

**SUKUPUOLEN JA ELINTAPOJEN YHTEYS EPIGENEETTISEEN  
IKÄÄNTYMISEEN**

Pirkko Saikkonen

Gerontologian ja kansanterveyden pro gradu -tutkielma  
Liikuntatieteellinen tiedekunta  
Jyväskylän yliopisto  
Kevät 2020

## TIIVISTELMÄ

Saikkonen P. 2020. Sukupuolen ja elintapojen yhteys epigeneettiseen ikääntymiseen. Liikuntatieteellinen tiedekunta, Jyväskylän yliopisto, Gerontologian ja kansanterveyden pro-gradu -tutkielma, 67 s.

Naisten tiedetään elävän miehiä kauemmin. Sukupuolieron taustalla vaikuttavan perimän, ympäristön ja elintapojen kokonaisuuden syvällisessä ymmärtämisessä on kuitenkin puutteita. Epigeneettisten kellojen avulla voidaan tutkia yksilön biologisen ikääntymisen etenemistä ja siihen vaikuttavia tekijöitä DNA:n metyloitumisen perusteella. Tämän tutkielman tarkoituksena on selvittää uuden sukupolven epigeneettisen kellon (GrimAge) avulla, näkyykö sukupuolten välinen ero biologisessa ikääntymisessä eli tässä tapauksessa epigeneettisessä ikääntymisessä, onko mahdollinen sukupuoliero erilainen nuorilla ja vanhemmilla aikuisilla ja selittävätkö elintavat epigeneettisen ikääntymisnopeuden sukupuolieroa.

Tutkimuksessa käytettiin suomalaisen kaksostutkimuksen osa-aineistoa. Tutkittavia oli yhteensä 1195 (60 % naisia), joista nuoria aikuisia (22-25 v.) oli 759 ja vanhempia (55-72 v.) 436. Tutkittavien kokoverinäytteestä eristetyn DNA:n metylaatiotasoa analysoitiin 450k- tai EPIC-mikrosiruanalyysillä. Saatu metylaatiodata syötettiin verkossa saatavilla olevaan laskuriin, joka tuotti GrimAge-algoritmilla arviot tutkittavien epigeneettisestä iästä vuosina. Arvio tutkittavien epigeneettisestä ikääntymisnopeudesta saatiin lineaarisen regressioanalyysin avulla vertaamalla GrimAge-kellolla laskettua epigeneettistä ikää heidän syntymäajan perusteella laskettuun kronologiseen ikäänsä. Lineaarisen regressioanalyysin jäännös kuvaa tutkittavien biologisen ikääntymisen tahtia eli epigeneettistä ikääntymisnopeutta. Positiivinen jäännös kertoo epigeneettisen ikääntymisen olevan kiihtynyttä ja negatiivinen jäännös sen olevan hidastunutta kronologiseen ikään verrattuna. Alkoholinkäytön, painoindeksin sekä tupakoinnin yhteyttä tutkittavien epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa havaittuun sukupuolieroon arvioitiin lineaarisella regressioanalyysillä.

Naiset olivat epigeneettiseltä iältään keskimäärin nuorempia kuin miehet molemmissa ikäluokissa. Nuorilla sukupuolten välinen ero ikääntymisnopeudessa oli 0,77 vuotta ( $p = 0,001$ ) ja vanhemmilla 3,2 vuotta ( $p < 0,001$ ). Sukupuolen ja kohortin yhdysvaikutus (sukupuoli\*kohortti) epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen oli tilastollisesti merkitsevä,  $p < 0,001$ . Sukupuolten väliset erot alkoholinkäytön, painoindeksin ja tupakoinnin osalta olivat tilastollisesti merkitseviä molemmissa ikäluokissa. Naisten elintavat olivat keskimäärin terveellisempiä kuin miesten. Elintavoista alkoholinkäyttö selitti nuorten aikuisten sukupuolten välistä eroa epigeneettisessä ikääntymisessä, mutta painoindeksi tai tupakointi eivät kummassakaan ikäluokassa. Tupakoinnin yhteys epigeneettisen iän vaihteluun oli kuitenkin huomattava.

Naiset ikääntyvät biologisesti hitaammin kuin miehet GrimAge -epigeneettisellä kellolla arvioituna sekä varhaisaikuisuudessa että myöhäisessä keski-ikässä. Vanhemmilla aikuisilla sukupuoliero epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa on suurempi kuin nuorilla. Tutkituista elintavoista vain alkoholinkäyttö selitti osittain sukupuolten välistä eroa epigeneettisessä ikääntymisessä nuorilla aikuisilla. Tarkasteltujen elintapojen vähäinen ja vain nuorilla havaittu yhteys epigeneettisen ikääntymisen sukupuolieroihin viittaa siihen, että sukupuolieroon yhteydessä olevat tekijät saattavat olla pääosin biologisia. Toisaalta työn poikkileikkausasetelma ja tarkasteltujen elintapojen rajaaminen vain kolmeen rajoittavat pitkälle vietyjen johtopäätösten tekoa.

Asiasanat: biologinen ikääntyminen, epigeneettinen ikääntymisnopeus, epigeneettinen kello, GrimAge, sukupuoli, elintavat

## ABSTRACT

Saikkonen, P. 2020. The association of sex and lifestyle with epigenetic aging. Faculty of Sport and Health Sciences, University of Jyväskylä, Gerontology and Public Health Master's Thesis, 67 p.

Women across the world live longer than men, but it is not yet fully understood why. Sex differences in lifespan are suggested to be caused by a complex combination of biological and non-biological factors. Novel biological clocks, i.e. epigenetic clocks, may help to track and understand individual aging process and offer insights into sex differences in biological age and how lifestyle may counteract aging process. The aim of this Master's Thesis is to study the sex differences in epigenetic aging of younger and older adults using epigenetic clock GrimAge, and to assess if this sex difference can be explained by the lifestyle factors.

Research data originated from the Finnish Twin Cohort. The study sample included 1195 subjects (60 % women), of whom 759 were young (22–25 years) and 436 older (55–72 years) adults. DNA was extracted from whole blood samples and analyzed by Illumina HumanMethylation 450k or EPIC array. The epigenetic age estimates were calculated from methylation data with a GrimAge algorithm using publicly available online tool. Epigenetic clocks provide an estimate of an individual's epigenetic age in years. An estimate of the biological aging rate of the subjects was obtained by comparing the epigenetic age to chronological age using linear regression analysis. Positive residual from the linear regression analysis describes accelerated epigenetic aging and negative value indicates that aging is slower compared to the chronological age. The associations of alcohol use, body mass index (BMI), and smoking with sex differences in the epigenetic age acceleration was also assessed using linear regression analysis.

The results showed that women were biologically younger than men in both age groups estimated by the epigenetic clock GrimAge. The difference between sexes in epigenetic age acceleration was 0.77 years in younger adults  $p = 0,001$  and 3.2 years in older adults  $p < 0,001$ , and sex\*cohort interaction was statistically significant  $p < 0,001$ . Sex differences in alcohol use, BMI and smoking were observed in both age groups. Women's lifestyles were, on average, healthier than men's. Alcohol use explained some of the sex differences in epigenetic aging in the younger age group, but neither the BMI nor smoking explained sex differences in either of the age groups. However, smoking explained a substantial amount of variation in epigenetic age acceleration.

Women are biologically younger compared to men and the difference is larger at older age. Alcohol use may partly explain the sex difference in biological aging among younger, but not in older subjects. Minor associations between sex differences in biological aging and lifestyle factors may suggest that the factors influencing the sex gap are mainly biological. However, the cross-sectional nature of this study and limited number of lifestyle variables used in analysis prevent strong conclusions.

Key words: Biological aging, Epigenetic age acceleration, Epigenetic clock, GrimAge, Sex, Lifestyle

## KÄYTETYT LYHENTEET

BMI	Body mass index, painoindeksi, lasketaan kaavalla paino/pituus <sup>2</sup>
DNA	Deoksiribonukleiinihappo
RNA	Ribonukleiinihappo
CpG	Sytosiini-fosfaatti-guaaniini-emäspari
FAI	a functional aging index, toiminnallista ikääntymistä arvioiva mittari

# SISÄLLYS

## TIIVISTELMÄ

1	JOHDANTO.....	1
2	BIOLOGINEN IKÄÄNTYMINEN .....	3
2.1	Biologiset ikääntymismuutokset elimistössä.....	3
2.2	Biologisen iän arviointi .....	4
3	EPIGENETIIKKA JA SEN YHTEYS IKÄÄNTYMISEEN.....	6
3.1	Epigenomi ja epigeneettiset mekanismit .....	6
3.2	DNA:n metylaatio .....	7
3.3	Epigeneettiset kellot biologisen ikääntymisen mittareina .....	8
4	ELINTAPOJEN YHTEYS IKÄÄNTYMISEEN.....	12
4.1	Elintapojen yhteys sairastavuuteen ja kuolleisuuteen .....	12
4.2	Elintapojen yhteys biologiseen ikääntymiseen.....	14
5	SUKUPUOLTEN VÄLISET EROT IKÄÄNTYMISESSÄ.....	17
5.1	Naisten ja miesten erot eliniässä.....	17
5.2	Naisten ja miesten elinikää selittävät biologiset mekanismit .....	19
5.3	Sukupuolten välinen ero elintavoissa .....	22
6	TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA TUTKIMUSKYSYMYKSET .....	24
7	TUTKIMUKSEN AINEISTO JA TUTKIMUSMENETELMÄT .....	25
7.1	Tutkimusasetelma ja tutkittavat.....	25
7.2	Tutkimuksen muuttujat.....	26
7.3	Tutkimusaineiston analyysi .....	28
8	TULOKSET .....	31

8.1 Tutkittavien taustatiedot .....	31
8.2 Sukupuolten väliset erot elintavoissa .....	33
8.3 Epigeneettisen iän ja ikääntymisnopeuden yhteys sukupuoleen .....	35
8.4 Sukupuolen ja elintapojen yhteys epigeneettiseen ikääntymiseen .....	36
8.5 Eri sukupuolta olevien kaksosten erot epigeneettisessä ikääntymisessä .....	38
9 POHDINTA.....	41
LÄHTEET .....	50

# 1 JOHDANTO

Yksilön biologisen iän arviointi on jo pitkään ollut gerontologisen tutkimuksen kohteena (Jylhävä ym. 2017). Biologinen ikä kuvaa yksilön elimistössä ja kudoksissa tapahtuvaa ikääntymistä, ja se voi olla myös kiihtynyttä tai hidastunutta ihmisen kronologiseen ikään verrattuna (Jazwinski & Kim 2019). Biologista ikää arvioidaan erilaisilla menetelmillä ja mittareilla, joista uusimmat tarkastelevat ikääntymistä molekyylitasolla, kuten geeneihin ja epigenomiin liittyvien tekijöiden perusteella (Horvath 2013; Jung & Pfeifer 2015; Jylhävä ym. 2017; Levine ym. 2018). Esimerkiksi tiettyjen genomien metyloitumisessa tapahtuvien muutosten on todettu olevan yhteydessä ikääntymiseen (Horvath 2013; Lu ym. 2019). Epigenetiikka tutkii geenien ilmentymistä sääteleviä mekanismeja, jotka voivat muuttua myös ympäristön vaikutuksesta, mutta joissa DNA:n emäsjärjestys ei muutu (Moore ym. 2013).

Epigeneettiset kellot ovat lupaavin menetelmä biologisen iän määrittämiseen (Jylhävä ym. 2017). Epigeneettiset kellot ovat tutkijoiden kehittämiä laskenta-algoritmeja, joiden avulla tieto ikääntymiseen liittyvistä DNA:n metylaatiomuutoksista muutetaan biologista ikää eli tässä tapauksessa epigeneettistä ikää kuvaavaksi luvuksi, jonka yksikkö on vuosi (Horvath 2013; Hannum ym. 2013). Vertaamalla yksilön epigeneettistä ikää hänen kronologiseen ikäänsä saadaan käsitys yksilön epigeneettisestä ikääntymisnopeudesta. Tunnetuin epigeneettisistä kelloista on Horvathin (2013) epigeneettinen kello ja uusin Lun ym. (2019) GrimAge. GrimAge-kello on toistaiseksi julkaistuista epigeneettisistä kelloista luotettavin eliniän ennustaja, ja sen arvioidaan tunnistavan parhaiten elintapojen yhteydet epigeneettisen ikääntymisnopeuden vaihteluun (Hillary ym. 2020; Zhao ym. 2019).

Epigeneettisillä kelloilla arvioituna naiset ovat biologiselta iältään keskimäärin nuorempia kuin miehet (Hannum ym. 2013; Horvath ym. 2016; Jylhävä ym. 2017; Dugué ym. 2018). Havainto on linjassa myös kautta maailman näkyvän naisten miehiä pidemmän elinajanodotteen kanssa (Austad & Bartke 2016). Tarkastelemalla eroja naisten ja miesten kuolinsyissä on mahdollista löytää tekijöitä, jotka selittävät sukupuolten välistä eroa eliniässä. Verenkiertoelinten sairaudet sekä syövät ovat kuolinsyytilastojen kärjessä sekä Suomessa (Suomen vi-

rallinen tilasto 2017) että maailmanlaajuisesti (World Health Organisation 2017; Ritchie & Roser 2019). Suomessa suurin eliniän sukupuoliero selittävä tekijä on pitkään ollut miesten suurempi sepelvaltimotautikuolleisuus, minkä vuoksi miesten eliniän on arvioitu olevan noin kaksi vuotta lyhyempi kuin naisten (Huttunen 2014).

Ikääntyessä yleistyvien sairauksien puhkeamiseen ja etenemiseen vaikuttavat perimän ja sukupuolten välisten biologisten erojen (Newman & Murito 2013; Ostan ym. 2016; Marais ym. 2018) lisäksi myös elintavat ja ympäristötekijät (World Health Organisation 2017). Etenkin tupakointi ja alkoholinkäyttö sekä ongelmat ravitsemuksessa ja liikunnassa ovat monien kroonisten sairauksien riskitekijöitä (Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2019). Elintapojen arvellaan selittävän yli puolet naisten ja miesten välisestä erosta eliniässä (McCartney ym. 2011; Pitkälä & Strandberg 2015).

Elintapojen vaikutusta epigeneettiseen ikääntymiseen on tutkittu jonkin verran, mutta tulokset ovat osittain ristiriitaisia esimerkiksi sen suhteen, kuinka paljon perimä tai elintavat selittävät eri-ikäisten epigeneettisen ikääntymisnopeuden vaihtelusta (Kananen ym. 2016b, Sillanpää ym. 2019). Erityisesti uusimpien epigeneettisten kellojen osalta tutkimuksia on vain vähän, eikä aiemmin ole tutkittu sukupuolieron ilmenemistä eri-ikäisillä tutkittavilla tai elintapojen yhteyttä epigeneettisen ikääntymisen sukupuolieroihin.

Tämän pro-gradu -tutkielman tarkoitus on selvittää, onko naisten ja miesten välillä eroa epigeneettisessä ikääntymisessä ja onko sukupuoliero samanlainen nuorilla ja iäkkäillä tutkittavilla. Lisäksi tarkastellaan selittävätkö tutkittavien alkoholinkäyttö, tupakointi tai painoindeksi mahdollista sukupuolten välistä eroa epigeneettisessä ikääntymisessä. Tutkittavien epigeneettistä ikääntymistä arvioidaan laskemalla tutkittavien epigeneettinen ikä DNA:n metyloitumisen perusteella viime vuonna julkaistulla GrimAge -epigeneettisellä kellolla, ja vertaamalla sitä heidän kronologiseen ikäänsä. Tutkimuksessa käytettävä aineisto on osa Helsingin yliopiston kaksoskohorttiaineistoa. Tutkimuskysymyksiä tarkastellaan sekä vanhempien että nuorempien aikuisten aineistoihin perustuen.



## 2 BIOLOGINEN IKÄÄNTYMINEN

Ikä on keskeinen käsite ikääntymistutkimuksessa. Kronologisella iällä tarkoitetaan henkilön syntymästä laskettua kalenteri-ikää. Kronologinen ikä ei kuitenkaan kerro yksilön biologisen vanhenemisen vaihetta, sillä kehon ikääntyminen etenee eri ihmisillä eri tahdissa suhteessa elettyihin vuosiin (Lowsky ym. 2014). Käsite biologisesta iästä on luotu kuvaamaan tarkemmin ihmisen biologista ja fysiologista vanhenemista, ja sen avulla voidaan tarkastella yksilöiden välisiä eroja ikääntymisessä (Levine 2013). Biologinen ikä kertoo ajan kuluessa tapahtuvasta muutoksesta yksilön elimistössä (Belsky ym. 2015) sekä kuvastaa hänen jäljellä olevaa elinaikaansa (Settersten & Godlewski 2016). Muita ikään liittyviä käsitteitä ovat myös subjektiivinen ikä, joka kuvaa yksilön kokemusta omasta iästään (Thyagarajan ym. 2019), ja toiminnallinen ikä, jolla viitataan ihmisen kykyyn selviytyä päivittäisistä toiminnoistaan ja toimia omassa ympäristössään (Settersten & Godlewski 2016). Tässä työssä biologista ikää tarkastellaan epigeneettisen ikääntymisen näkökulmasta ja biologisen iän kuvaajana käytetään epigeneettistä ikää.

### 2.1 Biologiset ikääntymismuutokset elimistössä

Ihmisen ikääntymistä on yleisesti kuvattu elinten ja elintoimintojen asteittaiseksi ja heterogeeniseksi heikkenemiseksi (Dodig ym. 2019). Ajan kuluessa ihmisen soluissa ja kudoksissa tapahtuu haitallisia muutoksia, jotka heikentävät elimistön elinkelpoisuutta (Kananen & Marttila 2019). Ikääntyessä hedelmällisyys alenee, motoriikka, aistit ja kognitiiviset kyvyt heikenevät, riski erilaisiin sairauksiin kohoaa ja kuoleman todennäköisyys kasvaa (Kirkwood & Austad 2000; Dodig ym. 2019; Kananen & Marttila 2019). Perimän, ympäristön, elintapojen ja ajankulun vaikutukset näkyvät biologisessa ikääntymisessä (Dato ym. 2017; Dodig ym. 2019; Kananen & Marttila 2019).

Erilaisia solu- ja molekyyli-tason tapahtumia tutkimalla on pyritty tunnistamaan biologista ikääntymistä selittäviä mekanismeja (López-Otín ym. 2013). Tällaisia ilmiöitä kutsutaan vanhenemisen tunnusmerkeiksi, mikäli ne täyttävät kolme ehtoa: niiden tulee tapahtua normaalin vanhenemisen aikana, niiden kiihdyttäminen tai lisääminen jouduttavat vanhenemista ja nii-

den hidastaminen tai vähentäminen myöhentävät vanhenemista ja lisäävät tervettä elinaikaa (López-Otín ym 2013; Kananen & Marttila 2019). Vanhenemisen biologisia tunnusmerkkejä ovat genomien epästabiilius, telomeerien lyheneminen, epigeneettiset muutokset, metabolian epätasapaino, solujen senesenssi, kantasolukato sekä häiriöt proteostaasissa, mitokondrioiden toiminnassa ja solujen välisessä viestinnässä (López-Otín ym. 2013; Saksela 2014; Kananen & Marttila 2019). Muutokset näissä prosesseissa ovat keskeisesti yhteydessä myös ikääntymiseen lisääntyviin sairauksiin, kuten syöpiin, hermostoa rappeuttaviin sairauksiin, ateroskleroosiin tai tulehduksiin (Jung & Pfeifer 2015).

## 2.2 Biologisen iän arviointi

Biologisen iän mittaamiseen sopivaa biomarkkeria eli sellaista tekijää tai ominaisuutta, joka ilmentää yksilön biologisen tilan muutosta ikääntyessä (Tieteen termipankki 2014), on etsitty tieteellisten tutkimusten avulla jo pitkään (Baker & Sprott 1988; Jylhävä ym. 2017). Biologisen iän markkeri voi olla jokin yksittäinen tietty muuttuja tai usean biologisen parametrin pohjalta laskettu indeksi (Arbeev ym. 2016).

Biologisen iän arviointiin on kehitetty muun muassa yhdistelmämittareita, kuten gerastenian astetta, ja siihen liittyviä fyysisiä, psyykkisiä ja sosiaalisia muutoksia kuvaava gerastenia-indeksi (engl. frailty-index, FI) (Mitnitski ym. 2001) tai kehon toiminnallista muutosta arvioiva FAI-mittari (engl. functional aging index, FAI) (Finkel ym. 2019). Molemmat mittarit tarkastelevat ikääntymistä elimistössä ja yksilön toiminnassa tapahtuvien, ikääntymiseen liittyvien muutosten kautta. FAI-mittari on tarkoitettu ennustamaan ikääntyvän pitkäaikaishoitoon joutumista ja jäljellä olevaa elinikää neljän ruumiin toiminnon kautta: aistitoiminnot (näkö ja kuulo), keuhkojen toiminta, voima (käden puristusvoima) sekä liikkuminen (kävelynopeus) (Finkel ym. 2019). Ikääntymisen arvioimiseen sopivaa biomarkkeria on etsitty myös tutkimalla solu-, molekyyli- tai geenitason mitattavissa olevia muutoksia (Jylhävä ym. 2017). Erityisesti telomeerien lyhenemistä ja epigeneettisiä muutoksia on tutkittu aktiivisesti viime vuosina (Marioni ym. 2016).

Hyvän ikääntymisen biomarkkerin tulee täyttää seuraavat kriteerit (American Federation for Aging Research 2016): sen tulee ennustaa ikääntymisen etenemistä tarkemmin kuin kronologinen ikä, sen tulee mitata ikääntymiseen vaikuttavaa ilmiötä, eikä esimerkiksi sairauksia ja niihin liittyviä muutoksia, sen tulee mahdollistaa myös toistomittaukset sekä olla käytännöllinen vahingoittamatta tutkittavia, ja lisäksi sen tulee toimia sekä koe-eläimillä että ihmisillä (Baker & Sprott 1988; Johnson 2006). Kaikkien suosituksessa mainittujen ominaisuuksien täytyminen yhdessä biomarkkerissa tai useamman tekijän yhdistelmämittarissa on todettu vaikeaksi (Johnson 2006).

### 3 EPIGENETIIKKA JA SEN YHTEYS IKÄÄNTYMISEEN

#### 3.1 Epigenomi ja epigeneettiset mekanismit

Ihmisen kaikissa soluissa on samanlaiset geenit, mutta kunkin solun toiminta riippuu siitä, mitä näistä geeneistä ilmennetään ja minkä verran (Moore ym. 2013; Marttila ym. 2015). Epigenetiikka tutkii geenien ilmentymistä sääteleviä periytyviä ja palautuvia mekanismeja, joissa DNA:n emäsjärjestys ei muutu (Handy ym. 2011; Moore ym. 2013). Epigeneettisiä mekanismeja ovat esimerkiksi DNA:n metylaatio, histonien modifikaatiot sekä erilaiset ei-koodaavat RNA:t (Bonasio ym. 2010; Kaikkonen ym. 2011). Epigeneettinen säätely tapahtuu erilaisten DNA:han kiinnittyneiden kemiallisten yhdisteiden ja proteiinien avulla, ja yhdessä nämä erilaiset epigeneettiset merkit muodostavat kokonaisuuden, jota kutsutaan epigenomiksi (National Institutes of Health 2019). Geenien ilmentymistä säätelevät mekanismit ovat välttämättömiä yksilön kehityksen eri vaiheissa, koska ne ohjaavat solujen erilaistumista sekä solujen normaalia kasvua (Moore ym. 2013; Jung & Pfeifer 2015). Epigeneettinen informaatio periytyy tytärsoluille solujen jakautumisen yhteydessä (Bacalini ym. 2014).

