

Prioritäres Forschungspapier

Rejuvant®, eine potenziell lebensverlängernde zusammengesetzte Formulierung mit Alpha-Ketoglutarat und Vitaminen, verlieh im TruAge DNA-Methylierungstest nach durchschnittlich 7-monatiger Anwendung eine durchschnittliche Verringerung der biologischen Alterung um 8 Jahre

Oleksandr Demidenko^{1,*}, Diogo Barardo^{2,*}, Valery Budovskii¹, Francis R. Palmer³, Brian K. Kennedy^{2,3,4,5}, Yelena V. Budovskaya¹, Robb Finnemore³

¹TruMe Inc., Alameda, CA 94502, USA ²Healthy

Longevity Translational Research Programme, Yong Loo Lin School of Medicine, National University Singapore, Singapur 117456,

Singapur ³Ponce de Leon Health, Fernandina, FL 32034, USA ⁴Centre for Healthy Longevity, National University Health System, Singapur 117456, Singapur

⁵Singapore Institute for Clinical Sciences, A*STAR, Singapur 117609, Singapur

*Gleicher Beitrag

Korrespondenz mit: Brian K. Kennedy, Yelena V. Budovskaya; **E-Mail:** bkennedy@nus.edu.sg, yelena@trumelabs.com

Schlüsselwörter: Alterung, DNA-Methylierung, Alpha-Ketoglutarat (AKG), biologisches Alter, Rejuvant **Erhalten:** 5. Oktober 2021

Akzeptiert: 15. November 2021

Veröffentlicht: 30. November 2021

Copyright: © 2021 Demidenko et al. Dies ist ein Open-Access-Artikel, der unter den Bedingungen der [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/3.0/) verbreitet wird (CC BY 3.0), das die uneingeschränkte Nutzung, Verbreitung und Vervielfältigung in jedem Medium erlaubt, sofern der ursprüngliche Autor und die Quelle genannt werden.

ABSTRAKT

Die Suche nach möglichen Interventionen, die die biologische Alterung verzögern und/oder rückgängig machen, wird fortgesetzt, was zu einer verlängerten Gesundheitsspanne und Lebensdauer führt. Interventionen, die das Altern in Tiermodellen verzögern, sind gut etabliert; den meisten fehlt jedoch die Validierung beim Menschen. Die Länge der menschlichen Lebensdauer macht es unpraktisch, eine Überlebensdauer zu verlängern. Stattdessen wurden Alterungs-Biomarker wie DNA-Methylierungsuhr (DNAm) entwickelt, um das biologische Alter zu überwachen. Hier berichten wir über eine retrospektive Analyse des DNA-Methylierungsalters bei 42 Personen, die Rejuvant®, eine auf Alpha-Ketoglutarat basierende Formulierung, über einen durchschnittlichen Zeitraum von 7 Monaten einnahmen. DNAm-Tests wurden zu Studienbeginn und am Ende der Behandlung mit Rejuvant®-Ergänzung durchgeführt. Bemerkenswerterweise zeigten die Individuen eine durchschnittliche Abnahme der biologischen Alterung um 8 Jahre (p-Wert = $6,538 \times 10^{-12}$). Darüber hinaus ist die Nahrungsergänzung mit Rejuvant® robust gegenüber individuellen Unterschieden, wie die Tatsache zeigt, dass eine große Mehrheit der Teilnehmer ihr biologisches Alter verringert hat. Darüber hinaus haben wir festgestellt, dass Rejuvant® für chronologisch und biologisch ältere Personen von zusätzlichem Nutzen ist. Während kontinuierliche Tests, insbesondere in einem Placebo-kontrollierten Design, erforderlich sind, ist die fast 8-jährige Umkehrung des biologischen Alters von Personen, die Rejuvant® für 4 bis 10 Monate einnehmen, bemerkenswert, was den Naturprodukt-Cocktail zu einem faszinierenden Kandidaten zur Beeinflussung des menschlichen Alterns macht.

EINFÜHRUNG

Altern ist ein nahezu universeller biologischer Prozess, der sich als allgemeiner Rückgang der Gesundheit und Vitalität manifestiert und schließlich zum Tod führt. Das Altern ist mit der Entwicklung einer Vielzahl chronischer Krankheiten verbunden, darunter Krebs, Alzheimer, Diabetes, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und viele andere Erkrankungen [1, 2]. Wenn das Altern sein kann

verzögerter, chronischer Krankheitsbeginn wird vorgebeugt, die Funktionsfähigkeit erhalten und aller Wahrscheinlichkeit nach Komplikationen durch Infektionskrankheiten wie Covid 19 und Influenza reduziert [3]. Kurz gesagt, Menschen werden eine längere Gesundheitsspanne und Lebensdauer haben.

Das Altern wird typischerweise chronologisch in Tagen oder Jahren gemessen, wobei das mittlere menschliche Überleben in der Größenordnung von liegt

acht Jahrzehnte. Wenn wir den Alterungsprozess kontrollieren wollen, müssen wir lernen, die Alterungsrate in kürzeren Zeiträumen zu messen. Darüber hinaus schreitet das Altern bei verschiedenen Personen unterschiedlich schnell voran. Unser wahres biologisches Alter wird von vielen zusätzlichen Faktoren wie genetischem Hintergrund, Lebensstil und Krankheiten beeinflusst. Um dieser Herausforderung zu begegnen, wurden mehrere biologische Alterungsmarker entwickelt. Diese Marker sind einzigartige Sätze von Molekülen oder Veränderungen im epigenetischen Zustand der DNA einer Person, die ihren aktuellen Alterungsstatus widerspiegeln [4–6]. Zu den vielversprechendsten Biomarkern des Alterungsprozesses gehören DNA-Methylierungsmuster. DNA-Methylierung ist ein epigenetischer Mechanismus, der eine wichtige Rolle bei der Regulation der Genexpression, der Entwicklung von Organismen und Krankheiten spielt [7, 8].

Die Methylierung von Lysinresten in den Core-Histonen H3 und H4 initiiert eine Konformationsmodifikation in der Chromatinstruktur, die mit Änderungen der Transkriptionsaktivität verbunden ist. Die am besten untersuchte epigenetische Markierung ist jedoch die direkte Methylierung der DNA selbst. Diese Modifikation beinhaltet die Umwandlung von Cytosin in 5'-Methylcytosin, katalysiert durch DNA-Methyltransferasen, und tritt typischerweise innerhalb der CpG-Dinukleotidsequenzen (CpGs) auf. Diese CpG-Sequenzen, die in Regionen gruppiert sind, die als CpG-Inseln (CGIs) bekannt sind, werden am häufigsten in Promotoren von Haushaltsgenen gefunden [9, 10]. Es wurde gezeigt, dass die Hypermethylierung von CpG-Inseln mit transkriptionalem Silencing verbunden ist, während demethylierte CpG-Inseln häufiger während der Embryogenese gefunden werden und als Kennzeichen für aktiv transkribierte Gene dienen. Während des Alterns wurden zwei Arten von Veränderungen der DNA-Methylierung beobachtet und sorgfältig charakterisiert: (1) epigenetische Drift oder fortschreitende stochastische Veränderungen der DNA-Methylierungsmuster zwischen Individuen, die mit zunehmendem Alter auftreten [11], und (2) die epigenetische Uhr – ein von der DNA-Methylierung abgeleitetes Maß, das stark mit dem chronologischen Alter korreliert und zur Messung des biologischen Alters vorgeschlagen wurde [9, 12, 13].

Die epigenetische Uhr ist ein attraktiver Biomarker des Alterns, da sie auf die meisten menschlichen Gewebe zutrifft und Aspekte des biologischen Alters wie Gebrechlichkeit [14], kognitive/körperliche Fitness bei älteren Menschen [15], beschleunigtes Alter bei Fettleibigkeit [16] und vorzeitiges Altern erfasst bei Down-Syndrom [17] und HIV-Infektion [18], Parkinson [19] und Alzheimer-bedingten Neuropathologien [20] sowie Krebs [21] und Lebensstress [22]. Marker des biologischen Alterns stellen ein wichtiges Instrument dar, um die Auswirkungen langlebigeitsbasierter Interventionen klinisch zu validieren. Diese Biomarker des Alterns geben Wissenschaftlern erstmals die Möglichkeit, die Wirkung von Anti-Aging-Wirkstoffen in Echtzeit und direkt am Menschen zu untersuchen. Eines der vielversprechendsten Anti-Aging-Produkte

bisher entdeckte Verbindung ist Alpha-Ketoglutarat (AKG) [23].

AKG ist ein endogener intermediärer Metabolit im Krebszyklus, dessen Spiegel mit zunehmendem Alter auf natürliche Weise abnehmen. AKG ist an mehreren metabolischen und zellulären Signalwegen beteiligt. Dazu gehört die Funktion als (ein) Signalmolekül, Energiespender, Vorläufer in der Aminosäurebiosynthese und als Regulator epigenetischer Prozesse und zellulärer Signalübertragung über Proteinbindung [24–26]. Der AKG-Mangel in Stamm- und Vorläuferzellen nimmt mit dem Alter zu [27]. Mit zunehmendem Alter der Tiere wird die mitochondriale Funktion zunehmend beeinträchtigt und der zelluläre Stoffwechselfluss in den Mitochondrien nimmt ab, was den AKG-Mangel verschlimmert. Chin et al. berichteten, dass AKG die Lebensdauer von *C. elegans* verlängerte [28]. Aufbauend auf diesen Ergebnissen wurden AKG (und Calciumsalz) in Kombination mit anderen allgemein als sicher anerkannten (GRAS) Verbindungen an Mäusen untersucht. Die nicht genetisch veränderte Maus ist das bevorzugte Säugetiermodell zur Untersuchung des Alterns, da die biochemischen Prozesse, die an der Alterung von Mäusen beteiligt sind, auf andere Säugetiere, einschließlich Menschen, zutreffen können [29]. In einer kürzlich von Ponce de Leon Health gesponserten und am Buck Institute for Research on Aging durchgeführten Studie wurde die Wirkung von Alpha-Ketoglutarat (in Form eines Calciumsalzes – CaAKG) auf die Gesundheit und Lebensdauer von C57BL/6-Mäusen untersucht gemeldet. Die Autoren zeigten, dass AKG bei Mäusen die Gebrechlichkeit reduzierte und die Langlebigkeit erhöhte, was auf eine Kompression der Morbidität hinweist [23]. Diese und andere Entdeckungen deuten darauf hin, dass AKG ein idealer Kandidat für Studien zur Förderung der Langlebigkeit am Menschen sein könnte.

