritmien avulla (Horvath 2013) ja se on yksi ensimmäisistä metylaatioon perustuvista kelloista. Kellon kehityksessä käytetty julkinen metylaatiodata oli peräisin Illumina 27K ja Illumina 450K –siruilta suoritetuista analyyseistä, jotka olivat hyvin suosittuja metylaation mittaustapoja. Horvathin koneoppiva algoritmi valitsi 353 CpG-lokusta, joiden metylaatioasteen avulla voidaan arvioida verinäytteen antajan ikä. Näistä CpG-lokuksista 193:n sytosiinin metylaatio on todettu korreloivan positiivisesti kalenteri-ikänsä kanssa ja 160:n negatiivisesti. Tämän kellon ikäarvio korreloi erittäin voimakkaasti kalenteri-ikänsä kanssa ($r = 0.96$).

Kellon kehityksessä hyödynnetyt kudokset olivat peräisin yli 30 erilaisesta kudoksesta, niin lapsilta kuin aikuisilta. Tämän ansiota Horvathin kehittämän kellon avulla voidaan mitata biologinen ikä mistä tahansa kudoksesta tai solutyypistä, poissulkien siittiöt. Kellon tuloksissa voi olla pieniä eroja näytteen alkuperästä riippuen, esimerkiksi rintakudoksesta kerättyjen solujen on havaittu ilmentävän Horvathin kellon mukaan muuhun kehoon verrattuna vanhempaa biologista ikää. (Horvath 2013)

Horvathin kellon yksi erikoisimmista ominaisuuksista on se, että sen avulla voidaan arvioida kasvavien lasten ja nuorten ikä. Yksilön kasvun ja kehityksen aikana Horvathin epigeneettinen kello huomaa poikkeuksellisen suuria muutoksia kellon CpG-metylaatioasteissa. Lisäksi kello toimii myös kantasoluissa: Horvathin kello on ”nollaantunut” alkioissa ja indusoiduissa pluripotenteissa kantasoluissa. (Horvath 2013)

Horvathin kellon CpG:t valittiin pelkästään kalenteri-ikänsä perusteella. Tämän vuoksi kello ei välttämättä kykene ottamaan huomioon vanhenemisen monimuotoisuutta. Esimerkiksi tupakanpoltto, jonka johdosta tupakoitsijat elävät keskimäärin kymmenen vuotta vähemmän kuin tupakoi-mattomat (mm. Levine ym. 2018), ei korreloi Horvathin kellon kanssa (Bell ym. 2019). Mikäli halutaan mitata biologista ikää, eikä vain arvioida kalenteri-ikää biologisen näytteen perusteella, on Horvathin kello mahdollisesti puutteellinen. Kalenteri-ikänsä rajoituksista huolimatta kellon monikudoksisuus katsotaan olevan sen suurena etuna (Horvath ja Raj 2018). Seuraavien kappaleiden kaksi kelloa kehitettiin ratkaisemaan ensimmäisen sukupolven kellojen puutteet käyttämällä erilaisia lähestymistapoja CpG-valinnoissa.

3.1.2 DNAm PhenoAge

DNAm PhenoAge on ns. toisen sukupolven epigeneettinen kello, joka on luotu fenotyyppisen kellon pohjalta (Levine ym. 2018). Kyseinen kello eroaa Horvathin kellosta pääosin siten, että sen CpG-lokuksia ei valittu pelkän kalenteri-ikänsä perusteella, vaan kello on ottanut fenotyyppisiä

muuttujia huomioon. Tämän kellon toimintaperiaatteen ymmärtämisen vuoksi seuraavaksi käydään lävitse DNAm PhenoAge -kellon kehityksen kaksi vaihetta.

Kellon kehityksen ensimmäisessä vaiheessa luotiin fenotyyppinen kello, ns. PhenoAge, joka perustui kalenteri-ikänsä lisäksi yhdeksään verinäytteestä mitattavaan muuttujaan (Levine ym. 2018). Nämä muuttujat valittiin neljäkymmenen kahden muuttujan joukosta, joiden tiedettiin olevan yhteydessä vanhenemiseen ja kuolleisuuteen. Nämä yhdeksän valittua kliinistä mittausta olivat albumiini, kreatiniini, seerumiglukoosi, C-reaktiivinen proteiini, lymfosyyttien prosentuaalinen määrä, punasolujen keskitilavuus, punasolujakauma, alkaalisen fosfataasin pitoisuus ja valkosolujen määrä. Tällä fenotyyppisellä, kliinisiin mittauksiin perustuvalla kellolla oli voimakas korrelaatio kalenteri-ikänsä kanssa ($r=0.94$).