Perimä, ympäristö ja elintavat vaikuttavat epigenomiin (Aguilera ym. 2010; Bonasio ym. 2010). Yksilö pystyy epigeneettisten säätelymekanismien avulla nopeammin sopeutumaan ympäristön muutoksiin, mutta toisaalta haitallisten ympäristötekijöiden vaikutus epigenomiin tai virheet epigeneettisissä mekanismeissa voivat altistaa yksilön erilaisille sairauksille, kuten sydän- ja verisuonitaudeille (Handy 2011) tai syöville (Jung & Pfeifer 2015). Epigenetiikka nähdään dynaamisuutensa vuoksi genomin ja ympäristön yhtymäkohtana (Jones ym. 2015). Esimerkiksi identtiset kaksoset ovat syntyessään ja ensimmäisinä vuosina hyvin samankaltaisia epigeneettisesti, mutta vanhetessa heidän DNA:n metylaatioissa on selviä eroavuuksia, mikä näkyy myös eroina heidän ilmiäsuissaan (Fraga ym. 2005). Joitakin eroja on havaittu jo vastasyntyneillä identtisillä kaksosilla, jolloin nämä erot ovat todennäköisesti seurausta sikiönkehityksen aikaisista solunjakautumiseen liittyvistä tekijöistä, eroista raskausajan olosuhteissa (kuten yhteinen vai erillinen istukka) tai ovat muuten sattumanvaraisia muutoksia (Ollikainen ym. 2010).

Epigenomissa tapahtuu muutoksia koko yksilön eliniän ajan, minkä vuoksi epigeneettisten tekijöiden on arvioitu liittyvän olennaisesti ikääntymiseen (Jones ym. 2015; Zampieri ym. 2015). Uusien solu- ja molekyylibiologian tutkimusmenetelmien, kuten sirutekniikan (Hurme 2015), kehittyminen on lisännyt odotuksia löytää epigeneettisistä mekanismeista biologisen iän tarkkaan määrittämiseen sopivia biomarkkereita tai jopa keinoja hidastaa tai pysäyttää ikääntymiseen liittyviä negatiivisia kehityskulkuja (Bacalini ym. 2014). DNA:n metylaatioon perustuvat epigeneettiset kellot ovat lupaavimpia sovelluksia biologisen iän määrittämiseen (Horvath 2013; Jylhävä ym. 2017; Levine 2018; Lu 2019).

### **3.2 DNA:n metylaatio**

Geenien ilmentymiseen vaikuttavista epigeneettisistä mekanismeista tunnetuin on DNA:n metylaatio (Shah ym. 2014; Jylhävä ym. 2017). DNA:n metylaatiolla tarkoitetaan metyyliyhän ( $\text{CH}_3$ ) liittymistä DNA-juosteen sytosiiniemäkseen sytosiini-fosfaatti-guaaniini (CpG) -emäsparissa (Moore ym. 2013). Metyyliyhien kiinnittyminen CpG-emäspareihin voi ilmetä hypo- tai hypermetylaationa eri kohdissa genomia, ja tämä vaikuttaa siihen, minkä geenien luenta on aktiivista tai vaimentunutta (Jung & Pfeifer 2015; Zampieri ym. 2015). Lisääntynyt metylaatio CpG-kohdassa geenin säätelyalueella vaimentaa useimmiten geenin ilmentymistä, mutta saattaa myös joissakin geneeissä ja säätelyalueen kohdissa lisätä ilmentymistä (Hurme 2015).

Suuri osa DNA:n metylaatiosta on melko systemaattista ja vakaata, mikä näkyy eri yksilöiden samankaltaisina muutoksina DNA:n metylaatiossa ikääntymisen eri vaiheissa (Shah ym. 2014). Toisaalta osa muutoksista näyttää olevan myös sattumanvaraista, minkä voi havaita esimerkiksi ajan kuluessa lisääntyvinä eroina identtisten kaksosten DNA:n metylaatiossa ja eroina heidän ilmiasussaan (Fraga ym. 2005; Shah 2014). Epigenomi on erityisen altis muo-  
vautumiselle sikiön kehityksen vaiheissa ja varhaislapsuudessa, jolloin DNA:n metylaatiossa tapahtuvat muutokset ovat kehitysvaiheeseen sidottuja ja siten ohjelmoituneita (Smith & Meissner 2013; Zampieri ym. 2015). Tällöin DNA:n metylaatiotasot nousevat kokonaisuudessaan (Jones ym. 2015). Vastasyntyneillä DNA:n metylaatio on homogeenisempää kuin yli

100-vuotiailla, joilla DNA:n metylaatiotasot olivat alhaisempia ja DNA:n metylaatio epäyhteisempää kuin vastasyntyneillä (Heyn ym. 2012; Zampieri 2015).

Varhaislapsuuden jälkeen DNA:n metylaatiotasojen laskua näyttäisi tapahtuvan vasta myöhemmässä aikuisuudessa sekä erilaisten kumuloituvien ympäristö- ja elintapatekijöiden että satumanvaraisten virheellisten solutasen prosessien seurauksena (Jones ym. 2015; Marttila ym. 2015). Toisaalta DNA:n metylaation lisääntyminen kasvua ja kehitystä säätelevissä geneeissä ikääntymiseen liittyen näyttää olevan systemaattista (Kananen ym. 2016a). DNA:n metylaatiomuutosten arvioidaan kuitenkin heijastavan myös ympäristön haitallisten vaikutusten aiheuttamaa, ajan myötä kertynyttä kuormitusta elimistössä (Fraga ym. 2005). Vaikka kaikki elimistön solut sisältävät samanlaisen perimän, poikkeaa DNA:n metylaatio eri solutyypin välillä (Hurme 2015). Myös naisten ja miesten DNA:n metylaatioprofiileissa on selkeästi havaittava ero, mikä näkyy muissakin soluissa kuin sukusoluissa (Liu ym. 2010). Sukupuolten välisen eron voi havaita jo heti syntymän jälkeen (Yousefi ym. 2015).

Muutokset DNA:n metyloitumisessa voivat olla myös palautuvia: esimerkiksi lihavuus on yhteydessä haitallisiin DNA:n metylaatiomuutoksiin (Almén ym. 2014), kun taas painon lasku terveellisempien elintapojen seurauksena on näkynyt suotuisina muutoksina DNA:n metylaatioissa (de Mello ym. 2014). Toisin kuin geneettiset mutaatiot tai muutokset joissakin muissa ikääntymiseen liittyvissä tunnusmerkeissä epigenomin ikääntymismuutosten arvioidaan olevan täysin tai osittain palautettavissa nuorempaa epigenomia vastaavaan tilaan (Ashapkin ym. 2019).

### **3.3 Epigeneettiset kellot biologisen ikääntymisen mittareina**

Vuonna 2013 julkaistiin ensimmäiset DNA:n metylaatioon perustuvat laskenta-algoritmit biologisen iän tarkasteluun (Hannum ym. 2013; Horvath 2013). Horvath (2013) käytti laskentamallistaan termiä epigeneettinen kello, ja käsite vakiintui pian tarkoittamaan kaikkia DNA:n metylaation pohjalta biologista ikää arvioivia laskentamalleja (Chen ym. 2016). Epigeneettisten kellojen avulla voidaan havainnot ikääntymiseen liittyvistä muutoksista DNA:n metylaatioissa muuttaa biologista ikää kuvaavaksi luvuksi, jonka yksikkö on vuosi (Horvath 2013;

Hannum ym. 2013). DNA:n metylaation perusteella arvioituun biologiseen ikään viitataan yleensä käsitteillä epigeneettinen ikä tai DNA-metylaatioikä (Dhingra ym. 2018; Horvath & Raj 2018).

Vertaamalla henkilön epigeneettistä ikää hänen kronologiseen ikäänsä saadaan arvio yksilön biologisesta ikääntymisnopeudesta (age acceleration) eli siitä, onko hän ikääntynyt biologisesti nopeammin vai hitaammin kuin hänen kronologinen ikänsä antaisi olettaa (Hannum ym. 2013; Horvath 2013; Chen ym. 2016). Kronologista ikää alhaisempi epigeneettinen ikä kertoo hidastuneesta biologisesta ikääntymisestä eli henkilö on biologiselta iältään kalenteri-ikänsä nuorempi (Horvath 2013). Kronologista ikää suurempi epigeneettinen ikä kertoo puolestaan biologisen ikääntymisen kiihtymisestä, jolloin henkilö on biologiselta iältään vanhempi kuin kalenteri-ikänsä (Horvath 2013).

Tieto DNA:n metylaatiosta eri kudoksissa saadaan analysoimalla veri- tai kudoksenäytteistä eristettyä DNA:ta tarkoitukseen kehitetyillä analyysimenetelmillä, joita ovat esimerkiksi Illuminan 27k, 450k ja EPIC Array –analyysit (Horvath 2013; Lu ym. 2019). Saatua DNA:n metylaatiodata syötetään verkossa vapaasti saatavilla olevaan Horvathin kehittämään ohjelmaan (<https://dnamage.genetics.ucla.edu>) epigeneettisen iän laskemiseksi. Useimmiten epigeneettistä ikää tarkastellaan tutkittavien verinäytteestä eristetystä DNA:sta, mutta esimerkiksi Horvathin (2013) kellolla tutkittaessa tarvittava DNA voidaan eristää myös syljestä tai useista muista kudoksista, kuten aivo-, rinta-, maksa- tai lihaskudoksesta.

Horvathin (2013) kellon arvio epigeneettisestä iästä perustuu DNA:n 353 ikäspesifin CpG-kohdan metylaatioasteeseen. Hannumin ym. (2013) laskentamalli puolestaan perustuu 71 ikäspesifin CpG-kohdan metylaatioon. Nämä ensimmäiset epigeneettiset kellot kehitettiin ennustamaan kalenteri-ikää (Hannum ym. 2013; Horvath 2013). Molempien kellojen korrelaatiot kronologisen iän kanssa ovat suuria: Horvathin kellon  $r = 0,96$  ja Hannumin kellon  $r = 0,91$  (Hannum 2013; Horvath 2013; Jylhävä ym. 2017). Epigeneettisen iän poikkeama kronologisesta iästä on Horvathin kellolla laskettuna keskimäärin 3,6 vuotta ja Hannumin kellolla 4,9 vuotta (Hannum 2013; Horvath 2013; Jylhävä ym. 2017). Meta-analyysin mukaan jokainen viiden vuoden lisä epigeneettiseen ikään näyttäisi olevan yhteydessä 8-15 %:n nousuun

kuolleisuusriskissä Hannumin ym. (2013) ja Horvathin (2013) kelloja käyttäneissä tutkimuksissa (Fransquet ym. 2019). Horvathin epigeneettisellä kellolla arvioitu epigeneettinen ikäänntyminen näyttäisi olevan melko vakaata eri ikäisillä; pitkittäistutkimuksessa tutkittavien epigeneettinen ikäjärjestys säilyi seurannan aikana pitkälti muuttumattomana (Kananen ym. 2016b). Horvathin ja Hannumin kelloilla on osoitettu olevan tilastollisesti merkitsevä yhteys myös moniin ikääntyessä yleistyviin sairauksiin (Perna ym. 2016; Dhingra ym. 2018) ja toiminnanvajauksiin (Marioni ym. 2015b) sekä kuolemanriskiin (Marioni ym. 2015a; Chen ym. 2016), mutta nämä yhteydet ovat olleet voimakkuudeltaan heikkoja tai korkeintaan kohtalaisia (Levine ym. 2018).

Sekä Horvathin että etenkin Hannumin epigeneettisiä kelloja on kritisoitu siitä, että ne aliarvioivat yli 50-vuotiaiden ikääntymistä (El Khoury ym. 2019). Syyksi on arvioitu muun muassa laskentamallien tarkastelemien CpG-kohtien rikastumista tai täydellistä tyhjenemistä niihin kiinnittyneiden metyyliiryhmien osalta ikääntyessä, jolloin niissä ei enää tapahdu laskettavissa olevia muutoksia (El Khoury ym. 2019; Marioni ym. 2019). Myöhemmällä iällä havaittu hidastuva epigeneettinen ikäänntyminen saattaa liittyä myös tutkimusjoukon niin sanottuun elosapysymisharhaan, jolloin iäkkäämmät tutkittavat ovat parempikuntoisia kuin ne, jotka eivät osallistu tutkimuksiin tai ovat jo kuolleet aiemmin (Marioni ym. 2019). Lisäksi kellojen kehityksessä käytetyt testiaineistot voivat sisältää ominaisuuksia, jotka näkyvät myöhemmässä iässä epigeneettisen ikäänntymisnopeuden hidastumisena (Bell ym. 2019; Marioni ym. 2019).

Uudempien epigeneettisten kellojen, kuten Levinen ym. (2018) PhenoAgen ja Lun ym. (2019) GrimAgen kehitystyössä on huomioitu kalenteri-ian lisäksi ikäänntymisen myötä muuttuva toiminnallinen terveydentila (Levine ym. 2018; Lu ym. 2019), mikä parantaa niiden ennustearvoa jäljellä olevan eliniän, sairastuvuuden tai fyysisen toimintakyvyn suhteen (Odent & Odent 2019). Vanhojen ja uusien kellojen välinen ero näkyy myös Arpónin ym. (2019) tutkimuksessa, jossa arvioitiin epigeneettisen ikäänntymisen yhteyttä erilaisiin elimistön ikäänntymiseen ja terveydentilaan liittyviin muutoksiin elimistössä sekä Horvathin (2013) epigeneettisellä kellolla että Lun ym. (2019) GrimAge-kellolla. GrimAge havaitsi useampia merkitseviä yhteyksiä epigeneettisen ikäänntymisnopeuden ja tutkittavien antropometrinen ja terveydentilaa kuvaavien mittausten välillä.



Uusien kellojen kehitystyössä on ollut useampia vaiheita, joissa on etsitty DNA:n metylaatiomuutoksista parhaiten erilaisten terveydentilaa ja sairastumisriskiä kuvaavien tekijöiden, kuten tiettyjen veriarvojen tai askivuosina lasketun tupakoinnin, kanssa korreloivia kohtia (Levine ym. 2018; Bell ym. 2019; Lu ym. 2019). Näitä arvoja ja riskitekijöitä parhaiten selittäviä DNA:n metylaatiomuutoksia kutsutaan korvikebiomarkkereiksi. Uusien PhenoAge ja GrimAge epigeneettisten kellojen kehitystyössä erilaisista korvikebiomarkkereista on muodostettu yhdistelmiä, jotka parhaiten ennustavat kuolemanriskiä, sairastuvuutta ja toimintakykyä.

GrimAge-kelloon parhaiten kuolemanriskiä ennustaviksi tekijöiksi valikoitui seitsemän erilaista plasmaproteiinin korvikebiomarkkeria, tupakointihistorian korvikebiomarkkeri sekä kronologiseen ikään ja sukupuoleen yhteydessä olevat kohdat DNA:n metylaatiossa (Lu ym. 2019). Mukaan otetut plasmaproteiinit ovat verenhyytymiseen liittyvä plasminogeenin aktivaattorin inhibiittori 1 (PAI-1), moneen ikääntyessä yleistyvään sairauteen yhdistetty kasvutekijä 15 (GDF-15), ruokahaluun yhteydessä oleva leptiinihormoni, sydämen, verisuonten ja munuaisten toimintaa säätelevä adrenomedulliini, munuaisten vajaatoimintaan ja joihinkin syöpiin yhteydessä oleva beeta-2-mikroglobuliini (B2M), munuaisten lievään vajaatoimintaan yhteydessä oleva cystatin C sekä kudostuhoon liittyvä metalloproteiinaasin kudosestäjä (TIMP-1) (Lu ym. 2019). GrimAge-kellon arvio epigeneettisestä iästä perustuu 1030 CpG-kohdan metylaatiomuutoksiin (Lu ym. 2019), mikä on huomattavasti enemmän kuin aiempien kellojen tarkastelemat CpG-kohdat, joiden määrä vaihtelee kolmen (Weidner ym. 2014) ja 513:n (Levine ym. 2018) välillä.

Vaikka epigeneettisten mekanismien tutkimus on viime vuosikymmeninä edistynyt nopeasti ja uusia epigeneettisiä kelloja on julkaistu vuodesta 2013 alkaen jo useita, vielä ei tiedetä, kertooko epigeneettisen kellon avulla laskettu biologinen ikä vain elimistössä jo tapahtuneista muutoksista vai vaikuttavatko epigenomissa tapahtuvat muutokset itse ikääntymisprosessiin (Quach ym. 2017; Wagner 2017; Ashapkin ym. 2019). Horvath (2013) arvioi epigeneettistä kelloa luodessaan sen mittaavan epigeneettistä vakautta ylläpitävän säätelyjärjestelmän toimintaa, jota iän myötä kumuloituvat muutokset ilmentävät. Booth ja Brunet (2016) katsovat virheiden epigeneettisissä säätelymekanismeissa olevan keskeinen tekijä ikääntymisessä.

## 4 ELINTAPOJEN YHTEYS IKÄÄNTYMISEEN

### 4.1 Elintapojen yhteys sairastavuuteen ja kuolleisuuteen

Iskeemiset sydänsairaudet sekä aivoverenkierron häiriöt ovat olleet merkittävimpiä kuolinsyitä maailmanlaajuisesti jo 15 vuotta (World Health Organisation 2018). Yhdessä ne aiheuttivat 15,2 miljoonaa kuolemaa vuonna 2016 kaikkiaan 56,9 miljoonasta kuolemasta (26.1 % kaikista kuolemista) (World Health Organisation 2018). Iskeemisillä sydänsairauksilla tarkoitetaan sepelvaltimotaudin tai muun syyn aiheuttamaa sydänlihaskudoksen pitkäaikaista hapenpuutetta, joka ilmenee esimerkiksi sydäninfarkteina tai rasisurintakipuna (Lääketieteen sanasto 2020). Jopa 70 % sydän- ja verisuonisairauksista ja niistä seuranneista kuolemista on seurausta sellaisista riskitekijöistä, joihin yksilön on mahdollista vaikuttaa (Yusuf ym. 2019). Laajan eurooppalaisen aineiston mukaan tupakointi on merkittävin ennen aikaisten kuolemien riskitekijä (31 %) (Muller ym. 2016). Muita ennen aikaisiin kuolemiin yhteydessä olevia elintapatekijöitä olivat heikko ravitsemus (14 %), ylipaino ja lihavuus (10 %), vähäinen fyysinen aktiivisuus (7 %) ja alkoholinkäyttö (4 %) (Muller ym. 2016). Lähes joka kymmenes ennen aikainen kuolema oli seurausta kohonneesta verenpaineesta (Muller ym. 2016). Verenpaineen kohoaminen johtuu pääosin haitallisista elintavoista, mutta syynä voi olla myös perinnöllinen taipumus (Niiranen ym. 2017; Mustajoki 2020).

Metaboliset riskitekijät, kuten korkea verenpaine, kohonneet veren rasva-arvot, sokeriaineenvaihdunnan häiriöt ja ylipaino, ovat usein sydän- ja verisuonisairauksiin sairastumisten taustalla (Yusuf ym. 2019; Xiao ym. 2019). Ne ovat myös muiden ikääntyessä yleistyvien sairauksien, kuten syöpien ja tyypin 2 diabeteksen merkittäviä riskitekijöitä (Lim ym. 2012). Elintavoista tupakointi (Carter ym. 2015), liiallinen alkoholin käyttö (Grant ym. 2015) sekä ravitsemukseen liittyvät tekijät, kuten liiallinen suolan saanti tai niukka kasvisten ja hedelmien käyttö ovat puolestaan yhteydessä suurempaan kuolleisuuteen (Yusuf ym. 2019). Korkea verenpaine ja alhainen koulutustausta ovat maailmanlaajuisesti merkittävimpiä riskitekijöitä sydän- ja verisuonitautien taustalla, kun taas esimerkiksi epäterveellisen ravitsemuksen tai ilman saasteiden merkitys kuolleisuuden riskitekijänä saattaa vaihdella valtioiden välillä maiden taloudellisen tilanteen mukaan (Yusuf ym. 2019).

Myös fyysisen aktiivisuuden vähäisyys on yhteydessä suurempaan kuolleisuuteen (Gebel ym. 2015). Myöhemminkin aloitettu terveystieteiden mukainen fyysinen aktiivisuus alentaa kuitenkin riskiä sairastua moniin kroonisiin sairauksiin ja pienentää kuolemanriskiä (Mok ym. 2019). Fyysisen aktiivisuuden ja eliniän yhteys ei ole kuitenkaan yksiselitteinen. Karvisen ym. (2015) tutkimuksessa fyysisen aktiivisuuden suhteen toisistaan eroavilla identtisillä kaksosilla ei havaittu eroa eliniässä, kun taas perimältään enemmän eroavilla ei-identtisillä kaksosilla korkeampi liikunta-aktiivisuus oli yhteydessä pidempään elinikään.

Ero miesten ja naisten kuolleisuuden välillä kasvoi melko nopeasti viime vuosisadan aikana liittyen väestön ja yhteiskunnan rakenteissa ja sairastuvuudessa tapahtuneisiin muutoksiin (Beltrán-Sánchez ym. 2015). Infektiosairauksiin liittyvän kuolleisuuden vähentyessä krooniset sairaudet nousivat aikuisten kuolemansyytilastojen kärkeen (Beltrán-Sánchez ym. 2015). Tupakoinnin yleistyminen sekä muutokset ravitsemuksessa, fyysisessä aktiivisuudessa ja alkoholin käytössä muuttivat miesten elintapoja epäterveellisempään suuntaan enemmän kuin naisten (Lawlor ym. 2001; Beltrán-Sánchez ym. 2015). Miesten ja naisten elintapojen lähestyessä toisiaan, myös sukupuolten välinen ero elinajanodotteessa on kaventunut (Pitkälä & Strandberg 2015; Sundberg ym. 2018). Miesten sydän- ja verisuonitauteihin liittyvä kuolleisuus on laskenut nopeammin kuin naisten, mikä on yksi tärkeimmistä eron kaventumista selittävästä muutoksista (Sundberg ym. 2018). Suurimman osan kuolleisuuden laskusta selittävät muutokset sydän- ja verisuonitautien riskitekijöissä, lähinnä tupakoinnin väheneminen sekä kolesteroli- ja verenpaine-eröiden paraneminen, samaan aikaan myös hoidon taso on noussut (Terveystieteiden ja hyvinvoinnin laitos 2020b).

Elintapojen sekä sosiaalisten ja kulttuuriin liittyvien tekijöiden vaikutus elinikään näkyy, kun verrataan samankaltaisissa oloissa elävien naisten ja miesten elinikää toisiinsa tai erilaisen elämäntavan omaavan ryhmän jäsenten elinikää samaan aikaan tavallista elämää viettäviin verrokkeihin (Poulain 2012). Tällaisia elämäntavan suhteen erityisiin yhteisöihin kuuluvia ovat esimerkiksi luostareissa asuvat nunnat ja munkit, joiden välinen ero elinajanodotteessa on pienimmillään ollut tutkimuksissa vain noin yksi vuosi (Luy 2003).

Tutkimusta on tehty myös muiden melko tiukkaa tai rajoitettua elämäntapaa noudattavien, usein hengellisiin yhteisöihin kuuluvien asukkaiden elintapojen yhteydestä heidän elinikänsä (Lindahl-Jakobsen ym. 2013; Orlich ym. 2013; Pignolo 2019). Tällaisia yhteisöjä ovat esimerkiksi Yhdysvalloissa elävät mormonit (Lindahl-Jakobsen ym. 2013) ja adventistiseurakuntien jäsenet (Orlich ym. 2013; Pignolo 2019). Kalifornian Loma Lindan adventistiyhteisön asukkaat elävät noin 5-10 vuotta kauemmin kuin alueen asukkaat keskimäärin (Pignolo 2019). Myös Utahin mormoneilla näyttää olevan muutaman vuoden etu odotettavissa olevan eliniän suhteen alueen muihin asukkaisiin verrattuna, mutta sukupuolten välinen ero ei Utahin mormoniväestöllä ole kuitenkaan pienempi kuin muillakaan (Lindahl-Jakobsen ym. 2013).