In dieser Studie untersuchten wir den Querschnitts- und Längsschnitt-Zusammenhang zwischen der epigenetischen Uhr, dem Gesundheitszustand, der körperlichen Fitness und den Auswirkungen der Einnahme von Rejuvant® (CaAKG mit verzögerter Freisetzung + ein spezifisches Vitamin, abhängig vom Geschlecht) auf die biologische Alterung des Menschen. Wir haben 42 nach eigenen Angaben gesunde Personen beobachtet, die eine AKG-Ergänzung über einen Zeitraum von 4 bis 10 Monaten eingenommen hatten. Die Auswirkungen von AKG auf die biologische Alterung und die mögliche Korrelation mit anderen physiologischen Effekten werden diskutiert.

ERGEBNISSE

Für diese Studie überprüften wir 42 Teilnehmer, die sich entschieden hatten, Rejuvant® für einen Zeitraum von 4 bis 10 Monaten einzunehmen. Alle Teilnehmer nahmen aktiv das Produkt Rejuvant® ein. Die Notwendigkeit, dieser Studie eine placebokontrollierte Studie folgen zu lassen, wird in der Diskussion beschrieben. Die allgemeinen Merkmale dieser Kohorte sind in Tabelle 1 beschrieben. Alle Teilnehmer berichteten über einen guten oder ausgezeichneten Gesundheitszustand ohne chronische Erkrankungen.

Nur ein Teilnehmer war zu Studienbeginn Raucher und

Tabelle 1. Beschreibende Merkmale der Studienteilnehmer.

Teilnehmer insgesamt	42
Geschlecht weiblich männlich)	14/28
Weiblich:	
Chronologisches Alter (Median; Bereich)	64,09; 43,49 bis 72,46
Biologisches Alter zu Studienbeginn (Median; Bereich)	62,15; 46,4 bis 73 55,55;
Biologisches Alter bei T7* (Median; Bereich)	33,4 bis 63,7
Männlich:	
Chronologisches Alter (Median; Bereich)	62,78; 41,31 bis 79,57
Biologisches Alter zu Studienbeginn (Median; Bereich)	61,85; 41,9 bis 79,7 53,3;
Biologisches Alter bei T7* (Median; Bereich)	33 bis 74,9

*Gibt das biologische Alter an, gemessen mit dem TruMe-Test nach durchschnittlich sieben Behandlungsmonaten.

rauchte während der gesamten Studie weiter. Die Mehrheit der Studienteilnehmer (66,7 %, n = 28) war männlich. Das mittlere chronologische Alter dieser Kohorte betrug etwa 63 Jahre.

Bei allen 42 Teilnehmern konnten wir das biologische Ausgangsalter mithilfe des Altersvorhersagemodells von TruMe messen, bevor sie mit der Einnahme von Rejuvant® begannen. Wir verwendeten das TruAge-Vorhersagemodell mit Sanger-Sequenzierung für die DNA-Methylierungsanalyse. Insgesamt wurden 3 Gene einschließlich 9 CpG-Stellen durch die Sanger-Sequenzierung analysiert. Die für alle CpG-Stellen erhaltenen DNA-Methylierungswerte wurden in das TruMe-Altersvorhersagemodell (ausstehende Veröffentlichung) aufgenommen.

Wir haben den Vorhersagefehler des epigenetischen TruAge-Tests wie zuvor beschrieben bewertet. Der Vergleich der vorhergesagten mit den tatsächlichen Alterswerten ergibt einen mittleren absoluten Fehler von 4,23 Jahren. Der mittlere Fehler von 0,35 Jahren zeigt, dass diese Population insgesamt etwas jünger sein könnte als erwartet. Es ist bekannt, dass die Vorverarbeitung der Normalisierung von DNA-Methylierungsdatensätzen und ihrer Altersvarianz die Differenz zwischen dem geschätzten und dem chronologischen Alter beeinflussen kann. Ein Maß für die Robustheit gegenüber diesen Faktoren beinhaltet die Berechnung der Residuen einer linearen Regression des vorhergesagten vs. tatsächlichen Alters. Wir fanden heraus, dass das geschätzte Alter einen Regressionskoeffizienten von 0,88 hatte und dass die lineare Regression (angepasste Linie in Abbildung 1) ein angepasstes R-Quadrat von 0,59 mit einem mittleren absoluten Fehler von 3,97 Jahren aufwies. Schließlich fanden wir auch eine statistisch signifikante (p-Wert = $2,026 \times 10^{-9}$) lineare Pearson-Korrelation von 0,77 (95 % KI: 0,61 bis 0,87) zwischen dem geschätzten und dem tatsächlichen Alter unserer Kohorte zu Studienbeginn.

Wir prüften auch, ob es eine geschlechtsspezifische Verzerrung der biologischen Altersbestimmung gab, indem wir Männer (28) und Frauen (14) getrennt analysierten. Nach dem gleichen Verfahren wie zuvor fanden wir für Männer einen mittleren absoluten Fehler von

das vorhergesagte vs. tatsächliche Alter von 4,92 Jahren und ein mittlerer Fehler von -0,22 Jahren. Der mittlere absolute Fehler der linearen Regression betrug 4,64 Jahre, mit einem angepassten R-Quadrat von 0,6 und einem Regressionskoeffizienten von 0,90 (Abbildung 2). Darüber hinaus korrelierten das geschätzte und das tatsächliche Alter zu Studienbeginn bei Männern linear (p-Wert = $7,74 \times 10^{-7}$) mit einer Größenordnung von 0,78 (95 % KI: 0,58 bis 0,9). Für Frauen zeigte das analoge Regressionsverfahren einen mittleren absoluten Fehler von 3,887 Jahren mit einem angepassten R-Quadrat von 0,51 und einem Regressionskoeffizienten von 0,83 (Abbildung 2). Darüber hinaus fanden wir einen mittleren absoluten Fehler des vorhergesagten gegenüber dem tatsächlichen Alter von 3,41 Jahren. Der mittlere Fehler von 1,48 Jahren könnte darauf hindeuten, dass die Weibchen unserer Kohorte wahrscheinlich jünger als erwartet sind. Um dies zu untersuchen, haben wir eine multilineare Regression mit dem Geschlecht als zusätzliche Variable auf unsere gesamte Kohorte angewendet. Das Geschlecht erwies sich als kein statistisch signifikanter Prädiktor für das chronologische Alter zu Studienbeginn (Tabelle 2). Darüber hinaus gab es eine statistisch signifikante (p-Wert = 0,002) lineare Korrelation von 0,74 (95 %-KI: 0,35 bis 0,91) zwischen dem geschätzten und dem tatsächlichen Alter zu Studienbeginn für Frauen. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass es im Zusammenhang mit diesem begrenzten Datensatz keinen statistischen Unterschied in der Vorhersagefähigkeit des epigenetischen TruAge-Tests in Bezug auf Männer und Frauen gab.

Die Teilnehmer füllten zu Beginn und am Ende der Studie eine Umfrage aus. Dieser selbstberichtete Fragebogen enthielt Informationen zu Ernährung, Alkoholkonsum, vorherigem Konsum von Rejuvant®, Gesundheit, Größe und Gewicht (was eine Schätzung des BMI ermöglichte), Schlafdauer, Raucherstatus, Trainingshäufigkeit, körperliche Aktivität, Häufigkeit von Mahlzeiten, Snacks Häufigkeit, Anzahl der zusätzlich konsumierten Nahrungsergänzungsmittel und Häufigkeit, Haarstatus, Bildung, Einstellung zu einer gesunden Lebensweise und Vertrauen in Nahrungsergänzungsmittel (Ergänzungstabelle 1).

Wir nutzten die Informationen aus Basiserhebungen, um zu überprüfen, ob es andere Confounder in unserer Kohorte gab, die ihre Leistung erbrachten

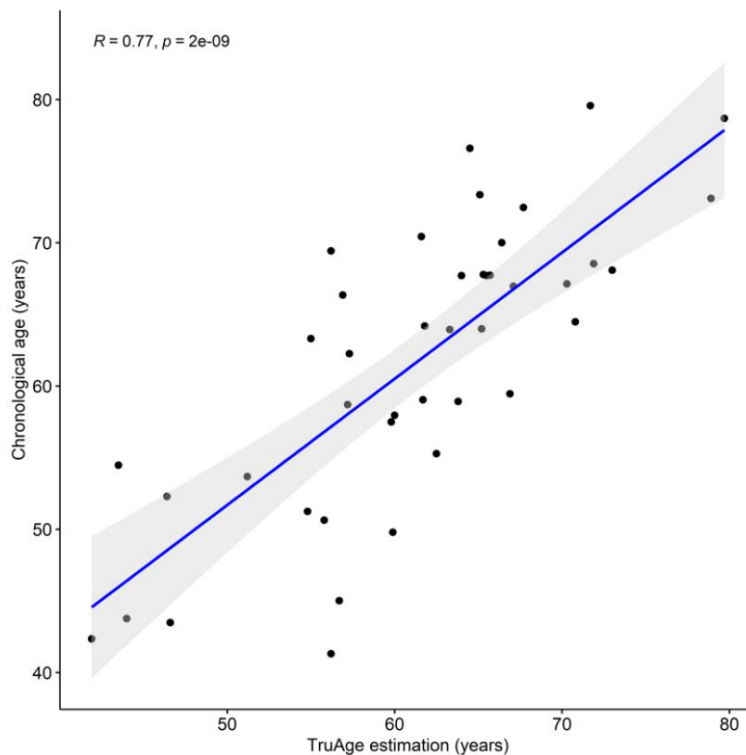


Abbildung 1. Die TruAge-Altersschätzung und das chronologische Ausgangsalter sind linear korreliert. Das biologische Alter von TruAge korreliert hochgradig (adjustiertes R-Quadrat = 0,77) statistisch signifikant (p -Wert = 2×10^{-9}) mit dem chronologischen Alter der 42 Patienten.

