

# **RAVITSEMUKSEN YHTEYS EPIGENEETTISEEN IKÄÄNTYMISNOPEUTEEN**

Susanna Mårtensson

Gerontologian ja kansanterveyden pro gradu -  
tutkielma

Liikuntatieteellinen tiedekunta

Jyväskylän yliopisto

Kevät 2020

## TIIVISTELMÄ

Mårtensson, S. 2020. Ravitsemuksen yhteys epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen. Liikuntatieteellinen tiedekunta, Jyväskylän yliopisto, gerontologian ja kansanterveystieteen pro gradu -tutkielma, 69 s., 1 liite.

Epigeneettisellä ikääntymisellä tarkoitetaan yksilö-, ympäristö- ja elintapatekijöiden vaikutusta geenien ilmentymiseen vaikuttaviin säätelymekanismeihin, joiden on osoitettu olevan merkittävässä roolissa ihmiselimestön ikääntymisessä. Tunnetuin epigeneettisistä mekanismeista on DNA-metylaatio. Epigeneettiset kellot ovat DNA-metylaatioon perustuvia algoritmeja, jotka mahdollistavat epigeneettistä ikääntymisnopeutta kuvaavien arvojen luomisen. Uudet epigeneettiset kellot mahdollistavat elintapatekijöiden ja epigeneettisen ikääntymisen välisten yhteyksien tutkimisen. Ravitsemuksen merkitys kroonisten sairauksien ennaltaehkäisyssä on suuri, mutta ravitsemuksen ja epigeneettisen ikääntymisen välisiä yhteyksiä on tutkittu vasta vähän. Tämän pro gradu -tutkielman tarkoituksena oli selvittää ravitsemuksen yhteyttä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen nuorilla aikuisilla.

Tutkielman tarkoitus on vastata seuraaviin tutkimuskysymyksiin: 1) Onko ravitsemus yhteydessä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen nuorilla 23-28-vuotiailla aikuisilla? 2) Selittyykö mahdollinen yhteys sukupuolella ja painoindeksillä?

Aineistona käytettiin Nuorten Kaksosten Terveystutkimusta (Finntwin16) nuorten 23-28-vuotiaiden aikuisten ruuankäyttökyselyn ja terveystietojen osalta (n= 240). Tutkittavilta kerättiin kokoverinäytteet, joista eristettiin DNA. DNA-näytteestä määritettiin genomien laajuisia DNA-metylaatiotasoja mikrosirutekniikan avulla (Illumina 450 Array). Epigeneettisen iän muuttujana käytettiin uusimman ja luotettavimman epigeneettisen kellon, GrimAgen, laskenta-algoritmin mukaista DNA-metylaatioikää. Epigeneettisen ikääntymisnopeuden muuttuja muodostettiin kronologisen iän ja DNA-metylaatioiän lineaarisen regression jäännöksiä avulla. Nuorten aikuisten ruuankäyttöä arvioitiin frekvenssikyselyn vastausten perusteella. Frekvenssikyselyssä kartoitettiin ruoka-aineiden ja -ryhmien käyttöä kuukausitasolla asteikkolla 1-5.

Ravitsemustottumusten faktorirakennetta selvitettiin eksploraatiivisen faktorianalyysin avulla. Sen perusteella muodostettiin 4 summamuuttujaa: 1) kalan ja kasvien 2) lihan 3) suolaisten ja makeiden naposteltavien sekä 4) pikaruuan kulutus. Ravitsemusfaktoreiden ja epigeneettisen ikääntymisnopeuden yhteyttä tarkasteltiin lineaarisella regressioanalyysillä.

Suurempi lihatuotteiden kulutus oli yhteydessä kiihtyneempään epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen ( $p=0.010$ ). Yhteys säilyi tilastollisesti merkitsevänä malleissa, joissa vakioivina tekijöinä käytettiin painoindeksiä ( $p=0.014$ ) ja sukupuolta ( $p=0.037$ ). Mallissa, jossa oli mukana molemmat vakioivat tekijät, yhteys säilyi tilastollisesti merkitsevänä ( $p=0.047$ ). Muut ravitsemusmuuttujat eivät olleet tilastollisesti merkitsevästi yhteydessä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen.

Tulokset tukevat aikaisempia havaintoja ravitsemussuosittelun mukaisen ravitsemuksen terveellisyydestä. Uusia viitteitä saatiin ravitsemuksen vaikutuksista elimistön biologiseen ikääntymisprosessiin. Tulosten perusteella vaikutukset ovat havaittavissa jo melko nuorilla.

Asiasanat: Epigeneettinen ikääntymisnopeus, DNA-metylaatioikä, epigeneettinen kello, biologinen ikääntyminen, nuoret aikuiset, ravitsemus

## ABSTRACT

Mårtensson, S. 2020. The association between nutrition and epigenetic aging rate. Faculty of Sport Sciences, University of Jyväskylä, Masters's thesis in gerontology and public health, 69 p., 1 appendix.

Epigenetic aging refers to the influence of individual, environmental, and lifestyle factors on the regulation of gene function and expression, which regulate the biological ageing process (Lu et al. 2019). Epigenetic clocks are models, which allow the generation of epigenetic aging rate values using algorithms based on DNA methylation. Nutrition plays a major role in the prevention of several chronic diseases. New epigenetic clocks enable studies regarding associations between epigenetic aging and nutrition. The purpose of this Master's thesis was to investigate the role of nutrition in epigenetic aging in young adults.

This thesis aims to answer the following research questions: 1) is nutrition associated with epigenetic aging rate in young adults aged 23-28? 2) Is the possible association explained by gender and body mass index?

This study used data collected as part of the Finnish twin cohort. Finntwin16 subsample includes dietary and health information of young adults aged 23-28 (n=240). DNA samples were extracted from whole blood samples. Subsequent genome-wide DNA methylation was performed with Illumina 450k Array. The DNA methylation age according to the latest and most reliable epigenetic clock, the GrimAge algorithm, was produced using the online calculator. The epigenetic age acceleration variables were generated from residuals of linear regression of chronological age and DNA methylation age. The epigenetic age acceleration describes whether the individual is biologically young or old according to the epigenetic clock. The dietary intake of young adults was evaluated based on the frequency questionnaire.

The factor structure of dietary habits was investigated by exploratory factor analysis. The sum variables were conducted as follows: 1) fish and vegetable, 2) meat, 3) salty and sweet snacks and 4) fast food consumption. To examine the association between nutrition intake and epigenetic aging, the data was analyzed in four sections using linear regression analysis.

Higher consumption of meat products was associated with accelerated epigenetic aging rate ( $p=0.010$ ). The association remained statistically significant in models using body mass index ( $p=0.014$ ) and gender ( $p=0.037$ ) as adjusting factors. Adjusting the model for both factors, the association remained statistically significant ( $p=0.047$ ). Other nutritional variables were not statistically significantly associated with epigenetic aging rate.

The results support the previous findings on the health benefits of recommended nutrition. This study indicated that nutrition may play a role the biological aging process of human body. This study provides evidence that the effects of lifestyle factors on the epigenetic aging process may occur in relatively young subjects.

Key words: Epigenetic Aging Rate, DNA Methylation Age, Epigenetic Clock, GrimAge, Biological Aging, Young Adults, Nutrition

## KÄYTETYT LYHENTEET

E%	Energiaa prosentteina kokonaisenergian saannista
FNR	Finnish Nutrition Recommendations, suomalaiset ravitsemussuositukset
GrimAge	Epigeneettisen iän muuttuja
NNR	Nordic Nutrition Recommendations, pohjoismaiset ravitsemussuositukset
WCRF	World Cancer Research Fund, Maailman syöpäjärjestö
WHO	World Health Organization, Maailman terveysjärjestö
BMI	Body mass index, kehon massa indeksi
CpG	Sytosiini-fosfaatti-guaniini emäspari

# SISÄLLYS

## TIIVISTELMÄ

1 JOHDANTO .....	1
2 EPIGENEETTINEN IKÄÄNTYMINEN .....	2
2.1 Epigeneettinen säätely ja DNA:n metylaatio .....	3
2.2 Epigeneettiset kellot .....	6
2.3 Epigeneettiset kellot suhteessa muihin biologisen iän markkereihin .....	7
2.4 Epigeneettisen iän yhteys terveyteen ja kuolleisuuteen .....	8
2.5 Yksilöllinen vaihtelu epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa.....	9
3 RAVITSEMUKSEN YHTEYS TERVEYTEEN.....	11
3.1 Ravitsemussuositukset ja terveellinen ravitsemus.....	12
3.2 Ravitsemuksen haasteet kehittyneissä maissa .....	14
3.2.1 Kasvikunnan tuotteiden kulutuksen yhteys terveyteen .....	15
3.2.2 Rasvojen ja ultraprocessoitujen ruoka-aineiden kulutuksen yhteys terveyteen...	17
3.2.3 Punaisen lihan kulutuksen yhteys terveyteen .....	18
3.3 Ravitsemuksen ja ruokavalioiden terveellisyyden arvioinnin haasteet.....	20
4 RAVITSEMUKSEN YHTEYS EPIGENEETTISEEN IKÄÄNTYMISEEN .....	21
4.1 Ravitsemuksen yhteys DNA-metylaatioon .....	21
4.2 Ravitsemuksen yhteys epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen.....	22
5 TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA TUTKIMUSKYSYMYKSET .....	25
6 AINEISTO JA MENETELMÄT .....	26
6.1 Tutkittavat ja tutkimusasetelma.....	26

6.2 Tutkimusmenetelmät ja muuttujat.....	27
6.3 Tilastolliset analyysit.....	30
7 TULOKSET.....	31
7.1 Ravitsemuksen faktorirakenne .....	31
7.2 Epigeneettisen ikääntymisnopeuden vaihtelu sukupuolen mukaan .....	34
7.3 Miesten ja naisten väliset erot ravitsemuksen terveellisyyttä kuvaavien muuttujien käytön osalta.....	34
7.4 Ravitsemuksen terveellisyden yhteys epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen .....	35
8 POHDINTA.....	37
LÄHTEET .....	43
LIITTEET	

# 1 JOHDANTO

Korkea ikä on suurin yksittäinen riskitekijä monelle krooniselle sairaudelle (Sen ym. 2016). Kronologisen iän sijaan ihmiselimistön sairastavuus ja kuolleisuusriskiä tulisi kuitenkin arvioida biologisen iän avulla (Song ym. 2010), joka kuvaa perimän, elintapatekijöiden ja ympäristötekijöiden yhteisvaikutusta elimistön vanhenemisprosesseihin (Declerck & Vanden Berghe 2018). Ikääntyminen on yhdistetty DNA-metylaation muutoksiin ihmiskudoksissa (Voisin ym. 2020). Epigeneettistä ikääntymisnopeutta kuvaavat ikääntymisen uudet biomarkerit, epigeneettiset kellot, arvioivat epigeneettistä ikääntymisnopeutta DNA-metylaation perustuvilla algoritmeilla (Declerck & Vanden Berghe 2018). Ne kykenevät ilmentämään yksilöllisiä eroja sairauden ilmaantuvuudessa, toimintakyvyn alenemisessa ja kuolleisuudessa koko elämänkaaren ajan (Levine ym. 2018). Epigeneettisten kellojen avulla voidaan tutkia erilaisten elintapatekijöiden kuten ravitsemuksen, vaikutusta ikääntymisprosessiin (Simone & Beck 2019). Suurempi epigeneettinen ikä suhteessa kronologiseen ikään ennustaa kasvanutta kuolemanriskiä ja riskiä sairastua sairauksiin, joissa ikä on merkittävä riskitekijä (Horvath 2013).

Vääränlaisen ravitsemuksen katsotaan olevan suoraan yhteydessä kroonisten sairauksien yleistymiseen (WHO 2018b; Onvani ym. 2017), mutta myös lihavuuden yleistymisen välityksellä (Shlinsky ym. 2017; Chen ym. 2019). On havaittu, että epäsovinnalla ravitsemuksella saattaa olla terveysvaikutuksia, jotka ilmenevät vielä vuosikymmenien päästä, mikä viittaa epigeneettisten mekanismien ja ravitsemuksellisten puutteiden sekä kasvaneen sairastumisriskin väliseen yhteyteen (Jumenez-Chillaron ym. 2012). Epigeneettisen ikääntymisnopeuden ja ravitsemuksen välisten yhteyksien tutkimuksella voidaan lisätä tietoa nuorten ravitsemuksen laadun tärkeydestä ja merkityksestä ikääntymiselle. Ilman hyvää epigeneettisen ikääntymisen mittaria olisi nuorten ravitsemuksen yhteyksiä elimistön ikääntymisprosesseihin mahdotonta tutkia. Ylipainon ollessa merkittävä riskitekijä monen kroonisen sairauden kehityksessä (Shlinsky ym. 2017; Chen ym. 2019) on tärkeää tutkia myös sitä, välittykö heikon ravitsemuksen vaikutukset terveyteen mahdollisesti ylipainon kautta.

Tämän pro gradu -tutkielman tarkoituksena oli selvittää ravitsemuksen ja epigeneettisen ikääntymisen yhteyttä nuorilla aikuisilla.

## 2 EPIGENEETTINEN IKÄÄNTYMINEN

Ikääntymistä voidaan kuvata progressiivisena fysiologisten ja kognitiivisten toimintojen heikkenemisenä (Nevalainen ym. 2017), jonka ajatellaan liittyvän solujen ja DNA:n vaurioiden kumulatiivisiin vaikutuksiin koko elämänkaaren varrelta (Buckley ym. 2012). Ikääntymisen katsotaan ilmenevän elimistössä perustavanlaatuisina biologisina muutoksina, kuten solujen vanhenemisena, telomeerien lyhenemisenä sekä muutoksina geenien säätelyssä (Jones ym. 2015). Ikääntymiseen liittyy monia perimään, ympäristöön ja stokastisiin muutoksiin liittyviä tekijöitä, joiden vuoksi ikääntymisen ja korkeaan ikään liittyvien sairauksien välinen yhteys on edelleen osittain tuntematon (Yon-Quan ym. 2019). Korkean kronologisen iän tiedetään olevan suurin yksittäinen riskitekijä monien kroonisten sairauksien synnyssä (Sen ym. 2016), mutta riskit vaihtelevat runsaasti yksilöiden välillä tehden kronologisesta iästä heikon sairastuvuutta ja kuolleisuutta ennustavan muuttujan (Nevalainen ym. 2017). Ihmiselimistön sairastuvuus- ja kuolleisuusriskin arvioinnin tulisikin perustua kronologisen iän sijasta biologiseen ikään (Song ym. 2010). Ihmisen biologisen iän ajatellaan olevan genomin ja ympäristön rajakohta (Feil & Fraga 2012; Jones ym. 2015).

Elimistön biologista ikääntymistä voidaan arvioida epigeneettisen iän avulla. Epigeneettisellä ikääntymisellä tarkoitetaan yksilöllisten tekijöiden sekä ympäristö- ja elintapatekijöiden kuten perimän, sairauksien ja terveystyytymisen vaikutusta geenien toiminnan ja ilmenemisen säätelyyn (Song ym. 2010; Sebastiani ym. 2012), joiden katsotaan kuvaavan elimistön patologisia prosesseja sekä ikääntymiseen liittyviä muutoksia (Horvath ym. 2014). Epigeneettiset muutokset muodostavat yhdessä yksilön epigenomin, joka kuvastaa ympäristöstä peräisin olevia kumulatiivisia riskitekijöitä koko elämänkaaren ajalta (Fraga ym. 2005). Pääsääntöisesti epigenomi säilyy solujen uusiutuessa (Song ym. 2010; Sebastiani ym. 2012), mutta ikääntymiseen liittyvät epigeneettiset muutokset voivat olla myös ainakin osittain palautuvia, toisin kuin suoraan DNA-sekvensseihin kohdistuvat mutaatiot (Ashapkin ym. 2019).

Väestön vanhenemisen johdosta on tärkeää tunnistaa tekijöitä, joiden avulla voidaan tukea tervettä ikääntymistä (Ambeskovic ym. 2020), mikä luo tarpeen arvioida esimerkiksi elintapatekijöiden vaikutusta ihmiselimistön ikääntymisprosesseihin (Lu ym. 2019). Uudet epigeneettisen ikääntymisen markerit mahdollistavat uudenlaisen, moniulotteisemman



ikäntymisen tutkimuksen (Horvath 2014). Toistaiseksi epigeneettisen ikääntymisen tutkimus on keskittynyt enimmäkseen yksittäisten kudosten ikääntymisprosessien tutkimukseen (Bell ym. 2019; Arpon ym. 2019). Näissä tutkimuksissa on pyritty selvittämään ikääntymisen yhteyttä sairastuvuus- ja kuolleisuusriskiin erityisesti yleisimpien kansanterveydelle merkittävien sairauksien (Arpon ym. 2019) ja lihavuuden osalta (de Toro-Marin ym. 2019).

## 2.1 Epigeneettinen säätely ja DNA:n metylaatio

Ihmiselimestössä on satoja erilaisia soluja, joiden muoto ja toiminnot ovat erilaisia, mutta jokainen solu sisältää saman genomin eli geeniperimän (Simonti & Capra 2015). Perinnöllinen informaatio on koodattu DNA:han (Simonti & Capra 2015). Solun perimäaineksen sisältämän DNA:n stabiiliutta ja eheyttä haastavat jatkuvasti ulkoiset fysikaaliset, kemialliset ja biologiset tekijät, mutta myös sisäsyntyiset uhat, kuten virheet DNA:n kahdentumisessa, spontaanit hydrolyytiset reaktiot sekä oksidatiivinen stressi (Hoeijmarkers 2009; Lopez-Otin ym. 2013). Vaikka kaikki organismin solut sisältävät saman geneettisen informaation, eivät kaikki geenit ilmene samanaikaisesti kaikissa solutyypeissä (Moore ym. 2013). Monisoluisissa organismeissa epigeneettiset mekanismit välittävät erilaistuneita geenien ilmenemisprofieileja soluissa ja kudoksissa (Moore ym. 2013). Genetiikan avulla voidaan tutkia perinnöllisiä muutoksia geenien aktiivisuudessa tai toiminnassa, jotka johtuvat suorista DNA-sekvenssien muutoksista (Moore ym. 2013). Epigenetiikan tutkimuskohteena on sen sijaan tutkia muutoksia geenien aktiivisuudessa tai toiminnassa, jotka eivät ole yhteydessä muutoksiin DNA-sekvenssin emäsjärjestyksessä (Bird 2007; Moore ym. 2013; Jones ym. 2015; Sen ym. 2016; Nevalainen ym. 2017).

Epigenetiikalla viitataan geenien ilmentymiseen vaikuttaviin säätelymekanismeihin (Moore ym. 2013), joiden on osoitettu olevan merkittävässä roolissa ihmiselimestön ikääntymisessä (Horvath 2014; Jones ym. 2015; Nevalainen ym. 2017; Sen ym. 2016). Epigeneettiset muutokset vaikuttavat geenien ilmenemisen ja toiminnan säätelyn ohella DNA:n korjausmekanismeihin ja sen kahdentumiseen (Barres & Zierath 2016; Deiuliis 2016; Schones ym. 2015; Lawrence ym. 2016; Zheng ym. 2015). Epigeneettisistä mekanismeista tunnetaan DNA-metylaatio, histoniproteiinien muokkaus ja säätely RNA:t (Horvath ym. 2014). Eniten tutkittu ja parhaiten tunnettu epigeneettinen mekanismi on DNA-metylaatio (Horvath 2014). DNA-metylaatiolla tarkoitetaan metyyliryhmien, CH<sup>3</sup>, liittymistä DNA:n sytosiiniemäkseen sytosiini-fosfaatti-guaaniini (CpG) -emäsparissa (Jones ym. 2015; Moore ym. 2013). Se ilmenee

laaja-alaisena metylaatiotasojen vaihteluna ja spesifien CpG-kohtien metylaatioina, jotka ovat myös ikääntymiseen liittyviä muutoksia (Horvath 2014). Ikääntymisellä tiedetään oleva vahva yhteys DNA-metylaatiotasoihin (Alisch ym. 2012; Johansson ym. 2013; Yong-Quan ym. 2019), ja epigenomin muutokset saattavat edesauttaa ikään liittyvien sairauksien kehittymistä (Yong-Quan ym. 2019).

Transkriptio eli geenien luenta edellyttää aina DNA-juosteen avaamista, minkä vuoksi löyhemmin pakatun eukromatiinin alueella on enemmän transkriptiota kuin heterokromatiinin alueella. Heterokromatiinissa on puolestaan enemmän metylaatiota kuin eukromatiinissa (Gessaman & Selker 2017). DNA-metylaatio säätelee geenien ilmenemistä proteiinien, yleensä entsyymien avulla, jotka vaimentavat geenejä tai estävät transkriptiotekijöiden sitoutumista DNA:han vähentäen geenien luenta (Moore ym. 2013). Genomin DNA-metylaatio muokkaantuu dynaamisen prosessin seurauksena ja DNA:ssa tapahtuu sekä metylaatiota että de-metylaatiota (Moore ym 2013). Sen seurauksena erilaistuneet solut kehittävät stabiilin ja ainutlaatuisen DNA-metylaatiomallin, joka säätelee kudosspesifiä geenitranskriptiota (Moore ym. 2013). DNA-metylaatioissa on tunnistettu entsyymeitä, jotka luovat, tunnistavat ja poistavat DNA-metylaatiota, ja ne voidaan jakaa kolmeen luokkaan: kirjoittajat (*writers*), pyyhkijät (*erasers*) ja lukijat (*readers*) (Moore ym. 2013). Kirjoittajiksi on tunnistettu ryhmä DNTMS-entsyymejä, jotka edistävät metyyliryhmien liittymistä sytosiiniemäksiin (Moore ym. 2013). Nämä entsyymiaktiivisuudet ovat suurimmillaan DNA:n kahdentumisen aikana (Johansson ym. 2013). Muita tunnettuja DNA-metylaatiomalliin liittyviä komponentteja ovat *de novo* metyylitransferaasit DNMT3A ja DNMT3B (Johansson ym. 2013; Winnefeld & Lyko 2012), jotka ovat pääasiassa vastuussa DNA-metylaatiosta DNA:n kahdentumisen ja solun jakautumisen aikana (Szar vel Szic ym. 2015). Metylaatiomallien vaihtelun katsotaan riippuvan metylaatiota edistävien ja vähentävien entsyymien tasapainosta (Johansson ym. 2013).

Transkriptiotekijät voivat säädellä DNA-metylaatiota sitoutumalla tiettyyn DNA-sekvenssiin joko lisäten metyyliryhmiä katalysoivia entsyymejä ja näin myös metylaatiota, tai suojaten DNA:ta metylaatiolta (Moore ym. 2013). DNMTS-entsyymit voivat sitoutua myös transkriptiotekijöihin tai geenien ilmenemistä tukahduttavien tekijöiden rakennesein metylaation kohdistamiseksi DNA:han (Moore ym. 2013; Brenner ym. 2005). CpG-saarekkeiden katsotaan ensisijaisesti olevan suojassa metylaatiolta transkriptiotekijöiden sitoutumisen seurauksena (Brandeis ym. 1994; Macleod ym. 1994; Straussman ym. 2009;

Gebhard ym. 2010; Moore ym. 2013). Pyyhkijäentsyymit (*erasers*) muokkaavat ja poistavat metyyliiryhmiä ja siksi tätä tapahtumaa kutsutaan myös de-metylaatioksi, joka voi olla sekä aktiivista että passiivista (Moore ym. 2013). Hypometylaatiolla viitataan DNA:n metylaation vähenemiseen ja globaalin, genomisen laajuisen DNA:n hypometylaation katsotaan altistavan solut geneettiselle epästabiiliudelle (Liao ym. 2015). Toisaalta hypometylaation on katsottu olevan myös metylaatiomallin kopiointivirhe, sillä *de novo* metylaation on ajateltu toimivan paikallisesti (Johansson ym. 2013). Lukijoiksi kutsutut entsyymit (*readers*) tunnistavat ja sitovat metyyliiryhmiä vaikuttaakseen geenien ilmenemiseen (Moore ym. 2013).

DNA:n geenien transkription aloituskohtiin eli promoottoreihin liittyvät CpG-kohtien DNA-metylaatiotasot ovat yleisesti negatiivisesti yhteydessä geenien ilmenemiseen, kun taas DNA-metylaatio geenin rungossa (*gene body*) on usein positiivisesti yhteydessä geenien ilmenemiseen (Lister ym. 2010; Gutierrez Arcelus ym. 2013; Jones ym. 2015; Husquin ym. 2018). Keskimääräinen geenien ilmeneminen vähenee iän myötä ja vähentyneet DNMT1-tasot sekä muut entsyymitasot johtavat tutkimusten mukaan genomisen laajuisten CpG-kohtien metylaation vähenemiseen (Cedar & Bergman 2009; Johansson ym. 2013).

Epigeneettisistä mekanismeista myös histonimodifikaatiot voivat lisätä DNA:n altistumista transkriptiotekijöille (Cheng ym. 2019; Schones ym. 2015; Jones 2012). Histoniproteiinien muokkauksessa niiden aminohappohäntiin voi liittyä asetyyli- tai metyyliiryhmä tai ne voivat fosforyloitua (Lawrence ym. 2016). Histoniproteiinien muokkaus vaikuttaa siihen, kuinka tiukasti DNA on pakattu kromosomiin ja histoniproteiinien ympärille ja näin myös siihen, kuinka transkriptio on mahdollista (Lawrence ym. 2016). Asetylaation ajatellaan lisäävän transkriptiota, metylaatio joko lisää tai ehkäisee sitä ja fosforylaation vaikutuksesta transkriptioon ei toistaisiksi ole varmuutta (Lawrence ym. 2016).

Ei-koodaavat RNA:t puolestaan saattavat säädellä geenien ilmenemistä suoraan tai vuorovaikutuksessa kromatiinin kanssa (Schones ym. 2015). RNA-interferenssiksiin kutsutussa ilmiössä ei-koodaavat RNA:t estävät translaation eli proteiinisynteesin sitoutumalla mRNA:han, jolloin translaation eteneminen estyy ja seurauksena on RNA-kompleksin hajottamiseen sekä proteiinin tuotannon pysähtyminen (Barres & Zierath 2016; Deiuliis 2016; Schones ym. 2015)

## 2.2 Epigeneettiset kellot

Epigeneettiset kellot mahdollistavat numeraalisten, biologista ikää kuvaavien arvojen luomisen ikääntymiseen liittyvän DNA-metylaatioon perustuvilla algoritmeilla (Hannum ym. 2013; Horvath 2013; Weidner ym. 2014). Ensimmäiset epigeneettiset kellot on kehitetty vuonna 2013 (Horvath 2013; Hannum ym. 2013). Epigeneettisiä ikää tarkastelevia, DNA-metylaatioon perustuvia laskenta-algoritmeja on useita. Tunnetuimpia ovat Horvathin (2013), Hannumin (2013), Levinen ym. (2018) sekä Lun ym. (2019) epigeneettiset kellot.