Pitkäikäisiä ihmisiä ja heidän elintapojaan sekä geneettisiä ominaisuuksiaan esimerkiksi Italian Sardiassa ja Japanin Okinawalla, on tutkittu etsittäessä vastauksia pitkäikäisyyden periytyvyyteen tai mallia terveenä vanhenemiseen (Pes ym. 2013). Yhteistä näille pitkäikäisille ihmisille on tupakoimattomuus, kasvisvoittoinen ruokavalio, kohtuullinen liikunta sekä sosiaalinen aktiivisuus ja yhteisöllisyys (Brooks-Wilson 2013; Orlich ym. 2013). Sosiaalisilla suhteilla ja parisuhteella on myös merkitystä eliniän kannalta, sillä yksinäisyydellä, sosiaalisella eristäytymisellä ja yksinasumisella on havaittu yhteys suurentuneeseen kuoleman riskiin (Holt-Lunstad ym. 2015). Myös avioliiton päättyminen eroon tai puolison kuolemaan lisää iäkkäämpien miesten kuoleman riskiä verrattuna samanikäisiin naimisissa oleviin miehiin, kun vastaavaa yhteyttä ei näy naisten avioeron tai leskeytymisen osalta (Bulanda ym. 2016).

## **4.2 Elintapojen yhteys biologiseen ikääntymiseen**

Perimän arvellaan selittävän epigeneettisestä ikääntymisestä jopa 40 % (Hannum ym. 2013; Horvath 2013; Marioni ym. 2015a). Myös elintapojen (Quach ym. 2017; Dhingra ym. 2018; Ryan ym. 2020) sekä erilaisten ympäristötekijöiden, kuten ilmansaasteiden (Ward-Caviness ym. 2016; Nwanaji-Enwerem ym. 2017), sosioekonomisen aseman (Chen ym. 2016) ja stressaavien tai traumaattisten kokemusten (Wolf ym. 2019) yhteyttä epigeneettiseen ikääntymiseen on tarkasteltu useissa tutkimuksissa. Nämä tutkimukset vahvistat monilta osin jo olemassa olevaa tietoa elintapojen ja ympäristön yhteydestä odotettavissa olevaan elinikään ja sairastumisriskiin (Ryan ym. 2020). Nuorilla aikuisilla (20–25 v.) ikääntymiseen liittyvien epige-

nomiin metylaatiomuutosten on kuitenkin kaksostutkimuksissa havaittu olevan valtaosin (74 %) perimän säätelemää (Sillanpää ym. 2019). Sen sijaan ikääntyvien (55–70 v.) osalta perimän osuus on huomattavasti pienempi (53 %), ja erilaiset elintapa- ja ympäristötekijät selittävät heillä lähes yhtä paljon epigeneettisen ikääntymisnopeuden vaihtelusta kuin perimä (Sillanpää ym. 2019).

Elintavoista tupakointi (Gao ym. 2015; Yang ym. 2019; Lei ym. 2020) ja normaalia korkeampi painoindeksi (BMI) (Nevalainen ym. 2017; Ryan 2020) ovat yhteydessä kiihtyneeseen epigeneettiseen ikääntymiseen. Kohtuullinen alkoholinkäyttö on yhteydessä hidastuneeseen epigeneettiseen ikääntymiseen, kun taas alkoholista pidättäytyminen tai erittäin runsas alkoholinkäyttö kiihdyttävät epigeneettistä ikääntymistä (Beach ym. 2015; Quach ym. 2017; Rosen ym. 2018). Ravitsemukseen liittyen hedelmien ja kasvien sekä kalan ja vaalean lihan syönti on puolestaan yhteydessä hidastuneeseen epigeneettiseen ikääntymiseen (Quach ym. 2017; Levine ym. 2018). Ympäristötekijöistä korkeamman koulutuksen ja paremman sosioekonomisen aseman yhteys biologiseen ikääntymiseen on näkynyt kronologista ikää alhaisempana epigeneettisenä ikänä (Dugué ym. 2018; Fiorito ym. 2019; Zhao 2019; Ryan ym. 2020). Kaikissa tutkimuksista yhteyttä koulutuksen ja epigeneettisen ikääntymisen välillä ei kuitenkaan ole havaittu (Quach ym. 2017; Wolf ym. 2019).

Samoin joidenkin elintapoihin ja ympäristöön liittyvien muuttujien tai sairauksien yhteys biologiseen ikääntymiseen on näkynyt hieman eri tavalla eri epigeneettisillä kelloilla mitattuna (Theodoropoulou ym. 2019; Zhao ym. 2019; Ryan ym. 2020). Esimerkiksi MS-tautia sairastavilla naisilla epigeneettinen ikääntymisnopeus oli Horvathin epigeneettisellä kellolla keskimäärin hitaampaa ja PhenoAge-kellolla kiihtyneempää suhteessa kronologiseen ikään, kun Hannumin kellolla eroa ei juuri ollut (Theodoropoulou ym. 2019). Elintavoista myös tupakoinnin yhteys epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen näkyy heikosti tai ei ollenkaan vanhemmilla epigeneettisillä kelloilla, mutta on havaittavissa uusilla kelloilla (Zhao ym. 2019). Korkean painoindeksin yhteys kiihtyneeseen epigeneettiseen ikääntymiseen on kuitenkin havaittu useammalla eri epigeneettisellä kellolla mitattuna (Horvath ym. 2014; Fiorito ym. 2019; Ryan ym. 2020), vaikka kaikissa vanhemmilla kelloilla tehdyissä tutkimuksissa yhteyttä ei ole näkynyt. Erilaisten tulosten taustalla on todennäköisesti myös muihin tutkimusten välisiin eroihin, kuten muuttujien määrittelyyn ja tutkimusasetelmiin, liittyviä tekijöitä (Ryan ym. 2020).

Suurin osa epigeneettisillä kelloilla tehdyistä tutkimuksista on poikkileikkaustutkimuksia, mutta myös joitakin pitkittäistutkimuksia on tehty (Wolf ym. 2019; Zhao ym. 2019). Runsas alkoholinkäyttö ja posttraumaattinen stressi näkyivät epigeneettisen ikääntymisnopeuden lisääntyvänä kiihtymisenä kahden vuoden seurantajakson aikana Irakissa ja Afganistanissa taistelleilla amerikkalaisilla sotaveteraaneilla (Wolf ym. 2019). Toisessa pitkittäistutkimuksessa havaittiin, että viiden vuoden seurannan jälkeen ikä ja painoindeksi olivat yhteydessä edelleen kiihtyvään epigeneettiseen ikääntymiseen afroamerikkalaisilla tutkittavilla GrimAge -kellolla ja ikä sekä jatkuva tupakointi PhenoAge -kellolla arvioituna (Zhao ym. 2019). Marionin ym. (2019) pitkittäistutkimus osoitti epigeneettisen ikääntymisnopeuden olevan hitaampaa iäkäämmillä tutkittavilla suhteessa tutkittavien kronologisen iän karttumiseen.

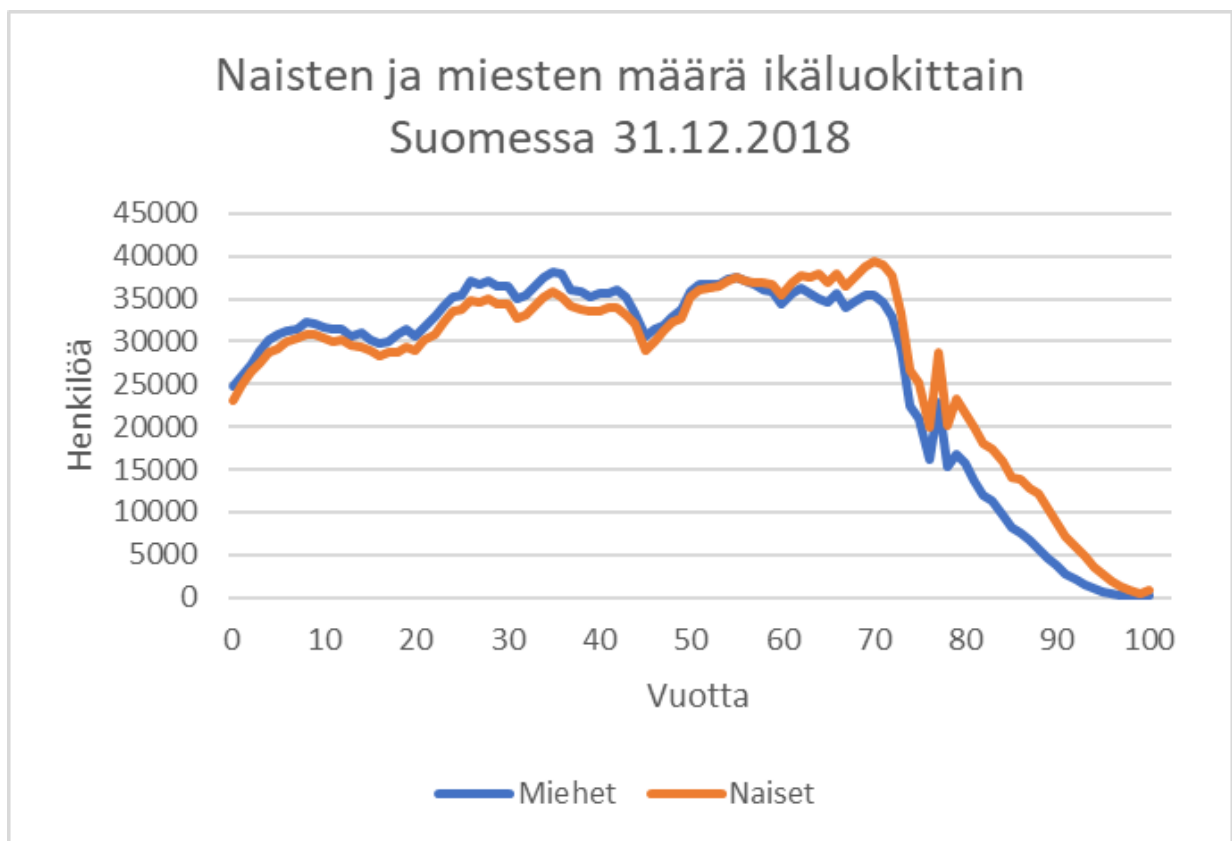
Elintapojen aiheuttamat muutokset epigenomissa eivät myöskään ilmene kaikissa kudoksissa samalla tavalla (Horvath ym. 2014). Kohonnut painoindeksi on yhteydessä kiihtyneeseen epigeneettiseen ikääntymiseen viskeraalisessa rasvakudoksessa (Toro-Martin ym. 2019) ja maksasoluissa, mutta ei veri- tai lihassoluissa (Horvath ym. 2014). Samoin alkoholiriippuvuus on yhteydessä veri- ja maksasoluissa näkyvään kiihtyneeseen epigeneettiseen ikääntymiseen, mutta etuaivolohkon kudoksissa yhteys on päinvastainen (Rosen ym. 2018).

Kohonnut painoindeksi on yhteydessä myös toiseen ikääntymisen biomarkkeriin, telomeerien lyhenemiseen, mikä tukee käsitystä ylipainon ja biologisen ikääntymisen keskinäisestä yhteydestä (Nevalainen ym. 2017; Ryan ym. 2020). Nevalaisen ym. (2017) tutkimuksessa kohonneella painoindeksillä oli yhteys kiihtyneeseen epigeneettiseen ikääntymiseen keski-ikäisillä tutkittavilla, mutta ei samoilla tutkittavilla nuorina, eikä myöskään eri aineiston yli 90-vuotiailla tutkittavilla (Nevalainen ym. 2017).

## 5 SUKUPUOLTEN VÄLISET EROT IKÄÄNTYMISESSÄ

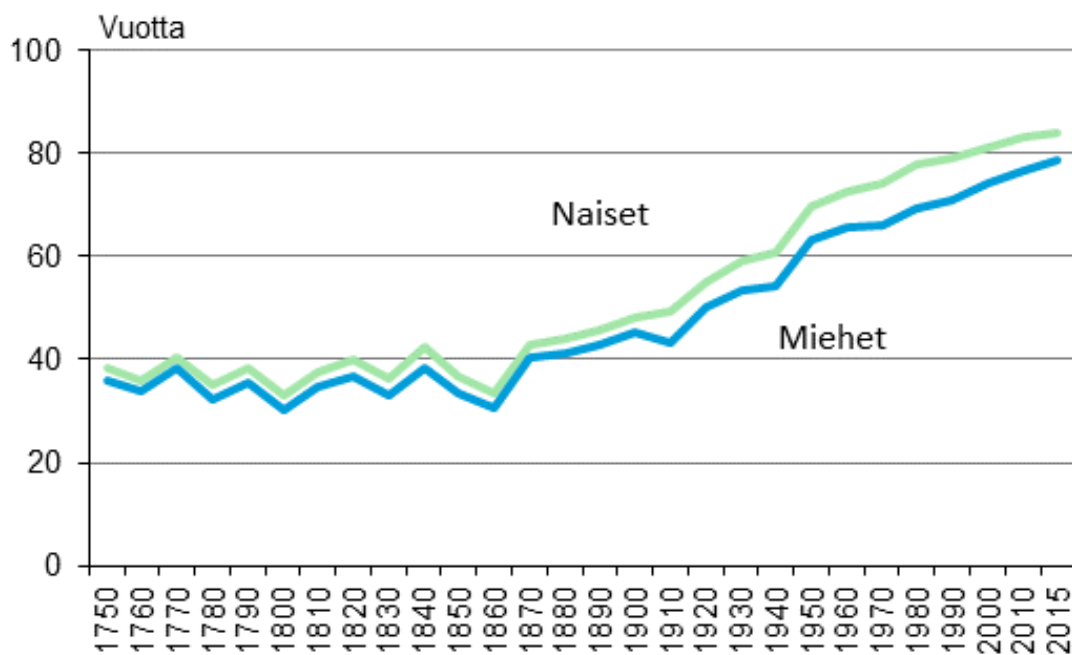
### 5.1 Naisten ja miesten erot eliniässä

Naiset elävät miehiä kauemmin, mikä näkyy naisten suurempana osuutena vanhemmissa ikäluokissa. Poikia syntyy enemmän kuin tyttöjä, mutta miesten kuolleisuus 81-vuotiaissa ja sitä nuoremmissa ikäluokissa on suurempaa kuin naisten (Suomen virallinen tilasto: kuolleet 2017). Naisten määrä Suomessa ylitti vuoden 2018 lopussa miesten määrän 57-vuotiaiden ikäluokassa, ja naisia oli enemmän kaikissa sitä vanhemmissa ikäluokissa (Tilastokeskus/väestörakenne 2019). Esimerkiksi satavuotiaita tai vanhempia miehiä oli tuolloin 135, kun naisia oli 754 (kuvio 1.).



KUVIO 1. Väestö ikäluokittain sukupuolen mukaan 31.12.2018. (Tilastokeskus/väestörakenne 2019).

Naisten odotettavissa oleva elinikä on ollut miehiä pitempi kautta tilastoidun historian eri maissa ja kulttuureissa (Austad & Bartke 2016) muutamaa Keski- ja Etelä-Aasian sekä Saharan eteläpuolisen Afrikan maata lukuun ottamatta (Huttunen 2014). Ero näkyy myös Suomessa; meillä naisten odotettavissa oleva elinikä on ylittänyt jo 84 vuotta, kun miehillä se vasta lähestyy 79 vuotta, sukupuolten välinen ero vastasyntyneiden elinajan odotteessa Suomessa vuonna 2018 oli 5,4 vuotta (Findikaattori 2019). Suurimmillaan ero oli noin 9 vuotta 1970-luvun lopulla (kuvio 2.) (Findikaattori 2019).



KUVIO 2. Vastasyntyneiden elinajanodote Suomessa vuosina 1750-2017. (Tilastokeskus/Tilastolaitoksen historiaa 2019).

Aiempien tutkimusten perusteella on oletettu, että naisten etu elossa pysymisen suhteen alkaisi jo heti hedelmöitymisen jälkeen (Newman & Brach 2001). Uudempi tutkimustieto viittaa kuitenkin siihen, että molempien sukupuolten osuus sikiöistä on hedelmöitymisen jälkeen lähes samansuuruinen, jolloin poikien suurempi osuus syntyneistä selittyy naispuolisten alkioiden ja sikiöiden suurempana osuutena raskaudenaikaisista keskenmenoista ja kuolemista (Orzack ym. 2015). Poikasikiöiden kuolleisuus näyttäisi olevan tyttösikiöiden kuolleisuutta



suurempaa vasta muutamia viikkoja ennen syntymää, ja ero naisten hyväksi paremman elospäpysymisen suhteen olisi pysyvää siitä alkaen koko elämän ajan (Orzack ym. 2015; Austad & Fischer 2016). Naiset elävät miehiä pitempään, mutta vanhempina naiset ovat sairaampia kuin samanikäiset miehet (Newman & Brach 2001; Newman & Murabito 2013; Austad & Fischer 2016).

Tutkimalla tekijöitä, jotka pidentävät naisten elinikää tai lisäävät miesten riskiä kuolla nuorempana, saadaan tietoa sukupuolten välisen eliniän erojen syistä (Luy & Gast 2014). Tutkimuksen kohteena ovat olleet sukupuolten väliset biologiset sekä elintapoihin ja ympäristötekijöihin liittyvät erot (Lindahl-Jakobsen ym. 2013). Suomessa suurin eliniän sukupuolieroa selittävä tekijä on viime vuosiin asti ollut sepelvaltimotauti, jonka vuoksi miesten elinikä on noin kaksi vuotta lyhyempi kuin naisten (Huttunen 2014). Sukupuolten väliset erot elintavoissa, erityisesti alkoholikäytössä ja tupakoinnissa, selittävät arvioiden mukaan yli puolet naisten ja miesten välisestä erosta eliniässä (McCartney ym. 2011; Pitkälä & Strandberg 2015). Lisäksi miesten tapaturma- ja väkivaltakuolleisuus on suurempaa kuin naisten (Huttunen 2014; Le ym. 2015).

## **5.2 Naisten ja miesten elinikää selittävät biologiset mekanismit**

Perimä selittää noin neljänneksen eliniästä (McCartney ym. 2011; Pitkälä & Strandberg 2015). Eri tutkimuksissa vaihteluväli on kuitenkin suuri uusimpien tutkimusten noin 10 %:n selityssasteesta aina vanhempien tutkimusten 30 %:iin asti (Kaplanis ym. 2018; Kananen & Marttila 2019). Perinnöllisten tekijöiden vaikutus elinikään ja sen vaihteluun yksilöiden välillä alkaa näkyä vasta yli 60-vuotiailla ja muuttuu merkittävämmäksi vanhemmissa ikäluokissa (Kananen & Marttila 2019).

Mahdollisia biologisia selityksiä naisten ja miesten väliseen eroon eliniässä ovat sukupuolierot hormonaalisissa ja immuunipuolustukseen liittyvissä tekijöissä sekä naisten saama etu kahdesta X-kromosomista (Newman & Murito 2013; Ostan ym. 2016). Eroon on arveltu liittyvän myös toistaiseksi tunnistamattomia sekoittavia tekijöitä (Newman & Murito 2013). Naiset hyötyvät estrogeenin monilta taudeilta, kuten sydän- ja verisuonitaudeilta, suojaavista

ominaisuuksista ennen menopaussia (Ostan ym. 2016). Testosteroni puolestaan lisää miesten sairastumisalttiutta (Ostan ym. 2016), ja sen on arveltu mahdollisesti lisäävän miesten riskikäyttäytymistä, mikä näkyy miesten tapaturma- ja väkivaltakuolemina sekä päihteiden väärinkäyttönä (Marais ym. 2018). Ikääntyneiden alhainen testosteronipitoisuus on myös monissa tutkimuksissa yhdistetty suurentuneeseen kuolleisuuteen, mutta toisaalta on myös joitakin tutkimuksia, joissa tätä yhteyttä ei löydetty (Shores & Matsumoto 2014).

Immuunipuolustuksen osalta estrogeeni näyttää vahvistavan immuunivasteita, kun taas testosteroni näyttää heikentävän niitä (McClelland & Smith 2011). Naisten ja miesten välillä on eroa myös immuunipuolustuksen reagoinnissa eri mikrobeihin (McClelland & Smith 2011). Naisten immuunipuolustus on tehokkaampi kuin miesten monien infektioiden sekä joidenkin syöpien osalta, mutta toisaalta naisilla autoimmuunisairaudet ovat yleisempiä kuin miehillä (Nunn ym. 2009; Gubbels Bupp 2015). Ikääntymiseen liittyvät muutokset immuunijärjestelmässä ja sen toiminnassa tapahtuvat miehillä aikaisemmin ja voimakkaampina kuin naisilla (Gubbels Bupp 2015).

Yksittäisiä elinikää tai pitkäikäisyyttä selittävää geeniä ei ole löydetty, mutta esimerkiksi APOE geenin yhteys pitkäikäisyyteen on havaittu useammassa tutkimuksessa (Brooks-Wilson 2013; Dato ym. 2017). APOE-geeni koodaa rasva-aineenvaihduntaan ja tulehdukseen yhteydessä olevaa apolipoproteiini E:tä (Brooks-Wilson 2013). APOE-geenin alleelin APOE2 on yli satavuotiaita koskevissa tutkimuksissa havaittu olevan yhteydessä pitkäikäisyyteen (Brooks-Wilson 2013). Sen sijaan APOE4 alleelin kantajuus on yhteydessä korkeaan veren kolesteroliin, mikä taas lisää sydän- ja verisuonitautien riskiä (Phillips 2014). Lisäksi APOE4 alleelin kantajuus on Alzheimerin taudin yleisin geneettinen riskitekijä (Lin ym. 2018) etenkin naisilla (Bretsky ym. 1999). Elinikää lyhentävien ja sairauksien riskiä lisäävien ominaisuuksiensa vuoksi APOE-geeniä ei voi käsitellä pelkästään pitkäikäisyysgeeninä (Kananen & Marttila 2019).

Lihavuus on merkittävä ikääntymiseen liittyvien sairauksien riskitekijä (Guh ym. 2009; Nyberg ym. 2018). Ylipaino ( $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) on esimerkiksi merkittävin tyypin 2 diabeteksen riskitekijä (Mehta ym. 2020). Ylipaino selittää korkean tulotason maissa myös suurimman

osan tyyppin 2 diabetekseen sairastumisessa havaituista sukupuoleen ja koulutukseen liittyvistä eroista (Mehta ym. 2020). Kehonkoostumuksen vaihtelu on vahvasti perinnöllinen ominaisuus, mikä on havaittu muun muassa sekä adoptio- että kaksostutkimuksissa (Silventoinen ym. 2010; Classen & Thompson 2016; Link & Reue 2017). Esimerkiksi lihavuuden periytyvyyden on arveltu olevan 50-70 %:n luokkaa (Link & Reue 2017).

Naisten ja miesten rasva-aineenvaihdunnassa on eroja liittyen muun muassa sukupuolihormoneihin (Santosa & Jensen 2015). Naisilla ravinnosta kertyvä ylimääräinen rasva varastoituu enemmän ihonalaiseksi rasvakudokseksi reisiin ja lantiolle, kun taas miehillä se kertyy lähinnä viskeraalirasvaksi sisäelinten ympärille, mikä on terveyden kannalta haitallisempaa (Britton ym. 2013). Vaikka miehen ja naisen painoindeksi olisi sama, voi tilanne olla miehille terveyden kannalta epäedullisempi rasvakudoksen sijainnista ja laadusta johtuen (Masella & Malorni 2017). Sekä lievästi ylipainoisilla että lihavilla miehillä esiintyy myös enemmän kohonnutta verenpainetta kuin samanpainoisilla naisilla (Xiao ym. 2019). Verenpaineen ja painoindeksin yhteydessä näkyvän sukupuolieron taustalla voi olla paitsi biologisia tekijöitä, kuten sukupuolihormoneihin liittyviä tekijöitä, myös elintapoihin, kuten tupakointiin tai alkoholinkäyttöön, liittyviä tekijöitä (Pereira ym. 2012; Xiao ym. 2019).