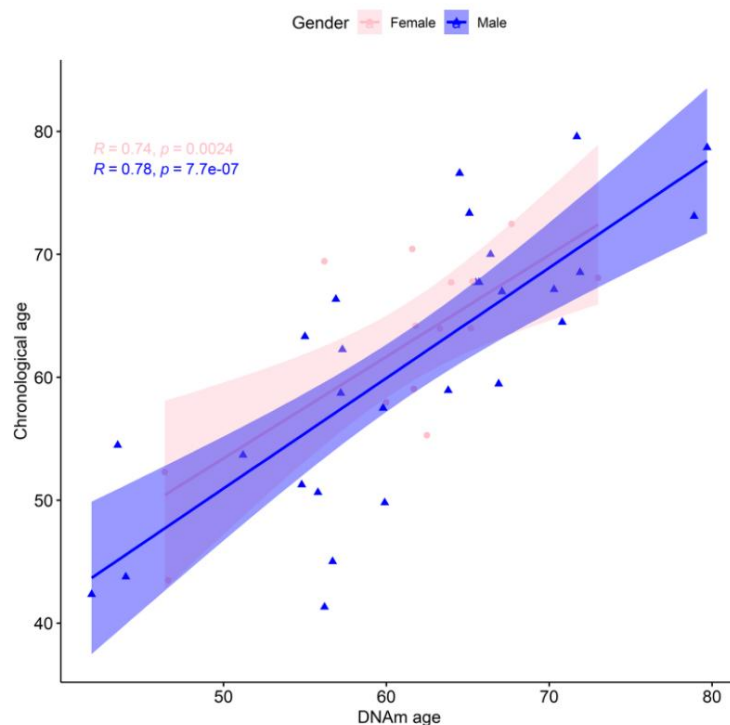


Abbildung 2. Die TruAge-Altersschätzung und das chronologische Ausgangsalter sind bei beiden Geschlechtern linear korreliert. Die x-Achse zeigt das von TruAge geschätzte DNA-Methylierungsalter und die y-Achse das chronologische Alter der 42 Patienten zu Studienbeginn. Die rosafarbenen und blauen linearen Korrelationsdiagramme zeigen die ähnlich hohe statistisch signifikante lineare Korrelation zwischen beiden Achsen für weibliche bzw. männliche Patienten.

Tabelle 2. Wirkung von Rejuvant® auf das biologische Alter der Studienteilnehmer.

Biologische Altersverteilungen	Männliche Teilnehmer (in Jahren)	Weibliche Teilnehmer (in Jahren)
Biologisches Mindestalter zu Studienbeginn		
Mittleres biologisches Alter zu Studienbeginn	61,85	62.15
Mittleres biologisches Alter zu Studienbeginn	61,38	61.09
Maximales biologisches Alter zu Studienbeginn	79,7	73
Biologisches Mindestalter bei T7*	33	33.4
Mittleres biologisches Alter bei T7*	53.3	55.55
Mittleres biologisches Alter bei T7*	53,53	54,66
Maximales biologisches Alter bei T7*	74,9	63,7
Minimale Änderung des biologischen Alters	-1,86	-0,41
Mittlere Veränderung des biologischen Alters	7,09	5,83
Mittlere Veränderung des biologischen Alters	8.44	6,98
Maximale Änderung des biologischen Alters	22.7	14.09

*Gibt das biologische Alter an, gemessen mit dem TruMe-Test nach durchschnittlich sieben Behandlungsmonaten.

eine multivariable lineare Regression. Aufgrund der beträchtlichen Anzahl prädikativer Variablen haben wir eine schrittweise lineare Regression durchgeführt. Obwohl im schrittweisen Modell zusätzliche Kovariaten ausgewählt wurden, betrug der erhaltene p-Wert beim Vergleich mittels Varianzanalyse mit der einfacheren univariaten linearen Regression unter ausschließlicher Verwendung des geschätzten TruAge-Alters 0,12 (Ergänzungstabelle 2). Dies weist darauf hin, dass sich die beiden Modelle im Vergleich statistisch nicht signifikant unterscheiden und daher das einfachere Modell gewählt wurde.

Es war von Interesse festzustellen, ob der Unterschied zwischen dem chronologischen Alter und TruAge mit dem Lebensstil oder demografischen Faktoren zusammenhängt. Mit anderen Worten, es ist wichtig zu beurteilen, ob diese Kovariaten mit biologisch jüngeren oder älteren Personen assoziiert sind. Wir haben BMI, Alkoholkonsum, selbsteingeschätzte Gesundheit, Schlafdauer, Rauchergeschichte, Trainingshäufigkeit und -intensität sowie Haarfülle als Prädiktorvariablen ausgewählt, da diese Teilmenge der gesammelten Umfrageinformationen eindeutig mit dem biologischen Alter in Verbindung gebracht und/oder beeinflusst werden kann. Die schrittweise lineare Regression ergab keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen diesen Variablen und dem Unterschied zwischen dem chronologischen und dem biologischen TruAge-Alter (Ergänzungstabelle 2). Bemerkenswert ist, dass die Anzahl der Teilnehmer ziemlich gering ist (z. B. gab es einen Raucher und nur 6, die eine Rauchergeschichte angaben). Daher ist es wahrscheinlich, dass einer oder mehrere dieser Lebensstilparameter das mit dem TruAge-Test gemessene biologische Alter beeinflussen und dass ein größerer Datensatz Assoziationen aufdecken würde.

Ergebnisse des CaAKG-Verbrauchs zum biologischen Alter

Das Ziel der Studie war es, die Wirkung von zu bestimmen Rejuvant®-Ergänzung zur biologischen Alterung des Menschen

durch Messung der DNA-Methylierung. Nach der Baseline-Messung wurde jedem Studienteilnehmer Rejuvant® für die Dauer der Studie verabreicht. Obwohl den Teilnehmern empfohlen wurde, die Behandlung für 4 bis 6 Monate durchzuführen, gab es beträchtliche individuelle Unterschiede in der Behandlungsdauer. Nach Abschluss des selbstgewählten Behandlungszeitraums reichten die Teilnehmer ihre Speichelproben zur Analyse ihres biologischen Alters mit handelsüblichen TruMe-Tests ein.

Basierend auf den zu Studienbeginn und am Ende der Studie eingereichten Fragebögen identifizierten wir eine Untergruppe von 13 Personen, die keine Änderungen in Bezug auf Ernährungstyp, Trinkhäufigkeit, zusätzliche Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln, Schlafdauer und Trainingshäufigkeit angaben. Diese homogene Teilmenge wurde daher für die vorläufige Bewertung der unabhängigen Wirkung von CaAKG verwendet, da die anderen Kovariaten vom Design her kontrolliert werden.

Zu Studienbeginn war diese Untergruppe oder unsere Kohorte im Durchschnitt 2,06 Jahre biologisch jünger als ihr chronologisches Alter. Am Ende der Behandlung war diese Subpopulation im Durchschnitt 9,74 Jahre biologisch jünger als ihr jeweiliges chronologisches Alter. Unter Verwendung des einseitigen gepaarten Welch-T-Tests mit zwei Stichproben wurde festgestellt, dass dieser Mittelwertunterschied von 7,69 Jahren mit einem p-Wert von $7,263 \times 10^{-5}$ (Abbildung 3) statistisch signifikant ist. Es ist bemerkenswert, dass alle Probanden in dieser kleinen Gruppe ihr biologisches Alter verringerten.

Nachdem wir entdeckt hatten, dass eine CaAKG-Supplementierung das epigenetische Alter in einer kleinen homogenen Population durchweg verringerte, führen wir fort, indem wir seine Auswirkungen auf die gesamte Kohorte von 42 Patienten untersuchten. Zu Studienbeginn war die Kohorte im Durchschnitt 0,35 Jahre biologisch jünger als ihr chronologisches Alter. Bis zum Ende der Behandlung änderte sich dieser Wert auf durchschnittlich 8,31 Jahre biologisch jünger als ihre jeweilige Person

chronologisches Alter. Unter Verwendung des einseitigen gepaarten Welch-T-Tests mit zwei Stichproben wurde dieser Mittelwertunterschied von 7,96 Jahren mit einem p-Wert von $6,538 \times 10^{-12}$ als statistisch signifikant befunden (Abbildung 4).

Die Formulierung des Nahrungsergänzungsmittels Rejuvant® selbst ist für Männer und Frauen unterschiedlich. Genauer gesagt werden zusätzlich zu CaAKG Vitamin A und Vitamin D hinzugefügt

zu der kommerziellen Formulierung für Männer bzw. Frauen (siehe Methoden). Ungeachtet dessen verringert die Wirkung der Supplementierung mit Rejuvant® das epigenetische Alter in statistisch signifikanter Weise bei Männern und Frauen (Abbildung 5). Die gepaarte mittlere Abnahme beträgt 8,44 Jahre bei Männern und 6,98 Jahre bei Frauen. Nur 2 Individuen (1 männlich und 1 weiblich) zeigten eine geringfügige Erhöhung des biologischen Alters.