Kehityksen toisessa vaiheessa valittiin sellaiset CpG-kohtat, joilla todettiin olevan yhteys yllä mainittuun PhenoAge-ikäarvoon käyttämällä Elastic net-regressiomenetelmää. PhenoAgen ja metylaatioidatan avulla luotiin uusi kello, DNAm PhenoAge, joka pystyy arvioimaan fenotyyppisen iän 513 CpG:n avulla. Nämä 513 CpG:a ovat saatavilla Illuminan 27k, 450k ja EPIC-siruissa. Näistä alueista 41 löytyy myös Horvathin kellosta. (Levine ym. 2018)

Tällä metylaatioasteisiin perustuvalla DNAm PhenoAge:lla on useita yhteyksiä terveydentilaan. Keskimääräisesti yhden vuoden lisäys DNAm PhenoAge:ssa lisää kuolemanriskiä 4,5 % (Levine ym. 2018). Lisäksi Levine ja muut mainitsevat kasvavan kelloarvon olevan yhteydessä oheissairauksien riskin kanssa. Kuten kuvattu tässä työssä aiemmin kappaleessa 'Gerastenia', oheissairaudet ovat yksi gerastenian yleinen oire, joka etiologisissa analyyseissä usein sivuutetaan esimerkiksi FFI:n perustuvissa tutkimuksissa.

DNAm PhenoAge-kellosta saatavalla iällä on tilastollisesti merkittävä ero tupakoijien, niiden, jotka eivät ole tupakoineet ja entisten tupakoijien välillä (Levine ym. 2018). Levine ja muut kuitenkin myöntävät, että kyseinen epigeneettinen kello ei ole tarpeeksi tarkka korvaamaan kliinisiä mittauksia, sillä se ei ole niin tarkka terveydentilan indikaattori kuin ensimmäisen vaiheen PhenoAge. Fenotyyppisen CpG-valikoinnin ansiosta DNAm PhenoAge on ensimmäinen epigeneettinen kello, jonka avulla pystytään ennustamaan sydän- ja verisuonitautien riskiä ja niistä selviytymistä (Levine ym. 2018).

DNAm PhenoAge voidaan mitata useasta kudoksesta, vaikka kyseisen kellon kehittämiseen käytettävät kliiniset mittaukset olivat peräisin verinäytteistä (vrt. Horvathin kelloon) (Levine ym. 2018). DNAm PhenoAge:n tarkkuutta useammassa kudoksissa ja sen tehokkuutta lasten fenotyyppisen iän arvioinnissa on kuitenkin kyseenalaistettu (Horvath ja Raj 2018).

3.1.3 GrimAge

GrimAge on toisen sukupolven epigeneettinen kello, jonka avulla pystytään arvioimaan objektiivisesti, verinäytteestä yksilön iän lisäksi seitsemän verenkierrössä olevan proteiinin pitoisuudet sekä samalla yksilön tupakointihistoriaa (Lu ym. 2019). Kello kehitettiin vaiheittain kuten DNAm PhenoAge, mutta näissä kahdessa kellossa on selviä eroavaisuuksia. Lu ja muut kuvailevat valinneensa ensin seitsemän verestä mitattavaa proteiinia, joiden pitoisuuksien perusteella kehitettiin yksi metylaatiokello kullekin proteiinille. Lisäksi luotiin metylaatioon perustuva kello SmokingPackYears, joka nimensä mukaisesti muodostettiin tupakointihistorian perusteella. GrimAge:n CpG-valintojen perusteena käytettiin myös tutkimusaineistossa havaittua kokonaiskuolleisuutta ja CpG-valinnoissa otettiin huomioon tutkittavien sukupuoli (McCrary ym. 2021). Kuolleisuuden huomioiminen kellon kehitysvaiheessa on tulkintojen mukaan suurin kehitysaskel, joka edesauttaa kellon kykyä korreloida erilaisten terveystapahtumien kanssa. Käytännössä GrimAge on ns. useamman pienemmän kellon yhdistelmä, joiden avulla voidaan biologisen iän lisäksi arvioida mm. plasmaproteiinien pitoisuuksia. GrimAge sisältää noin 200 CpG-saareketta ja yhteensä 1030 erilaista CpG-aluetta. Nämä kelloissa käytetyt saarekkeet ovat saatavilla Illumina 450K ja Illumina Epic-mikrosiruissa (Lu ym. 2019).