Naisten ja miesten välillä on eroa myös biologisessa ikääntymisessä. Naiset ovat epigeneettiseltä iältään keskimäärin nuorempia suhteessa kronologiseen ikäänsä kuin miehet (Hannum ym. 2013; Horvath ym. 2016; Jylhävä ym. 2017; Dugué ym. 2018). Hannumin ym. (2013) arvioiden mukaan miehet ikääntyvät 4 % nopeammin kuin naiset. Naisten miehiä hitaampi epigeneettinen ikääntymisnopeus on havaittu sekä verestä, syljestä että suuressa osassa eri aivokudoksista analysoiduissa näytteissä (Horvath ym. 2016). Vastasyntyneillä ei kuitenkaan havaittu tätä sukupuolieroja epigeneettisen iän suhteessa kronologiseen ikään Javedin ym. (2016) tutkimuksessa, vaikka etninen tausta, sikiön raskaudenaikainen altistuminen tupakan savulle sekä äidin sosioekonominen status näyttivät olevan yhteydessä kiihtyneeseen biologiseen ikääntymiseen heti syntymän jälkeen. Simpkin ym. (2016) havaitsivat kuitenkin, että tyttöjen epigeneettinen ikääntyminen oli jo syntymähetkellä keskimäärin hieman hitaampaa kuin pojilla, ja ero näytti heidän mukaansa kasvavan edelleen ajan kuluessa.

Sukupuolten välinen ero biologisessa ikääntymisessä on tullut esiin myös muissa ikääntymisen biomarkkereita käyttäneissä tutkimuksissa (Fischer & Riddle 2018). Esimerkiksi naisten telomeerit ovat keskimäärin pitempiä kuin samanikäisten miesten (Gardner ym. 2014), vaikka syntymähetkellä eroa tyttöjen ja poikien telomeerien pituuksissa ei ole havaittu (Barrett & Richardson 2011). Syntymän jälkeen naisten telomeerit kuitenkin lyhenevät hitaammin kuin miesten (Okuda ym. 2002). Miehillä näyttäisi myös olevan enemmän ikääntymiseen liittyviä DNA:n mutaatioita ja vaurioita (Fischer & Riddle 2018). Muilla tutkituilla lajeilla sukupuolten välinen ero ikääntymiseen liittyvissä biologisissa muutoksissa ei näyttäisi olevan niin selvä eikä johdonmukainen (Fischer & Riddle 2018). Esimerkiksi hiirillä ei havaittu sukupuolten välistä eroa epigeneettisessä ikääntymisessä tutkimuksessa, jossa epigeneettistä ikääntymistä mitattiin hiirille kehitetyllä epigeneettisen kellon kaltaisella mittarilla (Stubbs ym. 2017).

### **5.3 Sukupuolten välinen ero elintavoissa**

Naisten elintavat ovat keskimäärin terveellisempiä kuin miesten (Oksuzyan ym. 2018). Tämä näkyy esimerkiksi alkoholin käytössä (Stahre ym. 2014; Gmel ym. 2018), tupakointitottumuksissa (Allen ym. 2016) sekä ravitsemuksessa (Dehghan ym. 2011) ja osittain myös naisten ja miesten kehonkoostumuksessa (Lundqvist ym. 2018; Jääskeläinen ym. 2019). Naiset käyttävät alkoholia miehiä maltillisemmin (Erol & Karpyak 2015; Gmel ym. 2018). Naisissa on enemmän täysin raittiita, ja alkoholia käyttävät naiset juovat keskimäärin pienempiä määriä kuin miehet (Gmel ym. 2018). Suomalaisista 20-64-vuotiaista naisista täysin raittiita vuonna 2018 oli 14 %, kun samanikäisistä miehistä raittiita oli 10 % (Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2020a). Humalahakuisesti juovia oli samaan aikaan 4 % suomalaisista naisista (vähintään 5-6 annosta kerrallaan) ja 10 % miehistä (vähintään 6-7 annosta kerrallaan) (Alkoholiongelmaisen hoito. Käypä hoito -suositus 2018; Terveyden ja hyvinvoinnin laitos 2020a). Alkoholia käyttävien osuus sekä naisissa että miehissä on vähentynyt suurimmassa osassa maita, mutta alkoholia käyttävien absoluuttinen määrä on kuitenkin kasvanut, johtuen väestönkasvusta (Gmel ym. 2018).

Suomalaisista yli 30-vuotiaista naisista kaksi kolmasosaa ja miehistä lähes kolme neljäsosaa oli ylipainoisia ( $BMI \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) vuonna 2017 (Lundqvist ym. 2018). Naisissa on kuitenkin

painoindeksinsä perusteella lihaviksi luokiteltavia ( $BMI \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ) enemmän kuin miehissä (27,5 % vs. 26,1%) (Lundqvist ym. 2018). Suomessa naisten keskimääräinen painoindeksi on miehiä suurempi 60-vuotiailla ja sitä vanhemmilla (Lundqvist ym. 2018). Ero naisten ja miesten painoindeksissä on havaittavissa myös nuoremmilla (18-30-vuotiaat) suomalaisilla: naisista ylipainoisia on reilu kolmannes (35 %) ja miehistä lähes puolet (47 %), lihavia lähes joka viides (naisista 19 % ja miehistä 17 %) (Jääskeläinen ym. 2019). Aikuisista lähes puolet (46 %) (Lundqvist ym. 2018) ja nuoristakin lähes viidennes (17 %) on vyötärölihavia (vyötärön ympärysmittä miehillä yli 100 cm, naisilla yli 90 cm) (Jääskeläinen ym. 2019). Sukupuolten väliset erot ylipainon ja lihavuuden suhteen ovat Suomessa samansuuntaisia kuin muualla maailmassa, kehittyneissä maissa miehillä on keskimäärin enemmän ylipainoa kuin naisilla (Kanter & Caballero 2012). Lihavuus on kuitenkin enemmän naisten ongelma etenkin kehittyneissä maissa (Garawi ym. 2014).

Tupakoivia naisia on vähemmän kuin tupakoivia miehiä sekä Suomessa (Jääskeläinen & Virtanen 2019) että maailmanlaajuisesti (Ng ym. 2014). Suomessa 20-64-vuotiaista naisista tupakoi vuonna 2018 13 % ja samanikäisistä miehistä 15 % (Jääskeläinen & Virtanen 2019). Miesten tupakointi on lähes yhtä yleistä kehittyneissä kuin kehittyvissä maissa (32,0 vs. 31,1 vuonna 2012), mutta kehittyneissä maissa tupakoivia naisia on huomattavasti enemmän kuin kehittyvissä maissa (17,2 vs. 3,7 vuonna 2012) (Ng ym. 2014). Tupakoivat naiset polttavat vähemmän savukkeita kuin tupakoivat miehet, ja naisilla nikotiiniriippuvuutta on vähemmän (Allen ym. 2016). Sekä naisten että miesten tupakointi on vähentynyt Suomessa aina viime vuosiin asti, mutta vuonna 2018 väheneminen näyttäisi pysähtyneen (Jääskeläinen & Virtanen 2019). Erot naisten ja miesten tupakointitottumuksissa ovat kuitenkin viime vuosikymmeninä kaventuneet (Jääskeläinen & Virtanen 2019).

## 6 TUTKIMUKSEN TARKOITUS JA TUTKIMUSKYSYMYKSET

Tämän pro gradu -tutkielman tarkoitus oli selvittää, onko naisten ja miesten epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa eroa, ja onko sukupuoliero samanlainen nuorilla ja iäkkäillä tutkittavilla. Epigeneettistä ikääntymistä tarkasteltiin DNA:n metyloitumiseen perustuvalla GrimAge-epigeneettisellä kellolla (Lu ym. 2019) ja vertailun vuoksi myös Horvathin aiemmin julkaisulla epigeneettisellä kellolla (Horvath 2013). Lisäksi tutkittiin, selittävätkö tutkittavien elintavat, tässä tutkimuksessa alkoholin käyttö, tupakointi ja painoindeksi, mahdollista sukupuolten välistä eroa epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa. Koko joukon lisäksi analyysit suoritettiin myös vakiomalla osittain perimän vaikutus eli toistamalla analyysit aineiston eri sukupuolta olevilla kaksospareilla.

Tutkimuskysymykset olivat:

1. Onko naisten ja miesten epigeneettisessä ikääntymisessä eroa?
2. Onko epigeneettisen ikääntymisen sukupuoliero erilainen nuorilla ja iäkkäillä?
3. Selittävätkö elintavat epigeneettisen ikääntymisnopeuden sukupuoliero?

## 7 TUTKIMUKSEN AINEISTO JA TUTKIMUSMENETELMÄT

### 7.1 Tutkimusasetelma ja tutkittavat

Tässä pro gradu -tutkielmassa käytettiin osaa Helsingin yliopiston hallinnoimasta väestöpohjaisesta suomalaisten kaksoskohorttien (Finnish Twin Cohort) aineistosta (Rose ym. 2019; Kaidesoja ym. 2019; Kaprio ym. 2019). Suomalainen kaksostutkimus koostuu kolmesta tutkimusaineistosta: Vanhempi kaksoskohortti (ennen vuotta 1958 syntyneet kaksoset), Nuorten Kaksosten Terveystutkimus Finntwin16 (vuosina 1975–1979 syntyneet kaksoset) sekä Kaksosten kehitys ja terveys -tutkimus Finntwin12 (vuosina 1983–1987 syntyneet kaksoset, jatkossa Finntwin12). Tässä työssä käytettiin vanhemman kaksoskohortin ja Finntwin12-kohortin tutkimusaineistoa.

Tutkielmaan otettiin mukaan molemmista kohorteista kaikki tutkittavat, joilta voitiin kokoveren DNA-näytteen perusteella laskea tutkittavan epigeneettinen ikä GrimAge-algoritmilla ja joilta oli käytettävissä tiedot alkoholinkäytöstä, painoindeksistä ja tupakoinnista samasta aikapisteestä. Alkuperäisestä aineistosta (n=1222) poistettiin tämän työn analyysejä varten sellaiset tutkittavat, joilta ei ollut käytettävissä epigeneettisten kellojen tietoja (19 tutkittavaa) sekä aineiston homogeenisuuden vuoksi sellaiset tutkittavat, jotka poikkesivat iältään tutkimuksen kohteeksi määritellyistä ikäluokista (6 tutkittavaa, iältään 30,8–33,2-vuotiaita). Lopuksi poistettiin kaksi tutkittavaa puuttuvien alkoholinkäyttötietojen vuoksi. Vanhemman kohortin osalta tutkimuksessa oli lopulta 436 ja Finntwin12-kohortin osalta 759 tutkittavaa, yhteensä otos käsitti 1195 tutkittavaa. Vaikka kysymyksessä ovat kaksoskohorttien aineistot, käsiteltiin tutkittavia tässä tutkimuksessa pääasiassa toisistaan riippumattomina yksilöinä.

Tutkimuksen analyysit toistettiin myös aineiston eri sukupuolta olevilla kaksospareilla (85 paria, n = 170, kaikki nuoria aikuisia). Näin voitiin tarkastella osittain yhteisen perimän (50 %) ja yhteisen kasvuympäristön yhteyttä tuloksiin. Eri sukupuolta olevia kaksosia aineistossa oli yhteensä 189, mutta analyysien ulkopuolelle jätettiin kaksoset, joiden kaksospari ei ollut elossa tai kaksosparilta ei ollut tarvittavia tietoja.

Tiedot kaksospareista on molempien kohorttien perustamisvaiheessa poimittu väestörekisteristä. Molemmista kaksoskohorteista on kerätty tietoa vuosien varrella useammalla eri ajanhetkellä (Kaprio ym. 2019; Rose ym. 2019). Tässä tutkimuksessa käytettiin kummastakin kohortista vain sen mittauskerran aineistoa, jolloin tutkittavista on otettu verinäyte DNA-tutkimusta varten. Tutkimusasetelmaltaan tämä pro gradu -tutkielma on siten poikkileikkaus-tutkimus. Finntwin12 aineistossa verinäyte DNA-tutkimusta varten on otettu tutkittavien ollessa 22–25-vuotiaita vuosina 2006–2009. Vanhemmilta tutkittavilta verinäyte on otettu 55–72 vuoden iässä vuosina 2000–2015.

Tutkittaville on selvitetty kunkin aineistonkeruun yhteydessä tiedot tutkimuksen tarkoitukselta sekä tutkimusaineistojen ja -näytteiden käytöstä ja käsittelystä, ja tutkittavat ovat antaneet tietoon perustuvan suostumuksensa tutkimukseen osallistumiseen ja aineistonsa käyttöön tutkimustyössä (Kaprio ym. 2019; Rose ym. 2019). Heille on myös kerrottu mahdollisuudesta keskeyttää tutkimus missä vaiheessa tahansa tutkimusta. Suomalaisen kaksoskohortin tutkimuksilla on tutkimusten eettiseen arviointiin perustuvat tutkimusluvut Helsingin yliopiston Ihmistieteiden eettisen ennakoarvioinnin toimikunnalta (113/E3/01 ja 346/E0/05) sekä Helsingin yliopistollisen sairaalan eettiseltä toimikunnalta (270/13/03/01/2008 ja 154/13/03/00/2011).

## **7.2 Tutkimuksen muuttujat**

*Epigeneettinen ikä.* Tutkittavien epigeneettinen ikä laskettiin laskimoverinäytteestä eristetyn DNA:n metyloitumisen perusteella matemaattista mallia apuna käyttäen. DNA eristettiin standardiprotokollan mukaan tutkittavien kokoverinäytteestä ja käsiteltiin bisulfaattikonversiolla. DNA:n metylaatiotasot analysoitiin Illuminan Infinium HumanMethylation450 tai MethylationEPIC BeadChip -menetelmillä (Kaprio ym. 2019). Datan tarkistuksen ja normalisoinnin jälkeen tutkittavien epigeneettinen ikä laskettiin saadusta metylaatiodatasta GrimAge -algoritmillä (Lu ym. 2019) käyttäen vapaasti saatavilla olevaa ohjelmistoa (<http://dnamage.genetics.ucla.edu>). GrimAge -laskentamalli tuottaa arvion henkilön epigeneettisestä iästä vuosina (Lu ym. 2019). Jatkossa kaikki tämän tutkielman epigeneettiseen ikään tai sen perusteella arvioituun epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen



liittyvät analyysit, niiden tulokset ja niistä tehtävät johtopäätökset viittaavat GrimAge -laskentamallin avulla tehtyyn analysointiin ja niistä saatujen tulosten arviointiin, mikäli toisin ei mainita. Saman protokollan mukaan laskettiin tutkittavien epigeneettinen ikä ja ikääntymisnopeus lopuksi myös Horvathin epigeneettisen kellon algoritmilla, jotta pystyttiin vertailemaan eri kellojen antamia tuloksia elintapojen yhteydestä sukupuolten väliseen eroon epigeneettisessä ikääntymisessä.

*Epigeneettinen ikääntymisnopeus.* Tutkittavien epigeneettinen ikääntymisnopeus saatiin vertaamalla tutkittavien epigeneettistä ikää heidän kronologiseen ikäänsä lineaarisen regression avulla. Lineaarisen regressiomallin jäännös (residuaali) kuvaa tutkittavien epigeneettistä ikääntymisnopeutta (Lu ym. 2019). Negatiivinen ikääntymisnopeus kertoo tutkittavan olevan epigeneettisesti nuorempi verrattuna kronologiseen ikäänsä, eli hänen epigeneettinen ikääntymisensä on hidastunut (Lu ym. 2019). Positiivinen epigeneettisen ikääntymisnopeuden arvo puolestaan tarkoittaa, että henkilön epigeneettinen ikääntyminen on kiihtynyt, ja että hän on epigeneettisesti vanhempi suhteessa kronologiseen ikäänsä (Lu ym. 2019).

*Alkoholinkäyttö.* Arvio tutkittavien alkoholinkäytöstä perustuu heidän itsensä ilmoittamiin tietoihin. Tutkittavien alkoholin käyttöä arvioidaan tässä tutkielmassa heidän keskimääräisen päivittäin käyttämänsä alkoholimäärän (g/vrk) perusteella. Molemmissa kohorteissa tutkittavia pyydettiin ilmoittamaan tiedot sekä edellisen viikon että tyypillisen viikon alkoholinkäytöstään. Kunkin päivän kohdalle tutkittavat merkitsivät tiedot käyttämästään alkoholista annoksina erikseen oluen, viinin ja väkevien alkoholijuomien osalta. Tiedot tutkittavien nauttimista alkoholiannoksista on muutettu alkoholigrammoiksi vuorokautta kohden. Tässä tutkimuksessa tieto tutkittavien käyttämästä alkoholimäärästä on laskettu heidän edellisen viikon alkoholinkäytöstään antamiensa tietojen perusteella.

*Painoindeksi (BMI).* Tutkittavien painoindeksi oli aineistossa laskettu valmiiksi heidän tutkimuskäynnillään mitattujen pituuden ja painon perusteella molemmissa kohorteissa. Painoindeksi on laskettu jakamalla paino pituuden neliöllä (paino/pituus<sup>2</sup>) (Lihavuus (lapset, nuoret ja aikuiset), Käypä hoito -suositus 2020).

*Tupakointi.* Tutkittavien tupakointia tarkasteltiin tässä tutkimuksessa heidän tupakointitottumuksistaan antamansa tiedon perusteella. Nuorten kyselylomakkeessa tupakointistatusta selvitettiin kysymyksellä, jossa oli 7 vaihtoehtoa. Näistä tutkittavien tuli valita tupakointiaan parhaiten kuvaava vaihtoehto. Vaihtoehdot 1-3 arvioivat päivittäin poltettujen savukkeiden määrää: 1) vähintään 20 savuketta, 2) 10-19 savuketta, 3) enintään 9 savuketta. Vaihtoehdot 4 ja 5 kartoittivat tupakoinnin useutta: 4) tupakoin kerran viikossa tai useammin, en kuitenkaan päivittäin, 5) tupakoin harvemmin kuin kerran viikossa. Kuudes vaihtoehto käsitteli aiempaa tupakointia: 6) olen lakossa tai lopettanut tupakoinnin. Seitsemäs vaihtoehto oli: 7) en ole koskaan tupakoinut. Vanhempien tutkittavien tupakointia kartoitettiin samoilla kysymyksillä, minkä lisäksi heiltä selvitettiin tarkemmin tupakoinnin määrää ja lopettamisyrityksiä. Vastaustensa perusteella tutkittavat jaettiin kolmeen ryhmään tupakointistatuksensa mukaan: 1. ”ei ole koskaan tupakoinut” (taulukoissa ”ei tupakoi”), 2. ”lopettanut” ja 3. ”tupakoi”.

Lisäksi tässä työssä käytettiin tutkimusjoukkoa kuvaavina taustatietoina tietoja tutkittavien *koulutuksesta* sekä *parisuhteesta*. Tutkittavien koulutusta arvioitiin koulutusvuosien perusteella. Nuoremmilla tutkittavilla vaihtoehtoina oli 10, 13 tai 20 vuotta, myös kesken olleet opinnot huomioitiin, ja vanhemmilla tutkittavilla 7, 10, 13, 15, ja 20 vuotta. Erot kohorttien välisissä vaihtoehdoissa johtuvat koulutusjärjestelmien eroista eri ikäluokkien välillä. Parisuhdetta tai siviilisäätystä tarkastelevat kysymykset poikkesivat jonkin verran toisistaan kohorttien välillä, minkä vuoksi vanhemman ikäluokan kysymysten kuusi eri vastausluokkaa yhdistettiin kahdeksi luokaksi: vastausvaihtoehdot – 2. ”Naimisissa”, 3. ”Uusissa naimisissa” ja 4. ”Avoliitossa” – yhdeksi luokaksi, ja vastausvaihtoehdot – 1. ”Naimaton”, 5. ”Eronnut tai asumuserossa” ja 6. ”Leski” – toiseksi luokaksi. Näin kysymykset vastasivat nuorten kaksi- luokkaista pari- ja seurustelusuhdetta – 1. ”En seurustele”, 2. ”Seurustelen tai olen avio- tai avoliitossa” – kuvaavaa jakoa.

### **7.3 Tutkimusaineiston analyysi**

Tämän pro gradu -tutkielman aineiston tilastolliset analyysit tehtiin IBM:n SPSS Statistics -ohjelman versiolla 24. Tutkimusten tilastollisen merkitsevyyden raja-arvona pidettiin kaikissa testeissä p-arvoa  $< 0,050$ . Aineiston yleisessä kuvaamisessa käytettiin frekvenssejä ja niiden

prosenttiosuuksia sekä keskiarvoja ja keskihajontoja. Jatkuvien muuttujien normaalijakautuneisuutta arvioitiin graafisten kuvaajien perusteella. Epigeneettisen iän ja epigeneettisen ikääntymisnopeuden muuttujat olivat aineistossa riittävän normaalisti jakautuneita valittuihin analyysimenetelmiin ja tulosten tulkintaan. Sukupuolten välisiä eroja tutkittavien taustatiedoissa ja elintavoissa analysoitiin jatkuvien muuttujien osalta riippumattomien otosten kaksisuuntaisella t-testillä, ja luokitteluasteikollisten muuttujien osalta Pearsonin khiin neliö -testillä.

Naisten ja miesten välistä eroa biologisessa ikääntymisessä nuorempien ja vanhempien tutkittavien välillä tarkasteltiin aluksi muodostamalla sukupuoli- ja kohorttimuuttujista sukupuoli\*kohortti -yhdyksvaikutustermi ja arvioimalla tämän uuden muuttujan yhteyttä tutkittavien epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen koko aineistossa lineaarisella regressioanalyysillä. Lineaarisen regressioanalyysin avulla voidaan tarkastella, millä muuttujilla ja kuinka paljon voidaan selittää mielenkiinnon kohteena olevan muuttujan havaittua vaihtelua (Metsämuuronen 2011, 710).

Myös elintapojen (alkoholin käyttö, painoindeksi ja tupakointi) yhteyttä GrimAge -mallilla laskettuun epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen tarkasteltiin lineaarisen regressioanalyysin avulla. Aluksi lineaarisella regressioanalyysillä tarkasteltiin epigeneettisen ikääntymisnopeuden ja sukupuolen yhteyttä. Tämän jälkeen malliin lisättiin sukupuolen rinnalle jokin kolmesta tutkimuksen elintapamuuttujasta, vain yksi elintapamuuttuja kerrallaan. Tarkastelemalla malleissa sukupuolen regressiokertoimen muutosta ja sen tilastollista merkitsevyyttä sekä mallin selitysosuuden muutosta, voitiin arvioida, pystyikö mikään elintavoista yksinään selittämään sukupuolten välistä eroa epigeneettisessä ikääntymisessä. Lopuksi tarkasteltiin myös mallia, jossa sukupuoli ja kaikki elintapamuuttujat olivat mukana yhtä aikaa.

Edellä kuvatut analyysit toistettiin myös aineiston eri sukupuolta olevilla kaksospareilla. Epigeneettisen iän, ikääntymisnopeuden ja elintapojen vertailu eri sukupuolta olevien kaksosparien osalta toteutettiin riippuvien otosten t-testillä. Koska erilaisia epigeneettisiä kelloja eli epigeneettistä ikääntymistä tarkastelevia laskentamalleja on julkaistu jo useampia, analysoitiin epigeneettisen ikääntymisen ja elintapojen yhteyttä GrimAge-kellon lisäksi koko aineistossa

myös aiemmissa tutkimuksissa useimmin käytetyllä Horvathin (2013) DNAm Age -epigeneettisellä kellolla edellä kuvatulla tavalla.