Horvathin (2013) DNA-metylaatioiän (*DNAm Age*) arvio perustuu 353 ikäspesifisen CpG-kohdan metylaatioasteeseen ja muodostuu DNA:n metylaatiotasojen painotetuista summista valituissa CpG-kohdissa. Se on kehitetty arvioimaan yksilön kronologista ikää (Horvath 2013). Epigeneettistä ikää voidaan Horvathin (2013) menetelmällä määrittää myös somaattisista kudoksista. Hannumin (2013) epigeneettinen kello tutkii metylaatioastetta 71:ssä CpG-kohdassa, joiden katsotaan liittyvän ikääntymiseen (Hannum ym. 2013; Jylhävä ym. 2017; Horvath & Raj 2018). Sen tarkoituksena on ennustaa yksilön jäljellä olevaa elinaikaa (Hannum 2013). Hannumin (2013) epigeneettinen kello voidaan määrittää vain veren leukosyyteistä. Levinen (2018) epigeneettinen kello (*DNAm PhenoAge*) tuottaa arvion epigeneettisestä iästä terveyteen ja toimintakykyyn liittyvien 513 CpG-kohdan metylaation perusteella. Levinen ym. (2018) epigeneettinen kello on kehitetty arvioimaan fenotyyppistä ikää (Horvath & Raj), ja sen antama arvio epigeneettisestä ikääntymisnopeudesta ennustaa kaikista syistä johtuvaa kuolleisuutta, syöpään sairastumista, terveitä elinvuosia, fyysisistä toimintakykyä ja Alzheimerin tautia aiempia ikääntymisen biomarkkereita paremmin (Levinen 2018). Levinen (2018) kellolla voidaan määrittää epigeneettisen iän arvio kokoverinäytteestä. Lun ym. (2019) epigeneettinen kello (*DNAm GrimAge*) tuottaa epigeneettisen iän estimaatin seitsemän plasmaproteiinin DNA-metylaation perusteella huomioiden sijaisbiomarkkereiden lisäksi kronologisen iän ja sukupuolen sekä tupakoinnin askivuosina (*smoking pack-years*) (Lu ym. 2019). Lun ym. (2019) kello on kehitetty ennustamaan ennen aikaista kuolemanriskiä. Se ennustaa aiempia epigeneettisiä kelloja paremmin jäljellä olevaa elinaikaa sekä aikaa sepelvaltimotautiin ja syöpään sairastumiseen. Lisäksi Lun ym. (2019) kello korreloi vahvasti rasvamaksan ja liiallisen kehon rasvakertymän sekä ennen aikaisten vaihdevuosien kanssa. Lun ym. (2019) epigeneettinen kello ennustaa muita epigeneettisiä kelloja paremmin kuolleisuus- ja sairastumisriskiä, pois lukien riskin arviointi niillä henkilöillä, jotka ovat aiemmin sairastaneet syövän. Lun ym. (2019) epigeneettinen kello myös havaitsee muita epigeneettisen ikääntymisen

markkereita herkemmin epigeneettisen ikääntymisen ääripäät, ylimmän ja alimman 20 %. Lun ym. (2019) epigeneettinen kello erottuu edukseen muista ikääntymisen biomarkkereista, kun havainnoidaan fyysisen aktiivisuuden edullisia vasteita ihmiselimestössä (Lu ym. 2019).

Epigeneettisten kellojen kehityksen ansiosta voidaan esimerkiksi tutkia tunnettujen, elinikää pidentävien tekijöiden mahdollisuuksia hidastaa epigeneettistä ikääntymistä (Wang ym. 2017). Toistaiseksi epigeneettisten kellojen on osoitettu korreloivan kokonaiskuolleisuuden lisäksi vanhuus-raihnausoireyhtymän (Breitling ym. 2016), keuhkosityövän (Levine ym. 2015a), fyysisen ja kognitiivisen toimintakyvyn (Marioni ym. 2015b), Alzheimerin taudin (Levine ym. 2015b), Downin syndrooman (Horvath ym. 2015d), HIV-infektion (Horvath & Levine 2015), Huntingtonin taudin (Horvath ym. 2016) sekä lihavuuden (Horvath ym. 2014b) kanssa. Vahvoja yhteyksiä epigeneettisiin kelloihin on havaittu myös pitkittyneellä stressillä (Zannas ym. 2015), vaihdevuosien alkamisiällä (Levine ym. 2016), nivelrikolla (Vidal ym. 2016) sekä Parkinsonin taudilla (Horvath & Ritz 2015). Myös elintapatekijöiden on katsottu korreloivan epigeneettisen iän kanssa; korkean painoindeksin ja matalan koulutustason on katsottu olevan yhteydessä korkeampaan epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen (Lu ym. 2019). Kamzi ym. (2020) ovat havainneen epigeneettisen iän vaihtelevan myös etnisyyden mukaan.

### **2.3 Epigeneettiset kellot suhteessa muihin biologisen iän markkereihin**

Epigeneettisten kellojen luotettavuutta biologisen ikääntymisen arvioinnissa voidaan tutkia vertaamalla sitä muihin tunnettuihin ja paljon käytettyihin biologisen iän estimaatteihin. Muita tunnettuja ikääntymisen biomarkkereita ovat esimerkiksi telomeerien pituus (von Zglinicki 2002; Sanders & Newman 2013), transkriptioon perustuvat markkerit (*transcriptomic prediction model*) (Peters ym. 2015; Macrin ym. 2019), proteoomiset ja metaboliaan pohjautuvat markkerit (Schöneich 2005; Mishur & Rea 2012; Hoffman ym. 2017; Macrin ym. 2019) sekä yhdistelmäbiomarkkerit (Jylhävä ym. 2017). Näistä telomeerien pituutta on pidetty lupaavana ikääntymisen biomarkkerina (Horvath ym. 2014; Rizvi ym. 2014; Muezzinler ym. 2013). Telomeerit ovat toistuvia DNA-sekvenssejä kromosomien päissä ja ne lyhenevät solujen jakautuessa sekä oksidatiivisen stressin seurauksena (Sanders & Newman 2013). Telomeerien pituus ja epigeneettinen kello eivät korreloi keskenään, sillä ne mittaavat eri mekanismeja (Marioni ym. 2016). Molemmat ovat itsenäisesti yhteydessä kronologiseen ikään (Marioni ym. 2016; Jylhävä ym. 2017) ja kuolleisuuteen (Bakaysa ym. 2007; Deelen ym. 2014; Needham ym. 2015; Rode ym. 2015; Marioni ym. 2016; Jylhävä ym. 2017).

Epigeneettisten kellojen on todettu korreloivan hyvin keskenään (Belsky ym. 2018). Myös muut biomarkkerialgoritmit korreloivat keskenään, mutta yhteys epigeneettisten kellojen ja muiden biomarkkerialgoritmien välillä on heikko (Belsky ym. 2018). Toisaalta esimerkiksi telomeerien osalta on havaittu, että ne ovat vain heikosti yhteydessä sekä epigeneettisiin kelloihin että muihin biomarkkerialgoritmeihin (Belsky ym. 2018). Yleisesti käytettyjen, terveitä elinvuosia ennustavien muuttujien, kuten tasapainon, käden puristusvoiman, motorisen koordinaation ja kognition ei ole havaittu olevan yhteydessä mihinkään biologisen ikääntymisnopeuden mittariin (Belsky ym. 2018). Myös vastakkaissuuntaisia tuloksia on saatu, sillä Marioni ym. (2015) havaitsivat epigeneettisen ikääntymisnopeuden olevan yhteydessä moniin terveitä elinvuosia ennustaviin muuttujiin, kuten kognitioon, käden puristusvoimaan, keuhkojen toimintakapasiteettiin (Marioni ym. 2015) ja vanhuusrainhausindeksiin (Breitling ym. 2016).

Toistaiseksi lupaavimpana epigeneettisen ikääntymisen biomarkkena pidetään uusinta, Lun (ym. 2019) epigeneettistä kelloa, joka arvioi sekä muita biologisen ikääntymisen markkereita että aikaisempia epigeneettisiä kelloja tarkemmin sekä jäljellä olevaa elinaikaa että terveitä elinvuosia (Lu ym. 2019; Bell ym. 2019).

#### **2.4 Epigeneettisen iän yhteys terveyteen ja kuolleisuuteen**

Epigeneettinen ikä ennustaa kuolemanriskiä tarkemmin kuin kronologinen ikä (Horvath 2013; Christiansen ym. 2016). Epigeneettisten kellojen on ajateltu kertovan eri kudoksiin liittyvien patologisten prosessien etenemisestä (Horvath 2013). Horvahin (2013) ja Hannumin (2013) epigeneettisten kellojen antaman epigeneettisen iän arvion on katsottu ennustavan kaikista syistä johtuvaa kuolleisuutta itsenäisesti ja riippumattomana yleisesti tunnetuista riskitekijöistä, kuten iästä, BMI:stä, koulutustasosta, tupakoinnista, fyysisestä aktiivisuudesta, alkoholin käytöstä sekä tietyistä oheissairauksista (Chen ym. 2016; Jylhävä ym. 2017).

Kuolemanriskin arvioinnissa toiset epigeneettiset kellot arvioivat riskiä tarkemmin kuin toiset. Horvathin ym. (2013) epigeneettisen kellon ajatellaan soveltuvan paremmin varhaisempiin elämänvaiheisiin ajoittuvien elimistön muutosten, kuten murrosiän ja vaihdevuosien arviointiin, kun taas Hannumin ym. (2013) epigeneettinen kello estimoii paremmin myöhäisemmän elämän sairauksia ja kuolleisuutta (Levine ym. 2018; Fransquet ym. 2019).

Myös Lun ym. (2019) kellon katsotaan ennustavan ennen aikaista kuolleisuutta Horvathin ym. (2013) epigeneettistä kelloa paremmin. Epigeneettistä ikää ei kuitenkaan tulisi käyttää jäljellä olevien elinvuosien arviointiin. Kuolleisuusriskiä arvioidessa tulisi käyttää riskitehyyssuhdetta (*hazard ratio*) (Lu ym. 2018).

Kokonaiskuolleisuuden lisäksi kiihtyneen epigeneettisen ikääntymisnopeuden on havaittu olevan yhteydessä syöpään ja neurodegeneratiivisiin sairauksiin (Declerck & Vanden Berghe 2018; Dugue ym. 2018). Lisäksi se on yhteydessä moniin kroonisten sairauksien riskitekijöihin, kuten vähäiseen liikunta-aktiivisuuteen, epäterveelliseen ravitsemukseen (Declerck & Vanden Berghe 2018; Dugue ym. 2018). Kiihtyneen epigeneettisen ikääntymisnopeuden on havaittu olevan yhteydessä myös kumulatiiviseen, elämänmittaiseen stressiin ja infektioihin (Declerck & Vanden Berghe 2018; Dugue ym. 2018) sekä metaboliseen oireyhtymään (Quach ym. 2017) ja lihavuuteen (Quach ym. 2017; Declerck & Vanden Berghe 2018). Myös Lu ym. (2019) havaitsivat triglyseridi-, HDL-kolesteroli-, insuliini- ja glukoositasojen ja epigeneettisen ikääntymisnopeuden välillä merkitsevän yhteyden. Epigeneettisen ikääntymisnopeuden voidaankin todeta olevan yhteydessä sekä elinikään että terveisiin elinvuosiin (Sen ym. 2016).

## **2.5 Yksilöllinen vaihtelu epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa**

DNA-metylaatiotasot vaihtelevat koko elämänkaaren ajan (Bell ym. 2012; Rodriguez-Rodero ym. 2010; Bollati ym. 2009; Christensen ym. 2009; Fraga & Esteller 2007). DNA-metylaation plastisuudesta huolimatta alkion kehityksen aikana monotsygootisilla kaksosilla on havaittu toisistaan erottamattomat lapsuusajan DNA-metylaatiotasot, mikä antaa viitteitä siitä, että DNA-metylaatiotasot ovat hyvin koordinoituja koko varhaiskehityksen ajan (Alisch ym. 2012). Geneettisten tekijöiden selitysaste DNA-metylaatioiän vaihtelussa riippuu tutkittavasta ikäryhmästä (Sillanpää ym. 2019). Perimän on havaittu selittävän 74 % epigeneettisen ikääntymisnopeuden vaihtelusta nuorilla ja 53 % ikääntyvillä koehenkilöillä, kun mittarina käytetään DNA-metylaatioon perustuvia epigeneettisen ikääntymisnopeuden markkeria (Sillanpää ym. 2019). Nuorilla kaksospareilla yksilöllisten ympäristötekijöiden on katsottu selittävän 27 % DNA-metylaatioiän vaihtelusta, kun taas iäkkäämmillä vastaava selitysosuus oli 47 % (Sillanpää ym. 2019).

DNA-metylaatiotasoihin vaikuttavat geeniperimän (Bell & Spector 2012; Kilpinen & Dermitzakis 2012) lisäksi elintapatekijät ja ympäristötekijät (Mathers ym. 2010). Myös

miessukupuolen on havaittu olevan yhteydessä korkeampaan DNA-metylaatioikään (Horvath ym. 2016; Hannum ym. 2013; Horvath & Ritz 2015; Marioni ym. 2016, Jylhävä ym. 2017). Korkea koulutus (Lu ym. 2019; Dugue ym. 2018; Quach ym. 2017;) ja tulotaso (Lu ym. 2019) ovat yhteydessä matalampaan DNA-metylaatioikään (Lu ym. 2019), mutta jo varhaisen elämän korkean sosioekonomisen aseman on havaittu aikaisemmissa tutkimuksissa olevan yhteydessä matalampiin DNA-metylaatiotasoihin aikuisuudessa (Borghol ym. 2011). Elintapatekijöistä fyysisen aktiivisuuden (Quach ym. 2017), tupakoinnin (Breitling ym. 2011; Lee & Pausova 2013; Joehanes ym. 2016; Dugue ym. 2018) ja ravitsemuksen (Quach ym. 2017; Dugue ym. 2018) sekä alkoholin käytön (Fiorito ym. 2019) on osoitettu olevan yhteydessä DNA-metylaatioikään. Sillanpää ym. (2019) kuitenkin havaitsivat, että vapaa-ajan liikunta aikuisuudessa vaikuttaisi vain vähän, jos ollenkaan, Horvathin kellolla mitattuun epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen, kun geneettiset tekijät on vakioitu.



### 3 RAVITSEMUKSEN YHTEYS TERVEYTEEN

Epäsopiva ravitseminen on yksi suurimmista syistä kroonisten sairauksien taustalla (Raiten ym. 2015; WHO 2017), ja sen haitalliset vaikutukset välittyvät vahvasti lihavuuden kautta (Shlisky ym. 2017; Chen ym. 2019). Heikkolaatuisen ravitsemuksen on havaittu olevan yhteydessä kokonaiskuolleisuuteen (McNaughton ym. 2012), kardiometabolisiin riskitekijöihin (McNaughton ym. 2009) sekä huonompaan toimintakykyyn (Milaneschi ym. 2011). Terveellisen ravitsemuksen katsotaan olevan kumulatiivisten vaikutusten vuoksi tärkeää koko elämänkaaren ajan (WHO 2018b). Sopiva energiansaanti on oleellista terveelliselle ravitsemukselle ehkäisten sekä yli- että alipainoa. Kehon rasvattoman massan menetyksen on havaittu olevan yhteydessä kuolleisuuteen (Newman ym. 2011), sarkopeniaan, toimintakyvyn alenemiseen sekä vanhuus-raihnausoireyhtymään (Rollan ym. 2011).

Viime vuosikymmeninä kehittyneissä maissa tulotason nousu (Tilman & Clark 2014; Godfray ym. 2018), kiireinen elämäntyyli (Yoriko & Lu 2017) ja kaupungistuminen ovat siirtäneet ravitsemusta perinteisistä ravitsemusmalleista kohti terveydelle epäedullisia valkoista sokeria, kovia rasvoja ja runsaasti lihaa sisältävään ruokavalioon (Tilman & Clark 2014). Lisäksi ravinnosta saadaan tyypillisesti liikaa energiaa ja suolaa, kun taas vihanneksia, palkokasveja ja hedelmiä kulutetaan liian vähän (WHO 2018b). Prosessoitu, energiatiheä ja ravintoaineköyhä ruoka on muuttunut edullisemmaksi, ja sitä on paremmin saatavilla (Tilman & Clark 2014; WHO 2018b), ja myös lihantuotanto on tehostunut (Modlinska & Pisula 2018).

Yksilön ravitseminen koostuu monista ruokaryhmistä, kuten viljoista, hedelmistä, vihanneksista, lihasta ja kalasta (Vidaki & Kayser 2017). Ravitsemukselliset erot ovat havaittavissa erilaisina makro- ja mikroravintoaineiden, kuten hiilihydraattien, rasvojen, proteiinin, vitamiinien ja mineraalien saantina (Vidaki & Kayser 2017). Ravitsemuksellisia eroja saatetaan havaita myös eri ruokavalioiden noudattamisen seurauksena ravitsemuksesta kokonaan ulosrajautuneiden yhden tai useamman ruokaryhmän osalta (Bettinelli ym. 2019). Ruokavaliintojen on katsottu olevan yhteydessä lapsuudenkodista opittuihin ravitsemusmalleihin (Scaglioni ym. 2018). Ravitsemuksen laadun ja määrän aiheuttamat vasteet ihmiselimistössä saattavat vaihdella myös ruokavaliion mukaan (Larsson ym. 2002; Bainers ym. 2007; Yannakoulia ym. 2008). Ravitsemuksella katsotaan olevan suuri rooli myös ihmiselimistön suoliston mikrobiomiin, joka vaikuttaa kokonaisvaltaisesti terveydentilaan (Cho & Blaser 2012; Wu ym. 2016; De

Filippo ym. 2010; De Filippis 2016). Mikrobiomilla saattaa olla vaikutusta muiden muassa ruokahalua ja energia-aineenvaihduntaa säätelevien välittäjäaineiden muodostumiseen (Duca ym. 2013).

### **3.1 Ravitsemussuositukset ja terveellinen ravitsemus**

Suomalaiset ravitsemussuositukset (FNR 2014) pohjautuvat Pohjoismaisiin ravitsemussuosituksiin (NNR 2012). Ravitsemussuositusten laadinta on osa kansanterveyden edistämistä ja ne muodostavat perustan ruoka- ja ravitsemuspolitiikalle (FNR 2014). Ne laaditaan kohdealueella vallitseviin ravitsemuksen olosuhteisiin (NNR 2012) ja pyrkivät vastaamaan uusinta tutkimustietoa ravinnon ja terveyden välisistä yhteyksistä (FNR 2014). Kansalliset suositukset huomioivat lisäksi paikallisväestön tiedot ruuankäytöstä ja ravintoaineiden saannista sekä niiden vaikutuksista kohdeväestön terveyteen (FNR 2014). Suositusten laadinnassa huomioidaan paikallinen ruokakulttuuri (NNR 2013, FNR 2014). Suomalaisissa suosituksissa on huomioitu myös fyysisen aktiivisuuden suositukset (FNR 2014).

Optimaalisen terveyden saavuttamiseksi ja säilyttämiseksi laadittujen ravitsemussuositusten suhteen ollaan yhä yksimielisempiä (FNR 2014). Tutkimustulokset ovat yhdenmukaisia täysjyväviljojen ja kuidun (Kaczmarczyk ym. 2012), kalan ja omega-3-rasvahappojen (Kris-Etherton ym. 2002) sekä hedelmien ja vihannesten merkityksestä kokonaisvaltaiselle terveydelle (van't Veer ym. 2000) ja elimistön matala-asteisen tulehduksen vähentämisessä (Giugliano ym. 2006). Tyydyttymättömiä- ja monitydyttymättömiä kasviöljyjä suositellaan ruuanlaittorasvaksi, leivälle sekä salaatteihin (FNR 2014), ja kehoitetaan nauttimaan rasvattomia tai vähärasvaisia maitotuotteita tai pieniä määriä vähärasvaista juustoa päivittäin (FNR 2014). Ravitsemussuosituksissa kehoitetaan suosimaan vähärasvaisia ja -suolaisia lihavaihtoehtoja ja rajoittamaan punaisten ja prosessoitujen lihavalmisteiden käyttöä alle 500 g:an viikossa (FNR 2014). Puhdistettujen viljojen, sokerin ja kovan rasvan, makeiden mehujen ja virvoitusjuomien sekä suolan runsasta käyttöä tulisi rajoittaa (DGA 2015, FNR 2014, NNR 2012).

Terveelliselle ravitsemukselle ominaista on energiankulutusta vastaava energiansaanti (WHO 2018b) sekä optimaalinen makro- ja mikroravintoaineiden saanti (taulukko 1). Terveellisen ravitsemuksen katsotaan olevan pääsääntöisesti kotona valmistettua (WHO 2018b) ja

ruokajuomaksi suositellaan vettä (Gil ym. 2015). Vähäsuolaisuus ja kohtuullinen alkoholin käyttö ovat osa terveellistä ravitsemusta (Gil ym. 2015). Ravitsemussuosituksia noudattamalla tyydytetään ravitsemukselliset tarpeet ja vastataan elimistön fysiologisiin tarpeisiin normaalin metabolian ja kasvun olosuhteissa sekä tuetaan kokonaisvaltaisesti hyvää terveydentilaa ja vähennetään riskiä sairastua suboptimaaliseen ravitsemukseen liittyviin sairauksiin (NNR 2012). Terveellinen ravitsemus suosii kasvispainotteisia ja välimerellisiä ruokavalioita (Saez-Almendros ym. 2013; Capone ym. 2014; Billingsley ym. 2018; Blas ym. 2019; Michielsen ym. 2019). Terveelliseen, kasvispainotteiseen ravitsemukseen katsotaan sisältyvän runsaasti vihanneksia, palkokasveja, hedelmiä ja marjoja (Tilman & Clark 2014; Sprigmann ym. 2016; Perignon ym. 2017), sekä pähkinöitä, siemeniä, täysjyväviljaa, kalaa ja muita mereneläviä, kasviöljyjä ja kasviöljypohjaisia levitteitä sekä vähärasvaisia maitotuotteita (Milaneschi ym. 2011; NNR 2012; De Filippis ym. 2016; EFSA 2017; WHO 2018a; Kim ym. 2018; Michielsen ym. 2019; Medawar ym. 2019).

Välimeren ruokavalion käsitettä käytetään usein kuvailtaessa terveellistä ravitsemusta (Trichopoulou ym. 1995; Tertsunen ym. 2020). Välimeren ruokavaliolla katsotaan olevan edullisia vaikutuksia veren rasva-arvoihin, mikä selittyy pääsääntöisesti monitydyttymättömien rasvojen saannilla, mutta lisähyötyjä on tutkimusten mukaan saavutettavissa Välimeren ruokavalion muidenkin komponenttien sisällyttämisellä ruokavalioon (Michielsen ym. 2019). Ruokakulttuurien erojen ja ruoka-aineiden paikallisen saatavuuden johdosta tietyille alueille tyypillisen ruokavalion toteuttaminen voi olla haastavaa muilla maantieteellisillä alueilla (Tertsunen ym. 2020). Yksi uusimmista Välimeren ruokavalion sovelluksista on Itämeren ruokavalio, joka sisältää runsaasti marjoja ja hedelmiä, täysjyväviljoja, vihanneksia, rypsiöljyä, kalaa, vähärasvaisia maitotuotteita ja vain vähän prosessoitua lihaa ja alkoholia (Kanerva ym. 2014). Itämeren ruokavaliossa toistuvat samat terveydelle edulliseksi katsotut sisällöt kuin pohjoismaisissa ravitsemussuosituksissa (NNR 2012). Keski-ikäisillä ja vanhemmilla miehillä tehdyssä tutkimuksessa havaittiin Itämeren ruokavalion noudattamisen olevan yhteydessä pienempään riskiin kuolla sydän- ja verisuonisairauksiin (Tertsunen ym. 2020).

TAULUKKO 1. Pohjoismaiset ravitsemussuositukset energiaravintoaineiden ja suolan osalta mukailten NNR (2012), WHO (2018) ja EFSA (2017).

<b>Energia- ravintoaine</b>	<b>Saantisuositus</b>	<b>Suositteluja lähteitä</b>
Hiilihydraatit	45-60 E%	Täysjyväviljat, vihannekset, hedelmät, palkokasvit, pähkinät, siemenet
Kuitu	Vähintään 25-35 g/pv	
Sokeri	<5-10 E%	
Rasvat	25-40 E%	Kasviöljyt ja -margariinit, pähkinät, siemenet, rasvainen kala
Kerta- ja monitydyttymättömät	2/3 kokonaisrasvan määrästä	
Tyydyttyneet	<10 E%	
Transrasvat	Mahdollisimman vähän	
Proteiinit	10-20 E%	Vähärasvaiset maitotuotteet, kala, siipikarja. Kohtuudella lihavalmisteita, punaista lihaa ja kananmunaa
Alkoholi	Naiset: <10 g/pv Miehet: <20 g/pv <5 E%	
Suola	<6 g/pv	Jodioitu ruokasuola

E% prosentiosuus kokonaisenergiansaannista, g/pv päiväkohtainen saantisuositus grammoina.

### 3.2 Ravitsemuksen haasteet kehittyneissä maissa

Globaalisti kehittyneissä maissa ravitsemuksen keskeisimpiä haasteita ovat liiallinen energiansaanti sekä ravintoköyhyä ja korkeasti prosessoitu ruoka, joka sisältää runsaasti sokeria, suolaa ja tyydytynyttä rasvaa sekä punaista lihaa (Popkin ym. 2012). Suomessa julkaistu FinRavinto (2017) tutkimuksen tulokset olivat yhteneviä kansainvälisten havaintojen kanssa (Popkin ym. 2012). FinRavinto tutkimuksen mukaan vain 14 % aikuisista miehistä ja 22 % aikuisista naisista söi suositellun määrän, vähintään 500 g vihanneksia, hedelmiä ja marjoja

päivässä (Valsta ym. 2017). Sen sijaan punaista ja prosessoitua lihaa koskeva viikon maksimisuositus, 500 g, ylittyi 79 %:lla miehistä ja 26 %:lla naisista (Valsta ym. 2017). Tyydyttymättömien rasvahappojen ja pääosin myös proteiinin osalta energiaravintoaineiden saanti oli suositusten mukaista (Valsta ym. 2017). Hiilihydraattien ja kuitujen saanti oli riittämätöntä kahdella kolmasosalla väestöstä ja tyydyttyneiden rasvahappojen suosituksen saavutti vain yksi aikuinen kahdeskymmenestä (Valsta ym. 2017). Miesten ravitsemus sisälsi keskimäärin ruokavalion energiaan suhteutettuna enemmän rasvaa, tyydyttyntä rasvaa ja suolaa (Valsta ym. 2017). Naisten ravitsemus oli keskimäärin lähempänä suosituksia sisältäen enemmän hiilihydraatteja ja kuitua sekä vitamiineja ja hivenaineita (Valsta ym. 2017). Laajassa nuorten eurooppalaisten aineistossa (n=3528) havaittiin samansuuntaisia ravitsemuksellisia puutteita kuin suomalaisella aikuisväestöllä (Moreno ym. 2014). Lisäksi nuorten havaittiin saavan paljon energiaa makeutetuista juomista, maidosta ja mehuista (Moreno ym. 2014). Seuraavissa alakappaleissa käsitellään FinRavinto (2017) -tutkimuksessa ilmenneiden suomalaisen väestön ravitsemuksellisten puutteiden yhteyksiä terveyteen suurten ruokaryhmien osalta.