GrimAgen metylaatiokohtiin perustuva korvikemarkkeri SmokingPackYears heijastelee tupakoinnin määrää (Lu ym. 2019). Tällä korvikekellolla todettiin olevan parempi kyky ennustaa elin-iän pituus kuin itseraportoidun tupakanpolton määrällä. Alkuperäisartikkelissa pohdittiin, että tämä saattaisi johtua joko vastaajien aliraportoimisesta tupakointikyselyissä tai siitä, että kyseinen epigeneettinen korvikemarkkeri kykenee ottamaan yksilöiden väliset erot paremmin huomioon. (Lu ym. 2019).

GrimAgella on useita tärkeitä ominaisuuksia. Biologisen vanhenemisen tunnusmerkeistä GrimAge on yhteydessä mitokondrioiden toimintavajeeseen ja solujen senesenssiin (Föhr ym. 2021). GrimAge AA puolestaan on parempi kuin Horvathin kello ja DNAm PhenoAge mm. yleisen ja sydäntautiperäisen kuolleisuusajan sekä syövän havaitsemisajan ennustamisen suhteen (Lu ym. 2019). Suomalaisessa kaksoistutkimuksessa todettiin GrimAgen kykenevän arvioimaan biologisen iän paremmin kuin Horvathin kello (Föhr ym. 2021). Kyseinen tutkimus osoitti GrimAgen pystyvän arvioimaan epigeneettistä ikää ilman vahvaa geneettisten tekijöiden vaikutusta.

4. KELLOJEN YHTEYS GERASTENIAAN

Kun gerastenia on vanhenemisen huipentuma, niin voidaanko se tällöin havaita biologisten kellojen avulla? Gerastenian diagnosoinnin ongelmia aiemmin tässä työssä käsitellessä mainittiin KGA:n olevan mahdollisesti raskas hauraalle potilaalle. Epigeneettisen iän mittaus olisi nykyisiin diagnosointimenetelmiin verrattuna helppo iäkkäälle ihmiselle, sillä epigeneettiset kellot vaativat vain verinäytteen. Jos biomarkkereiden avulla mitatun biologisen iän ja gerastenian välillä on selkeä yhteys, voisi olla mahdollista edistää terveenä vanhenemistä ja ehkä jopa välttää gerastenian riskitekijöitä. Tämä siksi koska epigeneettisen iän voi mitata myös nuoremmilta aikuisilta, jolloin kohonnut gerasteniariski olisi mahdollista havaita ajoissa. Tällöin gerastenian ennaltaehkäisy ja hyvin varhainen hoito voi olla mahdollista. Poikkeako hauraan ihmisen biologinen ikä samanikäisten mutta terveiden ihmisten biologisesta iästä?

On tutkittu sitä, että ovatko epigeneettiset kellot parempia arvioimaan potilaiden avuntarvetta kuin nykyiset gerastenian diagnosointivälineet (Jylhävä ym. 2019). Tässä tutkimuksessa verrattiin mm. FI:n, Horvathin kellon ja DNAm PhenoAgen kykyä ennustaa hoidon tarvetta. Tutkimuksessa huomattiin FI:n arvoissa 10 % muutoksen johtavan yli kolminkertaiseen riskiin avuntarpeelle, mutta tutkimuksessa käytetyt epigeneettiset kellot eivät olleet yhtä luotettavia ennustajia. Julkaisussa pohdittiin, että vaikka epigeneettisillä kelloilla on mahdollista ennustaa ikääntymisen tahtia ja kuolleisuutta, on FI paljon tarkempi väline arvioimaan ihmisten avuntarve kuin DNAm PhenoAge ja Horvathin kello.