Tupakointi-muuttuja oli aineistossa kolmiluokkaisena luokitteluasteikollisena muuttujana, joka ei sellaisenaan täyttänyt lineaarisen regressioanalyysin oletuksia. Siksi tupakointimuuttujasta muodostettiin kaksi uutta kaksiluokkaista muuttujaa: 1) ”ei tupakoi”, jossa ne, jotka eivät olleet koskaan tupakoineet saivat arvon 1 ja muut arvon 0, ja 2) ”tupakoi”, jossa nykyiset tupakoijat saivat arvon 1 ja muut arvon 0. Näitä muuttujia käytettiin lineaarisessa regressioanalyysissä yhtä aikaa niin sanottuina dummy- eli tekomuuttujina kuvaamaan tutkittavien tupakointia, jolloin kaikki kolme tupakointiluokkaa tulivat huomioiduksi analyysissä. Dummy-muuttujia käytetään regressioanalyysissä luokiteltujen muuttujien pisteyttämiseen siten, että ne voivat olla mukana analyysissä (Tilastokeskus 2020).

## 8 TULOKSET

### 8.1 Tutkittavien taustatiedot

Tutkimusaineistossa oli yhteensä 1195 tutkittavaa, joista 759 oli nuoria ja 436 vanhempia aikuisia. Enemmistö tutkittavista oli naisia, nuoremmista 58,8 % ja vanhemmista 62,2 % (taulukko 1). Koko aineistossa naisten osuus tutkittavista oli 60 % ja miesten 40%. Tutkimushetkellä nuoret olivat 21-25-vuotiaita (keskiarvo, ka. 22,5 vuotta) ja vanhemmat 55-72-vuotiaita (ka. 62,5 vuotta).

Korkeakoulututkinnon oli nuoremmista tutkittavista suorittanut reilu puolet, naiset useammin kuin miehet (58.1 % vs. 50.2 %). Nuorempien naisten ja miesten välinen ero koulutuksen määrässä oli tilastollisesti merkitsevä ( $p = 0,021$ ) (taulukko 1). Vanhemmassa ikäluokassa sukupuolten välillä ei ollut tilastollisesti merkitsevää eroa koulutuksen määrässä. Nuoremmilta tutkittavilta koulutustieto puuttui vain yhdeltä, kun vanhemmassa ikäluokassa koulutustiedot puuttuivat lähes joka viidenneltä naiselta ja joka neljänneltä mieheltä.

Naisista yli puolella oli parisuhde. Nuoremmista naisista kaksi kolmasosaa ilmoitti joko seurustelevansa tai olevansa avio- tai avoliitossa, ja vanhemmista naisista lähes kolme neljästä eli avio- tai avoliitossa (taulukko 1). Nuorista miehistä sen sijaan hiukan yli puolet ei ilmoituk-sensa mukaan ollut parisuhteessa, kun taas vanhemmista miehistä neljä viidestä eli joko avio- tai avoliitossa. Sukupuolet erosivat parisuhteensa perusteella toisistaan tilastollisesti merkitsevästi molemmissa ikäryhmissä (nuoret  $p < 0,001$  ja vanhemmat  $p = 0,044$ ).

TAULUKKO 1. Tutkittavien taustatiedot sekä epigeneettinen ikä ja ikääntymisnopeus (GrimAge).

	Nuoremmat kaksoset, n=759				Vanhemmat kaksoset, n=436			
	Naiset	Miehet	Naisten ja miesten ero	Naisten ja miesten ero p-arvo	Naiset	Miehet	Naisten ja miesten ero	Naisten ja miesten ero p-arvo
Sukupuoli, n (%)	446 (58.8)	313 (41.2)			271 (62.2)	165 (37.8)		
Kronologinen ikä, vuosia (kh)	22.45 (0.76)	22.53 (0.80)	-0.08	0.147 <sup>1</sup>	62.57 (4.12)	62.29 (3.84)	0.28	0.469 <sup>1</sup>
Epigeneettinen ikä, vuosia (kh)	28.38 (3.11)	29.21 (2.92)	-0.83	<b>&lt; 0.001</b>	59.11 (4.86)	62.16 (5.52)	-3.05	<b>&lt; 0.001</b>
Epigeneettinen ikääntymisnopeus, ka (kh)	-0,43 (3.07)	0.34 (2.87)	-0.77	<b>0.001</b>	-1.20 (4.01)	2.02 (4.99)	-3.22	<b>&lt; 0.001</b>
Koulutusvuodet, ka (kh)	17.03 (3.52)	16.42 (3.63)	0.61	<b>0.022<sup>1</sup></b>	11.05	12.07	-1.2	0.213 <sup>1</sup>
Tieto puuttuu, n (%)	1 (0.2)	-			48 (17.7)	40 (24.2)		
Parisuhde, n (%)				<b>&lt; 0.001<sup>2</sup></b>				<b>0.044<sup>2</sup></b>
Parisuhteessa	289 (64.8)	149 (47.6)			178 (70.9)	130 (79.8)		
Ei parisuhdetta	156 (35.0)	161 (51.4)			73 (29.1)	33 (20.2)		
Tieto puuttuu	1 (0.2)	3 (1.0)			20 (7.4)	2 (1.2)		

Epigeneettinen ikä ja ikääntymisnopeus on laskettu GrimAge-algoritmin mukaan. Sukupuolten välinen ero on tilastollisesti merkitsevä, kun  $p < 0.050$ .

<sup>1</sup>riippumattomien otosten T-testi, kaksisuuntainen; <sup>2</sup>Pearsonin khiin neliö -testi; ka, keskiarvo; kh, keskihajonta.

## 8.2 Sukupuolten väliset erot elintavoissa

Naiset ja miehet erosivat elintavoiltaan kaikkien tutkittujen muuttujien (alkoholinkäyttö, painoindeksi ja tupakointi) osalta tilastollisesti merkitsevästi molemmissa ikäryhmissä (taulukko 2). Naiset käyttivät keskimäärin vähemmän alkoholia kuin miehet molemmissa ikäryhmissä, heidän painoindeksinsä oli keskimäärin alhaisempi kuin miesten, ja naisissa oli miehiin verrattuna vähemmän tupakoitsijoita.

Nuoret naiset käyttivät alkoholia keskimäärin 8,7 g päivässä ja nuoret miehet 20,4 g. Sukupuolten välinen ero päivittäisessä alkoholinkäytössä oli 11,7 g. Ero vanhempien naisten ja miesten välillä oli pienempi, vain 4,7 g/vrk:ssa. Vanhempien tutkittavien käyttämät annokset olivat sekä naisilla että miehillä pienempiä kuin nuorilla (5,8 g/vrk ja 10,49 g/vrk). Sukupuolten välinen ero alkoholinkäytössä oli molemmissa ikäryhmissä tilastollisesti merkitsevä ( $p < 0,001$ ).

Nuoremmat tutkittavat olivat painoindeksiltään keskimäärin normaalipainoisia, naisten painoindeksien keskiarvo oli 22,9 kg/m<sup>2</sup> ja miesten 24,0 kg/m<sup>2</sup>. Vanhemmat kaksoset olivat puolestaan keskimäärin lievästi ylipainoisia, naisten painoindeksien keskiarvo oli 26,8 kg/m<sup>2</sup> ja miesten 28,0 kg/m<sup>2</sup>. Sukupuolten välinen ero painoindeksissä oli molemmissa ikäryhmissä tilastollisesti merkitsevä (nuoremmilla  $p < 0,001$  ja vanhemmilla  $p = 0,012$ ).

Tupakoivia naisia oli vähemmän kuin tupakoivia miehiä molemmissa ikäryhmissä, ja vanhemmissa tutkittavissa tupakoitsijoiden osuus oli pienempi kuin nuorissa. Nuoremmista naisista tupakoi kolmannes ja miehistä vajaa puolet. Vanhemmista tutkittavista tupakoi harvempi kuin joka viides. Vanhemmassa ikäluokassa myös tupakoinnin lopettaneita naisia ja miehiä oli enemmän kuin nuorissa. Yli puolet koko tutkimusjoukon naisista ei ollut tupakoinut koskaan. Miehistä sen sijaan vain alle puolet ei ollut koskaan tupakoinut. Sukupuolten välinen ero tupakoinnissa oli molemmissa ikäryhmissä tilastollisesti merkitsevä (nuoremmilla  $p = 0,014$ , vanhemmilla  $p = 0,034$ ).

TAULUKKO 2. Erot alkoholinkäytössä, painoindeksissä ja tupakoinnissa sukupuolen ja kohortin mukaan.

	Nuoremmat kaksoset n = 759				Vanhemmat kaksoset n = 436			
	Naiset n = 446	Miehet n = 313	Naisten ja miesten ero	Naisten ja miesten ero p-arvo	Naiset n = 271	Miehet n = 165	Naisten ja miesten ero	Naisten ja miesten ero p-arvo
Alkoholi, g/vrk	8.7 (10.67)	20.2 (22.3)	-11.5	< <b>0.001</b> <sup>1</sup>	5.8 (9.38)	10.49 (13.57)	-4.7	< <b>0.001</b> <sup>1</sup>
BMI, kg/m <sup>2</sup>	22.92 (3.98)	24.01 (3.84)	-1.09	< <b>0.001</b> <sup>1</sup>	26.83 (5.15)	27.97 (4.22)	-1.14	<b>0.012</b> <sup>1</sup>
Tupakointi, n (%)				<b>0.014</b> <sup>2</sup>				<b>0.034</b> <sup>2</sup>
Ei tupakoi	231 (51.8)	141 (45.0)			151 (55.7)	71 (43.0)		
Lopettanut	71 (15.9)	39 (12.5)			80 (29.5)	65 (39.4)		
Tupakoi	144 (32.3)	133 (42.5)			40 (14.8)	29 (17.6)		

BMI=painoindeksi. Luvut kuvaavat alkoholinkäytön ja BMI:n osalta keskiarvoja ja keskihajontoja, tupakoinnin osalta tutkittavien määrää (prosenttiosuus suluissa). Sukupuolten välinen ero on tilastollisesti merkitsevä, kun  $p < 0.050$ . <sup>1</sup>Riippumattomien otosten t-testi, kaksisuuntainen, <sup>2</sup>Pearsonin khiin neliö -testi.

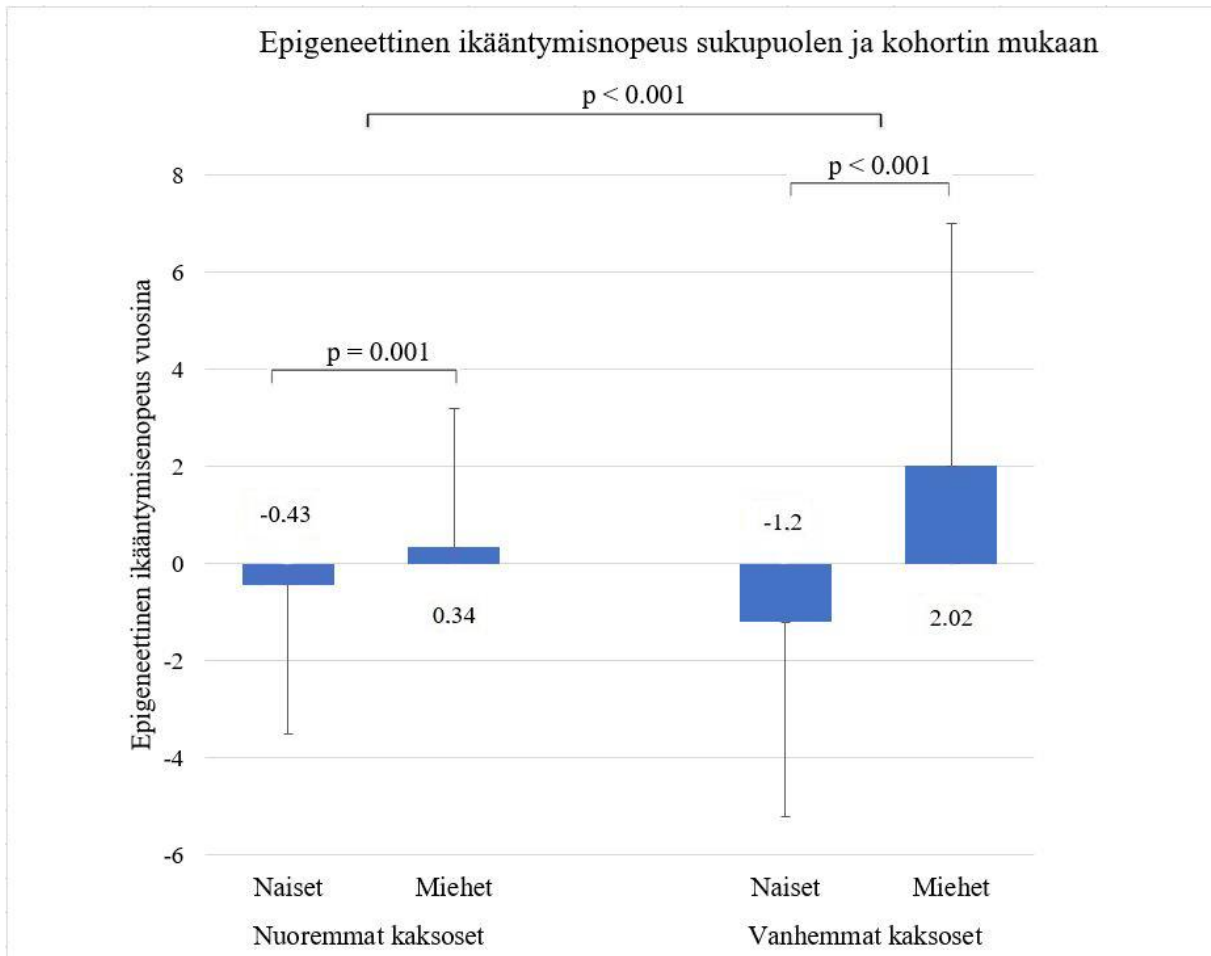


### 8.3 Epigeneettisen iän ja ikääntymisnopeuden yhteys sukupuoleen

Naiset olivat epigeneettiseltä iältään keskimäärin nuorempia kuin miehet ( $p < 0,001$ ), ja naisten epigeneettinen ikääntymisnopeus oli keskimäärin hitaampaa kuin miesten ( $p \leq 0,001$ ) (kuvio 3, taulukko 1) molemmissa ikäluokissa. Sukupuolten välinen ero epigeneettisessä ikääntymisessä oli kuitenkin erilainen nuoremmilla ja vanhemmilla tutkittavilla, sukupuoliero oli suurempi vanhemmilla kuin nuorilla (kuvio 3). Sukupuolen ja kohortin (sukupuoli\*kohortti) yhdysvaikutus epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen oli tilastollisesti merkitsevä ( $p < 0,001$ ).

Vanhemmat naiset ikääntyivät epigeneettisesti keskimäärin hitaammin kuin nuoremmat naiset (ero 0,77 vuotta,  $p = 0,006$ ) (kuvio 3). Sen sijaan vanhempien miesten epigeneettinen ikääntymisnopeus oli keskimäärin kiihtyneempää nuorempiin miehiin verrattuna (ero 1,68 vuotta,  $p < 0,001$ ). Ero naisten ja miesten välisissä epigeneettisen ikääntymisnopeuden keskiarvoissa oli suurempi vanhemmassa kohortissa. Nuoremmilla ero oli 0,77 vuotta ja vanhemmilla 3,22 vuotta.

Nuoret tutkittavat olivat epigeneettiseltä iältään keskimäärin noin kuusi vuotta vanhempia kronologiseen ikäänsä verrattuna, kun taas vanhemman kohortin tutkittavat olivat epigeneettiseltä iältään keskimäärin hiukan kronologista ikäänsä nuorempia, naiset keskimäärin 3,5 vuotta ja miehet 0,1 vuotta nuorempia (taulukko 1). Nuoremmassa kohortissa naiset olivat epigeneettiseltä iältään keskimäärin vajaan vuoden nuorempia kuin miehet ja vanhemmassa kohortissa keskimäärin kolme vuotta nuorempia kuin miehet. Naisten epigeneettinen ikääntymisnopeus oli sekä nuorilla että vanhemmilla tutkittavilla keskimäärin hitaampaa verrattuna heidän kronologiseen ikäänsä, ja miehillä puolestaan kiihtyneempää molemmissa ikäluokissa (kuvio 3).



KUVIO 3. Sukupuolierot epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa (GrimAge) kohorttien välillä. Arvot ovat keskiarvoja, hajontapylväät kuvaavat keskihajontaa.

#### 8.4 Sukupuolen ja elintapojen yhteys epigeneettiseen ikääntymiseen

Sukupuoli oli tilastollisesti merkitsevästi yhteydessä epigeneettisen ikääntymisnopeuden vaihteluun molemmissa ikäryhmissä (nuoret  $p = 0,001$  ja vanhemmat  $p < 0,001$ ) (taulukko 3). Yhteys pysyi merkitseväenä molemmissa ikäluokissa, vaikka malliin lisättiin selittäjiksi yksi kerrallaan tupakointi tai painoindeksi. Vain alkoholinkäytön lisääminen malliin pienensi sukupuolen regressiokerrointa niin paljon, että sukupuolella ei ollut enää tilastollisesti merkitsevää yhteyttä epigeneettisen ikääntymisnopeuden vaihteluun nuoremmilla tutkittavilla ( $p = 0,171$ ),

mutta samaa ei havaittu vanhemmilla tutkittavilla. Myös kaikkien kolmen elintapatekijän liittäminen malliin yhtä aikaa riitti alentamaan sukupuolen regressiokerrointa alle tilastollisen merkitsevyyden nuorilla tutkittavilla, mutta ei vanhemmilla.

TAULUKKO 3. Epigeneettisen ikääntymisnopeuden (GrimAge) ja sukupuolen välinen yhteys nuoremassa ja vanhemmassa kohortissa sekä elintavat (alkoholinkäyttö, painoindeksi ja tupakointi) sukupuolten välisen eron selittäjänä.

	Nuoremmat kaksoset n = 759			Vanhemmat kaksoset n = 436		
	Sukupuoli β (KV)	p-arvo	Mallin korjattu selitysaste r <sup>2</sup>	Sukupuoli β (KV)	p-arvo	Mallin korjattu selitysaste r <sup>2</sup>
<b>Epigeneettinen ikääntymisnopeus</b>						
Sukupuoli <sup>1</sup>	0.763 (0.220)	<b>0.001</b>	0.014	3.220 (0.435)	<b>&lt;0.001</b>	0.110
+Alkoholi g/vrk	0.312 (0.228)	0.171	0.059	2.859 (0.436)	<b>&lt;0.001</b>	0.142
+BMI kg/m <sup>2</sup>	0.644 (0.220)	<b>0.004</b>	0.033	3.063 (0.433)	<b>&lt;0.001</b>	0.128
+Tupakointi <sup>2</sup>	0.460 (0.192)	<b>0.017</b>	0.258	2.824 (0.320)	<b>&lt;0.001</b>	0.526
+ Alkoholi g/vrk, BMI kg/m <sup>2</sup> , tupakointi <sup>2</sup>	0.221 (0.202)	0.273	0.273	2.565 (0.321)	<b>&lt;0.001</b>	0.546

Elintapatekijät lisättiin malliin ensin yksi kerrallaan yhdessä sukupuolen kanssa ja lopuksi kaikki kolme samalla kertaa. β, standardoimaton beta- eli regressiokerroin, indikoi keskimääräistä sukupuolieroja (referenssiryhmä naiset); KV, keskivirhe; r<sup>2</sup>, regressiomallin selitysosuus; BMI, painoindeksi. Selittäjä on tilastollisesti merkitsevä, kun p<0.050. <sup>1</sup>Sukupuoli: 0 = nainen, 1 = mies; <sup>2</sup>Tupakointi on mallissa kahtena ns. dummy-muuttujana: ”ei tupakoi” ja ”tupakoi”.

Sukupuolen ja elintapojen yhteyttä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen tarkastelevien mallien selitysasteet jäivät pääosin melko mataliksi. Sukupuoli yksinään selitti nuorilla vain 1,4 % ja vanhemmilla 11,0 % epigeneettisen ikääntymisnopeuden vaihtelusta. Alkoholinkäytön tai painoindeksin liittäminen malliin nosti mallien selitysasteita vain vähän. Sen sijaan, kun tupakointi liitettiin malliin, nousi mallin selitysaste nuorilla 25,8 %:in ja vanhemmilla 52,6 %:in, mikä kertoo tupakoinnin alkoholinkäyttöä ja painoindeksiä vahvemmassa yhteydestä epigeneettiseen ikääntymisnopeuden vaihteluun tutkittavilla molemmilla ikäluokissa.

Vertailun vuoksi tarkasteltiin sukupuolen ja elintapojen yhteyttä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen myös Horvathin (2013) DNAm Age -kellolla (taulukko 4). Sukupuolella oli tilastollisesti merkitsevä yhteys epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen myös Horvathin kellolla arvioituna ( $p < 0,001$ ). Sen sijaan Horvathin kellolla tarkasteltuna mikään elintavoista yksinään, eivätkä elintavat edes yhdessä riittäneet alentamaan sukupuolen regressiokerrointa alle tilastollisen merkitsevyyden epigeneettistä ikääntymisnopeutta selittävissä malleissa. Samoin muutokset selittäjissä näkyivät vain hyvin pieninä eroina sukupuolen regressiokertoimessa ja mallien selitysasteissa.

TAULUKKO 4. Epigeneettisen ikääntymisnopeuden (Horvathin DNAm Age -kello) ja sukupuolen välinen yhteys nuoremmassa ja vanhemmassa kohortissa sekä elintavat (alkoholin käyttö, painoindeksi ja tupakointi) sukupuolten välisen eron selittäjänä.

	Nuoremmat kaksoset			Vanhemmat kaksoset		
	Sukupuoli $\beta$ (KV)	p-arvo	Mallin korjattu selitysaste $r^2$	Sukupuoli $\beta$ (KV)	p-arvo	Mallin korjattu selitysaste $r^2$
<b>Epigeneettinen ikääntymisnopeus DNAm Age</b>						
Sukupuoli <sup>1</sup>	1.195 (0.245)	<0.001	0.029	2.414 (0.523)	<0.001	0.045
+Alkoholi g/vrk	1.249 (0.259)	<0.001	0.028	2.430 (0.534)	<0.001	0.042
+BMI kg/m <sup>2</sup>	1.132 (0.247)	<0.001	0.032	2.412 (0.527)	<0.001	0.042
+Tupakointi <sup>2</sup>	1.209 (0.247)	<0.001	0.027	2.306 (0.525)	<0.001	0.050
+Alkoholi g/vrk, BMI kg/m <sup>2</sup> , tupakointi <sup>2</sup>	1.207 (0.261)	<0.001	0.030	2.370 (0.539)	<0.001	0.047

Elintapatekijät lisättiin malliin ensin yksi kerrallaan yhdessä sukupuolen kanssa ja lopuksi kaikki kolme samalla kertaa.  $\beta$ , standardoimaton beta- eli regressiokerroin, indikoi keskimääräistä sukupuolieroa (referenssiryhmä naiset); KV, keskiarvo;  $r^2$ , regressiomallin selitysaste; BMI, painoindeksi. Selittäjä on tilastollisesti merkitsevä, kun  $p < 0.050$ . <sup>1</sup>Sukupuoli: 0 = nainen, 1 = mies; <sup>2</sup>Tupakointi on mallissa kahtena ns. dummy-muuttujana: ”ei tupakoi” ja ”tupakoi”.