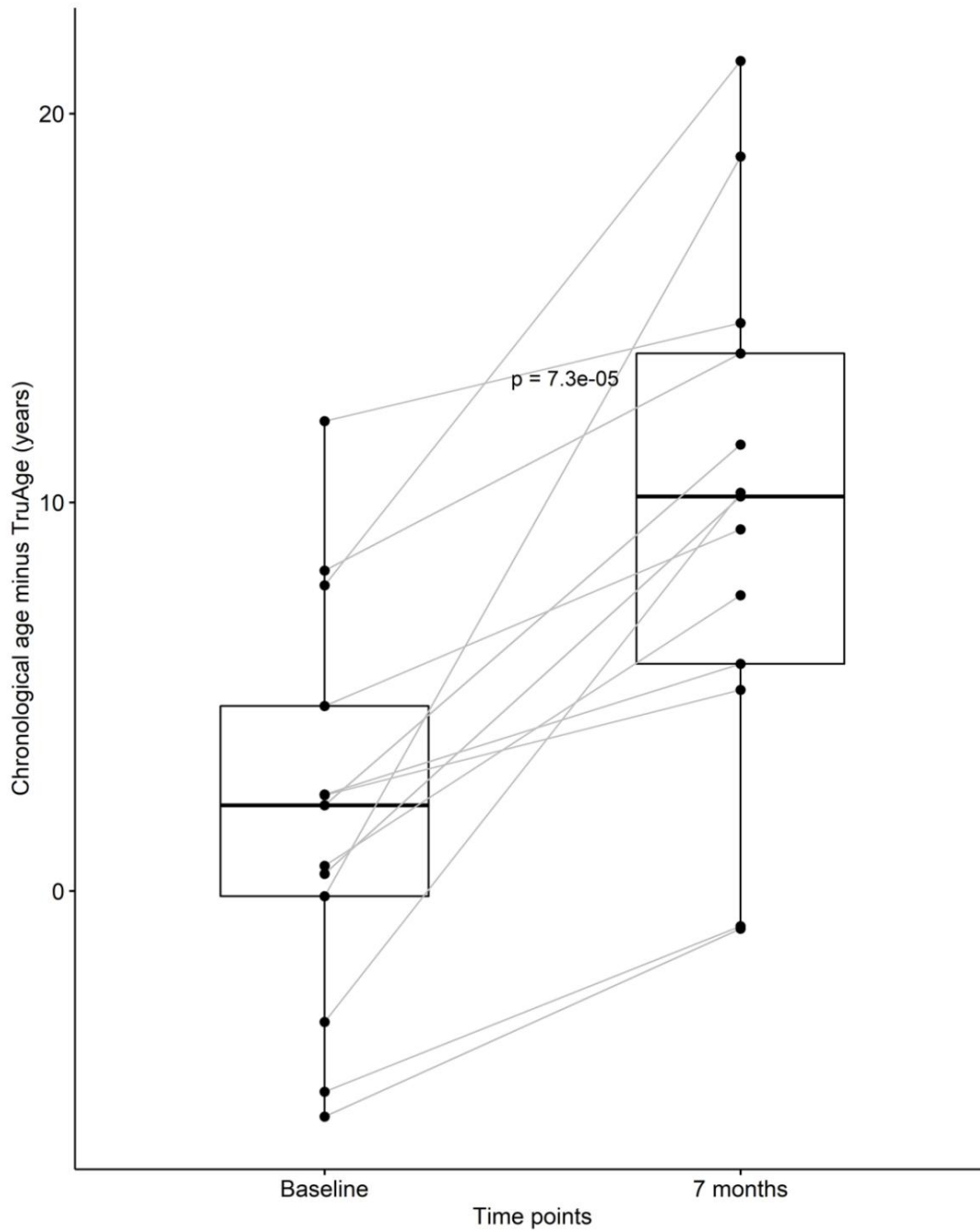


Abbildung 3. CaAKG senkte das Methylierungsalter in einer homogenen Subpopulation. Die gepaarten Boxplots stellen die Behandlungseffekte auf Patienten- und Gruppenebene ($n = 13$) zwischen dem Ausgangswert und dem Ende der Studie (die im Durchschnitt eine Dauer von 7 Monaten hatte) dar. Die Boxplots zeigen den Median sowie das 25. und 75. Quartil.

Die Gültigkeit der statistischen Analyse unter Verwendung der gesamten Kohorte basiert auf der Modellierung von Kovariaten. Für die Erkennung von Variablen, die zu einem statistisch signifikanten Unterschied im TruMe-DNA-Methylierungstest führen, haben wir iterativ schrittweise Regressionen verwendet. Dieses Verfahren gipfelte in dem sparsamsten Modell, das nur das chronologische Basisalter und die Differenz zwischen diesen verwend-

chronologisches und biologisches Basisalter, als die einzigen statistisch signifikanten Prädiktoren für das Ausmaß der Abnahme des epigenetischen Alters durch Rejuvant®. Dementsprechend haben wir die Wirkung der Rejuvant®-Ergänzung auf das Methylierungsalter als lineare Regression dieser beiden Variablen modelliert. Diese Daten weisen darauf hin, dass Personen mit einem höheren biologischen Alter (relativ zu ihrem chrono-

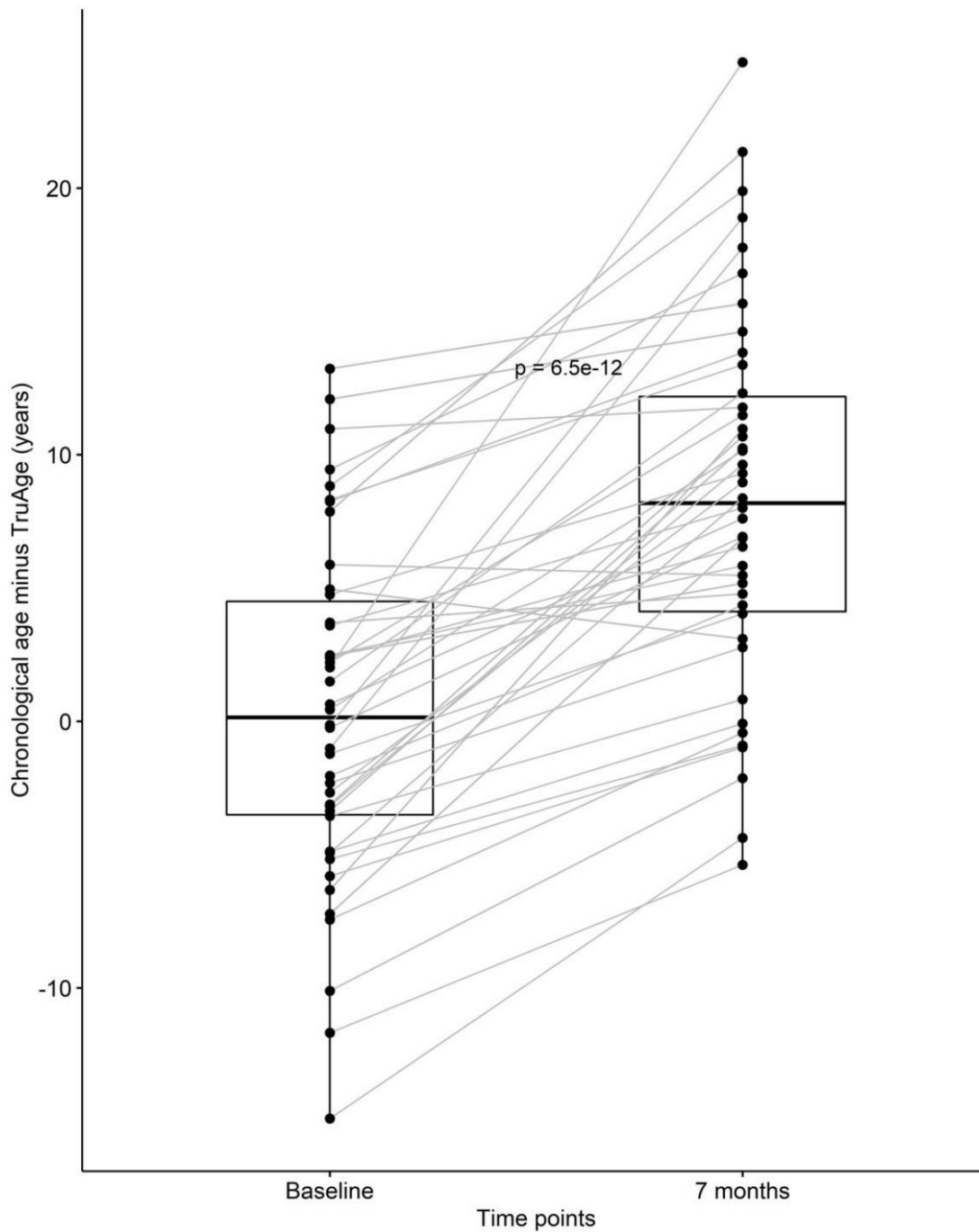


Abbildung 4. CaAKG verringerte das Methylierungsalter in der gesamten Kohorte. Die gepaarten Boxplots stellen die Behandlungseffekte auf Patienten- und Gruppenebene ($n = 42$) zwischen dem Ausgangswert und dem Ende der Studie (die im Durchschnitt eine Dauer von 7 Monaten hatte) dar. Die Boxplots zeigen den Median sowie das 25. und 75. Quartil.

und/oder Menschen mit einem hohen chronologischen Ausgangsalter sprechen am stärksten auf Rejuvant® an.

Unter Verwendung des endgültigen reduzierten Modells, bei dem nur die beiden Variablen statistisch signifikant mit einer Abnahme des epigenetischen Alters im Verlauf der Behandlung in Zusammenhang stehen, kann der epigenetische Altersunterschied (in Jahren) von etwa 7 Monaten CaAKG-Ergänzung modelliert werden Gleichung:

$$\text{Verringerung von TruAge} + \hat{\beta} \cdot \text{Alter} + 0,22 = \hat{\beta} \cdot 0,45 \hat{\beta} \cdot \text{diffAge}$$

wobei „Alter“ für das chronologische Alter zu Beginn der Behandlung steht und „diffAge“ als Differenz zwischen dem chronologischen Alter und dem TruMe-Alter zu Studienbeginn definiert ist.