Verestä mitatun Horvathin kellon ikäarviolla ei olla havaittu olevan yhteyttä FFI:stä mitattuun gerasteniaan (Gale ym. 2018). Toisaalta samassa tutkimuksessa tutkittiin myös toista ensimmäisen sukupolven kelloa, ns. Hannumin kelloa, jolla todettiin olevan yhteys gerastenian kanssa. Vaikka molemmat näistä kahdesta kellosta kehitettiin tavoitteena ennustaa vain kronologinen ikä biologisesta näytteestä, on niissä silti suuria käytännön eroja (Horvath ja Raj 2018). Tämä korostaa sitä, että vielä ei ymmärretä riittävällä tasolla kellojen eri tekijöiden vaikutuksia tarkkuuteen terveydentilan arvioinnissa.

Tässä työssä esitellyistä kelloista, GrimAge on selkeimmin yhteydessä gerasteniaan. Tutkimuksessa vertailtiin Horvathin kellon, DNAm PhenoAgen ja GrimAgen yhteyttä yhdeksään vanhenemiseen liittyvään fysiologiseen tai muuhun terveystekijään, kuten alentuneeseen kävelynopeuteen, FFI-tulokseen, puristusvoimakkuuteen ja monilääkitykseen. Ensimmäisen sukupolven Horvathin kello ei ollut minkään tutkittavan tekijän kanssa yhteydessä. Tämän epäiltiin johtuvan siitä, että Horvathin kellon kehityksessä ei otettu huomioon fysiologisia muuttujia kalenteri-ikä rinnalla. Vastaavasti DNAm PhenoAge oli yhteydessä neljään päävasteeseen, mukaan lukien

kävelynopeuteen ja FFI-tulokseen, mutta yhteydet eivät olleet voimakkaita sen jälkeen, kun huomioitiin sosioekonomiset ja elämäntapatekijät. Näissä regressioanalyysissä kuitenkin vain GrimAgen todettiin olevan yhteydessä kahdeksaan päävasteeseen (kaikkiin paitsi puristusvoimakkuuteen), ja taustatekijöiden huomioonottamisen jälkeen yhteys oli vielä voimakas neljään päävasteeseen (FFI, kävelynopeus, kuolleisuus ja monilääkitys). (McCrary ym. 2021)

Kellon Nimi	Horvathin Kello	DNAm PhenoAge	GrimAge
Sukupuoli	I	II	II
CpG-alueiden määrä	353	513	1030
Kehityksessä käytetyt muuttajat	Kalenteri-ikä	Fysiologinen kello PhenoAge	Seerumiproteiinien pitoisuus, kuolinaika, tupakointi ym.
Merkittävä ominaisuus	Monikudoksisuus, nollaantunut kanta- soluissa	Ensimmäisiä II- sukupolven kelloista, fysiologinen ikä	Kelloon sisäänrakennettuna seerumiproteiinien pitoisuusar- vio, tupakointiarvio, kuollei- suusarvio
Yhteys gerasteniaan (McCrary ym. 2021)	ei	ei	kyllä

Taulukko 1: Tässä työssä käsiteltyjen kellojen ominaisuuksia taulukoituna. Tiedot perustuvat työssä käsiteltyihin asioihin. (Taulukon laatinut: Vilho Hirvonen, lähteinä mm. McCrary ym. 2021)

Kuten aikaisemmin tässä työssä on keskusteltu, kliininen gerastenian tunnistus on usein monen eri menetelmän yhteistyö. Edellä käsiteltyjen tutkimusten mukaan yksittäisillä gerastenian tunnistusmenetelmillä voi tulla toisistaan poikkeavia diagnooseja. Siten gerastenian määrittystapojen heterogeenisyys vaikeuttaa yhteyksien löytämistä: kellodataa on vaikeata verrata johonkin, jota ei olla tarkasti määritelty. Voi hyvinkin olla, että nämä gerasteniaa koskevat kellotutkimusten tulokset eivät päde gerastenian määritelmän vaihtuessa. Gerastenia onkin enemmänkin veheen piirretty viiva, jonka määrittäminen voi vaihdella asiantuntijasta toiseen ja sen diagnosointia kuvaillaan jopa taiteenmuotona (Cesari, Calvani ja Marzetti 2017). Tutkimuksissa pyritään käyttämään mahdollisimman laajasti gerastenian tunnistusmenetelmiä täysin ymmärrettävistä syistä.