### **3.2.1 Kasvikunnan tuotteiden kulutuksen yhteys terveyteen**

Kasvikunnan tuotteiden katsotaan olevan heterogeeninen ruoka-aineryhmä terveysvaikutusten sekä koostumuksen osalta, mutta niiden runsaan käytön katsotaan indikoivan terveellistä ravitsemusta ja suojaavan useilta kroonisilta sairauksilta sekä auttavan painonhallinnassa (NNR 2012, FNR 2014) sekä vähentävän kokonaiskuolleisuutta (Orlich ym. 2013; Kim ym. 2018). Edullisten vaikutusten sairastumisriskiin katsotaan selittyvän pitkälti kasvikunnantuotteiden sisältämällä fytokeemikaaleilla, matalalla energiatiheydellä ja muilla fysikaaliskemiallisilla ominaisuuksilla sekä kuidulla (NNR 2012). Fytokeemikaaleja ovat kasvikunnan tuotteille ominaiset bioaktiiviset yhdisteet kuten antioksidantit, fenoliyhdisteet ja fytoestrogeenit (Medawar ym. 2019). Fytokeemikaalit eivät lukeudu ravintoaineisiin, mutta niillä katsotaan olevan edullisia vaikutuksia elimistön terveydelle (NNR 2012; Medawar ym. 2019). Verrattuna länsimaisiin, runsaasti punaista ja prosessoitua lihaa, ravintoköyhiä valmisteita, paljon sokeria, suolaa ja rasvaa sisältävään ravitsemukseen, kasvipohjaisiin tuotteisiin perustuva ravitsemus on yhteydessä matalampaan sairastumisriskiin monen kroonisen sairauden osalta (NNR 2012).

Kasvikunnan tuotteiden runsaan kulutuksen yhteys metaboliaan perustuu terveydelle edullisiin kolesteroli- ja paastoglukoositasoihin (Tonstad ym. 2013). Runsaan kasvikunnan tuotteiden

kulutuksen katsotaan suojaavan korkealta verenpaineelta (Fraser 2009; Key ym. 2009; Yokoyama ym. 2014; Jian ym. 2015; Chuang ym. 2016;) ja 2-tyyppin diabetekselta (NNR 2012. Sen katsotaan olevan yhteydessä myös korkeampiin veren HDL-kolesterolitasoihin ja matalampaan sepelvaltimotaudin (Fraser 2004) ja insuliiniresistenssin (Kim & Bae 2015) riskiin. Toisaalta kasvisyönnin ja veren triglyseriditasojen osalta on saatu myös tuloksia, joissa yhteyttä ei ole havaittu (Yokoyama ym. 2017). Myös Shang ym. (2011) ovat kyseenalaistaneet kasvisruokavalion terveellisyyden sekaruokavalioon verrattuna; heidän tutkimuksensa mukaan vegaaniruokavalio ei näytä vaikuttavan riskiin sairastua metaboliseen oireyhtymään verrattuna pescovegetaariseen, laktovegetaariseen tai sekaruokavalioon. Kalaa syöville ja kasvisyöjillä havaittiin pienempi riski sairastua iskeemiseen sydänsairauteen kuin lihansyöjillä, mutta kasvisyöjillä oli lihansyöjäverrokkejaan suurempi riski sairastua aivoverenvuotoon ja halvaukseen (Tong ym. 2019).

Kasvisyönnin on havaittu olevan yhteydessä matalampaan riskiin sairastua dementiaan (Morris 2016; Giem ym. 1993), mutta on epäselvää, kuinka kasvisruokavalio vaikuttaa kognition muutoksiin (Medawar ym. 2019). Nuorilla lapsilla tehdyssä tutkimuksessa ravitsemuksen korkea fruktoosi- ja ravintokuitupitoisuus yhdistettiin nuorilla pojilla parempaan kognitioon, mutta vastaavaa vaikutusta ei havaittu nuorilla tytöillä (Naveed ym. 2020). Sekä lakto-ovovegetaristinen että vegaaniruokavalio on yhdistetty matalampaan sairastumisriskiin useiden syöpien kohdalla (Tantamango-Bartley ym. 2013). Kasvisruokavalio alentaa riskiä sairastua rintasyöpään (Catsburg ym. 2015), paksusuolen syöpään (Orlich ym. 2015) ja eturauhasen syöpään (Tantamango-Bartley ym. 2016). Myös mikrobiomin monimuotoisuuden on katsottu olevan suurempaa sekä vegaaneilla (Zimmer ym. 2012; Wu ym. 2016) että välimeren ruokavaliota (De Filippis 2016) noudattavilla verrattuna runsaasti lihaa kuluttaviin. Mikrobiomissa ei ole havaittu eroa vegaaniruokavaliota ja muita kasvisruokavaliota noudattavien välillä (Zimmer ym. 2012; Wu ym. 2016).

Makroainejakauman, ruokavalion yleisen laadun ja mikroravintoaineiden saantisuositukset näyttävät toteutuvan kasvisyöjillä todennäköisemmin (Alles ym. 2017), mikä saattaa osaltaan selittää kasvisyönnin ja terveyden välillä havaittuja yhteyksiä. Vain vähän tai ei ollenkaan lihaa syövien on havaittu vain osittain korvaavan punaisen ja prosessoidun lihan muilla runsasproteiinisilla ruoka-aineilla, mutta heidän on havaittu syövän monipuolisesti kasviperäisiä ruoka-aineita (Bradbury ym. 2017) ja saavan enemmän laadukkaita

hiilihydraatteja ja antioksidantteja verrattuna sekaruokavalioon (Rauma & Mykkänen; Calkins ym. 1984).

Yksipuolisen ja puutteellisen kasvisruokavalion aiheuttamat ravintoainepuutokset saattavat olla terveydelle haitallisia pitkällä aikavälillä (McEvoy ym. 2012). Kasvisruokavaliota koostaessa tulisi kiinnittää huomiota riittävään proteiiniin (Melina ym. 2016) sekä B12-vitamiiniin, kreatiiniin ja karnitiiniin saantiin (Delanghe ym. 1989, Janelle & Barr 1995). Lisäksi sinkin ja raudan saantiin tulisi kiinnittää huomiota, sillä niiden biosaatavuus kasvipöytäistä lähteistä on heikompaa kuin lihatuotteista (Hunt 2003), mikä antaa erityisesti vegaaneille aihetta täydentää ruokavaliota lihalla korvaavilla valmisteilla ja lisäravinteilla (Alles ym. 2017; Schupbach ym. 2017).

### **3.2.2 Rasvojen ja ultraprocessoitujen ruoka-aineiden kulutuksen yhteys terveyteen**

Tyydyttymättömien ja monitydyttymättömien rasvojen saannin katsotaan olevan yhteydessä terveydelle edullisempiin veren rasva-arvoihin, mikä selittää suurelta osin runsaasti tyydyttymättömiä rasvoja sisältävän Välimeren ruokavalion yhteyttä matalampaan riskiin sairastua sydän- ja verisuonisairauksiin (Michielsen ym. 2019). Pitkäketjuisten omega-3-rasvahappojen on katsottu vaikuttavan edullisesti sokeri- ja rasva-aineenvaihduntaan suoliston mikrobiomin välityksellä (Vetrani ym. 2020).

Runsaan tyydyttyneiden rasvojen saannin on havaittu olevan yhteydessä sydän- ja verisuonisairauksiin (Aranceta & Perez-Rodrigo 2012; Assmann ym. 2014), ja siksi esimerkiksi liha- ja maitotuotteissa kehoitetaan valitsemaan vähärasvainen- tai rasvaton versio (NNR 2012). Toisaalta maitorasvan merkityksestä terveydelle on ristiriitaista näyttöä; on ajateltu, että tyydyttyneiden rasvojen potentiaaliset riskit kardiometaboliselle terveydelle ovat erilaisia, kun niitä saadaan ravintoainetiheistä ruuista, kuten jogurtista, juustosta tai muista maitotuotteista (Salas-Salvado ym. 2018), jotka sisältävät proteiinia, vitamiineja ja hyviä rasvahappoja (Tunick & Van Hekken 2015). Terveydelle kaikista epäedullisimmiksi katsotaan transrasvat, joiden on havaittu lisäävän riskiä sairastua sepelvaltimotautiin (de Souza ym. 2015), ja uudet suositukset niiden saannin rajoittamisesta ovat johtaneet monissa maissa sen käytön rajoittamiseen ruokateollisuudessa (WHO 2013).

Ultraprosessoituilla valmisteilla tarkoitetaan valmisteita, kuten makeutetut virvoitusjuomat, valmisleivät, keksit, leivonnaiset, naposteltavat, makeiset, jäätelö, murot ja valmisateriat, jotka sisältävät runsaasti erilaisia teollisesti tuotettuja, epäteveellisiä havaittuja ainesosia (Poti ym. 2017). Korkeasti prosessoituja tuotteita yhdistää usein korkea energia-, suola- ja sokeripitoisuus (Poti ym. 2017). Ultra-prosessoitujen ruokien käytön katsotaan olevan yhteydessä lihavuuteen, metaboliseen oireyhtymään, korkeaan veren kokonaiskolesterolitasoon ja korkeaan verenpaineeseen (Poti ym. 2017). Yli 30 000 ihmisen eurooppalaisessa aineistossa havaittiin myös yhteys prosessoitujen ruokien ja tulehduksellisten suolistosairauksien välillä (Schnabel ym. 2018).

### **3.2.3 Punaisen lihan kulutuksen yhteys terveyteen**

Tuore tai pakastettu punainen liha on hyvä proteiinin, raudan, sinkin ja B12-vitamiinin lähde, mutta terveyden kannalta olisi suositeltavaa suosia vähärasvaista lihaa sekä pitää sen kulutus kohtuullisena (WCRF 2018b). Suositusten mukaan punaisen lihan täysi karsiminen ruokavalioista ei ole tarpeen, mutta ravitsemuksellisista lähtökohdista katsoen punaista lihaa ei kuitenkaan ole välttämätöntä sisällyttää ruokavalioon (Davey ym. 2002), sillä riittävän proteiinin saannin voi turvata kasvisruokavaliossa käyttämällä ravinnossaan monipuolisesti linssejä ja täysjyväviljoja (WCRF 2018b) tai sekaruokavaliossa siipikarjaa ja rasvattomia maitotuotteita (Abid ym. 2014). Vähärasvaiset ja rasvattomat maitotuotteet turvaavat kehittyneissä maissa myös riittävän jodin ja kalsiumin saannin (van der Reijden ym. 2017). Rautaa on mahdollista saada monista kasvikunnan tuotteista, mutta sen biosaatavuus on heikompaa kuin eläinperäisistä tuotteista saatu rauta (WCRF 2018b).

Sydän- ja verisuonisairauksien kannalta suuri lihan kulutuksen määrä on ongelmallinen (Dinu ym. 2017). Erityisesti punainen ja prosessoitu liha nähdään terveyden kannalta epäedullisimmaksi (WCRF 2018a). Punainen liha sisältää terveydelle epäedullisia tyydyttyneitä rasvahappoja ja kolesterolia (de Meiros ym. 2019). Sen on katsottu olevan yhteydessä tyypin 2 diabetekseen (Micha ym. 2012) ja kardiovaskulaarisiin sairauksiin, kuten sepelvaltimotautiin, aivohalvaukseen ja sydämen vajaatoimintaan (Bechthold ym. 2019). On havaittu, että terveellinen ruokavalio, joka sisältää kohtuullisen määrän lihaa, alentaa sairastumisriskiä sepelvaltimotautiin ja tyypin 2 diabetekseen (McEvoy ym. 2012).



Kansainvälisissä, terveyden riskitekijöitä arvioivissa analyyseissa havaittiin, että suboptimaalinen ravitsemus, joka sisältää runsaasti punaista lihaa, on yhteydessä toimintakyvyn alenemiseen ja kuolleisuusriskin kasvuun (GBD 2016). Punaisen lihan annosvastesuhdetta on tutkittu meta-analyysin avulla, jonka mukaan jokainen päivittäinen 100 gramman lisäys punaista lihaa lisäsi riskiä sairastua paksusuolen syöpään 12 % (WCRF 2018a). Runsaan punaisen lihan kulutuksen on katsottu myös olevan yhteydessä kokonaiskuolleisuuteen (Schwingshackl ym. 2017).

Prosessoidut lihavalmisteet ovat pääsääntöisesti energiatiheitä ja voimakassuolaisia (WCRF 2018b), mutta niiden valmistuksessa käytettyjen menetelmien ja lisäaineiden on katsottu olevan myös vahvasti karsinogeenisia eli syöpää aiheuttavia (WCRF 2018b). Punaisen ja prosessoidun lihan katsotaan olevan selvä riskitekijä paksusuolensyövälle (WCRF 2018b) ja olevan yhteydessä myös eturauhassyöpäriskiin (Abid ym. 2014); Bellamri & Turesky 2019) Tutkimuksissa on havaittu viitteitä myös punaisen lihan käytön yhteydestä ruokatorven, maksan ja munuaisten (Abid, Cross & Sinha 2014) sekä keuhko- ja mahasyövän riskiin (Lippi ym. 2016). Myös vastakkaisisuuntaisia tuloksia ruuansulatuselimistön syöpien ja lihankäytön välillä on saatu (Zhao ym. 2017). Havainnot lihan käytön haitoista terveydelle ovat lisänneet kiinnostusta myös muiden eläinperäisten tuotteiden, kuten maitotuotteiden, terveellisyiden tarkasteluun. Maailman syöpäjärjestön raportissa (2018b) todettiin vähärasvaisten maitotuotteiden käytön todennäköisesti alentavan riskiä sairastua paksusuolen syöpään, mutta toisaalta runsaan kalsiumin saannin lisäävän riskiä sairastua eturauhassyöpään (Abid ym. 2014). Suosimalla kasvikkunnon tuotteita, välttämällä korkeasti prosessoituja elintarvikkeita ja liiallista punaisen lihan käyttöä, voidaan välttää monia terveydelle epäedullisia ravinnon komponentteja sekä turvata riittävä elimistön tarvitsemien makro- ja mikroravinteiden saanti (NNR 2012).

Aikaisemmin punaisen lihan kulutuksen suositeltiin olevan maksimissaan 300-400 grammaa viikossa (WCRF 2007). Nykyisissä annossuosituksissa kehoitetaan kohtuullistamaan punaisen lihan kokonaiskulutusta suosittaen, että sitä nautittaisiin enintään kolme annosta viikossa (WCRF 2018a). Se vastaa 350-500 grammaa kypsennettyä lihaa (WCRF 2018a). Nykyiset suositukset kehottavat myös kuluttamaan mahdollisimman vähän, jos ollenkaan, prosessoitua punaista lihaa (WCRF 2018b).

### **3.3 Ravitsemuksen ja ruokavalioiden terveellisuuden arvioinnin haasteet**

Ravitsemuksen terveellisyyttä arvioitaessa on haasteellista erottaa toisistaan vaikutukset, jotka johtuvat itse ravitsemuksen laadusta, tietyistä ravitsemukseen sisältyvistä ruoka-aineista tai muista tekijöistä, jotka liittyvät ruokavalion noudattamiseen (Medawar ym. 2019). Toistaiseksi on julkaistu vain harvoja satunnaistetuja ja kontrolloituja tutkimuksia vihannesten ja hedelmien käytön vaikutuksista terveydentilaan tai terveyden biomarkkereihin (Slavin & Lloyd 2012). Tutkimusten keskittyessä ruokavalioiden tutkimukseen, on haastavaa erottaa yksittäisten ravintoaineryhmän aiheuttamia vasteita kokonaisesta ruokavaliosta. Ruokavalioiden ja ravitsemuksen tutkimuksen haasteena ovat myös ruoka- ja ravintoaineiden mahdollinen synerginen potentiaali sekä kasautuvat terveyskäyttämisen mallit.

## 4 RAVITSEMUKSEN YHTEYS EPIGENEETTISEEN IKÄÄNTYMISEEN

Krooniset sairaudet ova globaalisti yleisin kuolinsyy (Lee ym. 2012). On havaittu, että epäsopivalla ravitsemuksella saattaa olla terveysvaikutuksia, jotka ilmenevät vielä vuosikymmenien päästä (Jumenez-Chillaron ym. 2012). Se vahvistaa hypoteesiä, jonka mukaan epigeneettiset mekanismit saattavat olla yhteydessä ravitsemuksellisiin puutteisiin sekä kasvaneeseen sairastumisriskiin (Jumenez-Chillaron ym. 2012). Aineenvaihdunta on tiiviisti yhteydessä epigeneettiseen säätelyyn (Lempradl ym. 2015), minkä vuoksi ravitsemuksen ajatellaan olevan merkittävä DNA-metylaatioon välillisesti vaikuttava tekijä (Hahn ym. 2017). Toisaalta samojen ravitsemukseen liittyvien haasteiden on todettu aiheuttavan erilaisia vasteita eri ihmisillä (Szarc vel Szic ym. 2015). Sen on ajateltu johtuvan tiettyjen ravintoaineiden aineenvaihduntaan oleellisesti liittyvien geenien ilmenemisen säätelystä (Szarc vel Szic ym. 2015).

### 4.1 Ravitsemuksen yhteys DNA-metylaatioon

Ravitsemuksen laadun ja määrän ajatellaan vaikuttavan DNA:n metylaatioon, joka johtaa muutoksiin genomisessa stabiiliudessa sekä geenien ilmenemisessä (Giacconi ym. 2019). Vaikutukset ilmenevät energia-aineenvaihdunnan välityksellä erityisesti vaikuttamalla ruokahalua säätelevään leptiiniin, sokeriaineenvaihdunnan tasapainoa sääteleviin insuliinireseptoreihin, rasvahapposynteesiin sekä TNF $\alpha$ -adipokiiniin (Milagro ym. 2013). TNF $\alpha$  adipokiinin on havaittu olevan yhteydessä lihavuuteen liittyvään matala-asteiseen tulehdukseen ja insuliinin säätelyyn (Milagro ym. 2013). Ravitsemus saattaa vaikuttaa DNA-metylaatioon joko suorasti tai epäsuorasti (Tiffon 2018). Suorat vaikutukset näkyvät epigeneettisten entsyymien inhibiitiona ja epäsuorat vaikutukset entsyymaattisten reaktioiden edellyttämien substraattien saatavuuden säätelyinä (Tiffon 2018). Molemmat ravitsemuksen vaikutusreitit DNA-metylaatioon vaikuttavat geenien ilmenemiseen ja siksi myös kokonaisvaltaiseen terveydentilaan (Tiffon ym. 2018).

Varhaisten kehitysvaiheiden ravitsemustilan on havaittu vaikuttavan DNA-metylaatiotasoihin, mikä saattaa altistaa sairauksille koko elämän ajan (Kim ym. 2009). Mikroravintoaineiden tasolla on havaittu, että sikiöaikaisen kehityksen aikana B-vitamiinin saanti näyttää olevan merkittävässä roolissa sekundäärisenä metyylin luovuttajana (Anderson ym. 2012; Vidaki &

Kayser 2017), ja folaatilla rikastettujen ruokien nauttimisen on havaittu olevan yhteydessä LINE-1:n metylaatioon veressä, mutta samaa yhteyttä ei havaittu luonnollisesti folaattia sisältävien ruoka-aineiden kohdalla (Zhang ym. 2012). Jo kohtuullinen B12-vitamiinin puutos raskaana olevilla kasvissyöjillä on yhteydessä korkeampiin veren homokysteiinitasoihin ja hypermetylaatioon (Gadgil ym. 2014). Ravintolisien vaikutusta sikiöaikaisiin epigeneettisiin muutoksiin on kuitenkin tutkittu lähinnä eläinkokeilla (Burdge & Lillycrop 2010). Askorbiinihapon, eli C-vitamiinin on havaittu lisäävän DNA:n de-metylaatiota TET-entsyymien lisääntymisen välityksellä (Blaschke ym. 2013; Yin ym. 2013). Veren karotenoiditasojen, jotka indikoivat hedelmien ja vihannesten kulutusta, on katsottu olevan merkitsevästi yhteydessä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen (Lu ym. 2019; Quach ym. 2017).

Ravitsemuksen yhteyttä DNA-metylaatioon on tutkittu myös energiaravintoaineiden ja ruokavalioiden tasolla. Runsaan kalansyönnin ja SEPP1-hypometylaation välillä on havaittu yhteys (Goodrich ym. 2013; Vidaki & Kayser 2017), mitä tukee myös Lun ym. (2019) havainto omega-3 rasvahappojen ja epigeneettisen ikääntymisnopeuden välisestä yhteydestä. Myös hiilihydraattien kulutuksen on havaittu olevan yhteydessä alhaisempaan epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen eli DNA-metylaatioikään (Lu ym. 2019). Sen sijaan punaisen lihan osalta yhteyden katsotaan olevan vastakkaisuuntainen, sillä päivittäisen paistetun punaisen lihan syömisen on katsottu olevan yhteydessä ruokatorvikudoksen solujen metylaatiomuutoksiin (Chen ym. 2014). Myös lisääntynyt rasvan saannin osuus ravitsemuksesta näyttäisi korreloivan kiihtyneemmän epigeneettisen ikääntymisnopeuden kanssa (Lu ym. 2019). Ruokavalioiden tasolla eurooppalaisilla kasvissyöjillä havaittiin Thalerin ym. (2009) tutkimuksessa 40 % vähemmän poskikudoksen metylaatiota verrattuna vastaavan ikäisiin lihansyöjiin. Tutkimuksen otos oli kuitenkin pieni ja ryhmät keskenään merkitsevästi erikokoisia, minkä vuoksi tuloksia ei voida yleistää koskemaan suurempaa populaatiota. Toistaiseksi ei kuitenkaan tiedetä, kuinka ruoka-aine- tai ravintoainekohtaisia havaitut vaikutukset epigenomeissa ovat, sillä mikro- ja makroravintoaineiden välisiä suhteita tunnetaan vielä heikosti (Vidaki & Kayser 2017).

#### **4.2 Ravitsemuksen yhteys epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen**

Kasvipohjainen ravitsemus, joka sisältää vähärasvaista lihaa ja kalaa sekä vain kohtuullisesti alkoholia saattaa olla yhteydessä hitaampaan epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen (Quach ym.

2017). Havaittu yhteys on kuitenkin heikko, minkä katsotaan johtuvan geneettisten tekijöiden suuresta merkityksestä epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa (Horvath 2013; Lu ym. 2016; Quach ym. 2017). Ravitsemuksen vaikutus ikääntymiseen solutasolla onkin edelleen epäselvää, vaikka sen ja muiden elintapojen yhteys terveyteen on vahva (Quach ym. 2017). BMI:n (Quach ym. 2017, Lu ym. 2019), kehon rasvaisuuden ja vyötärö-lantiosuhteen ja epigeneettisen ikääntymisnopeuden korrelaatiosta (Lu ym. 2019) voidaan kuitenkin päätellä, että elintapatekijät ovat välillisesti yhteydessä epigeneettiseen ikääntymiseen painoindeksin muutosten kautta (Quach ym. 2017). Yksittäisten mikroravintoaineiden, kuten foolihapon ja B12-vitamiinin on havaittu olevan yhteydessä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen, mutta yhteyden katsotaan riippuvan tutkittavan sukupuolesta ja genotyypistä (Sae-Lee ym. 2018). Tutkimuksia ravitsemuksen ja epigeneettisen ikääntymisnopeuden välisistä yhteyksistä on kuitenkin tehty vasta muutamia (Lu ym. 2019; Quach ym. 2017; Sae-Lee ym. 2019).

Kalorirajoituksen (*calorie restriction*) vaikutuksia sairastumis- ja ennenaikaiseen kuolemanriskiin on tutkittu lähinnä eläimillä. Kalorirajoituksen on havaittu suojelevan monilta ikääntymiseen liittyviltä kroonisilta sairauksilta (Fontana ym. 2010) ja pidentävän elinikää (McCay ym. 1935; Vaquero & Reinberg 2009) rotilla tehdyissä tutkimuksissa. Sairastavuuden vähenemisen ja eliniän pidentymisen on havaittu näkyvän vielä seuraavissa kahdessa sukupolvessa (Bygren ym. 2001). Myös hiiva-, hyönteis-, kala-, ja nisäkästudkimuksissa on havaittu samansuuntaisia tuloksia kalorirajoituksen ja eliniän osalta (Masoro 2005; Kennedy ym. 2007; Vaquero & Reinberg 2009). Ihmisillä sen sijaan sikiöaikaisen aliravitsemuksen on katsottu aiheuttavan elämänmittaisia metylaatiomuutoksia (Vidaki & Kayser 2017) sekä kognitiivisia häiriöitä (Petter ym. 2016; Vidaki & Kayser 2017).

Monien kasviperäisten ravintoaineiden fytokeemikaaleilla ja makro- ja mikroravintoaineilla katsotaan olevan yhteys oksidatiivisen stressin ja elimistön tulehduksellisten signaaleiden, metabolisten aineenvaihduntareittien ja bioenergeetiikan säätelyyn, mitkä voivat vaikuttaa epigeneettisten mallien välityksellä geenien ilmenemiseen ja säätelyyn (Szarc vel Szic ym. 2015). Tästä on saatu viitteitä tutkimuksissa, joissa havaittiin, että ruoka-aineiden ja histonimodifikaatioiden, DNA-metylaation, ei-koodaavan RNA:n ilmenemisen ja kromatidien uudelleen muodostuksen välillä vaikuttavat yksilön tulehdukselliseen fenotyyppiin, jonka ajatellaan joko altistavan tai suojaavan elimistön monilta ikään liittyviltä sairauksilta (Szarc vel Szic ym. 2015).

Toistaiseksi tutkimuksia epigeneettisen ikääntymisnopeuden ja ravitsemuksen välisistä yhteyksistä on vasta vähän ja erityisesti nuorten, alle 30-vuotiaiden aikuisten osalta, joita harvoin on sisällytetty mihinkään epigeneettistä ikääntymisnopeutta tutkiviin tutkimuksiin.

## **5 TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA TUTKIMUSKYSYMYKSET**

Tämän pro gradu -tutkielman tarkoitus oli selvittää ravitsemuksen merkitystä epigeneettisessä ikääntymisessä. Tutkielman tarkoitus on vastata seuraaviin tutkimuskysymyksiin: 1) Onko ravitsemuksen terveellisyydellä tai epäterveellisyydellä yhteyttä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen nuorilla 23–28-vuotiailla aikuisilla? 2) Selittyykö mahdollinen yhteys sukupuolella tai painoindeksillä?

