

Introduzione al BioAge Test

A cura del team scientifico di GEK GROUP

20 febbraio 2019

Che cos'è il test?

BioAge Test è un test genetico che misura la lunghezza media del DNA telomerico dei leucociti del paziente. I telomeri sono la parte terminale di ogni singolo cromosoma che ne protegge le estremità dall'accorciamento determinato dal tempo, dall'invecchiamento e dagli effetti dell'ossidazione. La lunghezza dei telomeri nei leucociti (LTL) si determina rapportando questi segmenti cromosomici con un gene di lunghezza nota.

Come evidenziato da un sempre maggior numero di evidenze scientifiche (1,2), l'accorciamento dei telomeri è un processo fisiologico, che tuttavia se accelerato, può essere un segnale di invecchiamento cellulare precoce oltre che un possibile marcatore legato all'emergere di malattie e persino alla mortalità (3,4).

Il test fornisce al paziente un'indice interpretativo sintetico, la **BioAge**, calcolata interpolando i dati anagrafici e biologici del paziente con un campione di riferimento statistico, un database di riferimento della popolazione costruito da GEK Group applicando le ricerche più recenti sul tema (5).

Esecuzione e applicazione

Di semplice effettuazione, il test si effettua a partire da un campione di sangue secco prelevato capillarmente da un polpastrello, metodo accessibile e fruibile da chiunque.

La comprensione della differenza tra età anagrafica e BioAge può indirizzare cambi di stile di vita o suggerire integrazioni o terapie che contribuiscano a rallentare i naturali processi di invecchiamento. Fattori come ad esempio una alimentazione corretta, un esercizio fisico moderato o l'abbandono di scorrette abitudini come il fumo o l'abuso d'alcool possono certamente avere un effetto rilevante su questo processo.

Relazione tra lunghezza telomerica (LTL) e stili di vita

Le recenti evidenze scientifiche hanno precisato che fattori quali l'esposizione al fumo di sigaretta, l'esercizio fisico, la dieta, la presenza o meno di uno stato infiammatorio e la quantità di tessuto adiposo possano modificare in maniera significativa la LTL (2,6-9).

In particolare, l'infiammazione cronica è un promotore dell'invecchiamento biologico ed è responsabile dell'accorciamento dei telomeri nei leucociti. In particolare cellule "più vecchie" con telomeri criticamente più corti producono fattori/citochine pro-infiammatorie (10)

L'**InflammAging** è infatti un termine coniato per sottolineare come alla base del processo di invecchiamento ci sia anche un concomitante stato infiammatorio che rappresenta un fattore di rischio elevato di morbilità e mortalità nelle persone.

L'infiammazione sistemica può quindi determinare una maggior velocità di accorciamento dei telomeri e può quindi aggravare patologie già in atto.

Poiché squilibri alimentari influenzano le vie di attivazione dell'infiammazione non è sorprendente che anche una rimodulazione dell'alimentazione attraverso una dieta personalizzata mirata a ridurre i livelli di BAFF, PAF e di altre citochine infiammatorie possa rallentare il fisiologico processo di invecchiamento. La verifica quindi dell'eventuale presenza di un'infiammazione correlata al cibo può essere una ulteriore strategia da mettere in atto (11).

Conoscere quindi i fattori protettivi che possono essere subito messi in atto per rallentare il processo di invecchiamento cellulare e per aumentare i meccanismi anti-infiammatori è l'elemento principe per migliorare il proprio stato di salute.

Vari nutrienti influenzano la lunghezza telomerica potenzialmente attraverso meccanismi che riflettono il loro ruolo protettivo nei confronti dell'infiammazione, stress ossidativo, danno al DNA ecc. Una maggiore aderenza alla dieta mediterranea è associata ad una maggior lunghezza telomerica (8). Al contrario carenze vitaminiche o di minerali possono influire negativamente sulla loro lunghezza (1,12-14).

Sistema di misurazione utilizzato: caratteristiche comparative

Il **BioAge Test** è effettuato a partire da un campione di sangue prelevato capillarmente da un polpastrello. Rispetto ai test ad oggi presenti in commercio non richiede un prelievo venoso consentendo a chiunque di poter accedere al servizio senza la necessità di avvalersi di un operatore sanitario. Il campione, raccolto con un tampone in materiale sintetico, si secca nel giro di pochi secondi rendendone possibile la conservazione e il trasporto a temperatura ambiente. L'analisi che viene successivamente effettuata e le tecniche laboratoristiche utilizzate dipendono strettamente da questa tipologia di raccolta del campione biologico.

Il nostro laboratorio effettua l'analisi attraverso la **Quantitative Real Time PCR (qPCR)**, metodo ben documentato e validato (15).

In seguito all'estrazione e alla quantizzazione del DNA dal campione di sangue, si procede con due specifiche reazioni di PCR: una per la determinazione della lunghezza dei telomeri e l'altra per la determinazione del numero di copie del genoma presenti nel campione di DNA, che verrà utilizzato per normalizzare il dato della lunghezza dei telomeri. Mediante l'utilizzo di uno specifico DNA standard, a lunghezza telomerica nota, si risale alla lunghezza dei telomeri del campione mediante l'utilizzo del software (**Rotor-Gene Q-Series, Qiagen**).