5. YHTEENVETO

Gerastenian diagnosoinnissa käytetyt kliiniset mittaukset ovat edelleen käyttökelpoisia terveydenhuollossa ja akateemisessa tutkimuksessa. Toistaiseksi biologiset kellot eivät ole vielä yhtä tarkkoja ikäihmisten terveyden arvioimiseen. Vaikka biologiset kellot ovatkin hyvin mielenkiintoinen löytö vanhenemisprosessin ymmärtämisen kannalta, ei nykyisistä kelloista saatava biologisen iän arvioitu numero juurikaan lohduta hoitosuunnitelmaa kaipaavaa haurasta potilasta. Gerastenian hoito tulee myös todennäköisimmin pysymään yksilöitynä hoitomuotona, vaikka yleis-pätevä gerastenian diagnosointimenetelmä standardisoitaisiin.

Biologisen vanhenemisen taustalla on todennäköisesti useamman biologisen koneiston jumittuminen, minkä seurauksena on vaikeaa diagnosoida niinkin monikirjoinen syndrooma kuin gerastenia. Biologisen vanhenemisen tunnusmerkkejä on useita, kuten epigeneettiset muutokset, telomeerien lyheneminen, solusenesenssi ja metabolasäätelyn häiriöt (López-Otín ym. 2013). Useiden kellojen on havaittu korreloivan solusenesenssin kanssa, vaikka kyseinen ilmiö on erillään epigeneettisestä vanhenemisestä (Horvath ja Raj 2018). Muitakin yhteyksiä löytyy vanhenemisen tunnusmerkkien kanssa, jotka puolestaan ovat yhteydessä gerastenian kanssa, kuten tässä työssä on jo mainittu. Kenties tulevaisuudessa nämä yhteydet ovat nykyistä selkeämpiä, mutta toistaiseksi näiden välisiä suhteita olisi hyvä tutkia edelleen parempien diagnosointimenetelmien kehittämiseksi.

Biologiset kellot ovat olleet edistys vanhenemisprosessin tutkimuksessa. CpG-metylaatioon ja muihin biologisiin markkereihin perustuvia kelloja kehitetään jatkuvasti, kuten tässä työssä on esitetty. Jos nykyisten biologisen iän mittareiden eli kellojen kehityksessä voidaan käyttää erilaisia terveystekijöitä, niin voisi olla mahdollista luoda myös gerastenian pohjalta metylaatiokello. Metylaatiokello, jonka CpG-lokukset valittaisiin esimerkiksi FI:n tai FFI:n mukaan, voisi olla apuna gerastenian taustan kartoittamisessa. Ottaen huomioon, että jo vauriokertymämallilla voidaan mitata biologinen ikä (Mitnitski ja Rockwood 2014), ei välttämättä olisi mahdotonta kehittää biomarkerikello gerastenian perusteella. On huomattava kuitenkin, että metylaatiotasot eivät korreloi aivan kaiken kanssa, minkä voi huomata esimerkiksi GrimAgen kehityksen alkuvaiheesta. 88 analyysiin valitusta seerumiproteiinista jäi valituksi pienoiskelloihin vain 7, sillä vain niillä oli tarpeeksi voimakas korrelaatio metylaatiotietojen kanssa (Lu ym. 2019).

Ensimmäisen ja toisen sukupolven kellot eroavat suuresti niiden kyvystä korreloida erilaisten vanhenemisen merkkien ja gerastenian kanssa. Kellot ovat kehittyneet tarkempaan suuntaan sukupolvi sukupolvelta. Tämä viittaa siihen, että epigeneettisillä kelloilla on potentiaalia kehittyä

tarkoiksi diagnosointivälineiksi. On mahdollista ja toivottavaa, että biologiset kellot jatkavat kehittymistään lähivuosina.