## 6 AINEISTO JA MENETELMÄT

Nuorten Kaksosten Terveystutkimus (*Finntwin16*) on Helsingin yliopiston toteuttama, nuorten kaksosten seurantatutkimuksena kerätty perheaineisto, joka perustuu kyselylomakkeiden avulla kerättyihin terveystietoihin ja tutkittavien terveyden seurantaan. Tässä tutkielmassa hyödynnettiin Nuorten Kaksosten Terveystutkimusta nuorille, 23–28-vuotiaille aikuisille postitse lähetettyjen kyselylomakkeiden vastausten ja terveystietojen osalta. Tähän tutkielmaan sisällytettiin ruuankäyttöä koskeviin kysymyksiin saadut vastaukset sekä terveystiedot iän, painoindeksin ja sukupuolen osalta. Tarkoituksena oli selvittää nuorten ravitsemuksen yhteyttä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen (Kaidesoja ym. 2019).

### 6.1 Tutkittavat ja tutkimusasetelma

Tutkimuksen ensimmäinen kyselylomake lähetettiin postitse kaikille Suomessa vuosina 1975–1979 syntyneille kaksosille ja heidän vanhemmilleen nuorten ollessa 16-vuotiaita. Tämän jälkeen kaksosten terveydentilaa seurattiin lähettämällä kyselylomakkeita nuorille heidän ollessaan 17-, 18,5- ja 23-28-vuotiaita. Tässä tutkielmassa tarkastellaan kyselylomakkeita ja niiden pohjalta kerättyjä terveystietoja viimeisimmältä ajanjaksolta, nuorten ollessa 23-28-vuotiaita (taulukko 2). Aineiston keruu toteutettiin 2000-2002. Tutkimukseen kutsuttujen kaksosten ja heidän vanhempiansa yhteystiedot saatiin Väestörekisterikeskuksesta. Kaksosuuden kriteerinä oli sama syntymäpäivä ja yhteiset vanhemmat. Tutkimussuunnitelma on käsitelty Helsingin yliopiston ja Helsingin yliopistollisen sairaalan eettisissä toimikunnissa (Nuorten Kaksosten Terveystutkimus 2010, 346/E0/05). Kyselytutkimukseen oli liitetty kattava selvitys tutkimuksen tarkoituksesta sekä tietojen suojaamisesta. Haastatellut tutkittavat antoivat tietoon perustuvan suostumuksensa osallistumisestaan tutkimukseen ennen näytteiden keruuta. Tutkittaville ilmoitettiin, että he voisivat vetäytyä tutkimuksesta missä tahansa vaiheessa (Kaidesoja ym. 2019).



TAULUKKO 2. Tutkittavien (n= 240) sosiodemografisia tietoja

	Naiset	Miehet
Sukupuoli, n (%)	114 (47.5%)	126 (52.5%)
Kronologinen ikä, vuosia	25.96 (0.12)	25.93 (0.09)
Epigeneettinen ikääntymisnopeus (GrimAge), jäännös	-0.74 (0.39)	0.59 (0.31)
BMI, kg/m <sup>2</sup>	23.76 (0.51)	24.71 (0.39)

BMI= painoindeksi, taulukon luvut ovat keskiarvoja ja keskihajontoja (suluissa) ellei toisin ole ilmoitettu.

Vuosina 2002-2003 noin 25-vuotiaille kaksosille lähetetyssä kyselylomakkeessa selvitettiin työhön ja asumiseen, terveyteen, painoon ja painonhallintaan, liikuntaan, ihmissuhteisiin, alkoholinkäyttöön, ruokatottumuksiin, tupakointiin, elämäntyytyväisyyteen ja elämäntapahtumiin, hyvinvointiin, uskontoon sekä syntymään ja kehitykseen liittyviä terveyden osa-alueita. Tässä Pro Gradu -tutkielmassa hyödynnettiin terveystutkimusta ravitsemukseen liittyvien frekvenssikysymysten osalta (liite 1).

Kyselylomakkeet olivat sekä suomen- että ruotsinkielisiä. Viimeisessä seurantatutkimuksen osassa, jossa kyselylomakkeet lähetettiin nuorille aikuisille, jokaiseen syntymäkohorttiin otettiin yhteyttä kaksospareittain puolen vuoden välein syksyn 2000 (vuoden 1975 kohortti) ja syksyn 2002 (1979 kohortti) välillä. Tutkittavien ikä vaihteli tuolloin välillä 22-28 ja keski-ikä oli 25,9 (keskihajonta 0.94) vuotta. Tutkimukseen sisällytettiin tutkittavat, joilta saatiin havainnot kaikista tutkituista muuttujista. Tutkimusjoukon koko oli 240 nuorta kaksosta, joista naisia oli 144 ja miehiä 172.

## 6.2 Tutkimusmenetelmät ja muuttajat

*Epigeneettinen ikääntymisnopeus.* DNA-metylaatioiän arviota varten tutkittavilta kerättiin kokoverinäytteet, joista eristettiin DNA standardiprotokollalla. Näytteet käsiteltiin natriumbisulfaattilla, jolloin metyloitumattomat sytosiinit muuttuivat urasiileiksi. Genomin laajuista DNA-metylaatiota mitattiin Illumina Infinium HumanMethylation450 -mikrosiruteknologian avulla noudattaen valmistajan ohjeita. DNA-metylaatiodata esikäsiteltiin

hyödyntäen *minfi*, R-pakettia (versio 1.30.0). Näytteiden laatua arvoitiin hyödyntäen Illuminalle ominaisia, laskennallista p-arvoa (*detection p values*), joissa verrattiin jokaisen koettimen kokonaissignaalia taustasignaalitasoihin. Lisäanalyyseistä poissuljettiin näytteet, jotka osoittautuivat huonolaatuisiksi ( $p > 0.01$ ). Eristetyt näytteet normalisoitiin hyödyntäen Noob-normalisointimenetelmää. CpG-metylaatiotasoja edustavat beta-arvot laskettiin metyloitujen koettimien intensiteettien suhteena kokonaisintensiteetteihin. Metylaatiodata ladattiin tarkastuksen jälkeen Horvathin verkkopohjaiseen laskimeen, joka tuotti arviot DNA-metylaatioiästä ja ikääntymisnopeudesta eri epigeneettisten kellojen algoritmien mukaan. Tässä työssä epigeneettisen iän muuttujana käytettiin uusimman epigeneettisen kellon, GrimAgen, laskenta-algoritmin mukaista DNA-metylaatioikää (Lu ym. 2019). Epigeneettisen ikääntymisnopeuden muuttujana käytettiin GrimAgeAccell -muuttujaa, joka muodostettiin kronologisen iän ja DNA-metylaatioiän lineaarisen regression jäännöksiä avulla. Jäännös kuvaa eroa kronologisen iän ja DNA-metylaatioiän välillä. Eri epigeneettisistä algorimeista GrimAgen epigeneettinen ikääntymisnopeus ennustaa parhaiten mm. ennenaikaista kuolemanriskiä (Lu ym. 2019). Havainnot poissuljettiin tilastoanalyysistä, jos estimoitu sukupuoli tai kudokset ei vastannut tiedossa olevaa sukupuolta tai kudosta tai jos estimoitu ikääntymisnopeus poikkesi keskiarvosta yli tai alle 5 keskihajontayksikköä.

Epigeneettisen ikääntymisnopeuden muuttuja GrimAgeAccell on jatkuva muuttuja, jonka arvot olivat tässä työssä naisilla keskimäärin -0.741 (keskihajonta 0.392) ja miehillä 0.588 (keskihajonta 0.310). DNA-metylaatio-iän eli epigeneettisen ikääntymisnopeuden muuttuja (GrimAgeAccell) oli normaalisti jakautunut.

*Ravitsemus.* Ravitsemuksen sisältöä kartoitettiin ruuankäyttökyselyssä frekvenssikysymysten avulla. Ruuankäyttökyselyitä käytetään ravitsemustottumusten tutkimiseen niiden yksinkertaisuuden ja edullisuuden vuoksi (Naska ym. 2017). Sekä frekvenssikyselyn validiteetti että vastausaste on osoitettu hyväksi, kunhan kysely ei ole liian pitkä (Masip ym. 2019; Paalanen ym. 2006).

Tutkittavia ohjeistettiin vastaamaan kuhunkin kysymykseen tai alakysymykseen rengastamalla yksi vaihtoehto, joka parhaiten sopii heidän tottumuksiinsa. Vastausvaihtoehdot oli numeroitu. Tämän tutkielman osalta ruuankäyttökyselyssä tarkasteltiin kysymystä numero 75, A-Z (Liite 1.). Tutkittavat vastasivat jokaisen kysytyn ruoka-aineen tai ruokaryhmän kohdalla kysymykseen: ”Kuinka usein tavallisesti käytät seuraavia ruoka-aineita?” Vastausvaihtoehdot

oli numeroitu 1 (en lainkaan), 2 (muutamia kertoja kuussa tai harvemmin), 3 (muutamia kertoja viikossa), 4 (kerran päivässä) ja 5 (useita kertoja päivässä).

Ruuankäytön frekvenssikyselyn perusteella muodostettiin neljä ravitsemuksen terveellisyyttä kuvaavaa pääfaktoria. Faktorit olivat: 1) kalan ja kasvien, 2) suolaisten ja makeiden naposteltavien, 3) punaisen lihan sekä 4) pikaruuan kulutus.

Kalan ja kasvien käyttöä mittaava muuttuja sisälsi kalan, tuoreiden ja keitettyjen kasvien, hedelmien ja marjojen syönnin, ja sen katsotaan indikoivan terveellistä ravitsemusta (Billingsley ym. 2018; Blas ym. 2019). Suolaisten ja makeiden naposteltavien ruoka-ainemuuttuja sisälsi makeiden leivonnaisten, jäätelön tms., suklaan, ja muiden makeisten sekä suolaisten naposteltavien syönnin, mikä katsotaan indikoivan epäterveellisiä, energiatiheitä, sokeri- ja/tai suolapitoisia sekä prosessoituja ruoka-aineita (Tilman & Clark 2014; Gil ym. 2015). Liha ruoka-ainemuuttuja sisälsi makkaran ja lihan (tuoreena tai leikkeleenä) syönnin, joiden ajatellaan indikoivan epäterveellistä, runsaasti tyydyttyntä rasvaa, suolaa ja energiaa sekä prosessoituja lihavalmisteita sisältävää ruokavaliota (Modlinska & Pisula 2018, de Meiros ym. 2019). Pikaruokamuuttuja sisälsi ranskalaisten ja paistettujen perunoiden, hampurilaisten sekä pizzan syönnin, mikä indikoi ravintoaineköyhää ja erittäin prosessoitua ruokavaliota, jossa korostuvat energiatiheiden, runsaasti kovaa rasvaa ja suolaa sisältävien ruoka-aineiden kulutus (NNR 2012, WHO 2018a, EFSA 2017).

*Vakioivat muuttujat.* Vakioiviksi muuttujiksi tässä tutkielmassa määriteltiin painoindeksi ja sukupuoli. Painoindeksi (*Body mass index, BMI*) on arvo, joka kuvaa kehonpainoa jaettuna pituuden neliöllä ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (Quetelet 1994). Tutkittavien paino ja pituus on mitattu laboratorio olosuhteissa. BMI:tä käytetään painostatuksen sekä sairausriskin arvioinnissa (Müller, Braun, Enderie & Bosy-Westphal 2016). BMI-arvot mahdollistavat aikuisten luokittelun alipainoisiin ( $<18.5 \text{ kg}/\text{m}^2$ ), normaalipainoisiin ( $>18.5 - <25.0 \text{ kg}/\text{m}^2$ ), ylipainoisiin ( $>25 \text{ kg}/\text{m}^2$ ), ja lihaviin ( $>30 \text{ kg}/\text{m}^2$ ) (WHO 2000). Lihavuus voidaan edelleen jakaa I-luokan ( $>30-35 \text{ kg}/\text{m}^2$ ), II-luokan ( $>35-40 \text{ kg}/\text{m}^2$ ) ja III-luokan ( $>40 \text{ kg}/\text{m}^2$ ) lihavuuteen (WHO 2000). Painoindeksi oli jatkuva muuttuja ja sukupuoli merkkijonomuuttuja (FEMALE, MALE), joka muutettiin kaksiluokkaiseksi 'dummy' -muuttujaksi, jossa 0=nainen ja 1=mies.

### 6.3 Tilastolliset analyysit

Tässä tutkielmassa tilastolliset analyysit suoritettiin käyttäen IBM SPSS Statistics ohjelman versiota 24. Tilastollisen merkitsevyyden raja-arvona pidettiin p-arvoa 0.050, jota pienemmillä arvoilla nollahypoteesi voidaan hylätä. Tutkittava ikäryhmä poimittiin aineistosta jakamalla aineisto 23-28-vuotiaisiin ja sitä vanhempiin. Tässä tutkielmassa analysoitiin tutkittujen muuttujien välisiä yhteyksiä vain nuoremman joukon osalta. Tilastollisessa analyysissä kaksosia käsiteltiin toisistaan riippumattomina yksilöinä.

Ravitsemuksen faktorirakennetta selvitettiin eksploratiivisella faktorianalyysillä ja pääkomponenttianalyysillä. Korrelaatiomatriisin soveltuvuutta faktorianalyysin suorittamiseksi tarkasteltiin Bartlettin sfäärisyystestin KMO-testin avulla. Faktorianalyysin pohjalta muodostettiin uudet ravitsemuksen terveellisyttä kuvaavat summamuuttujat, joiden validiteettitarkastelu suoritettiin reliabiliteettianalyysin Cronbachin alfa kertoimen avulla.

Epigeneettisen ikääntymisnopeuden vaihtelua tarkasteltiin lineaarisella regressioanalyysillä, jossa selittävänä tekijänä oli sukupuoli. Myös miesten ja naisten välisiä eroja ravitsemuksen terveellisyttä kuvaavien summamuuttujien osalta tarkasteltiin lineaarisella regressioanalyysillä.

Ravitsemuksen ja epigeneettisen ikääntymisnopeuden yhteyden tarkastelussa tutkimusaineisto analysoitiin neljässä osassa käyttäen lineaarista regressioanalyysia. Ensimmäisessä analyysivaiheessa tutkittiin ravitsemuksen terveellisyttä kuvaavan muuttujan yhteyttä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen ilman vakioivia tekijöitä. Toisessa vaiheessa lineaarinen regressioanalyysi suoritettiin kuten edellä, mutta vakioiden painoindeksi ja kolmannessa vaiheessa vakioiden sukupuoli. Neljännessä analyysissä vakioitiin sekä painoindeksi että sukupuoli. Toisen, kolmannen ja neljännen vaiheen vakiointien tarkoituksena oli indikoida ravitsemuksen itsenäistä vaikutusta epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen, kun epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen tutkitusti vaikuttavat tekijät, painoindeksi (Lu ym. 2019) ja sukupuoli (Horvath ym. 2016; Hannum ym. 2013; Horvath & Ritz 2015; Marioni ym. 2016, Jylhävä, Pedersen & Hägg 2017) on vakioitu.

## 7 TULOKSET

Seuraavissa kappaleissa selvitetään ravitsemuksen faktorirakennetta, epigeneettisen ikääntymisnopeuden vaihtelua sukupuolen mukaan sekä sukupuolten välisiä eroja ravitsemuksen terveellisyyttä kuvaavien muuttujien käytön osalta. Tulosten viimeisessä osassa tarkastellaan ravitsemuksen terveellisyyttä kuvaavien muuttujien yhteyttä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen.

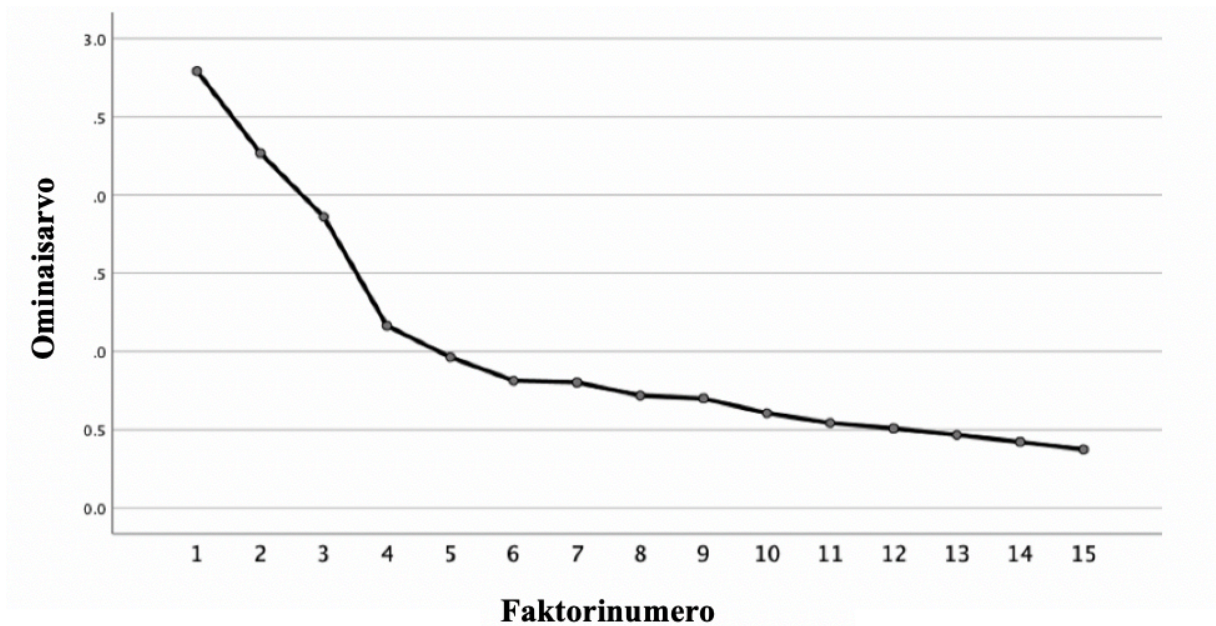
### 7.1 Ravitsemuksen faktorirakenne

Ravitsemuksen faktorirakennetta selvitettiin eksploratiivisen faktorianalyysin (pääakselifaktorointimenetelmä) avulla (taulukko 3, kuvio 1). Bartlettin sfäärisyystesti ( $\chi^2 = 839.338$ ;  $p = 0.000$ ) ja KMO (0.699) osoittivat, että korrelaatiomatriisi oli sovelias faktorianalyysin suorittamiseksi. Myös mittarien väittämien jakaumien tarkastelu osoitti, että ne olivat normaalisti jakautuneita. Faktorianalyysi osoitti, että ravitsemuksessa on selvä neljän faktorin rakenne. Terveellisiksi kirjallisuudessa havaittu kalan, tuoreiden ja keitettyjen kasvien sekä hedelmien ja marjojen käyttöä mittaavat ruuan frekvenssikyselyiden vastaukset latautuivat voimakkaasti faktorille yksi, lihankäyttöä mittaavat kysymykset faktorille kaksi, suolaisia ja makeita naposteltavia mittaavat kysymykset faktorille kolme ja pikaruokaa mittaavat kysymykset faktorille neljä. Kaikkien ravitsemuksen osatekijöiden kysymyksien lataukset vastakkaisille faktoreille olivat verrattain pieniä. Koko faktorimalli selitti 38 % muuttujien kokonaisvarianssista. Neljän pääfaktorin rakennetta voidaan tässä aineistossa pitää pätevänä mittaamaan nuorten aikuisten ravitsemuksen terveellisyyttä.

TAULUKKO 3. Varimax rotatoidut faktorilataukset ja kommunaliteetit sekä faktoriratkaisun neliösummat ja selitysasteet ravitsemuksen terveellisyyttä kuvaaville ruokailutottumuksille.

Ruoka-aine	Faktorilataus				h <sup>2</sup>
	1	2	3	4	
	Kala & kasvikset	Liha	Suolaiset & makeat naposteltavat	Pikaruoka	
1. Kalaa	0.448	-0.103	0.143	-0.017	0.232
2. Broileria, kalkkunaa, kanaa	0.215	-0.067	0.370	-0.009	0.188
3. Lihaa	-0.006	-0.009	0.729	0.135	0.549
4. Makkaraa	-0.228	-0.010	0.514	0.136	0.334
5. Tuoreita kasviksia	0.727	0.004	-0.117	-0.023	0.542
6. Keitettyjä kasviksia	0.577	0.011	-0.186	0.039	0.369
7. Hedelmiä	0.584	0.186	-0.008	-0.223	0.426
8. Marjoja	0.539	0.084	0.075	-0.77	0.309
9. Makeita levonnaisia, jäätelöä tms.	0.194	0.518	0.089	0.176	0.345
10. Suklaata	0.027	0.663	0.007	0.067	0.445
11. Muita makeisia	-0.011	0.648	-0.121	0.023	0.435
12. Suolaista naposteltavaa	-0.224	0.377	-0.098	0.358	0.329
13. pizzaa	0.007	0.060	-0.011	0.542	0.297
14. Hampurilaisia	-0.039	0.088	0.343	0.667	0.571
15. Ranskalaisia tai paistettuja perunoita	-0.205	0.194	0.240	0.420	0.314
Neliösumma	1.924	1.375	1.214	1.173	
Selitysaste (%)	12.827%	9.167%	8.090%	7.822%	37.907%

h<sup>2</sup>=muuttujan latausten neliöiden summa eli kuinka paljon eri faktorit selittävät yhteensä kunkin muuttujan vaihtelusta.



KUVIO 1. Pääkomponenttianalyysissa esiin nousseiden neljän pääkomponentin rakenne ja selitysvaikutus havaittuun muuttajaan. Pääkomponenttianalyysin ensimmäinen pääkomponentti, kala-kasvis -ravitsemusmuuttuja selitti suurimman osan vaihtelusta. Toisena komponenttina lihan käyttöä kuvaava komponentti, kolmantena suolaisten ja makeiden naposteltavien käyttöä kuvaava komponentti ja neljäntenä pikaruuan käyttöä kuvaava komponentti.

Faktori- ja pääkomponenttianalyysin pohjalta muodostettiin uudet summamuuttujat, joiden reliabiliteettia eli muuttujien välistä sisäistä yhdenmukaisuutta tarkasteltiin Cronbachin alfa - kertoimen avulla. Uusien muuttujien validiteettitarkastelu suoritettiin reliabiliteettianalyysillä, jossa kala-kasvis -ravitsemusmuuttujan Cronbachin alfa -kerroin oli 0.72, suolaisten ja makeiden naposteltavien ravitsemusmuuttujan Cronbachin alfa -kerroin oli 0.651, ja pikaruoka ravitsemusmuuttujan Cronbachin alfa -kerroin oli 0.601, mitkä osoittivat muuttujien sisäistä yhdenmukaisuutta. Minkään kala-kasvis -ravitsemusmuuttujan tai suolaisten ja makeiden naposteltavien ravitsemusmuuttujan osion poistaminen ei olisi nostanut kerrointa. Pikaruoka ravitsemusmuuttujan Cronbachin alfa -kerroin osoitti riittävää sisäistä yhdenmukaisuutta, joten pizzan käyttöä mittaavaa osiota ei poistettu ko. muuttujasta, vaikka Cronbachin alfa -kerroin olisi noussut 0.610:een. Liha ravitsemusmuuttujan Cronbachin alfa -kerroin oli 0.518, mikä osoitti riittämättömän sisäistä yhdenmukaisuutta. Broilerin, kanan ja kalkkunan käyttöä mittaavan osan poistaminen ko. muuttujasta nosti Cronbachin alfa -kerroimen 0.583:een. Siipikarjan ulosrajoituksen jälkeen summamuuttujaan sisällytettiin ainoastaan lihan ja makkaran käyttöä kuvaavat osiot. Myös kirjallisuudessa siipikarjaa ja lihatuotteita käsitellään yleisesti erikseen,

sillä terveellisemmäksi katsotulla siipikarjalla suositellaan korvattavan ainakin osa lihasta (NNR 2012; Abid ym. 2014).

## 7.2 Epigeneettisen ikääntymisnopeuden vaihtelu sukupuolen mukaan

Epigeneettisen ikääntymisnopeuden vaihtelua tarkasteltiin lineaarisella regressioanalyysillä, jossa selittävänä tekijänä oli sukupuoli (taulukko 4). Mallissa sukupuoli osoittautui tärkeäksi selittäjäksi: Miehillä epigeneettinen ikääntymisnopeus oli nopeampaa kuin naisilla ( $p=0.008$ ). Malli selitti 2.9 % epigeneettisen iän vaihtelusta ja sopi hyvin aineistoon.

TAULUKKO 4. Epigeneettisen ikääntymisnopeuden vaihtelu sukupuolen mukaan.

Sukupuoli	Beta (keskihajonta)	95 % LV	$\beta$	t	p-arvo
Nainen					
Mies					
	1.329 (0.495)	0.353, 2.302	0.171	2.683	<b>0.008</b>

Beta=standardoimaton regressiokerroin, LV=luottamusväli,  $\beta$ =standardoitu regressiokerroin.

## 7.3 Miesten ja naisten väliset erot ravitsemuksen terveellisyyttä kuvaavien muuttujien käytön osalta

Miesten ja naisten välisiä eroja ravitsemuksen terveellisyyttä kuvaavien summamuuttujien osalta tarkasteltiin lineaarisella regressioanalyysillä (taulukko 5). Ravitsemuksen terveellisyyttä kuvaavien summamuuttujien välinen ero oli sukupuolten välillä tilastollisesti merkitsevä lihatuotteiden, suolaisten ja makeiden naposteltavien sekä pikaruuan kulutuksen osalta. Asteikolla 1-5 ”kuinka usein käytät seuraavia ruoka-aineita?” (jossa 1=en käytä lainkaan ja 5 käytän useita kertoja päivässä) miehet saivat keskimäärin lihan käytön osalta 0.566 yksikköä korkeamman ( $p=0.000$ ) ja pikaruuan osalta 0.258 yksikköä korkeamman arvon ( $p=0.000$ ). Suolaisten ja makeiden naposteltavien osalta naiset saivat keskimäärin 0.139 korkeamman arvon kuin miehet ( $p=0.018$ ). Kalan ja kasvien käytön osalta miesten ja naisten väliset erot eivät olleet tilastollisesti merkitseviä ( $p=0.104$ ).



TAULUKKO 5. Miesten ja naisten väliset erot ravitsemuksen terveellisyyttä kuvaavien muuttujien käytön osalta.

Ravitsemuksen terveellisyyttä kuvaava muuttuja	Beta	95 % LV	$\beta$	t	p-arvo
Kalan ja kasvien kulutus	-0.119	-0.263, 0.025	-0.105	-1.630	0.104
Lihatuotteiden kulutus	0.566	0.361, 0.771	0.332	5.440	<b>0.000</b>
Suolaisten ja makeiden naposteltavien kulutus	-0.139	-0.253-, -0.024	-0.154	-2.391	<b>0.018</b>
Pikaruuan kulutus	0.258	0.140, 0.375	0.271	4.328	<b>0.000</b>

Nainen=0, Mies=1. Beta=standardoimaton regressiokerroin, LV=luottamusväli,  $\beta$ =standardoitu regressiokerroin.