Il nostro laboratorio esegue le analisi di qPCR in triplicato in tre run distinte per ciascuna reazione (telomeri e gene a singola copia), determinando per ogni singolo campione media del Ct, deviazione standard e CV% intra e inter assay. Inoltre, in ogni run sono inseriti specifici controlli di qualità, quali DNA reference umani, di cui sono note le lunghezze medie dei telomeri.

Questa metodica permette una elevata riproducibilità e prestazione utilizzando piccoli quantitativi di DNA e analizza la lunghezza media dei telomeri. Numerose altre metodiche sono state nel tempo sviluppate per misurare la lunghezza dei telomeri. La tecnica più diffusa in ambito accademico è la metodica TRF (Terminal Restriction Fragment). A causa dei tempi di esecuzione marcatamente più lunghi e al costo a questi associati,

è una metodica che non si presta a l'utilizzo in ambito epidemiologico dove il saggio attraverso la qPCR (utilizzato dal BioAge test) risulta una soluzione efficiente e da parametri qualitativi analoghi.

Altre metodiche invece come la Q-FISH (Quantitative-fluorescent in situ hybridization) o flow-FISH cytometry pur permettendo ulteriori valutazioni potendo tenere maggiormente conto della eterogeneità del campione sono poco utilizzabili per le high throughput analysis. Il campione su cui si effettuano queste analisi sono cellule vive, successivamente messe in coltura, pertanto sono necessarie condizioni di trasporto ben precise e soggette a rischi di conservazione e problemi di ripetibilità dovute alle condizioni ambientali. Richiedono inoltre il prelievo da sangue venoso che non è facilmente fruibile da tutti e necessita della presenza di operatori esperti e abilitati a effettuare questo tipo di prelievo.

GEK Group

GEK Group, azienda attiva nel settore del *personalized healthcare*, da più di sette anni investe nella ricerca e sviluppo di prodotti legati allo studio e alla diagnosi dell'inflammazione, in tutte le sue espressioni, e del rapporto tra alimentazione, infiammazione e salute, attraverso un approccio completo e sistemico. Ad oggi l'azienda ha consegnato più di 150.000 referti medici attraverso gli oltre 1500 centri associati in Italia, Spagna, UK e Svizzera.

Referenze

1. Prasad, K. N., Wu, M. & Bondy, S. C. Telomere shortening during aging: Attenuation by antioxidants and anti-inflammatory agents. *Mech. Ageing Dev.*164,61–66 (2017).
2. Arsenis, N. C., You, T., Ogawa, E. F., Tinsley, G. M. & Zuo, L. Physical activity and telomere length: Impact of aging and potential mechanisms of action. *Oncotarget*8,45008–45019 (2017).
3. Zhang, C. et al.The Association between Telomere Length and Cancer Prognosis: Evidence from a Meta-Analysis. *PLoS One*10,e0133174 (2015).
4. Zhan, Y. et al.Leukocyte Telomere Length and All-Cause Mortality: A Between-Within Twin Study With Time-Dependent Effects Using Generalized Survival Models. *Am. J. Epidemiol.*187,2186–2191 (2018).
5. Gardner, M. et al. Gender and telomere length: Systematic review and meta-analysis. *Exp. Gerontol.* 51, 15–27 (2014).
6. Valdes, A. et al.Obesity, cigarette smoking, and telomere length in women. *Lancet*366,662–664 (2005).
7. el Bouazzaoui, F. et al.Adipocyte telomere length associates negatively with adipocyte size, whereas adipose tissue telomere length associates negatively with the extent of fibrosis in severely obese women. *Int. J. Obes.*38,746–749 (2014).
8. Crous-Bou, M. et al.Mediterranean diet and telomere length in Nurses' Health Study: population based cohort study. *BMJ*349,g6674 (2014).

9. Latifovic, L., Peacock, S. D., Massey, T. E. & King, W. D. The Influence of Alcohol Consumption, Cigarette Smoking, and Physical Activity on Leukocyte Telomere Length. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 25,374–380 (2016).
10. O'Donovan, A. et al. Cumulative Inflammatory Load Is Associated with Short Leukocyte Telomere Length in the Health, Aging and Body Composition Study. *PLoS One* 6, e19687 (2011).
11. Speciani, A. F. & Piuri, G. Measuring Biomarkers for an Innovative Personal Food Profile. *J. Am. Coll. Nutr.* 34,34–38 (2015).
12. Lee, J.-Y., Shin, C. & Baik, I. Longitudinal associations between micronutrient consumption and leukocyte telomere length. *J. Hum. Nutr. Diet.* 30,236–243 (2017).
13. Nomura, S. J., Robien, K. & Zota, A. R. Serum Folate, Vitamin B-12, Vitamin A, γ -Tocopherol, α -Tocopherol, and Carotenoids Do Not Modify Associations between Cadmium Exposure and Leukocyte Telomere Length in the General US Adult Population. *J. Nutr.* 147,538–548 (2017).
14. Richards, J. B. et al. Higher serum vitamin D concentrations are associated with longer leukocyte telomere length in women. *Am. J. Clin. Nutr.* 86,1420–5 (2007).
15. O'Callaghan, N. J. & Fenech, M. A quantitative PCR method for measuring absolute telomere length. *Biol. Proced. Online* 13,3 (2011).