## 8.5 Eri sukupuolta olevien kaksosten erot epigeneettisessä ikääntymisessä

Lopuksi analyysit sukupuolten välisistä eroista epigeneettisessä ikääntymisessä, elintavoissa sekä elintapojen yhteydestä epigeneettisen ikääntymisen vaihteluun toistettiin myös aineiston eri sukupuolta olevilla kaksospareilla (taulukko 5). Eri sukupuolta olevien kaksosparien naiset

ikäntyivät epigeneettisesti keskimäärin 0,4 vuotta kronologista ikäänsä hitaammin, kun kaksosparien miehet ikääntyivät noin 0,6 vuotta kronologista ikäänsä nopeammin. Ero sukupuolten välillä oli tilastollisesti merkitsevä ( $p < 0,001$ ). Kaksosparin naisten ja miesten välinen ero epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa oli keskimäärin yksi vuosi naisten eduksi ( $p = 0,004$ ).

Elintavoiltaan kaksosparien miehet ja naiset erosivat tilastollisesti merkitsevästi sekä alkoholin käytön että painoindeksin suhteen. Naispuoliset kaksoset käyttivät alkoholia keskimäärin 12 grammaa miespuolisia kaksosparejaan vähemmän ( $p < 0,001$ ), ja olivat painoindeksiltään keskimäärin 1,2 kg/m<sup>2</sup> pienempiä kuin kaksosparien miehet ( $p = 0,014$ ). Tupakoinnin suhteen eri sukupuolta olevat kaksoset eivät eronneet ( $p = 0,069$ ).

TAULUKKO 5. Sukupuolten väliset erot epigeneettisessä iässä (GrimAge), epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa ja elintavoissa eri sukupuolta olevilla nuorilla kaksospareilla keskimäärin 22,5 vuoden iässä,  $n = 85$ .

<b>Eri sukupuolta olevat kaksosparit (85 paria, n = 170)</b>				
	Kaksosparin nainen	Kaksosparin mies	Kaksosten välinen ero	p-arvo
Epigeneettinen ikä, vuosia (kh)	28.48 (2.97)	29.43 (2.89)	-0.95 (0.8)	<b>&lt;0.001<sup>1</sup></b>
Epigeneettinen ikääntymisnopeus, vuosia (kh)	-0.35 (2.95)	0.61 (2.91)	-0.96 (0.4)	<b>0.004<sup>1</sup></b>
Alkoholin käyttö, g/vrk	8.9 (9.43)	20.91 (23.99)	-12.01 (14.56)	<b>&lt;0.001<sup>1</sup></b>
BMI, kg/m <sup>2</sup>	22.96 (3.79)	24.20 (4.19)	-1.24 (0.4)	<b>0.014<sup>1</sup></b>
Tupakointi, n (%)				0.069 <sup>2</sup>
Ei tupakoi	34 (40.0)	33 (38.8)		
Lopettanut	20 (23.5)	16 (18.8)		
Tupakoi	31 (36.5)	36 (42.4)		

Epigeneettinen ikä ja ikääntymisnopeus laskettu GrimAge-algoritmeilla. Luvut ovat keskiarvoja ja keskihajontoja (suluissa) ellei toisin ole ilmoitettu. Sukupuolten välinen ero on tilastollisesti merkitsevä, kun  $p < 0.050$ . <sup>1</sup>Riippuvien otosten t-testi; <sup>2</sup>Pearsonin khiin neliö -testi. BMI, painoindeksi.

Myös eri sukupuolta olevilla kaksospareilla sukupuoli oli tilastollisesti merkitsevästi yhteydessä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen ( $p=0,035$ ) (taulukko 6). Lisäksi mallissa eri sukupuolta olevien kaksosparien sukupuolen regressiokerroin ja mallin selitysaste olivat hiukan

suuremmat kuin koko aineiston analyysissä. Kun malliin lisättiin yksi kerrallaan alkoholin käyttö tai painoindeksi, aleni sukupuolen regressiokerroin kummassakin tapauksessa alle tilastollisen merkitsevyyden tason. Tupakoinnin lisääminen malliin ei alentanut sukupuolen regressiokerrointa alle tilastollisen merkitsevyyden myöskään kaksospareilla. Tulos poikkesi koko nuorten tutkittavien joukosta siltä osin, että eri sukupuolta olevilla kaksospareilla alkoholin lisäksi myös painoindeksi selitti sukupuolten välistä eroa epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa.

TAULUKKO 6. Sukupuolen ja elintapojen yhteys epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen (GrimAge) eri sukupuolta olevilla nuorilla kaksospareilla.

<b>Eri sukupuolta olevat kaksosparit (85 paria, n=170)</b>			
	Sukupuoli $\beta$ (KV)	p-arvo	Mallin korjattu selityssaste $r^2$
<b>Epigeneettinen ikääntymisnopeus</b>			
Sukupuoli <sup>1</sup>	0.957 (0.449)	<b>0.035</b>	0.020
+Alkoholinkäyttö	0.469 (0.459)	0.309	0.078
+BMI	0.813 (0.451)	0.073	0.039
+Tupakointi <sup>2</sup>	0.818 (0.393)	<b>0.039</b>	0.256
+Alkoholinkäyttö, BMI, tupakointi <sup>2</sup>	0.449 (0.413)	0.279	0.278

Elintapatekijät lisättiin malliin ensin yksi kerrallaan yhdessä sukupuolen kanssa ja lopuksi kaikki kolme samalla kertaa.  $\beta$ , standardoimaton beta- eli regressiokerroin, indikoi keskimääräistä sukupuolieroa (referenssiryhmä naiset). KV, keskivirhe;  $r^2$ , regressiomallin selityssosuus.

Selittäjä on tilastollisesti merkitsevä, kun  $p < 0.050$ . <sup>1</sup>Sukupuoli: 0 = nainen, 1 = mies; <sup>2</sup>Tupakointi on mallissa kahtena ns. dummy-muuttujana: ”ei tupakoi” ja ”tupakoi”.

## 9 POHDINTA

Sukupuolten välistä eroa eliniässä on tutkittu jo vuosikymmeniä, mutta edelleenkin ei ole varmaa tietoa, missä määrin biologiset tai ympäristöön ja elintapoihin liittyvät tekijät selittävät eroa. Uuden biologisen ikääntymisen mittarin, epigeneettisten kellon avulla ilmiötä on mahdollista tarkastella solutasolla tapahtuvien muutosten perusteella. Tässä työssä tarkasteltiin ikääntymisen sukupuolieroja biologisena ilmiönä epigeneettisen ikääntymisen näkökulmasta. Sukupuolieroja arvioitiin ensimmäistä kertaa eri ikäisissä suomalaisissa kohorteissa käyttäen viime vuonna julkaistua GrimAge -epigeneettistä kelloa (Lu ym. 2019). Naisten etu sukupuolten välisessä epigeneettisessä ikääntymisessä ilmeni sekä nuoremmilla että vanhemmilla aikuisilla, mikä vahvistaa aiempia havaintoja ikääntymisen sukupuolierosta (Hannum ym. 2013; Horvath ym. 2016; Zhao ym. 2019). Naisten ja miesten välinen ero ikääntymisnopeudessa oli suurempi vanhemmilla verrattuna nuoriin, mutta ero ei liittynyt selkeästi elintapojen vaikutuksiin. Ainoastaan alkoholinkäyttö ja painoindeksi selittivät sukupuolieroja vähäisissä määrin, mikä viittaa siihen, että ikääntymisen sukupuolierojen taustalla saattaa olla myös biologisten tekijöiden itsenäisiä vaikutuksia, jotka voimistuvat iän myötä.

*Epigeneettisen iän sukupuolierot eri ikäisillä.* Sukupuolten välinen ero epigeneettisessä ikääntymisessä on havaittu aiemmin sekä vanhempia epigeneettisiä kelloja käyttäneissä tutkimuksissa (Hannum ym. 2013; Horvath ym. 2016; Marioni ym. 2015a; Marioni ym. 2016; Dugué ym. 2018) että uudella GrimAge-kellolla tehdyissä analyyseissä (Zhao ym. 2019). Näyttö ei ole kuitenkaan systemaattista, sillä sukupuoliero epigeneettisessä ikääntymisessä ei ole havaittu kaikissa vanhempia epigeneettisiä kelloja käyttäneissä tutkimuksissa (Chen ym. 2016; Fransquet ym. 2019). Sukupuoli on huomioitu GrimAge-kellon kehitystyössä yhtenä kuolleisuusriskinä ennustavana tekijänä, ja GrimAge-kello tarkastelee huomattavasti useamman CpG-kohdan metylaatiomuutoksia DNA:ssa kuin aiemmin julkaistut kellot (1030 vs. 3-513) (Weidner ym. 2014; Levine ym. 2018). Naisten ja miesten välinen ero näkyi tässä tutkielmassa paitsi uuden sukupolven GrimAge -kellolla myös ensimmäisen sukupolven Horvathin kellolla mitattuna, mikä viittaa siihen, että sukupuoliero eliniän pituudessa pystytään mittaamaan epigeneettisillä kelloilla.

Epigeneettisiä kelloja on käytetty ikääntymistutkimuksessa vasta vuodesta 2013, ja GrimAge-kello julkaistiin viime vuonna. Käsitys epigeneettisestä ikääntymisnopeudesta ja siihen vaikuttavista tekijöistä on vasta muodostumassa. Vaikka epigeneettisillä kelloilla tehtyjä tutkimuksia on jo jonkin verran, tehdyt tutkimukset poikkeavat tutkimuskysymystensä, -asetelmiensa sekä kohderyhmiensä osalta. Epigeneettisen ikääntymisen sukupuolieron kehitymisestä ja siihen yhteydessä olevista tekijöistä ei ole aiempia tutkimuksia. Epigeneettistä ikääntymistä tarkastelleiden tutkimusten perusteella DNA:n metylaatiomuutosten arvellaan olevan pitkälti perimän säätelemää ja muotoutuvan jo ennen aikuisikää (Kananen ym. 2016b). Toisaalta kaksostutkimus puoltaa käsitystä, että nuorilla aikuisilla perimän selitysosuus epigeneettisestä ikääntymisnopeudesta on suuri (75 %), kun taas vanhemmilla perimän ja yksilöllisten ympäristötekijöiden selitysosuus olisi lähes yhtä suuri (53 % vs. 47 %) (Sillanpää ym. 2019). Myös tämän tutkielman nuorten pienempi sukupuoliero epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa vanhempiin verrattuna kertoo perimän vahvasta yhteydestä nuorten epigeneetisiin muutoksiin. Havainnot vanhempien tutkittavien nuoria suuremmasta sukupuolierosta ja laajemmasta hajonnasta epigeneettisen ikääntymisnopeuden vaihtelussa viittaavat kuitenkin siihen, että yksilöllisten ympäristötekijöiden ja ikääntymiseen liittyvien biologisten muutosten kumuloituminen jatkuu läpi koko aikuisiän.

Myös tulokset epigeneettisen ikääntymisnopeuden kehittymisestä ajan kuluessa ovat ristiriitaisia; Marionin ym. (2019) Horvathin kellolla ja Hannumin kelloilla tekemän pitkittäistutkimuksen mukaan epigeneettinen ikääntymisnopeus hidastuu ajan kuluessa suhteessa kronologiseen ikään, kun taas Zhaon ym. (2019) GrimAge-kellolla tekemien havaintojen mukaan epigeneettinen ikääntymisnopeus kiihtyy ajan kuluessa. Tämän tutkimuksen havainto vanhempien naisten keskimäärin hitaammasta epigeneettisestä ikääntymisnopeudesta nuoriin naisiin verrattuna (-1,20 v. vs. -0,43 v.) on linjassa Marionin ym. (2019) tulosten kanssa. Sen sijaan vanhempien miesten epigeneettinen ikääntymisnopeus oli tässä aineistossa keskimäärin kiihtyneempää kuin nuorten miesten (2,02 v. vs. 0,34), mikä taas on samansuuntainen Zhaon ym. (2019) tulosten kanssa. Tämä tutkimus oli poikittaistutkimus, kun taas sekä Marionin ym. (2019) että Zhaon ym. (2019) tutkimukset olivat pitkittäistutkimuksia, mikä saattaa osittain selittää tulosten välisiä eroja. Tässä työssä käytettiin myös eri kelloa kuin Marionin ym. (2019) tutkimuksessa.



*Elintapojen yhteys sukupuolieroihin epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa.* Elintapojen on arveltu selittävän naisten ja miesten eliniässä havaitusta erosta jopa yli puolet, ja taustalla näyttäisi olevan erityisesti tupakointiin ja alkoholinkäyttöön (McCartney ym. 2011; Pitkälä & Strandberg 2015) sekä ylipainoon liittyviä tekijöitä (Bhaskaran ym. 2018; Yusuf ym. 2019; Xiao ym. 2019). Kaikkien kolmen elintapatekijän on aiemmin havaittu olevan yhteydessä myös kiihtyneeseen epigeneettiseen ikääntymiseen (Beach ym. 2015; Gao ym. 2016; Quach ym. 2017; Fiorito ym. 2019; Zhao ym. 2019; Lei ym. 2020; Ryan ym. 2020). Sukupuolet erosivat elintavoiltaan tilastollisesti merkitsevästi kaikkien tutkittujen elintapojen osalta molemmissa ikäryhmissä.

Tässä tutkielmassa alkoholinkäyttö selitti nuorilla aikuisilla havaittua sukupuolieroa epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa, mutta samaa ilmiötä ei havaittu vanhemmilla tutkittavilla. Tarkasteltujen elintapojen yhteys epigeneettisen ikääntymisnopeuden sukupuolieroon oli kaikkiaan vähäistä ja näkyi osittainkin vain nuorilla. Tämä saattaa viitata siihen, että epigeneettisen ikääntymisen sukupuolieron taustalla on pääosin biologisia tekijöitä. Aiemmin esimerkiksi estrogeenin ja testosteronin erilaiset taudeilta suojaavat tai niille altistavat piirteet on yhdistetty sukupuolten väliseen eroon eliniässä (McClelland & Smith 2011; Ostan ym. 2016; Marais ym. 2018) samoin kuin naisten saama etu kahdesta X-kromosomista (Newman & Murito 2013; Ostan ym. 2016). Myös naisten ja miesten immuunipuolustuksessa havaittujen erojen arvellaan olevan yhteydessä ikääntymisen sukupuolieroihin (McClelland & Smith 2011; Gubbels Bupp 2015).

Runsaan alkoholinkäytön yhteys suurempaan naisten ja miesten väliseen eroon odotettavissa olevassa eliniässä on tunnistettu myös laajoissa kansainvälisissä rekisteritutkimuksissa (McCartney ym. 2011; Rochelle ym. 2014; Trias-Llimós & Janssen 2018), ja alkoholinkäyttö selittää suuremman osan miesten enneaikaisista kuolemista kuin naisten (6 % vs. 2 %) (Muller ym. 2016). Tässä tutkielmassa alkoholinkäyttö oli yhteydessä vain nuorempien aikuisten epigeneettisen ikääntymisnopeuden sukupuolieroon. Juomatapatutkimuksen (Härkönen & Mäkelä 2016) mukaan suomalaiset eroavat alkoholinkäyttötottumuksiltaan paitsi sukupuolen myös iän ja syntymäkohortin mukaan. Vanhemmat käyttivät tässä aineistossa alkoholia nuoria vähemmän ja vanhempien naisten ja miesten välinen ero (4,7 g/vrk) alkoholin keskimääräi-

sessä päiväannoksessa oli pienempi kuin nuorilla (11,7 g/vrk). Ikäryhmien välisestä erosta suuri osa selittyi nuorten miesten runsaammalla juomisella vanhoihin miehiin verrattuna.

Alkoholinkäytön sukupuolieroihin on aiemmin yhdistetty sekä kulttuuriin että sukupuolten biologisiin eroihin liittyviä tekijöitä (Erol & Karpyak 2015). Esimerkiksi matalampi koulutustaso on itsenäisesti yhteydessä kiihtyneeseen epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen (Fiorito ym. 2019; Zhao ym. 2019) sekä alkoholinkäytössä havaittuihin eroihin (Rosoff ym. 2019). Korkeammin koulutetuilla on vähemmän humalahakuista juomista, he juovat vähemmän ja miedompia alkoholijuomia, ja heidän riskinsä alkoholin ongelmakäyttöön on pienempi kuin vähemmän koulutetuilla (Rosoff ym. 2019). Nuoret naiset olivat tässä tutkimuksessa korkeammin koulutettuja kuin nuoret miehet, mikä saattaa olla yhteydessä sekä epigeneettisessä ikääntymisessä että tutkittavien alkoholinkäytössä näkyvään sukupuolieroon. Biologiset erot ilmiön mahdollisina selittäjinä voivat liittyä esimerkiksi naisten ja miesten elimistön erilaiseen kykyyn käsitellä alkoholia, alkoholin erilaisiin vaikutuksiin naisten ja miesten aivoissa sekä sukupuolihormoneihin (Erol & Karpyak 2015). Esimerkiksi testosteronin arvioidaan lisäävän miehillä alttiutta riskikäyttäytymiseen, mikä näkyy miesten naisia yleisempänä päihitteiden väärinkäyttönä ja suurempana määränä tapaturma- ja väkivaltakuolemia (Marais ym. 2018).

On myös huomattava, että vanhemmilla sukupuolen itsenäinen selitysosuus epigeneettisen ikääntymisen vaihtelusta oli reilusti nuoria suurempi (11,4 % vs. 1,4 %), minkä vuoksi kovin pienet erot elintavoissa sukupuolten välillä eivät vanhemmilla helposti heikennä sukupuolen merkitsevää yhteyttä epigeneettisen ikääntymisnopeuden vaihteluun. Alkoholin lisääminen analyysihin sukupuolen rinnalle ei nostanut mallien selitysasteita kovinkaan paljon kummasakaan ikäryhmässä (nuorilla 1,4 % →5,9 % ja vanhemmilla 11,0 %→14,2 %), mikä kertoo siitä, että alkoholilla ei ole kovin vahvaa yhteyttä epigeneettiseen ikääntymisnopeuden vaihteluun GrimAge-kellolla mitattuna. Tupakointi puolestaan nosti mallien selitysasteet moninkertaiseksi sekä nuorilla (25,8 %) että vanhoilla (52,6 %), vaikka tupakointi ei selittänyt epigeneettisen ikääntymisen sukupuolieroja. Havainto kertoo tupakan vahvasta yhteydestä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen ja GrimAge -kellon herkkyydestä havaita tupakointiin liittyvät epigeneettiset metylaatiomuutokset. Tämä on luonnollista, sillä GrimAge -kellon kehitys-

työssä askivuosina mitattu tupakointi oli yksi tekijä, joka huomioitiin etsittäessä parhaiten elinikää ja sairastuvuutta ennustavia kohtia DNA:n metylaatiomuutoksista.

*Eri sukupuolta olevat kaksoset.* Tutkielmassa verrattiin ikääntymistä ja elintapoja myös aineiston eri sukupuolta olevilla nuorilla kaksospareilla. Tämä mahdollisti geneettisen perimän kontrolloimisen niin hyvin kuin se yleensäkin on mahdollista tutkittaessa sukupuolieroja, sillä kaksoset jakavat perimästään keskimäärin 50 %. Myös osittain yhteisen kasvuympäristön vaikutus saatiin näin huomioitua. Kaksosparin naisten ja miesten välinen ero epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa oli 0,96 vuotta, mikä oli marginaalisesti suurempi (0,2 vuotta) kuin koko aineiston nuorilla naisilla ja miehillä. Kaksosparit erosivat hieman enemmän elintavoiltaan koko aineiston nuoriin verrattuna sekä alkoholinkäytön (sukupuolten välinen ero +0,6 g/vrk) että painoindeksin (sukupuolten välinen ero +0,15 kg/m<sup>2</sup>) suhteen johtuen lähinnä kaksosparien miesten koko aineiston nuoria miehiä haitallisemmista elintavoista. Tupakointitavoiltaan kaksosparit olivat sen sijaan hyvin samankaltaisia. Eri sukupuolta olevilla kaksosilla alkoholinkäytön lisäksi myös painoindeksi selitti sukupuolten välistä eroa epigeneettisessä ikääntymisnopeuden vaihtelussa. Havainto elintapaerojen yhteydestä eri sukupuolta olevien kaksosten epigeneettisen ikääntymisen eroihin vahvistaa käsitystä, että biologisten tekijöiden lisäksi sukupuolieroon vaikuttaisi myös elintapoihin yhteydessä olevia tekijöitä

*Epigeneettisten kellojen erot.* Tutkittavien epigeneettistä ikää ja ikääntymisnopeutta arvioitiin tässä tutkielmassa Lun ym. vuonna 2019 julkaisemalla toisen sukupolven GrimAge - epigeneettisellä kellolla. Elintapojen yhteyttä epigeneettiseen ikääntymisnopeuteen tarkasteltiin vertailun vuoksi myös Horvathin (2013) ensimmäisen sukupolven epigeneettisellä kellolla. Kellojen on havaittu korreloivan keskimäärin melko voimakkaasti ( $r = 0,77$ ) (Zhao ym. 2019), vaikka GrimAge on kehitetty ennustamaan kuolemanriskiä (Lu ym. 2019), kun taas Horvathin kello on kehitetty ennustamaan kalenteri-ikä (Horvath 2013). Molemmilla kelloilla tarkasteltuina miehet ikääntyivät naisia nopeammin sekä nuorten että vanhempien kohorteissa. Elintavat eivät kuitenkaan selittäneet sukupuolten välistä eroa epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa Horvathin kellolla tehdyissä analyyseissä, eivätkä lisänneet mallien selityksasteita pelkkään sukupuoleen verrattuna. Kellojen vertailu toi selkeästi esille kellojen kehittämisen taustalla olevat erot, jotka on huomioitava erityisesti elintapoihin liittyvissä tutkimuksissa. Kellojen kehitystyössä käytettyjen testiaineistojen ominaisuuksien tunteminen on

tärkeää tulosten tulkinnan kannalta (Bell ym. 2019; Marioni ym. 2019). GrimAge-kellon katsotaan ennustavan toistaiseksi julkaistuista epigeneettisistä kelloista kaikkein luotettavimmin elinikää sekä ikääntymiseen liittyviä sairauksia ja havaitsevan parhaiten erilaisten elintapojen yhteydet epigeneettiseen ikääntymiseen (Hillary ym. 2020; Zhao ym. 2019). Vaikka epigeneettinen tutkimus on edennyt viimeisen vuosikymmenen aikana nopeasti, edelleenkin ei tiedetä varmasti, mitä epigeneettisten kellojen kertomat arvot kuvaavat; heijastavatko muutokset DNA:n metylaatioissa jo tapahtuneita ikääntymismuutoksia, vai voivatko epigeneettiset metylaatiomuutokset mahdollisesti olla ikääntymistä liikkeelle paneva voima (Ashapkin ym. 2019).

*Tulosten yleistettävyys.* Tämän tutkimuksen vahvuutena on laaja väestöpohjainen aineisto (n=1195), jossa oli sekä nuoria (n=759) että vanhempia (n=436) aikuisia. Tutkittavilta oli myös saatu kattavasti kaikki tutkimuskysymysten kannalta oleelliset tiedot vertailukelpoisessa muodossa. Tutkittavat edustavat hyvin suomalaista väestöä, koska kaksostutkimukseen on niiden alkuvaiheessa kutsuttu mukaan kaikki tiettyinä vuosina syntyneet suomalaiset kaksoset (Kaprio ym. 2019; Rose ym. 2019). Tulosten voidaan siis olettaa kuvaavan suomalaisten nuorten aikuisten ja myöhäisessä keski-ikässä tai eläkeiän alussa olevien aikuisten sukupuolieroa epigeneettisen ikääntymisen vaihtelussa. Myös eri sukupuolta olevilla nuorilla kaksospareilla toistetut analyysit antoivat mahdollisuuden perimän ja lapsuuden kasvuympäristön osittaiseen kontrolloimiseen tulosten tarkastelussa.