#### 7.4 Ravitsemuksen terveellisyyden yhteys epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen

Nuorten kaksosten epigeneettisen iän vaihtelua tarkasteltiin lineaarisella regressioanalyysillä, jossa selittävinä tekijöinä olivat kalan ja kasvien syönti, lihatuotteiden syönti, suolaisten ja makeiden naposteltavien syönti sekä pikaruuan syönti (taulukko 2). Mallissa lihatuotteiden syönti osoittautui tärkeäksi selittäjäksi: Enemmän lihatuotteita syöneillä epigeneettinen ikääntymisnopeus oli nopeampaa kuin lihatuotteita vähemmän syöneillä ( $p=0.010$ ). Lihatuotteiden syönti säilyi mallissa merkitsevä selittäjänä painoindeksin ja ( $p=0.014$ ) ja sukupuolen vakioimisen ( $p=0.037$ ) jälkeen. Tilastollinen merkitsevyys säilyi myös mallissa, jossa molemmat vakiotermit oli huomioitu ( $p=0.047$ ). Mitattaessa lihankäytön toistuvuutta asteikolla 1-5, havaittiin, että 0.658 yksikön lisäys kiihdyttää epigeneettistä ikääntymisnopeutta yhden residuaalin verran, joka kuvaa pienintä havaittua epigeneettisen ikääntymisnopeuden muutosta. Lopullinen malli selitti 6.9 % epigeneettisen iän vaihtelusta ja sopi hyvin aineistoon.

TAULUKKO 6. Epigeneettisen ikääntymisnopeuden yhteys ravitsemuksen terveellisyyttä kuvaavaan muuttuun nuorilla 23-28-vuotiailla aikuisilla.

Ravitsemuksen terveellisyyttä kuvaava muuttuja	Analyyssissä käytetty malli	Beta	95 % LV	$\beta$	t	p-arvo
Kalan ja kasvisten kulutus	Vakioimaton <sup>1</sup>	-0.625	-1.516, 0.266	-0.091	-1.382	0.168
	BMI <sup>2</sup>	-0.596	-1.488, 0.297	-0.087	-1.315	0.190
	Sukupuoli <sup>3</sup>	-0.616	-1.503, 0.270	-0.090	-1.370	0.172
	BMI + SP <sup>4</sup>	-0.589	-1.478, 0.299	-0.086	-1.307	0.192
Lihatuotteiden kulutus	Vakioimaton	0.833	0.202, 1.465	0.183	2.601	<b>0.010</b>
	BMI	0.797	0.162, 1.432	0.175	2.474	<b>0.014</b>
	Sukupuoli	0.689	0.041, 1.336	0.151	2.095	<b>0.037</b>
	BMI + SP	0.658	0.008, 1.309	0.145	1.994	<b>0.047</b>
Suolaisten ja makeiden naposteltavien kulutus	Vakioimaton	-0.802	-1.919, 0.316	-0.093	-1.413	0.159
	BMI	-0.809	-1.927, 0.309	-0.094	-1.426	0.155
	Sukupuoli	-0.567	-1.708, 0.575	-0.066	-0.978	0.329
	BMI + SP	-0.579	-1.721, 0.563	-0.067	-0.999	0.319
Pikaruuan kulutus	Vakioimaton	-0.684	-1.849, 0.481	-0.084	-1.157	0.249
	BMI	-0.725	-1.893, 0.442	-0.089	-1.224	0.222
	Sukupuoli	-0.917	-2.104, 0.269	-0.113	-1.523	0.129
	BMI + SP	-0.950	-2.138, 0.239	-0.117	-1.575	0.117

<sup>1</sup>ei vakioituja muuttujia, <sup>2</sup>painoindeksi vakioitu, <sup>3</sup>sukupuoli vakioitu, <sup>4</sup>painoindeksi ja sukupuoli vakioitu. Beta=standardoimaton regressiokerroin, LV=luottamusväli,  $\beta$ =standardoitu regressiokerroin.

## 8 POHDINTA

Tässä tutkielmassa tarkasteltiin ravitsemuksen yhteyttä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen nuorilla aikuisilla. Tulokset viittaavat siihen, että runsas lihan kulutus kiihdyttää epigeneettistä ikääntymisnopeutta. Tulokset mukailevat aikaisempia tutkimuksia terveydelle epäedullisesta ravitsemuksesta lihan kulutuksen osalta ja tukevat ravitsemussuosituksen mukaista, kohtuullista lihan kulutusta. Elintason paranemisen seurauksena elinikä on kasvanut viime vuosikymmenien aikana, mutta toisaalta myös lihan kulutus on lisääntynyt. Tämän tutkielman tulokset antavat aihetta pohtia nykyisen kaltaisen lihan kulutuksen tai mahdollisesti yhä kasvavan lihan kulutuksen vaikutuksia terveiden elinvuosien tai ylipäätään elinvuosien määrään tulevaisuudessa. Lisäksi voitaisiin pohtia sitä, tulisiko ravitsemustietoa hyödyntää nykyistä enemmän terveydenedistämistoimissa ja tulisiko ravitsemushoitoa hyödyntää nykyistä laajemmin terveydenhuollossa. Tässä tutkielmassa muiden epäterveellisiksi havaittujen ruoka-aineiden ei havaittu olevan yhteydessä epigeneettisen ikääntymisnopeuden kiihtymiseen nuorilla aikuisilla. Toisaalta terveydelle edulliseksi havaitun kalan ja kasvien syönti ei ollut yhteydessä hidastuneeseen epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen, mikä on ristiriitainen aikaisempien havaintojen kanssa. Lu ym. (2019) havaitsivat, että hedelmien ja vihannesten kulutusta indikoivat veren karotenoiditasot ovat käänteisesti yhteydessä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen. Lu ym. (2019) havaitsivat samansuuntaisen yhteyden myös omega-3-rasvahappotasojen osalta, minkä voisi ajatella indikoivan ainakin osittain kalan syöntiä.

Ensimmäiset epigeneettiset kellot on luotu vuonna 2013 (Horvath 2013; Hannum ym. 2013) ja viimeisin, ja toistaiseksi lupaavin epigeneettisistä kelloista, Lun (ym. 2019) GrimAge vasta vuonna 2019. Tässä tutkielmassa käytettiin GrimAge:a elimistön biologisen ikääntymisnopeuden mittaamiseksi. Vastaavanlaisia tutkimuksia eri ruoka-aineiden yhteyksistä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen on tehty vasta vähän. Epigeneettisten kellojen luominen on mahdollistanut elimistön biologisten ikääntymisprosessien tutkimisen myös nuorilla ihmisillä, sillä ne on kehitetty arvioimaan epigeneettistä ikää lähes kaikissa ikäryhmissä (Fransquet ym. 2019). Aikaisemmat epigeneettisen ikääntymisnopeuden tutkimukset ovat keskittyneet erityisesti keski-ikäisten ja ikääntyneiden tutkimiseen, mutta terveyden edistäminen preventiivisin toimin edellyttäisi varhaista riskiryhmien tunnistamista ja epigeneettisen iän arvio antaisi siihen mahdollisuuksia jo kauan ennen kuin ikään liittyvät sairaudet ilmenevät (Belsky ym. 2015). Haasteena elintapoja koskevissa tutkimuksissa on se,

että kaikkia taustamuuttujia on usein haastavaa täysin vakioita. Tulotaso ja koulutus (Lu ym. 2019) sekä sukupuoli (Horvath 2016) ovat kaikki yhteydessä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen, mutta samat tekijät ovat myös merkittävästi yhteydessä terveystyytymiseen (Munt ym. 2017), mikä asettaa haasteita tulosten tulkinnalle.

Yleisesti elintapojen ja terveyden välisiä yhteyksiä tutkitaan iäkkäämmillä ihmisillä pidemmän elintapa-altistuksen vuoksi, mutta tässä tutkielmassa havaittiin, että ravitsemuksen yhteys epigeneettiseen ikään on nähtävissä jo melko nuorella ikäryhmällä. Toisaalta ravitsemustottumusten arviointiin nuorena aikuisväestössä liittyy useita haasteita. Nuoruudesta aikuisuuteen siirtyminen on tärkeä vaihe terveystyytymisen kehittämisessä (Staff ym. 2010). Ravitsemustutkimuksia nuorilla aikuisilla voidaan kritisoida vähäisen altistusajan perusteella, sillä nuori aikuinen on saattanut noudattaa lapsuuden kodissaan hyvin erilaista ruokavaliota kuin tutkimuksen aikaan. On kuitenkin tutkittu, että nuoruuden ravitsemusmallit ja -tottumukset perustuvat vahvasti lapsuuden kodissa totuttuihin (Fink ym. 2014) ja tavat pysyvät pitkälle aikuisuuteen (Craigie ym. 2011).

Sukupuolten välillä esiintyy eroja sekä terveydessä että terveystyytymisessä. Tiedetään, että suomalaiset miehet syövät keskimäärin enemmän lihaa (Valsta ym. 2017), heidän painoindeksinsä on keskimäärin suurempi (Peltonen, Laatikainen, Lindström & Jousilahti 2015) ja he ovat naisia vähemmän kiinnostuneita terveellisestä ravitsemuksesta (Munt ym. 2017). Tässä tutkielmassa havaittiin, että miesten epigeneettinen ikääntymisnopeus oli kiihtyneempää kuin naisilla, mutta sukupuoli tai suurempi painoindeksi eivät selittäneet lihan kulutuksen ja epigeneettisen ikääntymisnopeuden välillä havaittua yhteyttä.

Painoindeksin on havaittu olevan yhteydessä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen (Lu ym. 2019). Painoindeksi on melko hyvä ja väestöön sopiva normaalipainoisuuden mittari (WHO 2020). Normaalissa painossa pysyminen on terveydelle oleellista, sillä ylipaino on merkittävä riskitekijä monelle sairaudelle (WHO 2020). Toisaalta painoindeksin tiedetään olevan yksilötasolla epätarkka kehon koostumuksen mittari, sillä painoindeksi ei huomioi kehon koostumusta tai rasvan sijaintia kehossa, vaan ainoastaan kehon massan (Müller ym. 2016). Tässä tutkielmassa olisi voitu käyttää painoindeksin lisäksi myös muita antropometrisia mittauksia.

Tulkintojen tekeminen lihan käytöstä itsenäisenä epigeneettisen ikääntymisen selittäjänä on haastavaa, sillä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen vaikuttavat myös monet perimän, ympäristöön ja muihin elintapoihin liittyvät tekijät (Tiffon 2018). Elintapojen, ja yleisesti terveyskäyttäytymisen, on havaittu olevan laajasti kasautuvaa ja haavoittuvaa ryhmät omaksuvat herkästi myös muita terveydelle epäedullisia tapoja runsaan lihan syömisen lisäksi (van Nieuwenhuijzen ym. 2009; Olson ym. 2017). Epigeneettisiä mekanismeja on jopa kuvailtu linkiksi matalan sosioekonomisen statuksen ja huonon terveydentilan välillä (Vears & D'Abramo 2018). Runsaan lihan syönnin ajatellaan indikoivan epäterveellistä ravitsemusta ja on mahdollista, että epäterveellisesti syövät nuoret aikuiset omaavat myös muita terveydelle epäedullisia elintapoja, jotka liittyvät tupakointiin, alkoholiin ja muiden päihteiden käyttöön, uneen ja sosiaalisiin suhteisiin. Nämä tekijät saattavat vaikuttaa terveyskäyttäytymiseen henkisten voimavarojen, mielenterveyden ja valinnan mahdollisuuksien välityksellä (van Nieuwenhuijzen ym. 2009; Olson ym. 2017). Nuorilla, erityisesti miehillä, epäterveelliset valinnat saattavat selittyä myös suuremmalla taipumuksella riskikäyttäytymiseen (Munt ym. 2017). Tuloksiin saattavat myös mahdollisesti vaikuttaa nuorten muutoin kokema kuormittava elämäntyyli, jota leimaavat muiden muassa kiire, taloudellinen niukkuus sekä liikkumattomuus.

Toistaiseksi yksittäisten ruoka-aineiden tutkimuksissa on saatu ristiriitaisia tuloksia niiden itsenäisestä vaikutuksesta terveyteen (Fung ym. 2015). On haasteellista arvioida sitä, johtuuko epigeneettisen ikääntymisnopeuden kiihtyminen lihan syönnistä vai mahdollisesti toisten ruoka-aineiden ruokavaliosta poisjättämisestä. Tässä tutkielmassa ei huomioitu sitä, millä ruoka-aineilla vähäistä lihan käyttöä oli korvattu ruokavaliossa, eikä sitä koostuivatko syödyt liha-annokset tuoreesta lihasta vai prosessoiduista lihavalmisteista. Tulosten perusteella ei voida myöskään olla varmoja siitä, liittyykö lihatuotteiden yhteydet epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen sen sisältämään tyydyttyneen rasvan määrään vai muihin lihan sisältämiin yhdisteisiin ja ravintoaineisiin. Myös synerginen potentiaali ruoka- ja ravintoaineiden välillä on mahdollista. Synerginen potentiaali viittaa useamman ravintoaineineen yhteisvaikutukseen, joka on suurempi kuin yksittäisen ravintoaineen vaikutus, ja se vaikuttaa myös eri ravintoaineiden imeytyvyyteen (Tapsell ym. 2016). Ei voida siis olla varmoja siitä, että suuri lihankäyttö yksinään kiihdyttäisi epigeneettistä ikääntymisnopeutta.

Sosioekonomisella asemalla (Krumeich & Meershoek 2013; WHO 2010), kuten koulutuksella (Green ym. 2017), tiedetään olevan merkitystä ihmisten terveyteen ja terveyskäyttäytymiseen (Petrovic ym. 2018). Sen on havaittu olevan yhteydessä myös epigeneettiseen

ikäntymisnopeuteen (Lu ym. 2019). Edullisimmat lihatuotteet ovat usein korkeammin prosessoituja ja rasvaisempia, mikä tekee niistä helpommin saatavia. Terveydelle haitallisimpien lihatuotteiden edullinen hinta saattaa lisätä niiden kulutusta erityisesti kotitalouksissa, joita leimaa taloudellinen niukkuus ja matala sosioekonominen asema. Näin ollen ei voida olla varmoja siitä, johtuvatko havaitut lihan kulutuksen ja epigenetiikan yhteydet lihan käytöstä vai lihan käyttöön vaikuttavista taustatekijöistä, kuten taloudellisista resursseista. Esimerkiksi ruokavalioiden osalta on havaittu, että kasvissyöjillä on lihansyöjiä todennäköisemmin korkea koulutus, mutta he ovat myös useammin naisia ja nuorempia henkilöitä (Alles ym. 2017). Erityisesti nuorilla ruokailun terveellisyyteen saattavat vaikuttaa ruokaan käytettävissä olevat varat ja tulot (WHO 2010) sekä edullisen ja terveellisen joukkoruokailun saavutettavuus (THL 2019), terveellisen ruuan suunnittelu-, osto- ja laittotaidot (Munt ym. 2017). Tiukassa taloudellisessa elämäntilanteessa olevat nuoret aikuiset, kuten opiskelijat, työelämän ulkopuolella olevat, matalapalkkaiset nuoret, saattavat tehdä valintojaan tiukassa elämäntilanteessa muutoin kuin terveys- tai arvoperustaisesti (Green ym. 2017). Kasvanut vastuu oman ruokavaliion koostamiseen lapsuudenkodista poismuuttamisen seurauksena saattaa vaikuttaa ravitsemuksen laatuun, monipuolisuuteen ja yleisesti sen terveellisyyteen ja säännöllisyyteen (Munt ym. 2017). Yleisesti terveyskäyttäytymiseen tiedetään vaikuttavan itsenäisen elämän uudet vaatimukset ja siihen liittyvät uudet sosiaaliset roolit (Kuntsche ym. 2005; Green ym. 2017). Perheeltä ja ystäviltä saadun tuen katsotaan lisäävän terveelliseen ravitsemukseen sitoutumista (Munt ym. 2017).

Yleisesti ruuankäytön frekvenssikysely on katsottu validiksi, reliaabeliksi (Eunsu ym. 2016) ja edulliseksi tavaksi kerätä tietoa erityisesti suuren joukon ravitsemustottumuksista. Itseraportoituihin aineistoihin liittyy kuitenkin aina raportointiharhan vaara. Ruuankäytön frekvenssikyselyissä miesten on havaittu aliraportoivan syömiään ruokia naisia useammin (Okada ym. 2017). Lisäksi frekvenssivastauksista ei voi arvioida syötyjen annosten tai määrien kokoa, mikä saattaisi oleellisesti vaikuttaa tuloksiin. Tässä tutkielmassa käytetystä frekvenssikyselystä ei lisäksi käynyt ilmi ruokailurytmi, jonka katsotaan olevan oleellinen osa terveellistä ravitsemusta. Säännöllisen syömisen on havaittu olevan yhteydessä myös laadukkaammin koostettuun ravitsemukseen (Llauradó ym. 2016). Osassa muuttujista on myös tiettyjä päällekkäisyyksiä, joita ei tässä tutkimuksessa voitu huomioida. Esimerkiksi pikaruokamuuttuja sisältää myös ruokia, joista monet sisältävät lihaa, mutta tätä ei ole erikseen huomioitu lihan käyttöä kuvaavassa muuttujassa.

Genetiikkaan ja epigenetiikkaan liittyy aina eettisiä kysymyksiä, sillä niissä käsitellään yksilön perimätietoa ja niihin liittyviä potentiaalisia löydöksiä. Ensinnäkin voidaan pohtia, tulisiko epigeneettisen ikääntymisnopeuden mittauksia tehdä kaikille omasta terveydentilastaan tietoa haluaville. Perimään liittyvän sairastumisriskin tarkasteltua on pidetty hyväksyttävänä vain, jos etsittyyn sairauteen on saatavilla hoitoa (Dyke ym. 2019; CIOMS & WHO 2009). Teoriassa elintapojen tutkimuksessa elintapahoito olisi aina saatavilla, mutta voidaan kritisoida, onko se kaikkien voimavarojen, tietojen ja taitojen välityksellä saavutettavissa. Toisekseen DNA:ta sekvensoidessa on mahdollista tehdä löytöjä muistakin kuin etsityistä riskitekijöistä, minkä seurauksena joudutaan pohtimaan sitä, kerrotaanko sattumalta tehdyistä löydöistä tutkittavalle vai ei. Kolmanneksi voidaan pohtia sitä, muuttaisivatko ihmiset elintapojaan saadun tiedon pohjalta vai aiheuttaisiko se yksilölle kohtuutonta stressiä, kuormitusta ja tunnetta autonomian menetyksestä. Neljänneksi tulisi pohtia sitä, kenelle epigeneettisen ikääntymisnopeuden mittauksia tehtäisiin. Tässä tutkielmassa todettiin epigeneettisen kellojen saattavan lisätä mahdollisuuksia sairauden varhaiseen havaitsemiseen, mutta onko mittauksia kohuullista tehdä lapsille, nuorille tai edes aikuisille preventiivisen hoidon kohdentamiseksi. Lapsille ja nuorelle tehdystä mittauksesta päättäisi todennäköisesti huoltaja, joka saattaisi loukata lapsen omaa päätäntävaltaa omasta terveydestä. Viidenneksi geneettisiin ja epigeneettisiin tekijöihin liittyvät sairastumisriskit saattaisivat kiinnostaa myös monia ulkopuolisia tahoja (Dyke ym. 2019) sekä perheenjäseniä, jotka jakavat samoja geenivariantteja tai samoja epigeneettisiä riskitekijöitä (Vears & D'Abramo 2018).

Nuorilla tehty tutkimus mahdollistaisi ennaltaehkäisevien interventioiden toteuttamisen kauan ennen ikään liittyvien sairauksien puhkeamista (Suarez ym. 2018). Toistaiseksi kuolleisuusriskin arviointiin on käytetty esimerkiksi fyysistä toimintakykyä arvioivia testejä, jotka ovat huomattavasti edullisempia ja helpommin toteutettavissa kuin epigeneettisen iän arviointi (Wagner ym. 2016). Toisaalta, jos epigeneettisen ikääntymisen testaaminen muuttuisi edullisemmaksi, olisi siinä suuri potentiaali tunnistaa väestöstä riskiryhmiä ja kohdentaa elintapoihin liittyviä interventioita tehokkaasti ja varhaisessa vaiheessa (Fransquet ym. 2019). Varhainen riskiryhmien havaitseminen mahdollistaisi kroonisia sairauksia ennaltaehkäisevien toimien kohdentamisen riskiryhmille ja saattaisi vähentää ikään liittyvien sairauksien ilmenemistä (Fransquet ym. 2019), minkä vuoksi gerontologisen tutkimuksen tulisi paremmin huomioida myös nuoremmat ikäryhmät terveiden elinvuosien lisäämisen näkökulmasta (Belsky ym. 2015). Haasteena tässä kuitenkin olisi lapsuus ja varhaisnuoruusaika, sillä eettisestä

näkökulmasta olisi tärkeää, että lapsi saisi itse päättää aikuistuttuaan, haluaako hän osallistua epigeneettisiin testauksiin (van El ym 2013).

Terveen ikääntymisen edistämisen näkökulmasta olisi tärkeää huomioida myös sosiaaliset ja psykologiset tekijät, joilla on vaikutusta ruokavalintojen välityksellä ravitsemuksen laatuun ja määrään (Robinson 2018; Golden & Earp 2012). Satunnaistettuja ja kontrolloituja lisätutkimuksia suuremmilla aineistoilla tarvitaan, jotta voitaisiin erottaa ravitsemuksen yhteys epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen muista elintapatekijöistä kuten tupakoinnista (Marioni ym. 2015). Tulevaisuuden tutkimus on perusteltua, sillä epigeneettisissä kelloissa on ikääntymisen biomarkkereina potentiaalia edesauttaa tehokkaiden kliinisten ja kansanterveydellisten sovellusten kehittämistä (Mendelson 2018).

Tämän tutkielman tulosten mukaan lihan kulutus oli yhteydessä kiihtyneempään epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen eikä havaittu yhteys selittynyt tutkittavien sukupuolella tai painoindeksillä. Tulokset tukevat ravitsemussuosituksen mukaista, kohtuullista punaisen lihan kulutusta. Tuloksissa ei havaittu, että terveydelle edullisiksi havaittujen, kalan ja kasvien käyttö, hidastaisi epigeneettistä ikääntymisnopeutta. Elinikä on kasvanut viimevuosikymmenien aikana elintason paranemisen seurauksena, mutta samaan aikaan lihan käyttö on lisääntynyt. Tämän tutkielman tulokset antavat aiheita pohtia sitä, johtavatko nämä muutokset terveiden elinvuosien tai ylipäättään elinvuosien vähenemiseen tulevaisuudessa. Tulevaisuudessa voitaisiin tutkia ravitsemuksen ja epigeneettisen ikääntymisnopeuden välisiä yhteyksiä huomioiden useampia taustamuuttujia, kuten sosioekonominen asema, jonka on havaittu olevan yhteydessä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen (Lu ym. 2019). Lisäksi kattavampi ravitsemuksen tarkastelu, jossa huomioidaan syödyn lihan kokonaismäärä sekä annoskoko, olisi hyvä jatkotutkimusaihe lihan käytön ja epigeneettisen ikääntymisnopeuden yhteyksien tutkimuksissa.



## LÄHTEET

- Abid, Z., Cross, A.J. & Sinha, R. 2014. Meat, dairy and cancer. *Am J Clin Nutr.* 2014. 100(1), 386S-93S.
- Alisch, R. S., Barwick, B. G., Chopra, P., Myrick, L. K., Satten, G. A., Conneely, K. N. & Warren, S. T. 2012. Age-associated DNA methylation in pediatric population. *Genome Res.* 22 (4), 623-632.
- Alles, B., Baundry, J., Mejean, C., Touvier, M., Peneau, S., Hercberg, S. & Kesse-Guyot, E. 2017. Comparison of sociodemographic and nutritional characteristics between self-reported vegetarians, vegans, and meat-eaters from the NutriNet-Sante study. *Nutrients.* 9 (9), 1023.
- Ambeskovic, M. Ilnytsky, Y., Kiss, D., Currie, C., Montina, T., Kovalchuk, I. & Metz, G. A. S. 2020. Ancestral stress program sex-specific biological aging trajectories and non-communicable disease risk. *Aging (Albany NY).* 12 (4), 3828-3847
- Anderson, OS., Sant, KE. & Dolinoy, DC. 2012. Nutrition and epigenetics: an interplay of dietary methyl donors, one-carbon metabolism and DNA methylation. *J. Nutr Biochem.* 23 (8), 853-859.
- Aranceta, J. & Perez-Rodrigo, C. 2012. Recommended dietary reference intakes, nutritional goals and dietary guidelines for fatty acids: a systematic review. *Br J Nutr.* 2012. 107 (2), S8-22.
- Arpon, A., Milagro, FI., Santos, JL., Garcia-Granero, M., Riezu-Boj, JI. & Martinez, JA. 2019. Interaction among sex, aging, and epigenetic processes concerning visceral fat, insulin resistance, and dyslipidemia. *Front Endocrinol (Lausanne).* 10, 496.
- Ashapkin, VV., Kutueva, LI. & Vanyushin, BF. 2019. Epigenetic clock: Just a convenient marker or an active driver of aging? *Adv Exp Med Biol.* 1178. Doi: 10.1007/978-3-030-25650-0\_10.
- Assmann, G., Buono, P., Daniele, A., Della Valle, E., Farinaro, E., Ferns, G., Krogh, V., Kromhout, D., Masana, L., Merino, J., Misciagna, G., Panico, S., Riccardi, G., Rivellese, AA., Rozza, F., Salvatore, F., Salvatore, V., Stranges, S., Trevisan, M., Trimarco, B. & Vetrani, C. 2014. Functional foods and cardiometabolic diseases. International task force for prevention of cardiometabolic diseases. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 24 (12), 1272-300.
- Bakaysa, S. L., Mucci, L. A., Slagboom, E., Boomsma, D. I., McClearn, G. E., Johansson, B.