Die Ebene, die diese Regression darstellt, ist dargestellt (Abbildung 6).

Interessanterweise korreliert die Dauer der Behandlung nicht mit dem Ausmaß der Wirkung der Nahrungsergänzung mit Rejuvant®. Dies deutet darauf hin, dass die durchschnittliche Behandlungsdauer unserer Kohorte von etwa 7 Monaten ausreichen könnte, um die Vorteile der Nahrungsergänzung auszuschöpfen.

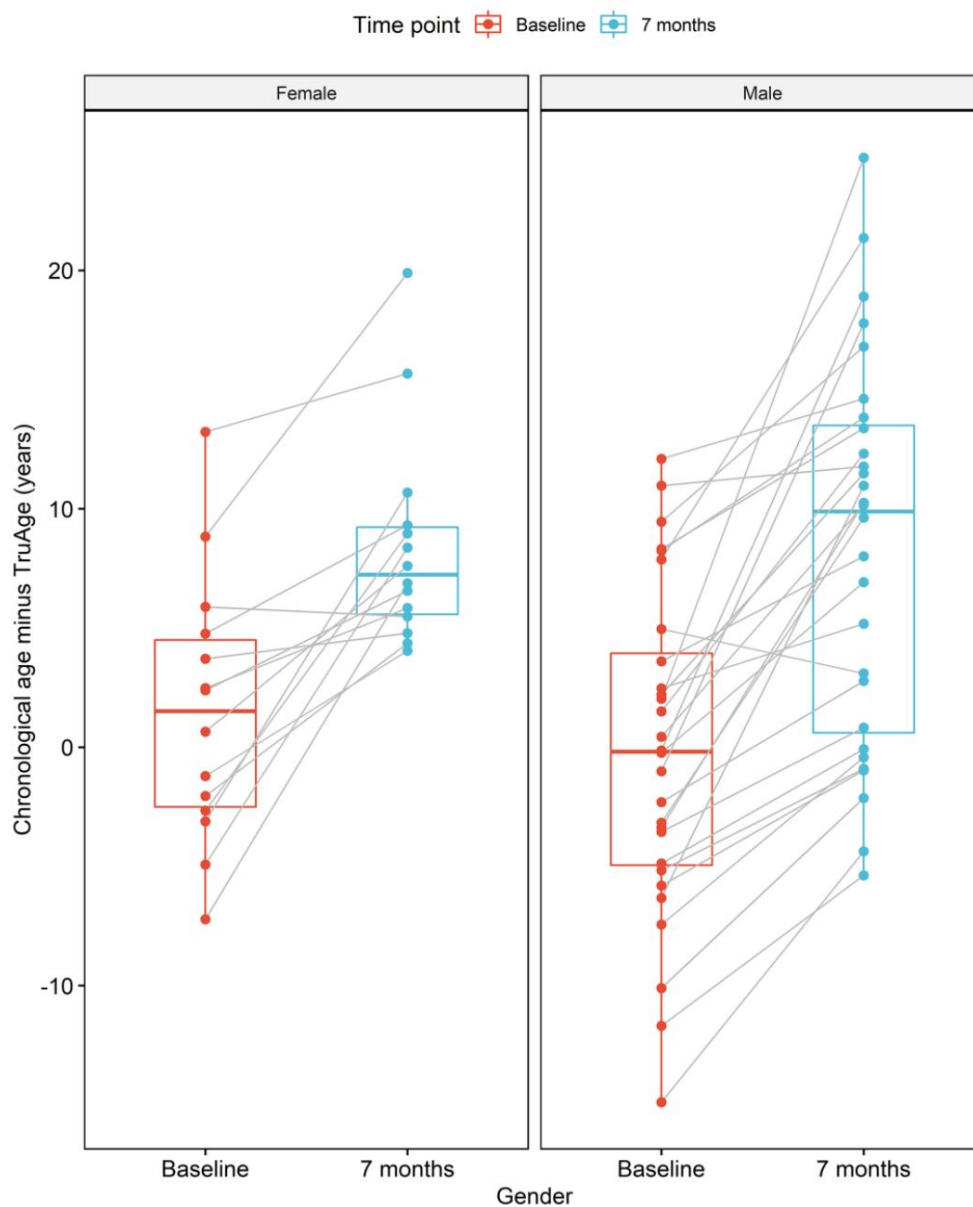


Abbildung 5. CaAKG senkt das Methylierungsalter unabhängig vom Geschlecht. Das Bild zeigt die Auswirkungen von CaAKG auf das Methylierungsalter zwischen Beginn und Ende der Behandlung, aufgeschlüsselt nach Geschlecht. Für jedes Geschlecht zeigen die gepaarten Boxplots in Rot und Blau die Daten zu Beginn bzw. am Endpunkt. Die Boxplots basieren auf dem Median sowie dem 25. und 75. Quartil.

Interessanterweise stimmt dieser Befund mit mathematischen Extrapolationen aus einer groß angelegten Studie über vollständige Blutbildmessungen überein, die vorhersagen, dass die Wirkungen einer Langlebigkeitsintervention bei einer gesunden Bevölkerung in kurzer Zeit gesättigt sein werden [30]. Dieselbe Studie sagte voraus, dass die Vorteile solcher Interventionen bei Personen, die näher an einem gebrechlichen Zustand sind, größer sein würden, was mit unseren Daten übereinstimmt.

Allerdings gibt es nur sehr wenige Daten zur längerfristigen Anwendung von Rejuvant® oder höheren Dosen des Produkts, und weitere Auswirkungen auf das biologische Alter sind denkbar. Wir haben auch nicht gemessen, ob die Vorteile im biologischen Alter verloren gehen, wenn die Nahrungsergänzung abgesetzt wird, daher kann eine kontinuierliche Nahrungsergänzung erforderlich sein, um die beobachteten Wirkungen aufrechtzuerhalten.

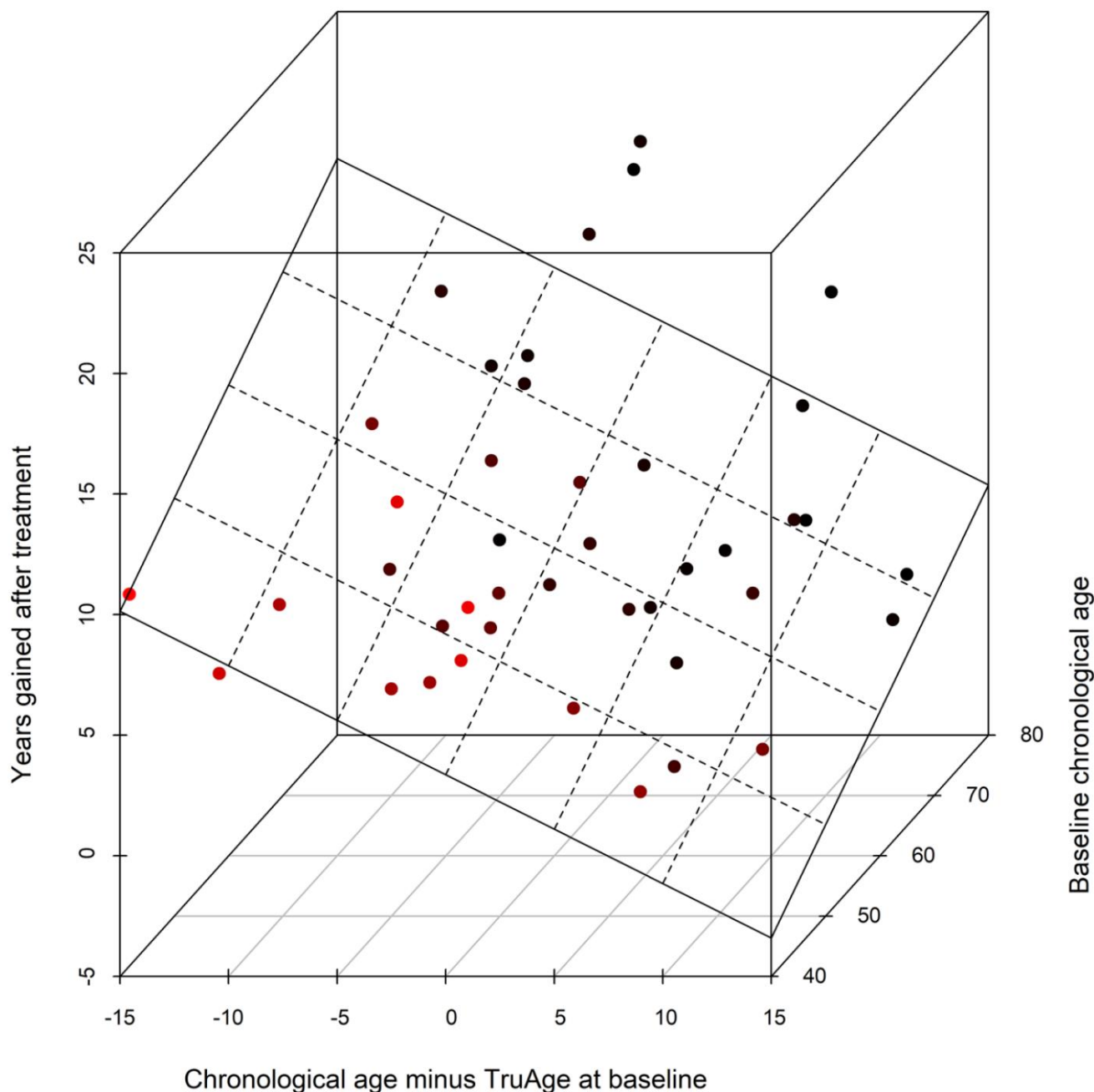


Abbildung 6. 3D-Streudiagramm der Kovariaten, die die Wirksamkeit der CaAKG-Behandlung beeinflussen. Die x-Achse bezieht sich auf die Differenz in Jahren zwischen dem chronologischen und dem biologischen Alter zu Studienbeginn (ein Patient in einem älteren Zustand hat einen größeren positiven Wert). Die y-Achse zeigt die Wirkung der CaAKG-Behandlung in Jahren, in denen das Methylierungsalter abnahm (höhere Werte weisen auf größere Vorteile hin). Die z-Achse ist das chronologische Alter bei Studienbeginn (ältere Patienten sind „tiefer“). Die 3D-Ebene wurde unter Verwendung der linearen Regression beider Kovariaten zum Behandlungseffekt verfolgt.