6. LÄHDELUETTELO

- Al Saedi, Ahmed, Jack Feehan, Steven Phu, ja Gustavo Duque. 2019. "Current and Emerging Biomarkers of Frailty in the Elderly". *Clinical Interventions in Aging* Volume 14 (helmikuuta): 389–98. <https://doi.org/10.2147/CIA.S168687>.
- Bell, Christopher G., Robert Lowe, Peter D. Adams, Andrea A. Baccarelli, Stephan Beck, Jordana T. Bell, Brock C. Christensen, ym. 2019. "DNA Methylation Aging Clocks: Challenges and Recommendations". *Genome Biology* 20 (1): 249. <https://doi.org/10.1186/s13059-019-1824-y>.
- Buta, Brian J., Jeremy D. Walston, Job G. Godino, Minsun Park, Rita R. Kalyani, Qian-Li Xue, Karen Bandeen-Roche, ja Ravi Varadhan. 2016. "Frailty Assessment Instruments: Systematic Characterization of the Uses and Contexts of Highly-Cited Instruments". *Ageing Research Reviews* 26 (maaliskuuta): 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2015.12.003>.
- Cesari, Matteo, Riccardo Calvani, ja Emanuele Marzetti. 2017. "Frailty in Older Persons". *Clinics in Geriatric Medicine* 33 (3): 293–303. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2017.02.002>.
- Föhr, Tiina, Katja Waller, Anne Viljanen, Riikka Sanchez, Miina Ollikainen, Taina Rantanen, Jaakko Kaprio, ja Elina Sillanpää. 2021. "Does the Epigenetic Clock GrimAge Predict Mortality Independent of Genetic Influences: An 18 Year Follow-up Study in Older Female Twin Pairs". *Clinical Epigenetics* 13 (1): 128. <https://doi.org/10.1186/s13148-021-01112-7>.
- Gale, C. R., R. E. Marioni, S. E. Harris, J. M. Starr, ja I. J. Deary. 2018. "DNA methylation and the epigenetic clock in relation to physical frailty in older people: the Lothian Birth Cohort 1936". *Clinical epigenetics* 10 (1): 101–4. <https://doi.org/10.1186/s13148-018-0538-4> [doi].
- Hertel, J., N. Friedrich, K. Wittfeld, M. Pietzner, K. Budde, S. Van der Auwera, T. Lohmann, ym. 2016. "Measuring Biological Age via Metabonomics: The Metabolic Age Score". *Journal of proteome research* 15 (2): 400–410. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.5b00561> [doi].
- Horvath, Steve. 2013. "DNA Methylation Age of Human Tissues and Cell Types". *Genome Biology* 14 (10): R115. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-10-r115>.
- Horvath, Steve, ja Kenneth Raj. 2018. "DNA Methylation-Based Biomarkers and the Epigenetic Clock Theory of Ageing". *Nature Reviews Genetics* 19 (6): 371–84. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0004-3>.
- Jylhävä, Juulia, Miao Jiang, Andrea D. Foebel, Nancy L. Pedersen, ja Sara Hägg. 2019. "Can Markers of Biological Age Predict Dependency in Old Age?" *Biogerontology* 20 (3): 321–29. <https://doi.org/10.1007/s10522-019-09795-5>.
- Jylhävä, Juulia, Nancy L. Pedersen, ja Sara Hägg. 2017. "Biological Age Predictors". *EBioMedicine* 21 (C): 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2017.03.046>.
- Kane, Alice E., ja David A. Sinclair. 2019. "Epigenetic Changes during Aging and Their Reprogramming Potential". *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 54 (1): 61–83. <https://doi.org/10.1080/10409238.2019.1570075>.
- Koivukangas, Minna, E. Hietikko, T. Strandberg, S. Keinänen-Kiukaanniemi, R. Leskinen, R. Peters, ja R. Antikainen. 2021. "The Prevalence of Frailty Using Three Different Frailty Measurements in Two Finnish Cohorts Born Before and After the Second World War". *The Journal of Nutrition, Health & Aging* 25 (5): 611–17. <https://doi.org/10.1007/s12603-021-1586-6>.
- Koivukangas, Minna, Timo Strandberg, Riitta Leskinen, Sirkka Keinänen-Kiukaanniemi, ja Riitta Antikainen. 2017. "Vanhuksen gerastenia - tunnista riskipotilas". https://www.openaire.eu/search/publication?articleId=od_____1593::3fe66870b24770a1fc6d13eb3032cecf.
- Lee, Heayon, Eunju Lee, ja Il-Young Jang. 2020. "Frailty and Comprehensive Geriatric Assessment". *Journal of Korean Medical Science* 35 (3): e16. <https://doi.org/10.3346/jkms.2020.35.e16>.
- Levine, Morgan E., Ake T. Lu, Austin Quach, Brian H. Chen, Themistocles L. Assimes, Stefania Bandinelli, Lifang Hou, ym. 2018. "An Epigenetic Biomarker of Aging for Lifespan and Healthspan". *Ageing* 10 (4): 573–91. <https://doi.org/10.18632/aging.101414>.