- & Pedersen, N. L. 2007. Telomere length predicts survival independent of genetic influences. *Aging Cell*. 6 (6), 769-774.
- Barres, R. & Zierath, JR. 2016. The role of diet and exercise in the transgenerational epigenetic landscape of T2DM. *Nat Rev Endocrinol*. 12 (8), 441-51.
- Bradbury, K. E., Tong, T. Y. N. & Key, T. J. 2017. Dietary intake of high-protein foods and other major foods in meat-eaters, poultry-eaters, fish-eaters, vegetarians, and vegans in UK biobank. *Nutrients*. 9 (12), 1317.
- Bechthold, A., Boeing, H, Schwedhelm, C., Hoffmann, G., Knuppel, S., Iqbal, K., De Henauw, S., Michels, N., Devleeschauwer, B., Schlesinger, S. & Schwingshackl, L. 2019. Food groups and risk of coronary heart disease stroke and heart failure: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective studies. *Crit. Rev Food Sci Nutr*. 59 (7), 1071-1090.
- Bell, CG., Lowe, R., Adams, PD., Baccarelli, AA., Beck, S., Bell, JT., Christensen, BC., Gladyshev, VN., Heijmans, BT., Horvath, S., Ideker, T., Issa, JJ., Kelsey, KT., Marioni, RE., Reik, W., Relton, CL., Schalwyk, LC., Teschendorff, AE., Wagner, W., Zhang, K. & Rakyan, VK. 2019. DNA methylation aging clocks: challenges and recommendations. *Genome Biol*. (1), 249.
- Bell, JT., Tsai, PC., Yang, TP., Pidsley, R., Nisbet, J., Glass, D., Mangino, M., Zhai, F., Valdes, A., Shin, SY., Dempster, EL., Murray, RM., Grundberg, E., Hedman, AK., Nica, A., Small, KS., MuTHER Consortium, Dermitzakis, ET., McCarthy, MI., Mill, J., Spector, TD. & Deloukas, P. 2012. Epigenome-wide scans identify differentially methylated regions for age and age-related phenotypes in a healthy ageing population. *PLoS Genet*. 8 (4), e1002629.
- Bellamri, M. & Turesky, RJ. 2019. Dietary Carcinogens and DNA adducts in Prostate Cancer. *Adv Axp Med Biol*. 1210, 29-55.
- Belsky DW., Caspi, A., Houts, R., Cohen, HJ., Corcoran, DL., Danese, A., Harrington, H., Israel, S., Levine, ME., Schaefer, JD., Sugden, K., Williams, B., Yashin, AI., Poulton, R. & Moffitt, TE. 2015. Quantification of biological aging in young adults. *Proc Natl Acad Sci USA*. 112 (30), E4104-10.
- Belsky, D. W., Moffitt, T. E., Cohen, A. A., Corcoran, D. L., Levine, M. E., Prinz, J. A., Schaefer, J., Sugden, K., Williams, B., Poulton, R. & Caspi, A. 2018. Eleven telomere, epigenetic clock, and biomarker-composite quantifications of biological aging: do they measure the same thing? *Am J Epidemiol*. 187 (6), 1220-1230.
- Berdasco, M. & Esteller, M. 2011. Hot topics in epigenetic mechanisms of aging: 2011. *Aging*

- Cell. 11 (2), 181-186.
- Bernstein, BE., Mikkelsen, TS., Xie, X., Kamal, M., Huebert, DJ., Cuff, J., Fry, B., Meissner, A., Wernig, M., Plath, K., Jaenisch, R., Wagschal, A., Feil, R., Schreiber, SL. & Lander, ES. 2006. A bivalent chromatin structure marks key developmental genes in embryonic stem cells. *Cell*. 125 (2), 315-26.
- Billingsley, HE., Carbone, S. & Lavie, CJ. 2018. Dietary Fats and Chronic Noncommunicable Diseases. *Nutrients*. 10 (10), Doi: 10.3390/nu10101385.
- Blas, A., Garrido, A., Unver, O. & Willaarts, B. 2019. A comparison of the Mediterranean diet and current food consumption patterns in Spain from a nutritional and water perspective. *Sci. Total. Environ.* 664, 1020-1029.
- Blaschke, K., Ebata, KT., Karimi, MM., Zepeda-Martinez, JA., Goyal, P., Mahapatra, S., Tam, A., Laird, D. J., Hirst, M., Rao, A., Lorincz, M. & Ramalho-Santos, M. 2013. Vitamin C induces tet-dependent DNA demethylation in ESCs to promote a blastocyst-like state. *Nature*. 500 (7461), 222-226.
- Bollati, V., Schwartz, J., Wright, R., Litonjua, A., Tarantini, L., Suh, H., Sparrow, D., Vokonas, P. & Baccarelli, A. 2009. Decline in genomic DNA methylation through aging in a cohort of elderly subjects. *Mech Ageing Dev.* 130 (4), 234-9.
- Borghol, N., Suderman, M., McArdle, W., Racine, A., Hallet, M., Pembrey, M., Hertzman, C., Power, C. & Szyf, M. 2011. Associations with early-life socio-economic position in adult DNA methylation. *International Journal of Epidemiology*. 41 (1), 62-74.
- Bradley, RH. & Corwyn, RF. 2002. Socioeconomic status and child development. *Annu Rev Psychol.* 53, 371-99.
- Brandeis, M., Frank, D., Keshet, I., Siegfried, Z., Mendelsohn, M. & Nemes, A. 1994. Sp1 elements protect a CpG island from de novo methylation. *Nature* 371, 435-438.
- Breitling, LP., Saum, KU., Perna, L., Schöttker, B., Holleczeck, B. & Brenner, H. 2016. Frailty is associated with the epigenetic clock but not with telomere length in a German cohort. *Clin Epigenetics*. 26, 8-21.
- Breitling, LP., Yang, R., Korn, B., Burwinkel, B., Brenner, H. 2011. Tobacco-smoking-related differential DNA methylation: 27K discovery and replication. *Am J Hum Genet.* 2011. 88 (4), 450-457.
- Brenner, C., Deplus, R., Didelot, C., Loriot, A., Vire, E. & De Smet, C. 2005. Myc represses transcription through recruitment of DNA methyltransferase corepressor. *EMBO*. 24 (2), 336-346.
- buck, BA., Burkhart, KB., Gu, SG., Spracklin, G., Kershner, A., Fritz, H., Kimble, J., Fire,

- A. & Kennedy, S. 2012. A nuclear argonaute promotes multigenerational epigenetic inheritance and germline immortality. *Nature*. 489 (7416), 447-51.
- Burdge, GC. & Lillycrop, KA. 2010. Nutrition, epigenetics, and developmental plasticity: implications for understanding human disease. *Annu Rev Nutr*. 30, 315-39.
- Bygren, L. O., Kaati, G. & Edvinsson, S. 2001. Longevity determined by parental ancestors' nutrition during their slow growth period. *Acta biotheoretica*.. 49 (1), 53-59
- Calkins, BM., Whittaker, DJ., Nair, PP., Rider, AA. & Turjman, N. 1984. Diet, nutrition intake, and metabolism in populations at high and low risk for colon cancer. *Nutrient intake. Am J Clin Nutr*. 40 (4), 896-905.
- Capone, R., El Bilali, H., Debs, P., Gardone, G. & Driouech, N. 2014. Mediterranean Food Consumption Patterns Sustainability: Setting Up a Common Ground for Future research and action. *American Journal of Nutrition and Food Science*. 1 (2), 37-52.
- Catsburg, C., Kim, R. S., Kirsh, V. A., Soskolne, C. L., Kreiger, N., Rohan, T. E. 2015. Dietary patterns and breast cancer risk: A study in 2 cohorts. *Am J Clin Nutr*. 101 (4), 817-23.
- Cedar, H. & Bergman, Y. 2009. Linking DNA methylation and histone modification: patterns and paradigms. *Nature Review Genetics*. 10, 295-304.
- Chen, B. H., Marioni, R. E., Colicino, E., Peters, M. J., Ward-Caviness, C. K., Tsai, P-C., Roetker, N. S., Just, A. C., Demerath, E. W., Guan, W., Bressler, J., Fornage, M., Studenski, S., Vandiver, A. R., Moore, A. Z., Tanaka, T., Kiel, D. P., Liang, L., Vokonas, P., Schwartz, J., Lunetta, K., Murabito, J., Bandinelli, S., Hernandez, D. G., Melzer, D., Nalls, M., Pilling, L. C., Price, T. R., Singleton, A. B., Gieger, C., Holle, R., Kretschmer, A., Kronenberg, F., Kunze, S., Linseisen, J., Meisinger, C., Rathmann, W., Waldenberger, M., Visscher, P. M., Shah, S., Wray, N. R., McRae, A. F., Franco, O. H., Hofman, A., Uitterlinden, A. G., Absher, D., Assimes, T., Levine, M. E., Lu, A. T., Tsao, P. S., Hou, L., Manson, J. E., Carty, C. L., LaCroix, A. Z., Reiner, A. P., Spector, T. D., Feinberg, A. P., Levy, D., Baccarelli, A., van Meurs, J., Bell, J. T., Peters, A., Deary, I. J., Pankow, J. S., Ferrucci, L. & Horvath, S. 2016. DNA methylation-based measures of biological age: meta-analysis predicting time to death. *Aging (Albany NY)*. 8 (9), 1844-1859.
- Chen, C., Ye, Y., Zhang, Y., Pan, XF. & Pan, A. 2019. Weight change across adulthood in relation to all cause and cause specific mortality: prospective cohort study. *BMJ*. 367:15584. Doi: 10.1136/bmj.15584.
- Chen, W., Yang, C., Yang, L., Qi, C., Tian, S., Han, Y., Dou, Y., Ma, Y., Tian, D. & Zheng,

- Y. 2014. Association of roasting meat intake with the risk of esophageal squamous cell carcinoma of Kazakh Chinese via affecting promoter methylation of p16 gene. *Asia Pac J Clin Nutr.* 23 (3), 488-97.
- Cho, I. & Blaser, MJ. 2012. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet.* 12 (4), 260-70.
- Christiansen, L., Lenart, A., Tan, Q., Vaupel, J., W., Aviv, A., McGue, M. & Christensen, K. 2016. DNA methylation age is associated with mortality in a longitudinal Danish twin study. *Aging Cell.* 15 (1), 149-54 .
- Christensen, BC., Houseman, EA., Marsit, CJ., Zheng, S., Wrensch, MR., Wiemels, JL., Nelson, HH., Karagas, MR., Padbury, JF., Bueno, R., Sugarbaker, DJ., Yeh, RF., Wiencke, JK. & Kelsey, KT. 2009. Aging and environmental exposures alter tissue-specific DNA methylation dependent upon CpG island context. *PLoS Genet.* 5 (8), e1000602.
- Chuang, S.Y., Chiu, T.H.T., Lee, C.Y., Liu, T.T., Tsao, C.K., Hsiung, C.A. & Chiu, Y.F. 2016. Vegetarian diet reduces the risk of hypertension independent of abdominal obesity and inflammation: a prospective study. *J. Hypertens.* 34 (11), 2164-2171.
- Council for international organizations of medical sciences (CIOMS) and World health organization (WHO). 2009. International ethical guidelines for epidemiological studies. Geneva 2009. 128 s.
- Davey, G. K., Spencer, E. A., Appleby, P. N., Allen, N. E., Knox, K. H. & Key, T. J. 2002. Lifestyle characteristics and nutrient intakes in a cohort of 33883 meat-eaters and 31546 non meat-eaters in the UK. *Public health nutrition.* 6 (3), 259-268.
- Dayeh, T., Volkov, P., Salö, S., Hall, E., Nilsson, E., Olsson, AH., Kirkpatrick, CL., Wollheim, CB., Eliasson, L., Rönn, T., Bacos, K. & Ling, C. 2014. Genome-wide DNA methylation analysis of human pancreatic islets from type 2 diabetic and non-diabetic donors identifies candidate genes that influence insulin secretion. *PLoS Genet.* 10 (3), e1004160.
- Declerck, K. & Vanden Berghe, W. 2018. Back to the future: Epigenetic clock plasticity towards healthy aging. *Mech Ageing Dev.* 174, 18-29.
- Deelen, J., Beekman, M., Codd, V., Trompet, S., Broer, L., Hägg, S., Fischer, K., Thijssen, P. E., Suchiman, H. E. D., Postmus, I., Uitterlinden, A. G., Hofman, A., de Craen, A. J. M., Metspalu, A., Pedersen, N. L., van Duijn, C. M., Jukema, J. W., Houwing-Duistermaat, J. J., Samani, N. J. & Slagboom, P. E. 2014. Leucocyte telomere length

- associates with prospective mortality independent of immune-related parameters and known genetic markers. *Int J Epidemiol.* 43 (3), 878-886.
- De Filippis, F., Pellegrini, N., Vannini, L., Jeffery, IB., La Stora, A., Laghi, L., Serrazanetti, DI., Di Cagno, R., Ferrocino, I., Lazzi, C., Turrone, S., Cocolin, L., Brigidi, P., Neviani, E., Gobetti, M., O'Toole, PW. & Ercolini, D. 2016. High-level adherence to a Mediterranean diet beneficially impacts the gut microbiota and associated metabolome. *Gut.* 65 (11), 1812-1821.
- De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, JB., Massart, S., Collini, S., Pierraccini, G. & Lionetti, P. 2010. Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa. *Proc Natl Acad Sci USA.* 107 (33), 14691-6.
- Deiuliis, JA. 2016. MicroRNAs as regulators of metabolic disease: pathophysiologic significance and emerging role as biomarkers and therapeutics. *Int J Obes (lond).* 40 (1), 88-101.
- Delanghe, J., De Slypere, JP., De Buyzere, M., Robbrecht, J., Wieme, R. & Vermeulen, A. 1989. Normal reference values for creatine, creatinine, and carnitine are lower in vegetarians. *Clin Chem.* 35 (8), 1802-3.
- De Medeiros, G., de Azevedo, K., Mesquita, G., Lima, S., de Oliveira Silva, D., Pimenta, I., de Silveira Goncalves, Lyra, C. & Piuvezam, G. 2019. Red meat consumption, risk of incidence of cardiovascular disease and cardiovascular mortality, and the dose-response effect. Protocol for a systematic review and meta-analysis of longitudinal cohort studies. *Medicine (Baltimore).* 98 (38).
- De Souza, RJ., Mente, A., Maroleanu, A., Cozma, AI., Ha, V., Kishibe, T., Uleryk, E., Budyłowski, P., Schunemann, H., Beyene, J. & Anand, SS. 2015. Intake of saturated and trans unsaturated fatty acids and risk of all cause mortality, cardiovascular disease, and type 2 diabetes: systematic review and meta-analysis of observational studies. *BMJ.* Doi: 10.1136/bmj.h3978.
- De Toro-Martin, J., Guenard, F., Tchernof, A., Hould, FS., Lebel, S., Julien, F., Marceau, S. & Vohl, MC. 2019. Body mass index is associated with epigenetic age acceleration in the visceral adipose tissue of subjects with severe obesity. *Clin Epigenetics.* 11 (1), 172.
- Dugue, PA., Bassett, JK., Joo, JE., Baglietto, L., Jung, CH., Ming Wong, E., Fiorito, G., Schmidt, D., Makalic, E., Li, S., Moreno-Betancur, M., Buchana, DD., Vineis, P., English, DR., Hopper, JL., Severi, G., Southey, MC., Giles, GG. & Milne, RL. 2018.

- Association of DNA methylation-based biological age with health risk factors and overall and cause-specific mortality. *Am J Epidemiol.* 187 (3), 529-538.
- Dyke, S., Saulnier, K. M., Dupras, C., Webster, A. P., Maschke, K., Rothstein, M., Siebert, R., Walter, J., Beck, S., Pastinen, T. & Joly, Y. 2019. Points-to-consider on the return of results in epigenetic research. *Genome med.* Doi: 10.1186/s13073-019-0646-6.
- European Food Safety Authority, EFSA. 2017. Dietary reference values and dietary guidelines. <https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/drv>. Viitattu 11.12.2019.
- Farchi, S., De Sario, M., Lapucci, E., Davoli, M. & Michelozzi, P. 2017. Meath consumption reduction in Italian regions: Health co-benefits and decreases in GHG emissions. *PLoS One.* Doi: 10.1371/journal.pone.0182960.
- Fiorito, G., McCrory, C., Robinson, O., Carmeli, C., Rosales, C. O., Zhang, Y., Colicino, E., Dugue, P-A., Artaud, F., McKay, G. J., Jeong, A., Mishra, P. P., Nostt, T. H., Krogh, V., Panico, S., Sacerdote, C., Tumino, R., Palli, D., Matullo, G., Guarrera, S., Gandini, M., Bochud, M., Dermitzakis, E., Muka, T., Schwartz, J., Vokonas, P. S., Just, A., Hodge, A. M., Giles, G. G., Southey, M. C., Hurme, M. A., Young, I., McKnight, A. J., Kunze, S., Waldenberger, M., Peters, A., Schwettmann, L., Lund, E., Baccarelli, A., Milne, R. L., Kenny, R. A., Elbaz, A., Brenner, H., Kee, F., Voortman, T., Probst-Hensch, N., Lehtimäki, T., Elliot, P., Stringhini, S., Vineis, P., Polidoro, S., the BIOS Consortium & The lifepath consortium. 2019. Socioeconomic position, lifestyle habits and biomarkers of epigenetic aging: a multi-cohort analysis. *Aging (Albany NY)*. 11 (7), 2045-2070.
- Fink, SK., Racine, EF., Mueffelman, RE., Dean, MN. & Herman-Smith, R. 2014. Family meals and diet quality among children and adolescents in North Carolina. *J Nutr Educ Behav.* 46 (5), 418-22.
- Finnish nutrition recommendations 2014. Valtion ravitsemusneuvottelukunta. Helsinki 2014.
- Fontana, L. & Patridge, L. 2015. Promoting health and longevity through diet: from model organisms to humans. *Cell.* 161 (1), 106-118.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations 2010. Fats and fatty acids in human nutrition: report of an expert consultation. FAO Food and Nutrition Paper 91. Rome. 2010.
- Fraga, MF., Ballestar, E., Paz, MF., Ropero, S., Setien, F., Ballestar, ML., Heine-Suner, D., Cigudosa, JC., Urioste, M., Benitez, J., Boix-Chornet, M., Sanchez-Aguilera, A., Ling, C., Carlsson, E., Poulsen, P., Vaag, A., Stephan, Z., Spector, TD., Wu, YZ., Plass, C.,

- Esteller, M. 2005. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proc Natl Acad Sci USA*. 102 (30), 10604-9.
- Fraga, MF. & Esteller, M. 2007. Epigenetics and aging: the targets and the marks. *Trends Genet*. 23 (8), 413-8.
- Fransquet, P. D., Wrigglesworth, J., Woods, R. L., Ernst, M. E. & Ryan, J. 2019. The epigenetic clock as a predictor of disease and mortality risk: a systematic review and meta-analysis. *Clin Epigenetics*. 11, 62.
- Fraser, G. 2004. A Comparison of first event coronary heart disease rates in two contrasting California populations. *J. Nutr. Health Aging*. 9 (1), 53-8.
- Fraser, G.E. 2009. Vegetarian diets: What do we know of their effect on common chronic diseases? *Am. J. Clin. Nutr.* 89 (5), 1607-1612.
- Fung, T. T., Pan, A., Hou, T., Chiuve, S. E., Tobias, D. K., Mozaffarian, D., Willett, W. & Hu, F. B. 2015. Long-term change in diet quality is associated with body weight change in men and women. *J Nutr.* 145 (8), 1850-1856.
- Gadgil, MS., Joshi, KS., Naik, SS., Panditt, AN., Otiv, SR. & Patwardhan, BK. 2014. Association of homocysteine with global DNA methylation in vegetarian Indian pregnant women and neonatal bieth anthropometrics. *J Matern Fettal Neonatal Med*. 27 (17), 1749-53.
- Gassen, NC., Chrousos, GP., Binder, EB. & Zannas, AS. 2017. Lide stress, glucocorticoid signaling, and the aging epigenome: implications for aging-related diseases. *Neurosci Biobehav Rev*. Doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.06.003.
- GBD 2016 Risk factors collaborators 2017. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioral, environmental and occupational and metabolic risks or clusters of risks, 1990-2016: a systematic analysis for the Global Burden of disease Study 2016. *Lancet*. 390 (10100), 1345-1422.
- GBD 2017 Diet Collaborators: Afshin, A., Sur, PJ., Fay, KA., Cornaby, L., Ferrara, G., Salama, JS., Mullany, EC., Abate, KH., Abbafati, C., Abebe, Z., Afarideh, M., Aggarwal, A., Agrawal, S., Akinyemiju, T., Alahdab, F., Bacha, U., Bachman, VF., Badali, H., Badawi, A., Bensenor, IM., Bernabe, E., Biadgilign, SKK., Biryukov, SH., Chahill, LE., Carrero, JJ., Cercy, KM., Dandona, L., Dandona, R., Dang, AK., Degefa, MG., El Sayed Zaki, M., Esteghamati, A., Esteghamati, S., Fanzo, J., Farinha, CSES., Farvid, MS., Farzadfar, F., Feigin, VL., Fernandes, JC., Flor LS., Foigt, NA., Rorouzanfar, MH., Ganji, M., Geleijnse, JM., Gillum, RF., Goulart, AC., Grosso, G., Guessous, I., Hamidi, S., Hankey, GJ., Harikrishnan, S., Hassen, HY., Hay, SI., Hoang, CL., Horino, M.,



- Islami, F., Jackson, MD., James, SL., Johansson, L., Jonas, JB., Kasaeian, A., Khader, YS., Khalil, IA., Khang, YH., Kimokoti, RW., Kokubo, Y., Kumar, GA., Lallukka, T., Lopez, AD., Lorkowski, S., Lotufo, PA., Lozano, R., Malekzadeh, R., März, W., Mokdad, AH., Mozaffarian, D., Nagel, G., Naghavi, M., Nguyen, CT., Nixon, MR., Ong, KL., Pereira, DM., Poutchi, H., Oorbani, M., Rai, RK., Razo-Garcia, C., Rehm, CD., Riviera, JA., Rodriguez-Ramirez, S., Roshandel, G., Roth, GA., Sanabria, J., Sanchez-Pimienta, TG., Sartorius, B., Schmidhuber, J., Schutte, AE., Sepanlou, SG., Shin, MJ., Sorensen, RJD., Sprigmann, M., Szponar, L., Thorner-Lyman, AL., Thrift, AG., Touvier, M., Tran, BX., Tyrovolas, S., Ukwaja, KN., Ullah, I., Uthman, OA., Vaezghasemi, M., Vasankari, TJ., Vollset, SE., Vos, T., Vu, GT., Vu, LG., Weiderpass, E., Werdecker, A., Wijeratne, T., Willeett, WC., Wu, JH., Xu, G., Yonemoto, N., Yu, C., Murray, CJL. Health effects of dietary risks in 195 countries, 1990-2017: systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 393 (10184), 1958-72.
- Gebhard, C., Benner, C., Ehrich, M., Schwarzfischer, L., Schilling, E. & Klug, M. 2010. General transcription factor binding at CpG islands in normal cells correlates with resistance to de novo DNA methylation in cancer cells. *Cancer Res*. 70 (4), 1398-1407.
- Gessaman, J. D. & Selker, E. U. 2017. Induction of H3K9me3 and DNA methylation by tethered heterochromatin factors in *Neurospora crassa*. *Proc Natl Acad Sci USA*. 114 (45), E9598-E9607.
- Giacconi, R., Malavolta, M., Burkle, A., Moreno-Villanueva, M., Franceschi, C., Capri, M., Slagboom, PE., Jansen, EHJM, Dolle, MET., Grune, T., Weber, D., Hervonen, A., Stuetz, W., Breusing, N., Ciccarone, F., Zampieri, M., Aversano, V., Caiafa, P., Formentini, L., Piacenza, F., Pierpaoli, E., Basso, A., Provinciali, M. & Cardelli, M. 2019. Nutritional Factors Modulating Alu Methylation in an Italian Sample from The Mark-Age Study Including Offspring of Healthy Nonagenarians. *Nutrients*. 11 (12), Doi: 10.3390/nu11122986.
- Giem, P., Beeson, W. L. & Fraser, G. E. 1993. The incidence of dementia and intake of animal products: preliminary findings from the Adventist Health Study. *Neuroepidemiology*. 12 (1), 28-36.
- Gil, A., Martinez, d. V. E. & Olza, J. 2015. Indicators for the evaluation of diet quality. *Nutr. Hosp*. 31 (3), 128-44.
- Giugliano, D., Ceriello, A. & Esposito, K. 2006. The effects of diet on inflammation: emphasis on the metabolic syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 48, 677-85.
- Godfray, H. C. J., Aveyard, P., Garnett, T., Hall, J. W., Key, T. J., Lorimer, J., Pierrehumbert,

- R. T., Scarborough, P., Sprigmann, M. & Jebb, S. A. 2018. Meat consumption, health, and the environment. *Science*. 361 (6399), Doi: 10.1126/science.aam5324.
- Golden, SD. & Earp, JA. 2012. Social ecological approaches to individuals and their contexts: twenty years of health education & behavior health promotion interventions. *Health Educ Behav*. 39 (3), 364-72.
- Goodrich, JM., Basu, N., Franzblau, A. & Dolinoy, DC. 2013. Mercury biomarkers and DNA methylation among Michigan dental professionals. *Environ Mol Mutagen*. 54 (3), 195-203.
- Graigie, AM., Lake, AA., Kelly, SA., Adamson, AJ. & Mathers, JC. 2011. Tracking of obesity-related behaviours from childhood to adulthood: a systematic review. *Maturitas*. 70 (3), 266-84.
- Green, M. J., Leyland, A. H., Sweeting, H. & Benzeval, M. 2017. Causal effects of transitions to adult roles on early adult smoking and drinking: evidence from three cohorts. *Soc Sci Med*. 187, 193-202.
- Gutierrez Arcelus, M., Lappalainen, T., Montgomery, SB., Buil, A., Ongen, H., Yurovsky, A., Bryois, J., Giger, T., Romano, L., Planchon, A., Falconnet, E., Bielser, D., Gagnebin, M., Padioleau, I., Borel, C., Letourneau, A., Makrythanasis, P., Guipponi, M., Gehrig, C., Antonarakis, SE. & Dermitzakis, ET. 2013. Passive and active DNA methylation and the interplay with genetic variation in gene regulation. *Elife*. 4 (2), e00523.
- Hahn, O., Grönke, S., Stubbs, TM., Ficz, G., Hendrich, O., Krueger, F., Andrews, S., Zhang, Q., Wakelam, MJ., Beyer, A., Reik, W. & Partridge, L. 2017. Dietary restriction protects from age-associated DNA methylation and induces epigenetic reprogramming of lipid metabolism. *Genome Biol*. 18 (1), 56.
- Hannum, G., Guinney, J., Zhao, L., Zhang, L., Hughes, G., Sada, S., Klotzle, B., Bibikova, M., Fan, JB., Gao, Y., Deconde, R., Chen, M., Rajapakse, I. 2013. Genome-wide methylation profiles reveal quantitative views of human aging rates. *Mol Cell*. 49 (2), 359-67.
- Horvath, S. 2013. DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biology*. 14 (10), R115.
- Horvath, S., Erhart, W., Brosch, M., Ammerpohj, O., von Schönfels, W., Ahrens, M., Heitss, N., Bell, J. T., Tsai, P-C., Spector, T. D., Deloukas, P., Siebert, R., Sipos, B., Becker, T., Röcken, C., Schafmayer, C. & Hampe, J. 2014. Obesity accelerates epigenetic aging of human liver. *Proc Natl Acad Sci USA*. 111 (43), 15538-15543.
- Horvath, S., Garagnani, P., Bacalini, MG., Pirazzini, C., Salvioli, S., Gentilini, D., Di Blasio,