DISKUSSION

Es hat sich gezeigt, dass AKG die Lebensdauer in verschiedenen Modellsystemen verlängert. In dieser Studie haben wir einen zuvor entwickelten Algorithmus verwendet, der das biologische Alter des Menschen vorhersagt, um festzustellen, ob Rejuvant®, CaAKG + Vitamine mit verzögerter Freisetzung, eine positive Wirkung auf die menschliche Langlebigkeit hat. Insgesamt 42 Personen, von denen bekannt war, dass sie Rejuvant® einnehmen und die Speichelproben für DNA-Methylierungstests eingereicht hatten, wurden ausgewählt, um an einer Umfrage und Analyse der biologischen Alterungsergebnisse des Kunden teilzunehmen. Ihr DNAm TruAge Index wurde zu Studienbeginn (vor Beginn der Behandlung mit Rejuvant®) gemessen und nach durchschnittlich 7 Monaten Anwendung erneut getestet. Insgesamt zeigten diese 42 Personen eine statistisch signifikante durchschnittliche Verringerung ihres biologischen Alters von ungefähr 8 Jahren.

Die allgemeine Meinung auf dem Gebiet der Alterungsforschung ist, dass Interventionen wahrscheinlich Untergruppen der Bevölkerung betreffen und keine Intervention (Lebensstil oder kleine Moleküle) das biologische Alter in der gesamten Bevölkerung verzögern oder reduzieren wird. Überraschenderweise reagierte in dieser Gruppe die überwiegende Mehrheit der Teilnehmer mit einem reduzierten biologischen Alter nach der Behandlung mit Rejuvant®. Obwohl die Studie Einschränkungen aufweist (unten beschrieben), sind diese Ergebnisse ermutigend. Interessanterweise gab es zwei Parameter, die das Ausmaß der Reaktion beeinflussten: die Teilnehmer mit höherem biologischem Alter im Verhältnis zum chronologischen Alter und diejenigen mit höherem chronologischem Alter zu Studienbeginn. Dies legt nahe, dass Rejuvant® – möglicherweise entgegen den Erwartungen angesichts der bekannten Rolle von AKG bei der Steigerung der Trainingsleistung – bei Teilnehmern, die biologisch älter als ihr chronologisches Alter sind, eine stärkere Reaktion zeigt. Man könnte dieses Ergebnis auch für eine Langlebigkeitsintervention auf der Grundlage der Hypothese vorhersagen, dass Personen mit einem niedrigen relativen biologischen Alter bereits nahezu optimiert altern und weniger zu gewinnen haben. Derzeit gibt es keine ausreichenden Daten zum Altern des Menschen, um vorhersagen zu können, welche Bevölkerungsgruppen auf eine bestimmte Intervention ansprechen werden.

Der TruAge-Methylierungstest, der urheberrechtlich geschützt bleibt, wurde entwickelt, indem eine begrenzte Anzahl von Methylierungsstellen in CpG-Inseln von Promotoren untersucht wurde, basierend auf einer Optimierung auf das chronologische Alter unter Verwendung eines maschinellen Lernansatzes. Während es einen kleineren Teil des Genoms untersucht als andere Methylierungsuhren, hat es den Vorteil, dass es günstiger ist. Darüber hinaus kann der TruAge-Test problemlos von Verbrauchern verwendet werden, die Speichel auf eine Papierkarte geben und die Probe zur Analyse einsenden. Es wurde gezeigt, dass der TruAge-Test im Vergleich zu anderen epigenetischen Uhren (unveröffentlicht) ähnliche Ergebnisse liefert, jedoch wären weitere Tests mit anderen Methylierungsuhren und anderen Biomarkern des Alterns von Vorteil, um die Wirkung von Rejuvant® zu messen

auf die Langlebigkeit des Menschen. Eine grundsätzliche Frage zu unterschiedlichen biologischen Alterungsmaßen betrifft deren Übereinstimmungsgrad: Messen sie die gleichen, sich überschneidenden oder völlig unterschiedliche Aspekte des Alterungsprozesses?

Die Daten in dieser Studie sind zwar begrenzt, deuten jedoch darauf hin, dass CaAKG tatsächlich die Alterung beeinflussen kann, zumindest gemessen an der Methylierung. Erwähnenswert ist auch, dass AKG ein bekanntes Substrat für DNA-Demethylasen ist [31], die potenziell von TruAge abgefragte DNA-Stellen demethylieren. Die AKG-Ergänzung führt jedoch sowohl zu einer Demethylierung als auch zu einer Hypermethylierung einiger CpG-Stellen in Speichelzellen, was darauf hindeutet, dass Rejuvant® eine größere Wirkung auf methylierungsbasierte Alterungsuhren haben könnte als andere Indikatoren für das biologische Alter.

Es gibt mehrere Einschränkungen für diese Studie. In erster Linie ist es nicht placebokontrolliert. Daher besteht eine mögliche Sorge darin, dass der Placebo-Effekt zu einem gewissen Grad zu den beobachteten Veränderungen beigetragen haben könnte. Das selbstberichtete Vertrauen in die Wirksamkeit von Nahrungsergänzungsmitteln wurde jedoch in keinem unserer Regressionsmodelle als statistisch signifikanter Prädiktor angesehen, was das Risiko in gewissem Maße mindert. Darüber hinaus beschreibt die Studie eine begrenzte Stichprobengröße und wir waren nicht in der Lage, andere Arten von Daten zu sammeln, die für das Altern relevant sind, beispielsweise klinische Marker für Alterung und Krankheit, und andere biologische Alterungsuhren anzuwenden [6]. Zukünftige randomisierte klinische Studien werden erforderlich sein, um die hier vorgestellten Ergebnisse zu bestätigen. Dennoch deuten die Ergebnisse in diesem Manuskript darauf hin, dass Rejuvant® signifikante Auswirkungen auf das biologische Alter haben könnte, gemessen anhand der DNA-Methylierung von Speichelproben.

MATERIALEN UND METHODEN

Teilnehmer

Eine Gruppe von 42 nach eigenen Angaben gesunden Personen (14 Frauen und 28 Männer), die Speichelproben (zwei Proben pro Person) eingereicht hatten. Speichelproben wurden zu Studienbeginn (T0) und 4–10 Monate, nachdem der Teilnehmer mit der Einnahme von Rejuvant® (T7) in einer festen Dosis von zwei Tabletten pro Tag begonnen hatte, gesammelt. Jede Dosis enthielt 1 Gramm Calcium-Alpha-Ketoglutarat zusammen mit Vitamin A für die Formulierung des männlichen Teilnehmers oder Vitamin D für die Formulierung des weiblichen Teilnehmers und wurde in einer Formulierung mit verzögerter Freisetzung abgegeben, wie auf den Formulierungsetiketten dargestellt.

TruMe identifizierte potenzielle Studienteilnehmer von allen Kunden mit zwei zuvor durchgeführten DNAm-Tests (ein Baseline-Test vor Beginn und ein zweiter Test 4 bis 10 Monate nach der Rejuvant(R)-Ergänzung. Potenzielle Probanden wurden eingewilligt und gebeten, einen Fragebogen auszufüllen, in dem sie Änderungen des Lebensstils vor und nachher angeben Nahrungsergänzung, Bewegung, Schlaf, Alkohol

Konsum, Rauchen und Einnahme von Nahrungsergänzungsmitteln. Das Einwilligungsförmular enthielt die folgende Erklärung: „TruMe hätte gerne Ihre Erlaubnis, die Ergebnisse Ihres biologischen Alters für wissenschaftliche und akademische Zwecke zu verwenden. Sie bleiben immer anonym und es werden niemals personenbezogene Daten weitergegeben.

TruMe verwendet keine vollständige Genomsequenzierung und generiert oder verwaltet daher keine genetisch identifizierbaren Daten. Wir verkaufen niemals Ihre Daten oder persönlichen Informationen.“ Teilnehmer, die gemäß den GCP-Prinzipien eine entsprechende Einwilligung erteilten, wurden in die Studie aufgenommen. Die Analyse der Teilnehmerdaten wurde aggregiert und anonym durchgeführt (Tabelle 1).

Vitamin A (als Retinylpalmitat)	900 mcg 100 %
Kalzium	190 mg 15 %
Calcium-Alpha-Ketoglutarat Monohydrat (LifeAKG™)	1000 mg †

Vitamin-D	25 µg
Kalzium	190 mg
Calcium-Alpha-Ketoglutarat Monohydrat (LifeAKG™)	1000mg

Probenentnahme und Bisulfat-Sequenzierung

Die Speichelproben wurden von den Teilnehmern zu Hause mit handelsüblichen TruMe-Probenahmekits selbst gesammelt.

Die Teilnehmer wurden angewiesen, etwa 200–300 ml ihrer Speichelproben auf FTA Classic Cards (FTA Classic Cards, Nr. WB120205, von GE Healthcare Life Sciences) zu sammeln. Speichelproben wurden 30–45 Minuten lang an der Luft getrocknet, bevor sie an TruMe Labs verschickt wurden.