*Tutkimuksen rajoitukset.* Tämä tutkimus oli poikkileikkaustutkimus, jonka rajoituksena on, että epigeneettistä ikääntymistä ja elintapatekijöitä tarkasteltiin vain yhdessä aikapisteessä. Myös tieto altistusten ajankohdasta ja kestosta olisi ollut hyödyllistä tulosten tulkinnan kannalta. Elintapatekijät rajattiin tässä työssä alkoholinkäyttöön, painoindeksiin ja tupakointiin, koska niiden on aiemmissa tutkimuksissa havaittu selittävän sukupuolten välisiä kuolleisuuseroja (Carter ym. 2015; Grant ym. 2015; Muller ym. 2016; Yusuf ym. 2019). Elintapatekijöiden rajaamista kolmeen selittäjään voidaan pitää tämän työn heikkoutena, sillä tarkastelun ulkopuolelle jäivät esimerkiksi fyysiseen aktiivisuuteen, ravitsemukseen ja uneen liittyvät tekijät. Painoindeksin katsotaan kuitenkin heijastavan henkilön ravitsemustilannetta (World Health Organisation 2019) sekä olevan ravinnon ja liikunnan yhteisvaikutusta energiatasapainoon kuvaava suure (Vuori 2015).

Tarkastelun ulkopuolelle jäivät tässä tutkielmassa myös tutkittavien mahdolliset epigeneettiseen ikään yhteydessä olevat sairaudet, mikä rajoittaa tulosten tulkintaa. Monilla sairauksilla, kuten syövilillä (Kresovich ym. 2019) ja sydän- ja verisuonitaudeilla (Levine ym. 2018) on havaittu selkeä yhteys epigeneettisen ikääntymisnopeuden vaihteluun. Myöskään koulutuksen yhteyttä sukupuolieroihin tutkittavien epigeneettisessä iässä ei arvioitu, koska tässä tutkimuksessa haluttiin tarkastella naisten ja miesten elintapojen itsenäistä yhteyttä epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa näkyvään sukupuolieroon. Koulutuksen ja terveydelle haitallisten elintapojen yhteys on havaittu monissa tutkimuksissa (Rosoff ym. 2019), jolloin elintapojen ja koulutuksen itsenäisen selitysosuuden erottaminen toisistaan tämän tutkielman tutkimusky- symyksen luotettavan analysoinnin kannalta olisi ollut haastavaa.

Tutkimusaineistossa tutkittavien alkoholinkulutusta tarkasteltiin heidän edellisen viikon alkoholinkäytöstään antamiensa tietojen perusteella. Käytössä ollut tutkimusaineisto ei sisältänyt tietoa, paljonko tutkittavien edellisellä viikolla nauttima alkoholimäärä poikkesi heidän normaalin keskimääräisen viikon alkoholinkulutuksestaan. Tutkittavien määrä tutkimuksessa oli kuitenkin sen verran suuri ( $n = 1195$ ), että mahdolliset poikkeamat tuskin vääristävät koko joukkoa kuvaavia keskimääräisiä tuloksia. Myöskään alkoholinkäytön useudesta tai kerralla nautituista määristä ollut tietoa, minkä vuoksi tulosten tulkinnassa ja niiden yleistettävyydessä on oltava varovainen. Itse raportoituja tietoja käytetyistä alkoholimääriä voivat myös vääristää tutkittavien paineet antaa sosiaalisesti hyväksyttävä kuva alkoholinkulutuksestaan, mutta kyselyihin perustuvat alkoholinkäyttötiedot on kuitenkin arvioitu riittävän luotettaviksi tutkimusten kannalta (Boca & Darkes 2003).

Alkoholinkäytön yhteys terveyteen ei ole myöskään suoraviivaista; kohtuullisen alkoholinkäytön on useissa tutkimuksissa havaittu olevan esimerkiksi sydänterveydelle edullisempaa kuin alkoholista pidättäytymisen tai erittäin runsaan alkoholinkäytön (Plunk ym. 2013). Myös epigeneettisillä kelloilla on havaittu kohtuullisen alkoholinkäytön positiivinen vaikutus epigeneettiseen ikääntymiseen (Beach ym. 2015; Quach ym. 2017). Samoin painoindeksin osalta on huomioitava, että terveyshaittoja on havaittavissa sekä alhaisilla ( $BMI < 18,5 \text{ kg/m}^2$ ) (Global BMI Mortality Collaboration 2016) että korkeilla ( $BMI > 30 \text{ kg/m}^2$ ) painoindeksin arvoilla, ja yli 65-vuotiaille suositellut arvot ( $BMI 23\text{--}29 \text{ kg/m}^2$ ) ovat hieman normaaliarvoja ( $BMI 18,5\text{--}24,9$ ) korkeammat (Chapman 2010; Bhaskaran ym. 2018; Lihavuus (lapset, nuoret ja

aikuiset) Käypä hoito -suositus 2020). Iäkkäämmillä henkilöillä lievä ylipaino ei näyttäisi olevan yhteydessä suurentuneeseen kuolemanriskiin (Winter ym. 2014; Bhaskaran ym. 2018). Painoindeksi ei myöskään erottele painon taustalla olevan massan laatua (esimerkiksi lihaskudos vs. rasvakudos) eikä sijaintia (viskeraalinen vs. ihonalainen rasvakudos) elimistössä, eikä sukupuolten välisiä eroja kehonkoostumuksessa ja sen muutoksissa ikääntymisen myötä (Shah & Braverman 2012). Saman painoindeksin omaavilla tutkittavilla voikin olla terveyden kannalta täysin erilainen kehonkoostumus (Masella & Malorni 2017).

*Tulosten merkitys ja jatkotutkimusaiheet.* Jo aiemmin useissa tutkimuksissa on havaittu naisten ja miesten välinen ero epigeneettisessä ikääntymisessä (Hannum ym. 2013; Horvath ym. 2016; Marioni ym. 2016; Zhao ym. 2019). Toistaiseksi tutkimustietoa epigeneettisen ikääntymisen sukupuolieroista eri-ikäisillä ihmisillä ei kuitenkaan ole, eikä epigeneettisen iän sukupuolieroihin vaikuttavia biologisia ja ei-biologisia tekijöitä ole tutkittu ennen tätä työtä. Tämän tutkielman tulokset antoivat uutta tietoa ikääntymisen sukupuolieroista eri ikäisillä ja GrimAge-kellon herkkyydestä havaita myös erilaisten elintapatekijöiden yhteys sukupuolieroihin aiempia kelloja paremmin. Merkittävää on, että jo nuorilla aikuisilla voidaan myös solutasolla mitata muutoksia, jotka mahdollisesti ovat yhteydessä naisten ja miesten eliniän eroihin. Vaikka biologisten tekijöiden yhteys biologisen ikääntymisen sukupuolieroihin näyttäisi tämän tutkimuksen perusteella olevan vahva, antoivat tulokset viitteitä myös elintapojen osuudesta ilmiössä. Tutkimuksia näiltä osin tarvitaan kuitenkin lisää.

Useimmat tutkimukset erilaisten elintapojen yhteydestä epigeneettiseen ikääntymiseen ovat poikkileikkaustutkimuksia, jolloin elintapojen pitkäaikaisista vaikutuksista ei voi tehdä johtopäätöksiä. Pitkittäistutkimukset antaisivat arvokasta tietoa elintapojen kumuloituvasta vaikutuksesta epigeneettiseen ikääntymiseen yksilötasolla sekä elintapojen yhteydestä epigeneettisen ikääntymisen sukupuolieron kehittymiseen ajan kuluessa. Biologiseen sukupuoleen ja siihen yhteydessä oleviin riskitekijöihin yksilö ei voi vaikuttaa, mutta eliniän sukupuolieron ja elinikää lyhentävien sairauksien taustalla on myös sellaisia tekijöitä, joihin yksilöllä on mahdollisuus vaikuttaa. Siksi olisi tärkeä tutkia esimerkiksi interventioiden avulla, miten ja kuinka nopeasti elintapojen muuttuminen terveellisemmäksi näkyy epigeneettisessä ikääntymisnopeudessa. Elämäntapainterventioiden toteuttamiseen liittyy kuitenkin useita eettisiä ja käytännön ongelmia. Ennen kuin epigeneettisen kellon tuloksia voidaan käyttää yksilötasolla, tulee

ymmärryksen lisääntyä siitä, mistä epigeneettiset kellot kertovat, ja mitä eri kellojen antama informaatio tarkoittaa tai ei tarkoita (Horvath 2013).

Valmiiden tutkimusaineistojen käyttäminen tutkimuksessa on eettisesti kestäväää aineiston monipuolisen hyödyntämisen, taloudellisten resurssien säästön sekä tutkittavien ja tutkijoiden ajankäytön kannalta. Tutkimusaineistojen uudelleenkäyttö mahdollistaa myös opinnäytetöiden tekemisen aineistoilla, joihin opiskelijoilla ei olisi muuten mahdollisuutta. Valmiiden aineistojen käytön yhteydessä myös yksittäisten tutkittavien tunnistaminen on mahdotonta, koska tutkijalla on käytössään tutkittavista vain kunkin yksittäisen työn kannalta oleelliset taustatiedot ja muuttujat ilman tutkittavia yksilöiviä tietoja. On kuitenkin aiheellista pohtia, riittääkö tutkittavien yhden kerran antama lupa aineiston käyttöön tutkimustyössä vuosikymmeniksi eteenpäin ja myös sellaisiin tutkimuksiin, joiden mahdollisuudesta ei ole edes ollut tietoa heidän lupaa antaessaan. Esimerkiksi epigeneettiset kellot on kehitetty vasta sen jälkeen, kun tähänkin tutkimukseen osallistuvilta on saatu lupa aineiston käyttöön erilaisissa tutkimuksissa. Tieteellisen tutkimuksen kehityksen kannalta tällainen käytäntö, joka mahdollistaa aineiston hyödyntämiseen monipuolisesti tutkimustyössä, on kuitenkin erittäin merkittävä.

*Johtopäätöksenä* voidaan todeta, että tämän tutkielman tulokset vahvistavat aiempia epigeneettisillä kelloilla saatuja tutkimustuloksia naisten miehiä hitaammasta biologisesta ikääntymisestä. Havainto vanhempien aikuisten suuremmasta sukupuolierosta epigeneettisessä ikääntymisessä verrattuna nuoriin aikuisiin laajentaa käsitystä biologisen ikääntymisen sukupuolieron ilmenemisestä eri ikäisillä. Alkoholinkäyttö ja painoindeksi näyttäisivät selittävän vähäisessä määrin nuorilla aikuisilla havaittua sukupuolieroa epigeneettisessä ikääntymisessä, mutta tässä tutkielmassa arvioiduilla elintapatekijöillä ei voitu selittää iäkkäämpien aikuisten biologisessa ikääntymisessä ilmenevää sukupuolieroa nyt käytetyillä tutkimusmenetelmillä. Naisten ja miesten välinen ero odotettavissa olevassa eliniässä on yksilöiden perimään ja sukupuolten välisiin biologisiin eroihin liittyvien tekijöiden sekä ympäristön ja elintapojen yhdessä muovaama monimutkainen dynaaminen kokonaisuus, minkä vuoksi ilmiö ei taivu herkästi matemaattisten mallien selitettäväksi.

## LÄHTEET

- Aguilera, O., Fernández, A. F., Muñoz, A. & Fraga M. F. 2010. Epigenetics and environment: a complex relationship. *Journal of Applied Physiology* 109, 243–251.
- Alkoholiongelmäisen hoito. Käypä hoito -suositus. 2018. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin ja Päihdelääketieteen yhdistyksen asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. Viitattu 25.1.2020. [www.kaypahoito.fi](http://www.kaypahoito.fi)
- Allen, A. M., Scheuermann, T. S., Nollen, N., Hatsukami, D. & Ahluwalia, J. S. 2016. Gender Differences in Smoking Behavior and Dependence Motives Among Daily and Nondaily Smokers. *Nicotine & tobacco research: official journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco* 18 (6), 1408–1413.
- Almén, M. S., Nilsson, E. K., Jacobsson, J. A., Kalnina, I. Klovins, J., Fredriksson, R. & Schiöth, H. S. 2014. Genome-wide analysis reveals DNA methylation markers that vary with both age and obesity. *Gene* 548 (1), 61–67.
- American Federation for Aging Research. 2016. Biomarkers of aging. Viitattu 17.3.2020. [www.afar.org/docs/AFAR\\_BIOMARKERS\\_OF\\_AGING\\_2016.pdf](http://www.afar.org/docs/AFAR_BIOMARKERS_OF_AGING_2016.pdf).
- Arbeev, K. G., Ukraintseva, S. V. & Yashina, A. I. 2016. Dynamics of Biomarkers in Relation to Aging and Mortality. *Mechanisms of Ageing and Development* 156, 42–54.
- Arpón, A., Milagro, F. I., Santos, J. L., García-Granero, M., Riezu-Boj, J. I. & Martínez, J. A. 2019. Interaction Among Sex, Aging, and Epigenetic Processes Concerning Visceral Fat, Insulin Resistance and Dyslipidaemia. *Frontiers in endocrinology* 10, 496.
- Ashapkin, V. V., Kutueva, L. I. & Vanyushin, B. F. 2019. Epigenetic Clock: Just a Convenient Marker or an Active Driver of Aging? *Advances in Experimental Medicine and Biology* 1178, 175–206.
- Austad, S. N. & Bartke, A. 2016. Sex Differences in Longevity and in Responses to Anti-Aging Interventions: A Mini-Review. *Gerontology* 62 (1), 40–46.
- Austad, S. N. & Fischer, K. E. 2017. Sex Differences in Lifespan. *Cell Metabolism* 23 (6), 1022–1033.



- Bacalini, M. G., Friso, S., Olivieri, F., Pirazzini, C., Giuliani, C., Capri, M., Santoro, A., Franceschi, C. & Garagnani, P. 2014. Present and future of anti-ageing epigenetic diets. *Mechanisms of Ageing and Development*, 136-137, 101–115.
- Baker, G. T. & Sprott, R. L. 1988. Biomarkers of Aging. *Experimental Gerontology* 23, 223–239.
- Barrett, E. L. & Richardson, D. S. 2011. Sex differences in telomeres and lifespan. *Aging Cell* 10 (6), 913-921.
- Beach, S. R., Dogan, M. V., Lei, M. K., Cutrona, C. E., Gerrard, M., Gibbons, F. X., Simons, R. L., Brody, G. H. & Philibert, R. A. 2015. Methyloomic Aging as a Window onto the Influence of Lifestyle: Tobacco and Alcohol Use Alter the Rate of Biological Aging. *Journal of the American Geriatrics Society* 63 (12), 2519–2525.
- Bell, C.G., Lowe, R., Adams, P.D. ym. 2019. DNA methylation aging clocks: challenges and recommendations. *Genome Biology* 20, 249.
- Belsky, D. W., Caspi, A., Houts, R., Cohena, H. J., Corcoran, D. L., Danese, A., Harrington, H., Israel, S., Levine, M. E., Schaefer, J. D. ym. 2015. Quantification of biological aging in young adults. *PNAS* 112 (30), E4104–E4110.
- Beltrán-Sánchez, H., Finch, C. F. & Eileen M. Crimmins, E. M. 2015. Twentieth century surge of excess adult male mortality. *Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America (PNAS)* 112 (29), 8993–8998.
- Bhaskaran, K., dos-Santos-Silva, I., Prof David A Leon, D. A. L., Ian J Douglas, I. D. & Smeeth, L. 2018. Association of BMI with overall and cause-specific mortality: a population-based cohort study of 3.6 million adults in the UK. *The Lancet* 6 (12), 944–953.
- Bonasio R., Tu S. & Reinberg D. 2010. Molecular signals of epigenetic states. *Science* 330: 612–616.
- Booth, L. N. & Brunet, A. 2016. The Aging Epigenome. *Molecular Cell* 62 (5), 728-744.
- Bretsky, P. M., Buckwalter, J. G., Seeman, T. E., Miller, C. A., Poirier, J., Schellenberg, G. D., ym. 1999. Evidence for an Interaction between Apolipoprotein E Genotype, Gender, and Alzheimer Disease. *Alzheimer Disease & Associated Disorders* 13(4), 216–221.

- Britton, K. A., Massaro, J. M., Murabito, J. M., Kreger, B. E., Hoffmann, U. & Fox, C. S. 2013. Body fat distribution, incident cardiovascular disease, cancer, and all-cause mortality. *Journal of the American College of Cardiology*, 62(10), 921–925.
- Brooks-Wilson, A. R. 2013. Genetics of healthy aging and longevity. *Human genetics* 132 (12), 1323–1338.
- Bulanda, J. R., Brown, J. S. & Yamashita, T. 2016. Marital quality, marital dissolution, and mortality risk during the later life course. *Social Science & Medicine* 165, 119–127.
- Carter, B. D., Abnet, C. C., Feskanich, D., Freedman, N. D., Hartge, P., Lewis, C. E., Ockene, J. K., Prentice, R. L., Speizer, F. E., Thun, M. J. & Jacobs, E. J. 2015. Smoking and Mortality — Beyond Established Causes. *The New England Journal of Medicine* 372, 631–640.
- Chapman, I. M. 2010. Obesity Paradox during Aging. *Body Composition and Aging*, 20–36.
- 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., ym. 2016. DNA methylation-based measures of biological age: meta-analysis predicting time to death. *Aging (Albany NY)* 28, 8 (9), 1844–1865.
- Classen, T. J. & Thompson, O. 2016. Genes and the intergenerational transmission of BMI and obesity. *Economics & Human Biology* 23, 121–133.
- Dato, S., Rose, G., Crocco, P., Monti, D., Garagnani, P., Franceschi, C. & Passarino, G. 2017. The genetics of human longevity: an intricacy of genes, environment, culture and microbiome. *Mechanisms of Ageing and Development* 165, 147–155.
- Dehghan, M., Akhtar-Danesh, N. & Merchant, A. T. 2011. Factors associated with fruit and vegetable consumption among adults. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 24 (2), 128–134.
- Del Boca, F. K. & Darkes, J. 2003. The validity of self-reports of alcohol consumption: state of the science and challenges for research. *Addiction* 98 (2), 1-12.
- de Mello, V. D., ks. kohdasta Mello, V. D. de
- Dhingra, R., Nwanaji-Enwerem, J. C., Samet, M. & Ward-Caviness, C. K. 2018. DNA Methylation Age-Environmental Influences, Health Impacts, and Its Role in Environmental Epidemiology. *Current environmental health reports* 5 (3), 317–327.
- Dodig, S., Čepelak, I. & Pavić, I. 2019. Hallmarks of senescence and aging. *Biochemia Medica (Zagreb)* 29 (3), 030501.

- Dugué, P.-A., Bassett, J. K., Joo, J. E., Baglietto, L., Jung, C.-H., Wong, E. M., Fiorito, G., Schmidt, D., Makalic, E., Li, S., Moreno-Betancur, M., ym. 2018. Association of DNA Methylation-Based Biological Age With Health Risk Factors and Overall and Cause-Specific Mortality. *American Journal of Epidemiology* 187 (3), 529–538.
- El Khoury, L. Y., Gorrie-Stone, T., Smart, M. ym. 2019. Systematic underestimation of the epigenetic clock and age acceleration in older subjects. *Genome Biology* 20, 283.
- Erol, A. & Karpyak, V. M. 2015. Sex and gender-related differences in alcohol use and its consequences: Contemporary knowledge and future research considerations. *Drug and Alcohol Dependence* 156, 1–13.
- Findikaattori. 2019. Elinajanodote. Viitattu 18.5.2020. <https://findikaattori.fi/fi/46>.
- Finkel, D., Sternäng, O., Jylhävä, J., Bai, G. & Pedersen, N. L. 2019. Functional Aging Index Complements Frailty in Prediction of Entry Into Care and Mortality. *The Journals of Gerontology: Series A* 74 (12), 1980–1986.
- Fiorito, G., McCrory, C., Robinson, O., Carmeli, C., Rosales, C. O., Zhang, Y., Colicino, E., Dugué, P. A., Artaud, F., McKay, G. J., ym. 2019. Socioeconomic position, lifestyle habits and biomarkers of epigenetic aging: a multi-cohort analysis. *Aging* 11 (7), 2045–2070.
- Fischer, K. E. & Riddle, N. C. 2018. Sex Differences in Aging: Genomic Instability. *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences* 73 (2), 166–174.
- Fraga, M. F., Ballestar, E., Paz, M. F., Ropero, S., Setien, F., Ballestar, M. L., Heine-Suñer, D., Cigudosa, J. C., Urioste, M., Benitez, J., ym. 2005. Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 102 (30), 10604–10609.
- 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. *Clinical Epigenetics* 11, 62.
- Gao, X., Zhang, Y., Breitling, L. P. & Brenner, H. 2016. Relationship of tobacco smoking and smoking-related DNA methylation with epigenetic age acceleration. *Oncotarget* 7 (30), 46878–46889.

- Garawi, F., Devries, K., Thorogood, N. ym. 2014. Global differences between women and men in the prevalence of obesity: is there an association with gender inequality? *European Journal of Clinical Nutrition* 68, 1101–1106.
- Gardner, M., Bann, D., Wiley, L., Cooper, R., Hardy, R., Nitsch, D., ym. 2014. Gender and telomere length: Systematic review and meta-analysis. *Experimental Gerontology* 51, 15–27.
- Gebel, K., Ding, D., Chey, T., Stamatakis, E., Brown, W. J. & Bauman, A. E. 2015. Effect of Moderate to Vigorous Physical Activity on All-Cause Mortality in Middle-aged and Older Australians. *JAMA Internal Medicine* 175 (6), 970.
- Global BMI Mortality Collaboration, Di Angelantonio, E., Bhupathiraju, S., Wormser, D., Gao, P., Kaptoge, S., Berrington de Gonzalez, A., Cairns, B. J., Huxley, R., Jackson, C., Joshy, G., ym. 2016. Body-mass index and all-cause mortality: individual-participant-data meta-analysis of 239 prospective studies in four continents. *Lancet* (London, England), 388 (10046), 776–786.
- Gmel, G., Shield, K., Rehm, J., Rylett, M. & Kinjo, A. 2018. Alcohol consumption. Teoksessa: V. Poznyak & D. Rekke, *Global status report on alcohol and health 2018*. Geneve: World Health Organization 38–59.
- Grant, B. F., Goldstein, R. B., Saha, T. D., Chou, S. P., Jung, J., Zhang, H., Pickering, R. P., Ruan, W. J., Smith, S. M., Huang, B. & Hasin, D. S. 2015. Epidemiology of DSM-5 Alcohol Use Disorder: Results From the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions III. *JAMA psychiatry* 72 (8), 757–766.
- Gubbels Bupp, M. R. 2015. Sex, the aging immune system, and chronic disease. *Cellular Immunology* 294 (2), 102–110.
- Guh, D. P., Zhang, W., Bansback, N., Amarsi, Z., Birmingham, C. L. & Anis, A. H. 2009. The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: a systematic review and meta-analysis. *BMC public health*, 9, 88.
- Handy, D. E., Castro, R. & Loscalzo, J. 2011. Epigenetic Modifications: Basic Mechanisms and Role in Cardiovascular Disease. *Circulation* 123 (19), 2145–2156.
- Hannum, G., Guinney, J., Zhao, L., Hughes, G., Sada, S., Klotzle, B., Bibikova, M., Fan, J.B., Gao, Y., Deconde, R., Chen, M., Rajapakse, I., Friend, S., Ideker, T. & Zhang, K. 2013. Genome-wide methylation profiles reveal quantitative views of human aging rates. *Molecular cell resource* 49 (2), 359–367.