- AM., Giuluani, C., Tung, S., Vinters, HV. & Franceschi, C. 2015d. Accelerated epigenetic aging in Down syndrome. *Aging Cell*. 14 (3), 491-495.
- Horvath, S., Gurven, M., Levine, M. E.m Trumble, B. C., Kaplan, H., Allayee, H., Ritz, B. R., Chen, B., Lu, A. T., Rickabaugh, T. M., Jamieson, B. D., Sun, D., Li, S., Chen, W., Quintana-Murci, L., Fagny, M., Kobor, M. S., Tsao, P. S., Reiner, A. P., Edlefsen, K. L., Absher, D. & Assimes, T. L. 2016. An epigenetic clock analysis of race/ethnicity, sex, and coronary heart disease. *Genome Biol*. 17, 171.
- Horvath, S. & Levine, AJ. 2015. HIV-1 infection accelerates age according to the epigenetic clock. *J Infect Dis*. 2102 (10), 1663-1573.
- Horvath, S., Mah, V., Lu, AT., Woo, JS., Choi, OW., Jasinska, AJ., Riancho, JA, Tung, S., Coles, NS., Braun, J., Vinters, HV. & Coles, LS. 2015b. The cerebellum ages slowly according to the epigenetic clock. *Aging (Albany NY)* 7 (5), 294-306.
- Horvath, S., Pirazzini, C., Bacalini, M. G., Gentilini, D., Di Blasio, A. M., Delledonne, M., Mari, D., Arosio, B., Monti, D., Passarino, G., De Rango, F., D'Aquila, P., Giuliani, C., Marasco, E., Collino, S., Descombes, P., Garagnani, P. & Franceschi, C. 2015. Decreased epigenetic age of PBMCs from Italian semi-supercentenarians and their offspring. *Aging (Albany NY)*. 7 (12), 1159-1170.
- Horvath, S. & Raj, K. 2018. DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. *Nat Rev Genet*. 19 (6), 371-384.
- Horvath, S. & Ritz, B. R. 2015. Increased epigenetic age and granulocyte counts in the blood of Parkinson's disease patients. *Aging (Albany NY)*. 7 (12), 1130-1142.
- Hunt, JR. 2003. Bioavailability of iron, zinc, and other trace minerals from vegetarian diets. *Am J Clin Nutr*. 78 (3), 633S-639S.
- Husquin, L. T., Rotival, M., Fagny, M., Quach, H., Zidane, N., McEwen, L. M., MacIsaac, J. L., Kobor, M. S., Aschard, H., Patin, E. & Quintana-Murci, L. 2018. Exploring the genetic basis of human population differences in DNA methylation and their causal impact on immune gene regulation. *Genome Biol*. 19, 222.
- Janelle, KC. & Barr, SI. 1995. Nutrient intakes and eating behavior scores of vegetarian and nonvegetarian women. *J Am Diet Assoc*. 95 (2), 180-6.
- Llauradó, E., Albar, SA., Griralt, M., Sola, R., Evans, CE. 2016. The effect of snacking and eating frequency on dietary quality in British adolescents. *Eur J Nutr*. 55 (4), 1789-97.
- Lopez-Otin, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M. & Kroemer, G. 2013. The hallmarks of ageing. *Cell*. 153 (6), 1194-1217.
- Jian, Z.H., Chiang, Y.C., Lung, C.C., Ho, C.C., Ko, P.C., Nfor, O.N., Chang, H.C., Liaw,

- Y.C., Liang, Y.C. & Liaw, Y.P. 2015. Vegetarian diet and cholesterol and TAG levels by gender. *Public Health Nutr.* 18 (4), 721-726.
- Joehanes, R., Just, A. C., Marioni, R. E., Pilling, L. C., Reynolds, L. M., Mandaviya, P. R., Guan, W., Xu, T., Elks, C. E., Aslibekyan, S., Moreno-Macias, H., Smith, J. A., Brody, J. A., Dhingra, R., Yousefi, P., Pankow, J. S., Kunze, S., Shah, S., McRae, A. F., Lohman, K., Sha, J., Absher, D. M., Ferrucci, L., Zhao, W., Demerath, E. W., Bressler, J., Grove, M. L., Huan, T., Liu, C., Mendelson, M. M., Yao, C., Kiel, D. P., Peters, A., Wang-Sattler, R., Visscher, P. M., Wray, N. R., Starr, J. M., Ding, J., Rodriguez, C. J., Wareham, N. J., Irvin, M. R., Zhi, D., Barrdahl, M., Vineis, P., Ambatibudi, S., Uitterlinden, A. G., Hofman, A., Schwartz, J., Colicino, E., Hou, L., Vokonas, P. S., Hernandez, D. G., Singleton, A. B., Bandinelli, S., Turner, S. T., Ware, E. B., Smith, A. K., Klengel, T., Binder, E. B., Psaty, B. M., Taylor, K. D., Gharib, S. A., Swenson, B. R., Liang, L., DeMeo, D. L., O'Connor, G. T., Herceg, Z., Ressler, K. J., Conneely, K. N., Sotoodehnia, N., Kardia, S. L. R., Melzer, D., Baccarelli, A. A., van Meurs, J. B. J., Romieu, I., Arnett, D. K., Ong, K. K., Liu, Y., Waldenberger, M., Deary, I. J., Fornage, M., Levy, D. & London, S. J. 2016. *Circ Cardiovasc Genet.* 9(5), 436-447.
- Johansson, Å., Enroth, S. & Gyllensten, U. 2013. Continuous aging of the human DNA methylome throughout the human lifespan. *PLoS One.* 8 (6), e67378.
- Jones, PA. 2012. Functions of DNA methylation: islands, start sites, gene bodies and beyond. *Nat Rev Genet.* 13 (7), 484-92.
- Jylhävä, J., Pedersen, N. L., Hägg, S. 2017. Biological Age Predictors. *EBioMedicine.* 21, 29-36.
- Kaczmarczyk, MM., Miller, MJ. & Freund, GG. 2012. The health benefits of dietary fiber: beyond the usual suspects of type 2 diabetes mellitus, cardiovascular disease and colon cancer. *Metabolism.* 61, 1058-66.
- Kaidesoja, M., Aaltonen, S., Bogl, LH., Heikkilä, K., Kaartinen, S., Kujala, UM., Kärkkäinen, U., Masip, G., Mustelin, L., Palviainen, T., Pietiläinen, KH., Rottensteiner, M., Sipilä, PN., Rose, RJ., Keski-Rahkonen, A. & Kaprio, J. 2019. FinnTwin16: A longitudinal study from age 16 of a population-based finnish twin cohort. *Twin Res Genet.* 22 (6), 530-539
- Kanerva, N., Kaartinen, NE., Schwab, U., Lahti-Koski, M. & Männistö, S. 2014. The Baltic Sea Diet Score: a tool for assessing healthy eating in Nordic countries. *Public Health Nutr.* 17 (8), 1697-1705.
- Kazmi, N., Elliott, HR., Burrows, K., Tillin, T., Hughes, AD., Chaturvedi, N., Gaunt, TR. &

- Relton, CL. Association between high blood pressure and DNA methylation. 2020. PLoS One. 15 (1), e0227728. doi: 10.1371/journal.pone.0227728.
- Kennedy, BK., Steffen, KK. & Kaeberlein, M. 2007. Ruminations on dietary restriction and aging. *Cell Mol Life Sci.* 64 (11), 1323-8.
- Key, T.J., Appleby, P.N., Spencer, E.A., Travis, R.C. Roddam, A.W. & Allenm N.E. 2009. Cancer incidence in vegetarians: Result from the European Prospective Investigation into Cancer and nutrition (EPIC-Oxford). *Am. J. Clin. Nutr.* 89 (5), 1620-1626.
- Key, TJ. Fraser, GE., Thorogood, M., Appleby, P.N., Beral, V., Reeves, G., Burr, M.L., Chang-Claude, J., Frenzel-Beyme, R. & Kuzma, J.W. 1999. Mortality in vegetarians and nonvegetarians: Detailed findings from a collaborative analysis of 5 prospective studies. *Am. J. Clin. Nutr.* 70 (3), 516-524.
- Kilpinen, H. & Dermitzakis, ET. 2012. Genetic and epigenetic contribution to complex traits. *Hum Mol Genet.* 21 (R1), R24-8.
- Kim, H., Gaulfield, LE. & Rebholz, CM. 2018. Healthy plant-based diets are associated with lower risk of all-cause mortality in US adults. *J nutr.* 148 (4), 624-631.
- Kim, KC., Friso, S. & Choi, SW. 2009. DNA methylation, an epigenetic mechanism connecting folate to healthy embryonic development and aging. *J Nutr Biochem.* 20 (12), 917-26.
- Kim, M-H. & Bae, Y-J. 2015. Comparative Study of serum leptin and insulin resistance levels between Korean postmenopausal vegetarian and non-vegetarian women. *Clin Nutr Res.* 4 (3), 175-81.
- Kris-Ethertton, PM., Harris, WS. & Appel, LJ. 2002. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation.* 106 (21), 2747-57
- Krumeich, A. & Meershoek, A. 2013. Health in global context; beyond the social determinants of health? *Blob Health Action.* 7 (1), 23506.
- Kuntche, E., Knibbe, R., Gmel, G. & Engels, R. 2005. Why do young people drink? A review of drinking motives. *Clin Psychol Rev.* 25 (7), 841-61.
- Larsson, CL., Klock, KS., Nordrehaug Astrom, A., Haugejorden, O. & Johansson, G. 2002. Lifestyle-related characteristics of young low-meat consumers and omnivores in Sweden and Norway. *J Adolesc Health.* 31 (2), 190-8.
- Lawrence, M., Daujat, S. & Schneider, R. 2016. Lateral Thinking: How histone modifications Regulate Gene Expression. *Trends Genet.* 32 (1), 42-56.
- Lee, IM., Shiroma, EJ., Lobelo, F., Puska, P., Blair, SN., Katzmarzyk, PT., Lancet Physical

- Activity Series Working Group. 2012. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. *Lancet*. 380 (9838), 219-29.
- Lee, K. W. K. & Pausova, Z. 2013. Cigarette smoking and DNA methylation. *Front Genet*. 4, 132.
- Lempradl, A., Pospisilik, JA. & Penninger, JM. 2015. Exploring the emerging complexity in transcriptional regulation of energy homeostasis. *Nat Rev Genet*. 16 (11), 665-81.
- Levine, ME., Lu, AT., Quach, A., Chen, BH., Assimes, TL., Bandinelli, S., Hou, L., Baccarelli, AA., Stewart, JD., Li, Y., Whitseal, EA., Wilson, JG., Reiner, AP. 2018. An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan. *Aging (Albany NY)*. 10, 573-91.
- Levine, ME., Hosgood, HD., Chen, B., Absher, D., Assimes, T. & Horvath, S. 2015. DNA methylation age of blood predicts future onset of lung cancer in the women's health initiative. *Aging (Albany NY)*. 7 (9), 690-700.
- Levine, ME., Lu, AT., Bennett, DA. & Horvath, S. 2015b. Epigenetic age of the pre-frontal cortex is associated with neuritic plaques, amyloid load, and Alzheimer's disease related cognitive functioning. *Aging (Albany NY)*. 7 (12), 1198-211.
- Levine, ME, Lu, AT., Chen, BH., Hernandez, DG., Singleton, AB., Ferrucci, L., Bandinelli, S., Salfati, E., Manson, JE., Quach, A., Kusters, CD., Kuh, D. & Wong, A. 2016. Menopause accelerates biological aging. *JAMA*. 316 (10), 932-933.
- Liao, J., Karnik, R., Gu, H., Ziller, MJ., Clement, K., Tsankov, AM., Akopian, V., Gifford, CA., Donaghey, J., Galonska, C., Pop, R., Reyon, D., Tsai, SQ., Mallard, W., Joung, JK., Gnirke, A. & Meissner, A. 2015. Targeted disruption of DNMT1, DNMT3A and DNMT3B in human embryonic stem cells. *Nat Genet*. 47 (5), 469-78.
- Lippi, G., Mattiuzzi, C. & Cervellin, G. 2016. Meat consumption and cancer risk: a critical review of published meta-analyses. *Crit Rev Oncol Hematol*. 97, 1-14.
- Lister, R., Pelizzola, M., Dowen, R. H., Hawkins, R. D., Hon, G., Tonti-Filippini, J., Nery, J. R., Lee, L., Ye, Z., Ngo, Q-M., Edsall, L., Antosiewicz-Bourget, J., Stewart, R., Ruotti, V., Millar, A. H., Thomson, J. A., Ren, B. & Ecker, J. R. 2010. Human DNA methylomes at base resolution show widespread epigenomic differences. *Nature*. 462 (7271), 315-322.
- Lu, AT., Hannon, E., Levine, ME., Hao, K., Crimmins, EM., Lunnon, K., Kozlenkov, A., Mill, J., Dracheva, S. & Horvath, S. 2016. Genetic variants near MLST8 and DHX57 affect the epigenetic age of the cerebellum. *Nat Commun*. 7, 10561.
- Lu, A. T., Quach, A., Wilson, J. G., Reiner, A. P., Aviv, A., Raj, K., Hou, L., Baccarelli, A. A.,

- Li, Y., Stewart, J. D., Whitsel, E. A., Assimes, T. L., Ferrucci, L. & Horvarth, S. 2019. DNA methylation GrimAge strongly predicts lifespan and healthspan. *Aging*. 11 (2), 303-327.
- Macleod, D., Charlton, J., Mullins, J. & Bird, AP. 1994. Sp1 sites in the mouse aprt gene promoter are required to prevent methylation of the CpG island. *Genes Dev*. 8, 2282-2292.
- Macrin, D., Alghadeer, A., Zhao, Y. T., Miklas, J., Hussein, A. M., Detraux, D., Robitaille, A. M., Madan, A., Moon, R. T., Wang, Y., Devi, A., Mathieu, J. & Ruohola-Baker, H. 2019. Metabolism as an early predictor of DPSCs aging. *Sci Rep*. 9 (1), 2195
- Marioni, R., Harris, S., Shah, S., McRae, A., von Zglinicki, T., Martin-Ruiz, C., Wray, N., Visscher, P. & Deary, I. 2016. The epigenetic clock and telomere length are independently associated with chronological age and mortality. *Int J Epidemiol*. 45 (2), 424-432.
- Marioni, R., Shah, S., McRae, A., Chen, B., Colicino, E., Harris, S., Gibson, J., Henders, A., Redmond, P., Cox, S., Pattie, A., Corley, J., Murphy, L., Martin, N., Montgomery, G., Feingberg, A., Fallin, M., Multhaup, M., Jaffe, A., Joehanes, R., Schwartz, J., Just, A., Lunetta, K., Murabito, J., Starr, J., Horvarth, S., Baccarelli, A., Levy, D., Visscher, P., Wray, N. & Deary, I. 2015. DNA methylation age of blood predicts all-cause mortality in later life. *Genome Biol*. 16 (1), 25.
- 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. 2015b. The epigenetic clock is correlated with physical and cognitive fitness in the Lothian Birth Cohort 1936. *Int J Epidemiol*. 44 (4), 1388-96.
- Masip, G., Keski-Rahkonen, A., Pietiläinen, K. H., Kujala, U. M., Rottensteiner, M., Väisänen, K., Kaprio, J. & Bogl, J. H. 2019. Development of a food-based diet quality score from a short FFQ and associations with obesity measures, eating styles and nutrient intakes in Finnish twins. *Nutrients*. 11 (11), 2561.
- Masoro, EJ. 2005. Overview of caloric restriction and ageing. *Mech Ageing Dev*. 126 (9), 913-22.
- Mathers, JC., Strathdee, G. & Relton, CL. 2010. Induction of epigenetic alterations by dietary and other environmental factors. *Adv Genet*. 71, 3-39.
- McCay, CM. Crowell, MF. & Maynard, LA. 1935. The effect of reared growth upon the length of life span and upon the ultimate body size. 1935. *Nutrition*. 5 (3), 155-71.
- McEvoy, C., Temple, N., Woodside, J. V. 2012. Vegetarian diets, Low-meat diets and health:

- a review. *Public Health Nutrition*. 15 (12), 2287-2294.
- McNaughton, SA., Bates, CJ. & Mishra GD. 2012. Diet quality is associated with all-cause mortality in adults aged 65 years and older. *J Nutr*. 142 (2), 320-5.
- McNaughton, SA., Dunstan, DW., Ball, K., Shaw, J., Crawford, D. 2009. Dietary quality is associated with diabetes and cardio-metabolic risk factors. *J Nutr*. 139 (4), 734-42.
- Medawar, E., Huhn, S., Villringer, A. & Witte, V. A. 2019. The effects of plant-based diets on the body and the brain: a systematic review. *Transl Psychiatry*. 9, 226.
- Melina, V., Graig, W. & Levin, S. 2016. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics: Vegetarian Diets. *J. Acad. Nutr. Diet*. 116 (12), 1970-1980.
- Mertens, E., Kuijsten, A., Dofkova, M., Mistura, L., A'Addezio, L., Turrini, A., Dubuisson, C., Favret, S., Havard, S., Trolle, E., Van't Veer, P. & Geleijnse, JM. 2019. Geographic and socioeconomic diversity of food and nutrient intakes: a comparison of four European countries. *Eur J Nutr*. 58 (4), 1475-1493.
- Mendelson, M. M. 2018. Epigenetic age acceleration: a biological doomsday clock for cardiovascular disease? *Circ Genom Precis Med*. 11(3), e002089. Doi: 10.1161/CIRCGEN.118.002089.
- Micha, R., Michas, G. & Mozaffarian, D. 2012. Unprocessed red and processed meats and risk of coronary artery disease and type 2-diabetes – an updated review of the evidence. *Curr Atheroscler Rep*. 14 (6), 515-24.
- Micha, R., Wallace, SK. & Mazaffarian, D. 2010. Red and processed meat consumption and risk incident coronary heart disease, stroke, and diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis. *Circulation*. 121 (21), 2271-83.
- Michielsen, C. C. J. R., Hangelbroek, R. W. J., Feskens, E. J. M. & Afman, L. A. 2019. Disentangling the effects of monounsaturated fatty acids from other components of a Mediterranean diet on serum metabolite profiles: a randomized fully controlled dietary intervention in healthy subjects at risk of the metabolic syndrome. *Mol Nutr Food Res*. 63 (9), 1801095.
- Milagro, FI., Mansego, ML., De Miguel, C. & Martinez, JA. 2013. Dietary factors, epigenetic modifications and obesity outcomes: progresses and perspectives. *Mol Aspects med*. 34 (4), 782-812.
- Milaneschi, Y., Bandinelli, S., Corsi, AM., Lauretani, F., Paolisso, G., Dominguez, LJ., Semba, RD., Tanaka, T., Abbatecola, AM., Talegawkar, SA., Guralnik, JM. & Ferrucci, L. 2011. Mediterranean diet and mobility decline in older persons. *Exp Gerontol*. 46 (4), 303-4.



- Mishur, R.J. & Rea, S.L. 2012. Applications of mass spectrometry to metabolomics and metabonomics: detection of biomarkers of aging and of age-related diseases. *Mass Spectrom Rev.* 31 (1), 70-95. Doi: doi: 10.1002/mas.20338.
- Modlinska, K. & Pisula, W. 2018. Selected Psychological Aspects of meat consumption – a short review. *Nutrients.* 10 (9), 1301.
- Moore, L. D., Le, T. & Fan, G. 2013. DNA Methylation and Its Basic Function. *Neuropsychopharmacology Reviews.* 38, 23-38.
- Moreno, L.A., Gottrand, F., Huybrechts, I., Ruiz, J.R., Gonzales-Gross, M., DeHenauw, S. 2014. Nutrition and lifestyle in European adolescents: the HELENA (Healthy lifestyle in Europe by nutrition in adolescence) study. *Adv Nutr.* 5 (5), 615S-623S
- Morris, M. 2016. Nutrition and risk of dementia: overview and methodological issues. *Ann N Y Acad Sci.* 1367 (1), 31-7.
- Muezzinler, A., Zaineddin, A.K. & Brenner, H. 2013. A systematic review of leucocyte telomere length and age in adults. *Ageing Res Rev.* 12 (2), 509-19.
- Müller, M. J., Braun, W., Enderie, J. & Bosy-Westphal, A. 2016. Beyond BMI: Conceptual Issues Related to Overweight and Obese Patients. *Obes Facts.* 9 (3), 193-205
- Munt, A.E., Partridge, S.R. & Allman-Farinelli, M. 2017. The barriers and enablers of healthy eating among young adults: a missing piece of the obesity puzzle: A scoping review. *Obes Rev.* 18 (1), 1-17.
- Naska, A., Lagiou, A. & Lagiou, P. 2017. Dietary assessment methods in epidemiological research: current state of the art and future prospects. *F1000Res.* 2017. 6, 926. Doi: 10.12688/f1000research.10703.1. eCollection 2017.
- Naveed, S., Venäläinen, T., Eloranta, A.M., Erkkilä, A.T., Jalkanen, H., Lindi, V., Lakka, T.A. & Haapala, E.A. 2020. Associations of dietary carbohydrate and fatty acid intakes with cognition among children. *Public Health Nutr.* Doi: 10.1017/S1368980019003860.
- Needham, B. L., Rehkopf, D., Adler, N., Gregorich, S., Lin, J., Blackburn, E. H. & Epel, E. S. 2015. Leukocyte Telomere Length and Mortality in the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2002. *Epidemiology.* 26 (4), 528-535.
- Nevalainen, T., Kananen, L., Marttila, S., Jylhävä, J., Mononen, N., Kähönen, M., Raitakari, O., Hervonen, A., Jylhä, M., Lehtimäki, T. & Hurme, M. 2017. Obesity accelerates epigenetic aging in middle-aged but not in elderly individuals. *Clin Epigenetics.* 9, 20.
- Newman, A.B., Yanez, D., Harris, T., Duxbury, A., Enright, P.L., Fried, L.P. & Cardiovascular Study Research Group. 2001. Weight change in old age and its association with mortality. *J Am Geriatr Soc.* 49 (10), 1309-18.

- Nordic nutrition recommendations (NNR) 2012. Integrating nutrition and physical activity. 5th edition. Nordic council of ministers. Copenhagen 2014. Viitattu 11.11.2019
- Nuorten Kaksosten Terveystutkimus. 2010. Helsingin yliopisto 2010.  
<https://wiki.helsinki.fi/display/twinstudy/Nuorten+Kaksosten+Terveystutkimus>  
 Viitattu 6.11.2019.
- Okada, C., Hiroyasu, I., Ishihara, J., Maruyama, K., Sawada, N., Sgoichiro, T. & JPHC FFQ Validation study group. 2017. Validity and reliability of a self-administered food frequency questionnaire for the JPHC study: The assessment of amino acid intake. *J Epidemiol.* 27 (5), 242-247.
- Olson, J. S., Hummer, R. A. & Harris, K. M. 2017. Gender and health behavior clustering among U.S. Young adults. *Biodemography soc biol.* 63 (1), 3-20.
- Onvani, S., Haghghatdoost, F., Surkan, P.J., Larijani, B. & Azadbakht, L. 2017. Adherence to the healthy eating index and alternative healthy eating index dietary patterns and mortality from all causes, cardiovascular disease and cancer: a meta-analysis of observational studies. *J Hum Nutr Diet.* 30 (2), 216-226.
- Orlich, M. J., Singh, P. N., Sabate, J., Fan, J., Sveen, L., Bennett, H., Knutsen, S. F., Beeson, W. L., Jaceldo-Siegl, K., Butler, T. L., Herring, R. P., Fraser, G. E. 2015. *JAMA Intern Med.* 175 (5), 767-776.
- Orlich, M. J., Singh, P. N., Sabate, J., Jaceldo-Siegl, K., Fan, J., Knutsen, S., Beeson, W. L. & Fraser, G. E. 2013. Vegetarian dietary patterns and mortality in Adventist health study 2. *JAMA Intern. Med.* 173 (13), 1230-8.
- Paalanen, L., Männistö, S., Virtanen, M.J., Knekt, P., Räsänen, L., Montonen, J. & Pietinen, P. 2006. Validity of a food frequency questionnaire varied by age and body mass index. *J Clin Epidemiol.* 59 (9), 994-1001.
- Peltonen, M., Laatikainen, T., Lindström, J. & Jousilahti, P. 2015. WHO:n tavoitteena on pysäyttää lihavuuden ja tyyppin 2 diabeteksen lisääntyminen – Suomessa tarvitaan tekoja. Tutkimuksesta tiiviisti 13/2015. Terveiden ja hyvinvoinnin laitos, Helsinki.  
[https://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/125827/TUTI2015\\_13\\_lihavuus%20diabetes.pdf?sequence=3](https://www.julkari.fi/bitstream/handle/10024/125827/TUTI2015_13_lihavuus%20diabetes.pdf?sequence=3) viitattu 25.2.2020.
- Peters, M., J., Joehanes, R., Pilling, L. C., Schurmann, C., Conneely, K. N., Powell, J., Reinmaa, E., Sutphin, G. L., Zhernakova, A., Schramm, K., Wilson, Y. A., Kobes, S., Tukiainen, T., NABEC/UKBEC Consortium, Ramos, Y. F., Göring, H. H. H., Fornage, M., Liu, Y., Leevy, D., Murabito, J. M., Munson, P. J., Huan, T., Hofman, A., Uitterlinden, A. G., Rivadeneira, F., van Rooij, J., Stolk, L., Broer, L., Verbiest, M. M.