DNA-Methylierung und DNAm-Altersberechnung

Aus jeder Probe wurden Kreise mit einem Durchmesser von 1 Zoll erhalten und die DNA mit dem Quick-DNA Microprep Plus Kit (ZymoResearch, CA, USA) gemäß dem Protokoll des Herstellers eluiert. 200–500 ng der eluierten DNA wurden mit dem EZ DNA Methylation Lighting™ Kit gemäß den Anweisungen des Herstellers (ZymoResearch, CA, USA) Bisulfat-konvertiert. Die PCR-Amplifikation von Bisulfat-konvertierter DNA wurde unter Verwendung von standardmäßigen zielspezifischen Primern (IDT, Newark, NJ, USA) durchgeführt. Die PCR-Reaktion wurde unter Verwendung von ZymoTaq PreMix E2004 (ZymoResearch, CA, USA) angesetzt.

Jedes PCR-Fragment wurde unter Verwendung des Standard-Sanger-Sequenzierungsprotokolls analysiert, und die Methylierungsgrade wurden unter Verwendung eines proprietären Algorithmus analysiert, der von TruMe Inc. entwickelt wurde. Der TruMe-Altersvorhersagealgorithmus verwendet a

multivariates Modell zur Vorhersage des biologischen Alters des Individuums.

statistische Analyse

Die Daten wurden analysiert und die Diagramme mit der Programmiersprache R erstellt. Kontinuierliche Variablen wurden unter Verwendung des Shapiro-Wilk-Tests auf Normalität getestet.

In Fällen, in denen wir die Nullhypothese nicht ablehnen (p-Wert nicht kleiner als 0,05), wurde der einseitige Welch-Zwei-Stichproben-Paar-t-Test verwendet, ansonsten der einseitige Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Paar-Test mit Kontinuitätskorrektur [32]. Die Abbildungen 1–5 wurden mit dem R-Paket „ggpubr“ erstellt. Abbildung 6 wurde mit dem R-Paket „scatterplot3d“ erstellt [33].

AUTORENBEITRÄGE

OD half bei der Etablierung des TruMe-Alterstests und war für Experimente zu seiner Verwendung verantwortlich.

DB führte eine statistische Analyse der Daten durch und war an der Erstellung des Manuskripts beteiligt. VB half bei der statistischen Analyse der Daten. RF unterstützte bei der Datenqualitätskontrolle und -analyse sowie bei der Erstellung des Manuskripts. FRP war am Studiendesign, der Manuskripterstellung und der Datenanalyse beteiligt. BKK beteiligte sich an Studiendesign, Manuskripterstellung und Datenanalyse. YVB war an der Etablierung des TruMe-Alterstests, dem Studiendesign, der Erstellung des Manuskripts und der Datenanalyse beteiligt.

DANKSAGUNGEN

Die Autoren danken den Mitgliedern des Kennedy-Labors der NUS sowie den Mitarbeitern von TruMe Labs und PDL Health für Kommentare zum Manuskript.

INTERESSENSKONFLIKTE

Im Juli 2019 schloss TruMe eine nicht exklusive Kundendienstvereinbarung für die DNA-Methylierungstests von Ponce de Leon Health-Kunden ab, die Rejuvant® einnehmen. Weder TruMe noch Ponce de Leon Health haben wechselseitige Eigentumsverhältnisse oder andere finanzielle Interessen zu melden. BKK ist wissenschaftlicher Berater und Vorstandsmitglied von Ponce de Leon Health.

FINANZIERUNG

Die Daten für das Manuskript wurden von Benutzern des Rejuvant-Produkts von Ponce de Leon Health und DNA-Methylierungsanalysen von TruMe Labs bereitgestellt. Die Daten wurden der National University of Singapore zur statistischen Analyse zur Verfügung gestellt, die diese Komponente des Projekts finanziell unterstützte.

VERWEISE

1. Kennedy BK, Berger SL, Brunet A, Campisi J, Cuervo AM, Epel ES, Franceschi C, Lithgow GJ, Morimoto RI, Pessin JE, Rando TA, Richardson A, Schadt EE, et al. Gerowissenschaft: Verknüpfung des Alterns mit chronischen Krankheiten. *Zelle*. 2014; 159: 709–13. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.10.039> PMID:25417146

2. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. Die Kennzeichen des Alterns. *Zelle*. 2013; 153:1194–217. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.039> PMID:23746838

3. Kennedy BK, Pennypacker JK. Medikamente, die das Altern modulieren: der vielversprechende, aber schwierige Weg vor uns. *Übersetzungsres*. 2014; 163:456–65. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2013.11.007> PMID:24316383

4. Wagner KH, Cameron-Smith D, Wessner B, Franzke B. Biomarker des Alterns: Von der Funktion zur Molekularbiologie. *Nährstoffe*. 2016; 8:338. <https://doi.org/10.3390/nu8060338> PMID:27271660

5. Justice JN, Ferrucci L, Newman AB, Aroda VR, Bahnson JL, Divers J, Espeland MA, Marcovina S, Pollak MN, Kritchevsky SB, Barzilai N, Kuchel GA. Ein Rahmen für die Auswahl blutbasierter Biomarker für gerowissenschaftlich geführte klinische Studien: Bericht der TAME Biomarkers Workgroup. *Gerowissenschaft*. 2018; 40:419–36. <https://doi.org/10.1007/s11357-018-0042-y> PID:30151729

6. Kudryashova KS, Burka K, Kulaga AY, Vorobyeva NS, Kennedy BK. Alternde Biomarker: Von Funktionstests zu Multi-Omics-Ansätzen. *Proteomik*. 2020; 20:e1900408. <https://doi.org/10.1002/pmic.201900408> PID:32084299

7. Cavalli G, Heard E. Fortschritte in der Epigenetik verknüpfen Genetik mit Umwelt und Krankheit. *Natur*. 2019; 571:489–99. <https://doi.org/10.1038/s41586-019-1411-0> PID:31341302

8. Unnikrishnan A, Freeman WM, Jackson J, Wren JD, Porter H, Richardson A. Die Rolle der DNA-Methylierung in der Epigenetik des Alterns. *Pharmacol. Ther*. 2019; 195: 172–85. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2018.11.001> PID:30419258

9. G. Hannum, J. Guinney, L. Zhao, L. Zhang, G. Hughes, S. Sada, B. Klotzle, M. Bibikova, J. B. Fan, Y. Gao, R. Deconde, M. Chen, I. Rajapakse, et al. Genomweite Methylierungsprofile zeigen quantitative Ansichten der menschlichen Alterungsraten. *Mol-Zelle*. 2013; 49:359–67. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2012.10.016> PMID:23177740

10. B. Jin, Y. Li, KD Robertson. DNA-Methylierung: über- oder untergeordnet in der epigenetischen Hierarchie? *Gene Krebs*. 2011; 2:607–17. <https://doi.org/10.1177/1947601910393957> PMID:21941617

11. Teschendorff AE, West J, Beck S. Altersbedingte epigenetische Drift: Implikationen und ein Fall von epigenetischer Sparsamkeit? *Hum Mol Genet*. 2013; 22:R7–15. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddt375> PMID:23918660

12. Horvath S. DNA-Methylierungsalter menschlicher Gewebe und Zelltypen. *Genom-Biol*. 2013; 14:R115. <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-10-r115> PMID:24138928

13. Bocklandt S, Lin W, Sehl ME, Sánchez FJ, Sinsheimer JS, Horvath S, Vilain E. Epigenetischer Prädiktor des Alters. *Plus eins*. 2011; 6:e14821. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0014821> PMID:21731603

14. Breitling LP, Saum KU, Perna L, Schöttker B, Holleczek B, Brenner H. Gebrechlichkeit wird in einer deutschen Kohorte mit der epigenetischen Uhr in Verbindung gebracht, aber nicht mit der Telomerlänge. *Klinische Epigenetik*. 2016; 8:21. <https://doi.org/10.1186/s13148-016-0186-5> PMID:26925173

15. Marioni RE, Shah S, McRae AF, Ritchie SJ, Muniz Terrera G, Harris SE, Gibson J, Redmond P, Cox SR, Pattie A, Corley J, Taylor A, Murphy L, et al. Die epigenetische Uhr korreliert mit körperlicher und kognitiver Fitness in der Lothian Birth Cohort 1936. *Int J Epidemiol*. 2015; 44:1388–96. <https://doi.org/10.1093/ije/dyu277> PMID:25617346

16. Horvath S, Erhart W, Brosch M, Ammerpohl O, von Schönfels W, Ahrens M, Heits N, Bell JT, Tsai PC, Spector TD, Deloukas P, Siebert R, Sipsos B, et al. Fettleibigkeit beschleunigt die epigenetische Alterung der menschlichen Leber. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014; 111:15538–43. <https://doi.org/10.1073/pnas.1412759111> PMID:25313081

17. Horvath S, Garagnani P, Bacalini MG, Pirazzini C, Salvioli S, Gentilini D, Di Blasio AM, Giuliani C, Tung S, Vinters HV, Franceschi C. Beschleunigtes epigenetisches Altern beim Down-Syndrom. *Alternde Zelle*. 2015; 14:491–95. <https://doi.org/10.1111/accel.12325> PMID:25678027

18. Lagathu C, Cossarizza A, Béréziat V, Nasi M, Capeau J, Pinti M. Grundlagenforschung und Pathogenese des Alterns mit HIV: mögliche Mechanismen und Biomarker. *AIDS*. 2017 (Beilage 2); 31:S105–19.