- Li, Xia, Alexander Ploner, Ida K. Karlsson, Xingrong Liu, Patrik K. E. Magnusson, Nancy L. Pedersen, Sara Hägg, ja Juulia Jylhävä. 2019. "The Frailty Index Is a Predictor of Cause-Specific Mortality Independent of Familial Effects from Midlife Onwards: A Large Cohort Study". *BMC Medicine* 17 (1): 94. <https://doi.org/10.1186/s12916-019-1331-8>.
- López-Otín, Carlos, Maria A. Blasco, Linda Partridge, Manuel Serrano, ja Guido Kroemer. 2013. "The Hallmarks of Aging". *Cell* 153 (6): 1194–1217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039>.
- Lu, Ake T., Austin Quach, James G. Wilson, Alex P. Reiner, Abraham Aviv, Kenneth Raj, Lifang Hou, ym. 2019. "DNA Methylation GrimAge Strongly Predicts Lifespan and Healthspan". *Aging* 11 (2): 303–27. <https://doi.org/10.18632/aging.101684>.
- Maksimovic, Jovana, Belinda Phipson, ja Alicia Oshlack. 2017. "A Cross-Package Bioconductor Workflow for Analysing Methylation Array Data". *F1000Research* 5 (huhtikuuta): 1281. <https://doi.org/10.12688/f1000research.8839.3>.
- Martin, Finbarr C., ja Aisling M. O'Halloran. 2020. "Tools for Assessing Frailty in Older People: General Concepts". Teoksessa *Frailty and Cardiovascular Diseases*, toimittanut Nicola Veronese, 1216:9–19. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. Cham: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-33330-0_2.
- McCrary, Cathal, Giovanni Fiorito, Belinda Hernandez, Silvia Polidoro, Aisling M O'Halloran, Ann Hever, Cliona Ni Cheallaigh, ym. 2021. "GrimAge Outperforms Other Epigenetic Clocks in the Prediction of Age-Related Clinical Phenotypes and All-Cause Mortality". Toimittanut David Le Couteur. *The Journals of Gerontology: Series A* 76 (5): 741–49. <https://doi.org/10.1093/gerona/glaa286>.
- Menni, Cristina, Steven John Kiddle, Massimo Mangino, Ana Viñuela, Maria Psatha, Claire Steves, Martina Sattler, ym. 2015. "Circulating Proteomic Signatures of Chronological Age". *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences* 70 (7): 809–16. <https://doi.org/10.17863/CAM.24149>.
- Mitnitski, Arnold, ja Kenneth Rockwood. 2014. "Aging as a Process of Deficit Accumulation: Its Utility and Origin". Teoksessa *Interdisciplinary Topics in Gerontology*, toimittanut A.I. Yashin ja S.M. Jazwinski, 40:85–98. Basel: S. KARGER AG. <https://doi.org/10.1159/000364933>.
- Santoni, Giola, Sara Angleman, Anna-Karin Welmer, Francesca Mangialasche, Alessandra Marengoni, ja Laura Fratiglioni. 2015. "Age-Related Variation in Health Status after Age 60". Toimittanut Pasquale Abete. *PLOS ONE* 10 (3): e0120077. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0120077>.
- United Nations, Department of Economic and Social Affairs, ja Population Division. 2019. *World Population Prospects Highlights, 2019 Revision Highlights, 2019 Revision*.