- P. J., Jhamai, M., Arp, P., Metspalu, A., Tserei, L., Milani, L., Samani, N. J., Peterson, P., Kasela, S., Codd, V., Peters, A., Ward-Caviness, C. K., Herder, C., Waldenberg, M., Roden, M., Singmann, P., Zeilinger, S., Illig, T., Homuth, G., Grabe, H-J., Völzke, H., Steil, L., Kocheer, T., Murray, A., Melzeer, D., Yaghootkar, H. Bandinelli, S., Moses, E. K., Kent, J. W., Curran, J. E., Johnson, M. P., Williams-Blangero, S., Westra, H-J., McRae, A. F., Smith, J. A., Karsia, S. L. R., Hovatta, I., Perola, M., Ripatti, S., Salomaa, V., Henders, A. K., Martin, N. G., Smith, A. K., Mehta, D., Binder, Ee. B., Nylocks, K. M., Kennedy, E. M., Klengel, T., Ding, J., Suchy-Dicey, A. M., Enquobahrie, D. A., Brody, J., Rotter, J. I., Chen, Y-D. I., Houwing-Duistermaat, J., Kloppenburg, M., Slagboom, P. E., Helmer, Q., den Hollander, W., Bean, S., Raj, T., Bakhshi, N., Wang, Q. P., Oyston, L. J., Psaty, B. M., Tracy, R. P., Montgomery, G. W., Turner, S. T., Blangero, J., Meulenbelt, I., Ressler, K. J., Yang, J., Fannke, L., Kettunen, J., Visscher, P. M., Neely, G. G., Korstanje, R., Hanson, R. L., Prokisch, H., Ferrucci, L., Esko, T., Teumer, A., van Meurs, J. B., J. & Johnson, A. D. 2015. The transcriptional landscape of age in human peripheral blood. *Nat Commun.* 6, 8570
- Petrovic, D., de Mestral, C., Bochud, M., Bartley, M., Kivimäki, M., Vineis, P., Mackenbach, J. & Sttringhini, S. 2018. The contribution of health behaviors to socioeconomic inequalities in health: a systematic review. *Prev Med.* 113, 15-31.
- Petter, C. J., Fischer, L. K., Kundakovic, M., Garg, P., Jakovcevski, M., Dincer, A., Amaral, A. C., Ginns, E. I., Galdzicka, M., Bryce, C. P., Raner, C., Waber, D. P., Mokler, D., Medford, G., Champagne, F. A., Rosene, D. L., McGaughy, J. A., Sharp, A. J., Galler, J. R., & Akbarian, S. 2016. DNA methylation signatures of early childhood malnutrition associated with impairments in attention and cognition. *Biol Psychiatry.* 80 (19), 765-774.
- Perignon, M., Vieux, F., Soler, LG., Masset, G. & Darmon, N. 2017. Improving diet sustainability through evolution of food choices: review of epidemiological studies on the environmental impact of diets. *Nutr. Rev.* 75 (1), 2-17.
- Popkin, B., Adair, L. & Shu, W. 2012. NOW AND THEN: The global nutrition transition: the pandemic of obesity in developing countries. *Nutr Rev.* 70 (1), 3-21
- Poti, J., Braga, B. & Qin, B. 2017. Ultra-processed Food Intake and Obesity: What really matters for health – processing or nutrient content? *Curr Obes Rep.*
- Quach, A., Levine, M. E., Tanaka, T., Lu, A. T., Chen, B. H., Ferrucci, L., Ritz, B., Bandinelli, S., Neuhouser, M. L., Beasley, J. M., Snetselaar, L., Wallace, R. B., Tsao, P. S., Absher, D., Assimes, L. T., Stewart, J. D., Li, Y., Hou, L., Baccarelli, A. A., Whitsel, E. A. &

- Horvath, S. 2017. Epigenetic clock analysis of diet, exercise, education and lifestyle factors. *Aging (Albany NY)*. 9 (2), 419-437.
- Quetelet, LA. 1994. A treatise on man and the development of his faculties. 1842. *Obes Res*. 2 (1), 72-85.
- Raiten, D., Ashour, F., Ross, C., Meydani, S., Dawson, H., Sttephensen, C., Brabin, B., Suchdev, P., van Ommen, B. & the INSPIRE Consultative Group. 2015. Inflammation and nutritional science for programs/policies and interpretation of research evidence (INSPIRE). *J. Nutr.* 145 (5), 1039S-1108S.
- Rauma, AL. & Mykkänen, H. 2000. Antioxidant status in vegetarians versus omnivores. *Nutrition*. 16 (2), 111-9.
- Rizvi, S., Raza, ST. & Mahdi, F. 2014. Telomere length variantions in aging and age-related diseases. *Curr Aging Sci*. 7 (3), 161-7.
- Rizzo, N. S., Jaceldo-Siegl, K., Sabate, J. & Fraser, G. E. 2013. Nutrient profiles of vegetarian and non-vegetarian dietary patterns. *J acad nutr diet*. 113 (12), 1610-1619
- Robinson, S. M. 2018. Improving nutrition to support healthy ageing: what are the opportunities for intervention? *Proc nutr soc*. 7 (3), 257-264.
- Rode, L., Borge, G., Nordestgaard, S. & Bojesen, E. 2015. Peripheral Blood Leucocyte Telomere Length and Mortality Among 64 637 Individuals from the General Population. *Journal of the national cancer institute*. 107(6), <https://doi.org/10.1093/jnci/djv074>.
- Rodriguez-Rodero, S., Fernandez-Morera, JL., Fernandez, AF., Menendez-Torre, E. & Fraga, MF. 2010. Epigenetic regulation of aging. *Discov Med*. 10 (52), 225-33
- Rolland, Y., Abellan van Kan, G., Gillette-Guyonnet, S. & Vellas, B. 2011. Cachexia versus sarcopenia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 14 (1), 15-21.
- Saez-Almendros, S., Obrador, B., Bach-Faig, A. & Serra-Majem, L. 2013. Environmental footprints of Mediterranean versus western dietary patterns: beyond the health benefits of the Mediterranean diet. *Environ health*. 12, 118.
- Sae-Lee, C., Corsi, S., Barrow, TM., Kuhnle, GGC., Bollati, V., Mathers, JC. & Byun, HM. 2018. Dietary Intervention modifies DNA methylation age assessed by the epigenetic clock. *Mol Nutr Food Res*. 62 (23), e1800092.
- Salas-Salvado, J., Babio, N., Juarez-Inglesias, M., Pico, C., Ros, E. & Moreno Aznar, LA. 2018. The importance of dairy products for cardiovascular health: whole or low fat? *Nutr Hosp*. 35 (6), 1479-1490.
- Sanders, J. L. & Newman, A. B. 2013. Telomere length in Epidemiology: A Biomarker of

- Aging, Age-Related Disease, Both, or Neither? *Epidemiol Rev.* 35(1), 112-131.
- Scaglioni, S., Se Cosmi, V., Ciappolino, V., Parrazzini, F., Brambilla, P. & Agostoni, C. 2018. Factors influencing children's eating behaviours. *Nutrients.* 10 (6). doi: 10.3390/nu10060706.
- Schones, DE., Leung, A. & Natarajan, R. 2015. Chromatin Modifications Associated With Diabetes and Obesity. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 35 (7), 1557-61.
- Schnabel, L., Buscail, C., Sabate, JM., Bouchoucha, M., Kesse-Guyot, E., Alles, B., Touvier, M., Monteiro, CA., Herberg, S., Benamouzig, R. & Julia, C. 2018. Association between ultra-processed food consumption and functional gastrointestinal disorders: results from the French nutrient-sante cohort. *Am J Gastroenterol.* 113 (8), 1217-1228.
- Schupbach, R., Wegmuller, R., Berguerand, C., Bui, M. & Herter-Aeberli, I. 2017. Micronutrient status and intake in omnivores, vegetarians and vegans in Switzerland. *Eur. J. Nutr.* 56 (1), 283-293.
- Schöneich, C. 2005. Mass spectrometry in aging research. *Mass spectrum rev.* 24(5), 701-18.
- Schwingshackl, L., Schwedhelm, C., Hoffman, G., Lampousi, AM., Knuppel, S., Iqbal, K., Bechthold, A., Schlesinger, S. & Boeing, H. 2017. Food groups and risk of all-cause mortality: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am J Clin Nutr.* 105 (6), 1462-1473.
- Sebastiani, P. Solovieff, N., Dewan, AT., Walsh, KM., Puca, A., Hartley, SW., Melista, E., Andersen, S., Dworkis, DA., Wilk, JB., Myers, RH., Steinberg, MH., Montano, M., Baldwin, CT., Hoh, J. & Perls, TT. 2012. Genetic signatures of exceptional longevity in humans. *PLoS One.* 7 (1), e29848.
- Sen, P., Shah, P. P., Nativo, R. & Berger, S. L. 2016. Epigenetic mechanisms regulating longevity and aging. *Cell.* 166 (4), 822-839.
- Shang, P., Shu, Z., Wang, Y., Li, N., Du, S., Sun, F., Xia, Y. & Zhan, S. 2011. Veganism does Not reduce the risk of the metabolic syndrome in a Taiwanese cohort. *Asia Pac. J. Clin. Nutr.* 20 (3), 404-410.
- Shlisky, J., Bloom, D., Beaudreault, A., Tucker, K., Keller, H., Freund-Levi, Y., Fielding, R., Cheng, F., Jensen, G., Wu, D. & Meydani, S. 2017. Nutritional Considerations for healthy aging and reduction in age-related chronic disease. *Adv Nutr.* 8 (1), 17-26.
- Sillanpää, E., Ollikainen, M., Kaprio, J., Wang, X., Leskinen, T., Kujala, U. M. & Törmäkangas, T. 2019. Leisure-time physical activity and DNA methylation age – a twin study. *Clinical Epigenetics.* 2019. <https://doi.org/10.1186/s13148-019-0613-5>. Viitattu 1.10.19.

- Simone, E. & Beck, S. 2019. The epigenetic clock: a molecular crystal ball for human aging? *Aging (Albany NY)*. 11 (2), 833-835.
- Simonti, C. N. & Capra, J. A. 2016. The evolution of the human genome. *Curr Opin Genet Dev*. 35, 9-15.
- Slavin, J. L. & Lloyd, B. 2012. Health Benefits of fruits and Vegetables. *Adv. Nutr.* 3 (4), 506-516.
- Song, Z., von Figura, G., Kraus, JM., Torrice, C., Dillon, P., Rudolph-Watabe, M., Ju, Z., Kestler, HA., Sanoff, H. & Lenhard Rudolph, K. 2010. Lifestyle impacts on the aging-associated expression of biomarkers of DNA damage and telomere dysfunction in human blood. *Aging Cell*. 9 (4), 607-15.
- Sprigmann, M., Godfray, HC., Rayner, M. & Scarborough, P. 2016. Analysis and valuation of the health and climate change cobenefits of dietary change. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 113 (15), 4146-51.
- Staff, J., Schulenberg, J. E., Maslowsky, J., Bachman, J. G., O'Malley, P. M., Maggs, J. L. & Johnston, L. D. 2010. Substance use changes and social role transitions: proximal developmental effects on ongoing trajectories from late adolescence through early adulthood. *Dev psychopathol*. 22 (4), 917-932.
- Straussman, R., Nezman, D., Robets, D., Steinfeld, I., Blum, B. & Benvenisty, N. 2009. Developmental programming of CpG island methylation profiles in the human genome. *Nat Struct Mol Biol*. 16, 564-571.
- Suarez, A., Lahti, J., Czamara, D., Lahti-Pulkkinen, M., Girchenko, P., Andersson, S., Strandberg, T. E., Reynolds, R. M., Kajantie, E., Binder, E. B. & Raikonen, K. 2018. The epigenetic clock and pubertal, neuroendocrine, psychiatric, and cognitive outcomes in adolescents. *Clin Epigenetics*. 10, 96.
- Szarc vel Szic, K., Derlerck, K., Vidakovic, M. & Vanden Berghe, W. V. 2015. From inflammation to healthy aging by dietary choices: is epigenetics the key to personalized nutrition? *Clin Epigenetics*. 7 (1), 33.
- Tantamango-Bartley, Y., Jaceldo-Siegl, K., Fan, J. & Fraser, G. 2013. Vegetarian diets and the incidence of cancer in a low-risk population. *Epidemiol. Prev. Biomark*. 22 (2), 286-294.
- Tantamango-Bartley, Y., Knutsen, S. F., Knuttsen, R., Jacobsen, B. K., Fan, J., Beeson, W. L., Sabate, J., Hadley, D., Jaceldo-Siegl, K., Penniecook, J., Herring, P., Buttler, T., Bennett H. & Fraser, G. 2016. Are strict vegetarians protected against prostate cancer? *Am J Clin Nutr*. 103 (1), 153-160.

- Tapsell, L. C., Neale, E. P., Satija, A. & Hu, F. B. 2016. Foods, nutrients, and dietary patterns: interconnections and implications for dietary guidelines. *Adv Nutr.* 7 (3), 445-454
- Tertsunen, H-M., Hantunen, S., Tuomainen, T-P. & Virtanen, J. K. 2020. Healthy nordic diet and risk of disease death among men: the Kuopio Ischaemic heart disease risk factor study. *European Journal of nutrition.* 2020. Doi: 10.1007/s00394-020-02188-2.
- Terveyden- ja hyvinvoinninlaitos. 2019. Hyvinvointi- ja terveysterot. Joukkoruokailu. <https://thl.fi/fi/web/hyvinvointi-jaterveyserot/eriarvoisuus/elintavat/ravitsemus/joukkoruokailu> Viitattu 9.10.2020.
- Tiffon, C. 2018. The impact of nutrition and environmental epigenetics on human health and disease. *Int J Mol Sci.* 19 (11), 3425.
- Tilman, D. & Clark M. 2014. Global diets link environmental sustainability and human health. *Nature.* 515 (7428), 518-22.
- Tong, TYN., Appleby, PN., Bradbury, KE., Perez-Cornago, A., Travis, RC., Clarke, R. & Key, TJ. 2019. Risks of ischaemic heart disease and stroke in meat eaters, fish eaters and vegetarians over 18 years of follow-up: results from the prospective EPIC-Oxford study. *BMJ.* Doi: 10.1136/bmj.l4897.
- Tonstad, S. Butler, T., Yan, R. & Fraser, G. 2009. Type of vegetarian Diet, Body weight and prevalence of type 2 diabetes. *Diabetes care.* 32 (5), 791-796.
- Spencer, EA., Appleby, PN., Davey, GK. & Key, TJ. 2003. Diet and body mass index in 38,000 EPIC Oxford meat-eaters, fish-eaters, vegetarians and vegans. *Int J Obes.* 27, 728-734.
- Tonstad, S., Stewart, K., Oda, K., Batech, M., Herring, R.P. & Fraser, G.E. 2013. Vegetarian diets and incidence of diabetes in the Adventist Health Study-2. *Nutr. Metab. Cardiovas. Dis.* 23 (4), 292-299.
- Trude, AC., Kharmats, A., Jock, B., Liu, D., Lee, K., Martins, PA., Pardilla, M., Swartz, J. & Gittelsohn, J. 2015. Patterns of food consumption are associated with obesity, self-reported diabetes and cardiovascular disease in five American Indian communities. *Ecol Food Nutr.* 54 (5), 437-54.
- Tunick, MH. & Van Hekken, DL. 2015. Dairy Products and health: recent insights. *J Agric Food chem.* 63 (43), 9381-8.
- Valsta, L., Kaartinen, N., Tapanainen, H., Männistö, S. & Sääksjärvi, K (toim.). *FinRavinto 2017. Ravitsemus Suomessa – FinRavinto 2017 -tutkimus.* THL & Kirjoittajat. PunaMusta Oy, Helsinki 2018.
- Van der Reijden, OL., Zimmermann, MB. & Galetti, V. 2017. Iodine in dairy milk: sources,

- soncentrations and importance to human health. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 31 (4), 385-395.
- van Nieuwenhuijzen, M., Junger, M., Velderman, MK., Wiefferink, KH., Paulussen, TW., Hox, J., Reijneveld, SA. 2009. Clustering of health-compromising behavior and delinquency in adolescents and adults in the Dutch population. *Prev Med.* 48(6), 572-8.
- Van El, CG., Cornel, MC., Borry, P., Hastings, RJ., Fellmann, F., Hodgson, SV., Howard, HC., Cambon-Thomsen, A., Knoppers, BM., Meijers-Heijboer, H., Scheffer, H., Tranebjaerg, L., Dondorp, W., de Wert, GM., ESHG Public and Professional policy committee. 2013. Whole-genome sequencing in health care: recommendations of the European Society of human Genetics. *Eur J Hum Genet.* 21 (6), 580-4.
- Van't Veer, P., Jansen, MC., Klerk, M. & Kok, FJ. 2000. Fruits and vegetables in the prevention of cancer and cardiovascular disease. *Public health nutr.* 3, 103-07.
- Vaquero, A. & Reinberg, D. 2009. Calorie restriction and the exercise of chromatin. *Genes Dev.* 23 (16), 1849-1869.
- Vidaki, A. & Kayser, M. 2017. From forensic epigenetics to forensic epigenomics: broadening DNA investigative intelligence. *Genome Biol.* 18, 238.
- Vidal, L., Lopez-Golan, Y., Rego-Perez, I., Horvath, S., Blanco, FJ., Riancho, JA., Gomez-Reino, JJ. & Gonzales, A. 2016. Specific increase of methylation age in osteoarthritis cartilage. 24 (1), S63.
- Vears, DF. & D'Abramo, F. 2018. Health, wealth and behavioural change: an exploration of role responsibilities in the wake of epigenetics. *J Community Genet.* 9 (2), 153-167.
- Vetrani, C., Maukonen, J., Bozzetto, L., Della Pepa, G., Vitale, M., Costabile, G., Riccardi, G., Rivellese, AA., Saarela, M. & Annuzzi, G. 2020. Diets naturally rich in polyphenols and/or long-chain n-3 polysaturated fatty acids differently accept microbiota composition in high-cardiometabolic-risk individuals. *Acta Diabetol.* Doi: 10.1007/s00592-020-01494-9.
- Voisin, S., Harvey, NR., Haupt, LM., Griffiths, LR., Ashton, KJ., Coffey, VG., Doering, TM., Thompson, JM., Benedict, C., Cedernaes, J., Lindholm, ME., Craig, JM., Rowlands, DS., Sharples, AP., Horvath S. & Eynon, N. 2020. An epigenetic clock for human skeletal muscle. *J Cachexia Sarcopenia Muscle.* Doi: 10.1002/jcsm.12556.
- Von Zglinicki, T. 2002. Oxidative stress shortens telomeres. *Trends Biochem Sci.* 27 (7):339-44.
- Wagner, K-H., Cameron-Smith, D., Wessner, B. & Franzke, B. 2016. Biomarkers of aging: from function to molecular biology. *Nutrients.* 8 (6), 338.



- Wang, T., Tsui, B., Kreisberg, J. F., Robertson, N. A., Gross, A. M., Yu, M. K., Carter, H., Brown-Borg, H. M., Adams, P. D. & Ideker, T. 2017. Epigenetic aging signatures in mice livers are slowed by dwarfism, calorie restriction and rapamycin treatment. *Genome Biol.* 18, 57.
- Winnefeld, M. & Lyko, F. 2012. The aging epigenome: DNA methylation from the cradle to the grave. *Genome Biol.* 13 (7), 165.
- Weidner, CI., Lin, Q., Koch, CM., Eisele, L., Beier, F., Ziegler, P., Bauerschlag, D. O., Jöckel, K-H., Erbel, R., Muhleisen, T. W., Zenke, M., Brummerdorf, T. H. & Wagner, W. 2014. Aging of blood can be tracked by DNA methylation changes at just three CpG sites. *Genome Biol.* 15 (2), R24.
- World Cancer Research Fund International, American Institute for cancer research. 2007. Diet, Nutrition, Physical Activity and cancer: a global perspective. The third expert report. <http://www.wcrf.org/sites/default/files/english.pdf> Viitattu: 9.10.2019.
- World Cancer Research Fund International, American Institute for cancer research. 2018a. Continuous Update Project Expert Report 2018. Recommendations and public health and policy implications. <https://www.wcrf.org/sites/default/files/Recommendations.pdf> Viitattu 10.10.2019.
- World Cancer Research Fund International, American Institute for cancer research. 2018b. Meat, fish and dairy products and the risk of cancer. <https://www.wcrf.org/sites/default/files/Meat-Fish-and-Dairy-products.pdf> Viitattu: 9.10.2019.
- World Health Organization 2000. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser.* 894, 1-1253.
- World health organization, 2013. The effectiveness of policies for reducing dietary trans fat: a systematic review of the evidence. *Bull World Health Organ.* 91 (4), 262-9H
- World Health Organization 2010. A conceptual framework for action on the social determinants of health. *Social determinants of health discussion paper 2. Debates, policy & practice, case studies.* [https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44489/9789241500852\\_eng.pdf](https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44489/9789241500852_eng.pdf) Viitattu 9.3.2020.
- World Health Organization 2017. Noncommunicable Diseases Progress Monitor. <https://www.who.int/nmh/publications/ncd-progress-monitor-2017/en/>. 1-231. Viitattu: 9.10.2019.
- World Health Organization 2018a. Healthy diet. <https://www.who.int/news-room/fact->

- sheets/detail/healthy-diet Viitattu 7.11.2019.
- World Health Organization 2018b. A Healthy diet sustainably produced. Information Sheet. <https://www.who.int/nutrition/publications/nutrientrequirements/healthydiet-information-sheet/en/> Viitattu 11.11.2019.
- World Health Organization 2020. Body mass index – BMI. <http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/nutrition/a-healthy-lifestyle/body-mass-index-bmi> Viitattu 16.4.2020.
- Wu, G. D., Compher, C., Chen, E. Z., Smith, S. A., Shah, R. D., Bittinger, K., Chehoud, C., Albenberg, L. G., Nessel, L., Gilroy, E., Star, J., Weljie, A. M., Flint, H. J., Metz, D. C., Bennett, M. J., Li, H., Bushman, F. D. & Lewis, J. D. 2016. Comparative metabolomics in vegans and omnivores reveal constraints on diet-dependent gut microbiota metabolite production. *Gut*. 65 (1), 63-72.
- Yannakoulia, M., Panagiotakos, DB., Pitsavos, C., Tsetsekou, E., Fappa, E., Papageorgiou, C. & Stefanadis, C. 2008. Eating habits in relations to anxiety symptoms among apparently healthy adults. A pattern analysis from the ATTICA study. *Appetite*. 51 (3), 519-25.
- Yin, R., Mao, SQ., Zhao, B., Chong, Z., Yang, Y., Zhao, C., Zhang, D., Huang, H., Gao, J., Li, Z., Jiao, Y., Li, C., Liu, S., Wu, D., Gu, W., Yang, YG., Xu, GL. & Wang, H. 2013. Ascorbic acid enhances tet-meeadiated 5-meethylcytosine oxidation and promotes DNA demethylation in mammals. *J Am Chem Soc*. 135 (28), 10396-403.
- Yokoyama, Y., Levin, SM. & Barnard, ND. 2017. Association between plant-based diets and plasma lipids: a systematic review and meta-analysis. *Nutr. Rev*. 75 (9), 683-698.
- Yokoyama, Y., Nishimura, K., Barnard, N. D., Takegami, M., Watanabe, M., Sekikawa, A., Okamura, T. & Miyamoto, Y. 2014. Vegetarian diets and blood pressure: a meta-analysis. *JAMA Int Med*. 174 (4), 577-87.
- Yong-Quan, NG. G., Fann, DY., Jo, DG., Sobey, CG. & Arumugam, TV. 2019. Epigenetic regulation by dietary restriction: Part II. *Cond med*. 2 (6), 300-310.
- Yoriko, H. & Lu, Qi. 2017. Gene-diet interaction and precision nutrition in obesity. *Int J Mol sci*. 18 (4), 787.
- Zannas, AS. Arloth, J., Carriollo-Roa, T., Iurato, S., Röh, S., Ressler, KJ., Nemeroff, CB., Smith, AK., Bradley, B., Heim, C., Menke, A., Lange, JF. & Bruckl, T. 2015. Lifetime stress accelerates epigenetic aging in an urban, African American cohort: relevance of glucocorticoid signaling. *Genome Biol*. 16, 266.
- Zhao, W., Ammous, F., Ratliff, S., Liu, J., Yu, M., Mosley, T., Kardia, S. & Smith, J. 2019.

- Education and lifestyle factors are associated with DNA methylation clocks in older African americans. *Int J Environ Res Public Health*. 16 (17), 3141.
- Zhao, Z., Yin, Z., Zhao, Q. 2017. Red and processed meat consumption and gastric cancer risk: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget*. 8 (18), 30563-30575.
- Zhang, F. F., Santella, R. M., Wolff, M., Kappil, M. A., Markowitz, S. B. & Morabia, A. 2012. White blood cell global methylation and IL-6 promoter methylation in association with diet and lifestyle risk factors in a cancer-free population. *Journal Epigenetics*. 7 (6), 606-614.
- Zheng, LD., Linarelli, LE., Liu, L., Wall, SS., Greenawald, MH., Seidel, RW., Estabrooks, PA., Almeida, FA. & Cheng, Z. 2015. Insulin resistance is associated with epigenetic and genetic regulation of mitochondrial DNA in obese humans. *Clin Epigenetics*. 10 (7), 60.
- Zheng, Y., Li, Y., Satija, A., Pan, A., Sotos-Prieto, M., Rimm, E., Willett, W. & Hu, F. 2019. Association of changes in red meat consumption with total and cause specific mortality among US women and men: two prospective cohort studies. *BMJ*. Doi: 10.1136/mnj.12110.
- Zimmer, J., Lange, B., Frick, J.-S., Sauer, H., Zimmermann, K., Schwiertz, A., Rusch, K., Klosterhalhalfen, S. & Enck, P. 2012. A vegan or vegetarian diet substantially alters the human colonic faecal microbiota. *Eur. J. Clin Nutr*. 66 (1), 53-6.

## LIITTEET

LIITE 1. Ruuan käyttöä kuvaava frekvenssikysely nuorille kaksosille.

75. Kuinka usein tavallisesti käytät seuraavia ruoka-aineita?

	En lainkaan	Muutamia kertoja kuussa tai harvemmin	Muutamia kertoja viikossa	Kerran päivässä	Useita kertoja päivässä
A Keitettyjä perunoita tai perunamuusia	1	2	3	4	5
B Ranskalaisia tai paistettuja perunoita	1	2	3	4	5
C Riisiä tai pastaa	1	2	3	4	5
D Puuroa, myslä, muroja	1	2	3	4	5
E Jogurttia, viiliä	1	2	3	4	5
F Vähärasvaisia juustoja (esim. Minora, Polar-15, Magre, Kadett, raejuusto)	1	2	3	4	5
G Muita juustoja (esim. Edam, Emmental, Oltermanni)	1	2	3	4	5
H Kalaa	1	2	3	4	5
I Broileria, kanaa, kalkkunaa (ruokana tai leikkeleenä)	1	2	3	4	5
J Lihaa (ruokana tai leikkeleenä)	1	2	3	4	5

K	Makkaraa (ruokana tai leikkeleenä)	1	2	3	4	5
L	Kananmunia (keitettynä, paistettuna, munakkaana)	1	2	3	4	5
M	Tuoreita kasviksia	1	2	3	4	5
N	Keitetyjä kasviksia	1	2	3	4	5
O	Hedelmiä	1	2	3	4	5
P	Marjoja (sellaisenaan, kiisseleissä tms.)	1	2	3	4	5
Q	Makeita leivonnaisia, jäätelöä tms.	1	2	3	4	5
R	Suklaata	1	2	3	4	5
S	Muita makeisia	1	2	3	4	5
T	Suolaista naposteltavaa (esim. sipsejä, popcornia, pähkinöitä)	1	2	3	4	5
U	Pizzaa	1	2	3	4	5
V	Hampurilaisia	1	2	3	4	5
X	Rasvassa paistettuja ruokia	1	2	3	4	5
Y	Kermaisia ruokia	1	2	3	4	5
Z	Salaattikastikkeita	1	2	3	4	5