- <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000001441>
PMID:28471941
19. Horvath S, Ritz BR. Erhöhtes epigenetisches Alter und Granulozytenzahlen im Blut von Parkinson-Patienten. *Altern* (Albany NY). 2015; 7:1130–42. <https://doi.org/10.18632/aging.100859>
PMID:26655927
20. Levine ME, Lu AT, Bennett DA, Horvath S. Das epigenetische Alter des präfrontalen Kortex ist mit neuritischen Plaques, Amyloidbelastung und kognitiven Funktionen im Zusammenhang mit der Alzheimer-Krankheit verbunden. *Altern* (Albany NY). 2015; 7:1198–211. <https://doi.org/10.18632/aging.100864> PMID:26684672
21. S. Ambatipudi, S. Horvath, F. Perrier, C. Cuenin, H. Hernandez-Vargas, F. Le Calvez-Kelm, G. Durand, G. Byrnes, P. Ferrari, L. Bouaoun, A. Sklias, V. Chajes, K. Overvad, et al. Die DNA-Methylom-Analyse identifiziert eine beschleunigte epigenetische Alterung im Zusammenhang mit der Anfälligkeit für postmenopausalen Brustkrebs. *Eur J Krebs*. 2017; 75:299–307. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2017.01.014> PMID:28259012
22. AS Zannas, J. Arloth, T. Carrillo-Roa, S. Iurato, S. Röh, KJ Ressler, CB Nemeroff, AK Smith, B. Bradley, C. Heim, A. Menke, JF Lange, T. Brückl, et al. Lebenslanger Stress beschleunigt das epigenetische Altern in einer städtischen, afroamerikanischen Kohorte: Relevanz der Glukokortikoid-Signalübertragung. *Genom-Biol*. 2015; 16:266. <https://doi.org/10.1186/s13059-015-0828-5> PMID:26673150
23. Asadi Shahmirzadi A, Edgar D, Liao CY, Hsu YM, Lucanic M, Asadi Shahmirzadi A, Wiley CD, Gan G, Kim DE, Kasler HG, Kuehnemann C, Kaplowitz B, Bhaumik D, et al. Alpha-Ketoglutarat, ein endogener Metabolit, verlängert die Lebensdauer und reduziert die Morbidität bei alternden Mäusen. *Zellstoffwechsel* 2020; 32:447–56.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2020.08.004> PID:32877690
24. Xiao D, Zeng L, Yao K, Kong X, Wu G, Yin Y. Der Glutamin-Alpha-Ketoglutarat (AKG)-Stoffwechsel und seine Auswirkungen auf die Ernährung. *Aminosäuren*. 2016; 48:2067–80.
<https://doi.org/10.1007/s00726-016-2254-8>
PMID:27161106
25. Wu N, Yang M, Gaur U, Xu H, Yao Y, Li D. Alpha-Ketoglutarat: Physiologische und funktionelle Anwendungen. *Biomol Ther* (Seoul). 2016; 24:1–9.
<https://doi.org/10.4062/biomolther.2015.24.1.1>
PMID:26759695
26. Zdzisińska B, Jurek A, Kandefer-Szerszeń M. Alpha-Ketoglutarat als Molekül mit pleiotroper Aktivität: Bekannte und neue Möglichkeiten der therapeutischen Anwendung. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2017; 65:21–36. <https://doi.org/10.1007/s00005-016-0406-x> PMID:27326424
27. Harrison AP, Pierzynowski SG. Biologische Wirkungen von 2-Oxoglutarat mit besonderem Schwerpunkt auf der Regulation von Protein-, Mineral- und Lipidstoffwechsel, Neuroendokrinologie, der Perspektive eines gesunden Alterns Stand der Technik – Übersichtsartikel. *J Physiol Pharmacol*. 2008 (Beilage 1); 59:91–106.
PID:18802218
28. Chin RM, Fu X, Pai MY, Vergnes L, Hwang H, Deng G, Diep S, Lomenick B, Meli VS, Monsalve GC, Hu E, Whelan SA, Wang JX, et al. Der Metabolit γ -Ketoglutarat verlängert die Lebensdauer, indem er die ATP-Synthase und TOR hemmt. *Natur*. 2014; 510:397–401. <https://doi.org/10.1038/nature13264> PMID:24828042
29. Liao CY, Kennedy BK. Mausmodelle und Alterung: Langlebigkeit und Progerie. *Aktuelle Top-Entwickler Biol*. 2014; 109:249–85. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397920-9.00003-2> PMID:24947239
30. Pyrkov TV, Avchaciov K, Tarkhov AE, Menshikov LI, Gudkov AV, Fedichev PO. Die Längsschnittanalyse von Blutmarkern zeigt einen fortschreitenden Verlust der Belastbarkeit und sagt die Grenze der menschlichen Lebensdauer voraus. *Nat Commun*. 2021; 12:2765.
<https://doi.org/10.1038/s41467-021-23014-1>
PMID:34035236
31. Salminen A, Kauppinen A, Hiltunen M, Kaarniranta K. Zwischenprodukte des Krebszyklus regulieren die DNA- und Histonmethylierung: epigenetische Auswirkungen auf den Alterungsprozess. *Alterung Res Rev*. 2014; 16:45–65.
<https://doi.org/10.1016/j.arr.2014.05.004>
PMID:24910305
32. Runyon-NP. *Nichtparametrische Statistik: ein zeitgemäßer Ansatz*. Addison-Wesley Publishing Company. 1977.
33. Ligges U, Maechler M. *scatterplot3d – Ein R-Paket zur Visualisierung multivariater Daten*. *J Stat Softw*. 2003; 8:1–20.
<https://doi.org/10.18637/jss.v008.i11>

ZUSATZMATERIALIEN

Ergänzende Tabellen

Bitte durchsuchen Sie die Volltextversion, um die Daten der Ergänzungstabelle 2 anzuzeigen.

Ergänzende Tabelle 1. Merkmale der Teilnehmer zu Studienbeginn.

	Weiblich	Männlich
N	14	28
Ethnizität (%)		
asiatisch	1 (7,1)	1 (3,6)
Spanisch/Lateinisch	(7,1) 12	(3,6) 23
Weiß/Kaukasier	(85,7) 0	(82,1) 2 (7,1)
Weiße/kaukasische, indianische oder alaskische Ureinwohner	(0,0) 0	1 (3,6)
Weiße/Kaukasier, gebürtige Hawaiianer oder andere pazifische Inselbewohner	(0,0) 62,57	61,16
Chronologisches Alter T0 (Mittelwert (SD))	(8,11) 63,12	(11,03) 61,76
Chronologisches Alter T7* (Mittelwert (SD))	(8,11) 61,09	(11,01) 61,38
Biologisches Alter T0 (Mittelwert (SD))	(7,27) 54,66	(9,64) 53,53
Biologisches Alter T7* (Mittelwert (SD))	(8,17)	(8,62)
Wöchentlicher Alkoholkonsum in Getränken (%)		
0	5 (35,7)	5 (17,9)
1 bis 4	(14,3) 6	(35,7) 8
5 bis 8	(42,9) 1	(28,6) 5
9 bis 14	(7,1)	(17,9)
Aktuelle Anzahl Nahrungsergänzungsmittel (%)		
0	2 (14,3)	4 (14,3)
1 bis 2	(28,6) 5	(10,7) 6
3 bis 4	(35,7) 3	(21,4) 15
5	(21,4)	(53,6)
Selbsteinschätzung der allgemeinen Gesundheit (%)		
Mäßig	1 (7,1)	1 (3,6)
Gut	(50,0) 6	(32,1) 18
Sehr gut	(42,9)	(64,3)
Schlafdauer (%) 4-6		
Stunden	1 (7,1)	2 (7,1)
7-8 Stunden	13 (92,9)	24 (85,7)
Mehr als 8 Stunden	(0,0)	(7,1)
Rauchergeschichte (%)		
Ehemaliger Raucher, aber aufgehört	3 (21,4)	3 (10,7)
Nie Raucher		
Wöchentliche Trainingshäufigkeit (%)		
Selten	1 (7,1)	0 (0,0)
1-2 mal/Woche	(0,0) 7	(17,9) 17
3+ Mal/Woche	(50,0) 6	(60,7) 6
Täglich	(42,9)	(21,4) 25,70
BMI (Mittelwert (SD))	21,84 (2,60)	(3,97) 218,36
Behandlungstage (Mittelwert (SD))	200,57 (35,78)	(41,57)
Ausbildung (%)		
Abitur (oder GED)	1 (7,1)	0 (0,0)
Einige College 4-	(21,4) 2	(14,3) 10
Jahres-College-Abschluss	(14,3) 8	(35,7) 14
Abschluss auf Graduiertenniveau	(57,1)	(50,0)
Durchschnittliche Anzahl der täglichen Mahlzeiten (%)		
2	6 (42,9)	11 (39,3)

3	7 (50,0)	14 (50,0)
4 oder mehr	1 (7,1)	3 (10,7)
Anzahl der täglichen Snacks (%)		
1	6 (42,9)	18 (64,3)
2	6 (42,9)	8 (28,6) 2
3	2 (14,3)	(7,1)
Meinung zu Nahrungsergänzungsmitteln (%)		
Skeptisch	2 (14,3)	3 (10,7)
Keine Meinung	2 (14,3)	0 (0,0)
Interessiert	6 (42,9)	4 (14,3)
Fester Gläubiger	4 (28,6)	21 (75,0)
Wöchentliche Häufigkeit von Nahrungsergänzungsmitteln (%)		
Niemals	1 (7,1)	0 (0,0)
Selten	0 (0,0)	1 (3,6)
Täglich	13 (92,9)	27 (96,4)
Gesunde Lebenseinstellung (%)		
Bereit anzufangen	1 (7,1)	1 (3,6)
Üben	10 (71,4)	15 (53,6)
Gewidmet	3 (21,4)	12 (42,9)
Aktivitätslevel (%)		
Sitzend	1 (7,1)	2 (7,1)
Leicht aktiv	2 (14,3)	5 (17,9)
Aktiv	5 (35,7)	12 (42,9)
Sehr aktiv	6 (42,9)	9 (32,1) 0
Sportlich	0 (0,0)	(0,0)
Haar (%)		
Kahl	0 (0,0)	4 (14,3)
Verdünnung	5 (35,7)	11 (39,3)
Dick und/oder voll	9 (64,3)	13 (46,4)

*Gibt das biologische Alter an, gemessen mit dem TruMe-Test nach durchschnittlich sieben Behandlungsmonaten.

Ergänzende Tabelle 2. Verwendete Regressionsmodelle (mit Koeffizienten).