- Heloma, A., Ruokolainen, O. & Ollila, H. 2018. Tupakointi. Teoksessa: P. Koponen, K. Borodulin, A. Lundqvist, K. Sääksjärvi & S. Koskinen, (toim) *Terveys, toimintakyky ja hyvinvointi Suomessa – FinTerveys 2017-tutkimus*. Terveyden ja hyvinvoinnin laitos (THL), Raportti 4/2018. Helsinki: THL 27–29.
- Heyn, H., Li, N., Ferreira, H. J., Moran, S., Pisano, D. G., Gomez, A., ym. 2012. Distinct DNA methylomes of newborns and centenarians. *PNAS* 109 (26), 10522–10527.
- Hillary, R. F., Stevenson, A. J., Cox, S. R. ym. 2019. An epigenetic predictor of death captures multi-modal measures of brain health. *Mol Psychiatry*. Viitattu 21.5.2020. Saatavilla: [www.nature.com/articles/s41380-019-0616-9#citeas](http://www.nature.com/articles/s41380-019-0616-9#citeas).
- Holt-Lunstad, J., Smith, T. B., Baker, M., Harris, T. & Stephenson, D. 2015. Loneliness and Social Isolation as Risk Factors for Mortality: A Meta-Analytic Review. *Perspectives on Psychological Science* 10 (2), 227–237.
- Horvath S. 2013. DNA methylation age of human tissues and cell types. *Genome Biology* 14, R115.
- Horvath, S., Erhart, W., Brosch, M., Ammerpohl, O., von Schönfels, W., Ahrens, M., ym. 2014. Obesity accelerates epigenetic aging of human liver. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111 (43), 15538–15543.
- Horvath, S., Gurven, M., Levine, M.E., Trumble, B. C., Kaplan, H., Allayee, H., ym. 2016. An epigenetic clock analysis of race/ethnicity, sex, and coronary heart disease. *Genome Biology* 17, 171.
- Horvath, S., Pirazzini, C., Bacalini, M.G., Gentilini, D., Di Blasio, A.M., Delledonne, M., Mari, ym. 2015. Decreased epigenetic age of PBMCs from Italian semi-supercentenarians and their offspring. *Aging (Albany NY)* 7, 1159–1170.
- Horvath, S. & Raj, K. 2018. DNA methylation-based biomarkers and the epigenetic clock theory of ageing. *Nature Reviews Genetics*. 19 (6).
- Hurme, M. 2015. Epigeneettinen kello käy – ihminen vanhenee. *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim* 131 (17), 1535–1536.
- Huttunen, J. 2014. Nainen elää miestä pidempään, mutta miksi? *Duodecim Terveyskirjasto*. Viitattu 11.10.2019. [www.terveyskirjasto.fi](http://www.terveyskirjasto.fi).
- Härkönen, J & Mäkelä, P. 2016. Miten alkoholinkäyttö muuttuu elämäkulun ja syntymäkohortin mukaan? Teoksessa P. Mäkelä, J. Härkönen, T. Lintonen, C.

- Tigerstedt & K. Warpenius (toim.) Näin suomi juo – Suomalaisten muuttuvat alkoholinkäyttötavat. Terveiden ja hyvinvoinnin laitos, Helsinki. 147–157.
- Javed, R., Chen, W., Lin, F. & Liang, H. 2016. Infant's DNA Methylation Age at Birth and Epigenetic Aging Accelerators. *BioMed research international*, 4515928.
- Jazwinski, A. M. & Kim, S. 2019. Examination of the Dimensions of Biological Age. *Frontier of Genetics* 10, 263.
- Johnson, T. E. 2006. Recent results: Biomarkers of aging. *Experimental Gerontology* 41, 1243–1246.
- Jones, M J., Sarah J. Goodman, S. J. & Kober, M. S. 2015. DNA methylation and healthy human aging. *Aging Cell* 14, 924–932.
- Jung, M. & Pfeifer, G. P. 2015. Aging and DNA methylation. *BMC Biology* 13, 7.
- Jylhävä, J., Pedersen, N. L. & Hägg, S. 2017. Biological Age Predictors. *EBioMedicine* 21, 29–36.
- Jääskeläinen, M. & Virtanen, S. 2019. Tupakkatilastot 2018. THL. Viitattu 12.3.2020. [www.julkari.fi](http://www.julkari.fi).
- Jääskeläinen, T., Koponen, P., Lundqvist, A., Borodulin, K., Koskinen, S. sekä FinTerveys 2017 –tutkimuksen johtoryhmä. 2019. Nuorten aikuisten terveys ja elintavat Suomessa – FinTerveys 2017 -tutkimuksen tuloksia. Terveiden ja hyvinvoinnin laitos, Helsinki. Viitattu 26.3.2020. [www.thl.fi/finterveys](http://www.thl.fi/finterveys).
- Kaidesoja, M., Aaltonen, S., Bogl, L., Heikkilä, K., Kaartinen, S., Kujala, U., ym. 2019. FinnTwin16: A Longitudinal Study from Age 16 of a Population-Based Finnish Twin Cohort. *Twin Research and Human Genetics* 22 (6), 530-539.
- Kaikkonen, M. U., Lam, M. T. Y. & Glass, C. K. 2011. Non-coding RNAs as regulators of gene expression and epigenetics. *Cardiovascular Research* 90 (3), 430–440.
- Kananen, L. & Marttila, S. 2019. Mikä meitä vanhentaa? Vanhenemisen biologiset mekanismit ja miten niihin voi vaikuttaa. *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim* 135 (11), 1098–1106.
- Kananen, L., Marttila, S., Nevalainen, T., Jylhävä, J., Mononen, N., Kähönen, M., Raitakari, O. T., Lehtimäki, T. & Hurme, M. 2016a. Aging-associated DNA methylation changes in middle-aged individuals: the Young Finns study. *BMC Genomics* 17, 103.
- Kananen, L., Marttila, S., Nevalainen, T., Kummola, L., Junttila, I., Mononen, N., Kähönen, M., Raitakari, O. T., Hervonen, A., Jylhä, M., Lehtimäki, T., Hurme, M. & Jylhävä, J.

- 2016b. The trajectory of the blood DNA methylome ageing rate is largely set before adulthood: evidence from two longitudinal studies. *Age (Dordrecht, Netherlands)* 38 (3), 65.
- Kanter, R. & Caballero, B. 2012. Global gender disparities in obesity: a review. *Advances in nutrition (Bethesda, Md.)* 3 (4), 491–498.
- Kaplanis, J., Gordon, A., Shor, T., Weissbrod, O., Geiger, D., Wahl, M., Gershovits, M., ym. 2018. Quantitative analysis of population-scale family trees with millions of relatives. *Science* 360 (6385), 171–175.
- Kaprio, J., Bollepalli, S., Buchwald, J., Iso-Markku, P., Korhonen, T., Kovanen, V., Kujala, U., Laakkonen, E. K., Latvala, A., Leskinen, T., Lindgren, N. ym. 2019. The Older Finnish Twin Cohort: 45 Years of Follow-up. *Twin Research and Human Genetics* 22 (4), 240–254.
- Karvinen, S., Waller, K., Silvennoinen, M., Koch, L. G., Britton, S. L., Kaprio, J., Kainulainen, H. & Urho M. Kujala, U. M. 2015. Physical activity in adulthood: genes and mortality. *Scientific Reports* 5, 18259.
- Kirkwood, B. L. & Austad, S. N. 2000. Why do we age? *Nature* 408, 233–238.
- Kresovich, J. K., Xu, Z., O'Brien, K. M., Weinberg, C. R., Sandler, D. P. & Taylor, J. A. 2019. Methylation-based biological age and breast cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute* 111 (10), 1051–1058.
- Lawlor, D. A., Ebrahim, S. & Davey Smith, G. 2001. Sex matters: secular and geographical trends in sex differences in coronary heart disease mortality. *BMJ (Clinical research ed.)* 323 (7312), 541–545.
- Le, Y., Ren, J., Shen, J., Li, T. & Zhang, C. F. 2015. The changing gender differences in life expectancy in Chinese cities 2005–2010. *PloS one*, 10 (4), e0123320.
- Lei, M. K., Gibbons, F. X., Simons, R. L., Philibert, R. A. & Beach, S. R. H. 2020. The Effect of Tobacco Smoking Differs across Indices of DNA Methylation-Based Aging in an African American Sample: DNA Methylation-Based Indices of Smoking Capture These Effects. *Genes* 14, 11 (3), E311.
- Levine M. E. 2013. Modeling the rate of senescence: can estimated biological age predict mortality more accurately than chronological age? *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences* 68 (6), 667–674.

- Levine, M. E., Lu, A. T., Bennett, D. A. & Horvath, S. 2015. Epigenetic age of the pre-frontal cortex is associated with neuritic plaques, amyloid load, and Alzheimer's disease related cognitive functioning. *Aging* 7 (12), 1198–2011.
- Levine, M. E., Lu, A. K., Quach, A., Chen, B., Assimes, T. L., Bandinelli, S., Hou, L., ym. 2018. An epigenetic biomarker of aging for lifespan and healthspan. *Aging* 10 (4), 573–591.
- Lihavuus (lapset, nuoret ja aikuiset). Käypä hoito -suositus. 2020. Suomalaisen Lääkäriseuran Duodecimin, Suomen Lihavuustutkijat ry:n ja Suomen Lastenlääkäriyhdistys ry:n asettama työryhmä. Helsinki: Suomalainen Lääkäriseura Duodecim. Viitattu 21.05.2020. [www.kaypahoito.fi](http://www.kaypahoito.fi).
- Lin, Y.T. Seo, J., Gao, F., Feldman, H. M., Wen, H. L., Penney, J., Cam, H. P., Gjoneska, E., Raja, W. K., Cheng, J., ym. 2018. APOE4 causes widespread molecular and cellular alterations associated with Alzheimer's disease phenotypes in human iPSC-derived brain cell types. *Neuron*. 98, 1141–1154.
- Lindahl-Jacobsen, R., Hanson, H. A., Oksuzyan, A., Mineau, G. P., Christensen, K. & Smith, K. R. 2013. The male-female health-survival paradox and sex differences in cohort life expectancy in Utah, Denmark, and Sweden 1850-1910. *Annals of epidemiology* 23 (4), 161–166.
- Link, J. K. & Reue, K. 2017. The Genetic Basis for Sex Differences in Obesity and Lipid Metabolism. *The Annual Review of Nutrition* 21 (37), 225–245.
- Lim, S. S., Vos, T., Flaxman, A. D., Danaei, G., Shibuya, K., Adair-Rohani, H., Amann, M., Anderson, H. R., Andrews, K. G., Aryee, M., ym. 2012. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 380 (9859), 2224–2260.
- Liu, J., Morgan, M., Hutchison, K. & Calhoun, V. C. 2010. A study of the influence of sex on genome wide methylation. *PloS one* 5 (4), e10028.
- López-Otín, C., Blasco, M. A., Partridge, L., Serrano, M., & Kroemer, G. (2013). The hallmarks of aging. *Cell* 153(6), 1194–1217.
- Lowsky, D. J., Olshansky, S. J., Bhattacharya, J., & Goldman, D. P. 2014. Heterogeneity in healthy aging. *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences*, 69 (6), 640–649.



- Lu, A. T., Quach, A., James G. Wilson, J.G., Reiner, A. P., Aviv, A., Raj, K., ym. 2019. DNA methylation GrimAge strongly predicts lifespan and healthspan. *Aging (Albany NY)* 21, 11 (2), 303–327.
- Lundqvist, A., Männistö, S., Jousilahti, P. ym. 2018. Lihavuus. Teoksessa: P. Koponen, K. Borodulin, A. Lundqvist, K. Sääksjärvi & S. Koskinen, (toim) *Terveys, toimintakyky ja hyvinvointi Suomessa – FinTerveys 2017-tutkimus*. Terveysten ja hyvinvoinnin laitos (THL), Raportti 4/2018. Helsinki: THL 45–49.
- Luy, M. 2003. Causes of Male Excess Mortality: Insights from Cloistered Populations. *Population and development review* 29 (4): 647-676.
- Luy, M. & Gast, K. 2014. Do women live longer or do men die earlier? Reflections on the causes of sex differences in life expectancy. *Gerontology* 60, 143–153.
- Lääketieteen sanasto. 2020. Iskeeminen sydänsairaus. *Terveyskirjasto, Duodecim*. Viitattu 21.5.2020. [www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=ltt01398](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=ltt01398).
- Marais, G., Gaillard, J. M., Vieira, C., Plotton, I., Sanlaville, D., Gueyffier, F. & Lemaitre, J. F. 2018. Sex gap in aging and longevity: can sex chromosomes play a role? *Biology of sex differences* 9 (1), 33.
- Marioni, R. E., Harris, S. E., Shah, S., McRae, A. F., von Zglinicki, T. Martin-Ruiz, C., R Wray, N. R., Visscher, P. M. & Deary, I. J. 2016. The epigenetic clock and telomere length are independently associated with chronological age and mortality. *International Journal of Epidemiology* 45 (2), 424–432.
- Marioni, R.E., Shah, S., Mcrae, A.F., Chen, B.H., Colicino, E., Harris, S.E., Gibson, J., ym. 2015a. DNA methylation age of blood predicts all-cause mortality in later life. *Genome Biology* 16, 25.
- Marioni, R.E., Shah, S., Mcrae, A.F., Ritchie, S.J., Muniz-Terrera, G., Harris, S.E., Gibson, J., Redmond, P., COX, S.R., Pattie, A., ym. 2015b. The epigenetic clock is correlated with physical and cognitive fitness in the Lothian Birth Cohort 1936. *International Journal of Epidemiology* 44, 1388–1396.
- Marioni, R. E., Suderman, M., Chen, B. H., Horvath, S., Bandinelli, S., Morris, T., Beck, S., Ferrucci, L., Pedersen, N. L., Relton, C. L., Deary, I. J. & Hägg, S. 2019. Tracking the Epigenetic Clock Across the Human Life Course: A Meta-analysis of Longitudinal Cohort Data. *The journals of gerontology. Series A, Biological sciences and medical sciences* 74 (1), 57–61.

- Marttila, S., Kananen, L., Häyrynen, S., Jylhävä, J., Nevalainen, T., Hervonen, A., Jylhä, M., Nykter, M. & Hurme, M. 2015. Ageing-associated changes in the human DNA methylome: genomic locations and effects on gene expression. *BMC Genomics* 16, 179.
- Masella, R. & Malorni, W. 2017. Gender-related differences in dietary habits. *Clinical Management Issues* 11 (2), 59-62.
- McCartney, G., Mahmood, L., Leyland, A. H., G David Batty, G. D. & Hunt, K. 2011. Contribution of smoking-related and alcohol-related deaths to the gender gap in mortality: evidence from 30 European countries. *Tobacco Control* 20:166-168.
- McClelland, E. E. & Smith, J. M. 2011. Gender Specific Differences in the Immune Response to Infection. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis* 59 (3), 203–213.
- Mehta, Neil., Stenholm, S., Männistö, S., Jousilahti, P. & Elo, I. 2020. Excess body weight, cigarette smoking, and type II diabetes incidence in the national FINRISK studies. *Annals of Epidemiology* 42, 12-18.
- Mello, V. D. de, Pulkkinen, L., Lalli, M., Kolehmainen, M., Pihlajamäki, J. & Uusitupa, M. 2014. DNA methylation in obesity and type 2 diabetes. *Ann Med* 46, 103–113.
- Metsämuuronen, J. 2011. Tutkimuksen tekemisen perusteet ihmistieteissä 2. E-TTP2, E-kirja opiskelijalaitos 2. laitos, 1. painos. International Methelp Oy.
- Mitnitski, A. B., Mogilner, A. J. & Rockwood, K. 2001. Accumulation of Deficits as a Proxy Measure of Aging. *The Scientific World* 1, 323–336.
- Mok, A., Khaw, K. T., Luben, R., Wareham, N. & Brage, S. 2019. Physical activity trajectories and mortality: population based cohort study. *BMJ (Clinical research ed.)* 365, l2323.
- Moore, L. D., Le, T. & Fan, G. 2013. DNA Methylation and Its Basic Function. *Neuropsychopharmacology* 38 (1), 23–38.
- Muller, D. C., Murphy, N., Johansson, M., Ferrari, P., Tsilidis, K. K., Boutron-Ruault, M. C., Clavel, F., Dartois, L., Li, K., Kaaks, R., Weikert, C., ym. 2016. Modifiable causes of premature death in middle-age in Western Europe: results from the EPIC cohort study. *BMC medicine* 14, 87.
- Mustajoki, P. 2020. Kohonnut verenpaine (verenpainetauti). *Lääkärikirja Duodecim*. Viitattu 17.6.2020. [www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=dlk00034](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=dlk00034).

- National Institutes of Health. 2019. What is epigenetics? National Institutes of Health. U.S. National Library of Medicines. Viitattu 19.11.2019. [ghr.nlm.nih.gov/primer/howgeneswork/epigenome](http://ghr.nlm.nih.gov/primer/howgeneswork/epigenome).
- Nevalainen, T., Kananen, L., Marttila, S., Jylhävä, J., Mononen, N., Kähönen, M., Raitakari, O. T., Hervonen, A., Jylhä, M., Lehtimäki, T. & Hurme, M. 2017. Obesity accelerates epigenetic aging in middle-aged but not in elderly individuals. *Clinical Epigenetics* 9, 20.
- Newman, A. B. & Brach, J. S. 2001. Gender Gap in Longevity and Disability in Older Persons. *Epidemiologic Reviews* 23 (2), 343–355.
- Newman, A. B. & Murabito, J. M. 2013. The Epidemiology of Longevity and Exceptional Survival. *Epidemiologic Reviews* 35 (1), 181–197.
- Ng, M., Freeman, M. K., Fleming, T. D. ym. 2014. Smoking Prevalence and Cigarette Consumption in 187 Countries, 1980-2012. *JAMA* 311 (2), 183–192.
- Niiranen, T. J., McCabe, E. L., Larson, M. G., Henglin, M., Lakdawala, N. K., Vasani, R. S. & Cheng, S. 2017. Risk for hypertension crosses generations in the community: a multi-generational cohort study. *European heart journal* 38 (29), 2300–2308.
- Nunn, C. L., Lindenfors, P., Pursall, E. R. & Rol, J. 2009. On sexual dimorphism in immune function. *Philosophical Transactions of the Royal Society B* 364, 61–69.
- Nwanaji-Enwerem, J. C., Dai, L., Colicino, E., Oulhote, Y., Di, Q., Kloog, I., Just, A. C., Hou, L., Vokonas, P., Baccarelli, A. A., Weisskopf, M. G. & Schwartz, J. D. 2017. Associations between long-term exposure to PM2.5 component species and blood DNA methylation age in the elderly: The VA normative aging study. *Environment international* 102, 57–65.
- Nyberg, S. T., Batty, G. D., Pentti, J., Virtanen, M., Alfredsson, L., Fransson, E. I., Goldberg, M., Heikkilä, K., Jokela, M., Knutsson, A., ym. 2018. Obesity and loss of disease-free years owing to major non-communicable diseases: a multicohort study. *The Lancet. Public health* 3 (10), e490–e497.
- Odent, S. & Odent, M. 2019. Primal health research in the age of epigenetic clocks. *Medical Hypotheses* 133, 109403.
- Okuda, K., Bardeguet, A., Gardner, J. P., Rodriguez, P., Ganesh, V., Kimura, M., Joan Skurnick, Awad, G. & Aviv, A. 2002. Telomere Length in the Newborn. *Pediatric Research* 52 (3), 377–381.

- Oksuzyan A., Gumà J. & Doblhammer G. 2018. Sex Differences in Health and Survival. Teoksessa G. Doblhammer & J. Gumà (toim.) A Demographic Perspective on Gender, Family and Health in Europe. Springer, Cham 65-100.
- Ollikainen, M., Smith, K. R., Joo, E. J.-H., Ng, H. K., Andronikos, R., Novakovic, B., Abdul Aziz, N. K., Carlin, J. B., Morley, R., Saffery, R. & Craig, J. M. 2010. DNA methylation analysis of multiple tissues from newborn twins reveals both genetic and intrauterine components to variation in the human neonatal epigenome. *Human Molecular Genetics* 19 (21), 4176–4188.
- Orlich, M. J., Singh, P. N., Sabaté, J., ym. 2013. Vegetarian dietary patterns and mortality in adventist health study 2. *JAMA Intern Med* 173, 1230–1238.
- Orzack, S. H., Stubblefield, J. W., Akmaev, V. R., Colls, P., Munné, S., Scholl, T., Steinsaltz, D., Zuckerman, J. E. 2015. The human sex ratio from conception to birth. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 112 (16), E2102–2111.
- Ostan, R., Monti, D., Gueresi, P., Bussolotto, M., Franceschi, C. & Baggio, G. 2016. Gender, aging and longevity in humans: an update of an intriguing/neglected scenario paving the way to a gender-specific medicine. *Clinical science (London, England: 1979)* 130 (19), 1711–1725.
- Pereira, M., Lunet, N., Paulo, C., Severo, M., Azevedo, A. & Barros, H. 2012. Incidence of hypertension in a prospective cohort study of adults from Porto, Portugal. *BMC cardiovascular disorders*, 12, 114.
- Perna, L., Zhang, Y., Mons, U. ym. 2016. Epigenetic age acceleration predicts cancer, cardiovascular, and all-cause mortality in a German case cohort. *Clinical Epigenetics* 8, 64.
- Pes, G. M., Tolu, F., Poulain, M. Errigo, A., Masala, S., Pietrobelli, A., Battistini, N. C. & Maioli, M. 2013. Lifestyle and nutrition related to male longevity in Sardinia: An ecological study. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 23 (3), 212–219.
- Peters, S. A. E., Huxley, R. R. & Woodward, M. 2014. Do smoking habits differ between women and men in contemporary Western populations? Evidence from half a million people in the UK Biobank study. *BMJ Open* 4, e005663.
- Phillips, M. C. 2014, Apolipoprotein E isoforms and lipoprotein metabolism. *IUBMB Life* 66: 616–623.

- Pignolo, R. J. 2019. Exceptional Human Longevity. *Mayo Clinic Proceedings* 94 (1), 110–124.
- Pitkälä, K. & Strandberg, T. 2015. Miksi nainen elää pitempään kuin mies? *Lääketieteellinen Aikakauskirja Duodecim* 131 (16),1491–1492.
- Plunk, A. D., Syed-Mohammed, H., Cavazos-Rehg, P., Bierut, L. J. & Grucza, R. A. 2014. Alcohol consumption, heavy drinking, and mortality: rethinking the j-shaped curve. *Alcoholism, clinical and experimental research* 38 (2), 471–478.
- Poulain, M. 2012. The Longevity of Nuns and Monks: A Gender Gap Issue Investigated with new Belgian Data. *Population Association of America Annual meeting, San-Francisco, 2012*. Viitattu 10.12.2019. <https://paa2012.princeton.edu/papers/122836>.
- Quach, A., Levine, M. E., Tanaka, T., Lu, A. K., Chen, B. H., Ferrucci, L., Ritz, B., Bandinelli, S., Neuhaus, M. L., Beasley, J. M. ym. 2017. Epigenetic clock analysis of diet, exercise, education, and lifestyle factors. *Aging* 9 (2), 419–446.
- Ritchie, H. & Roser, M. 2019. Causes of Death. Published online at Our World in Data. Viitattu 2.12.2019. [ourworldindata.org/causes-of-death](http://ourworldindata.org/causes-of-death)
- Robertson, K. D. 2005. DNA methylation and human disease. *Nature Reviews Genetics* 6, 597–610.
- Rochelle, T. L., Yeung, D. K. Y., Bond, M. H. & Li, L. M. W. 2014. Predictors of the gender gap in life expectancy across 54 nations. *Psychology, Health & Medicine* 20 (2), 129–138.
- Rose, R. J., Salvatore, J. E., Aaltonen, S., Barr, P. B., Bogl, L. H., Byers, H. A., Heikkilä, K., Korhonen, T., Latvala, A., Palviainen, T., ym. 2019. FinnTwin12 Cohort: An Updated Review. *Twin research and human genetics: the official journal of the International Society for Twin Studies* 22 (5), 302–311.
- Rosen, A. D., Robertson, K. D., Hlady, R. A., Muench, C., Lee, J., Philibert, R., Horvath, S., Kaminsky, Z. A. & Lohoff F. W. 2018. DNA methylation age is accelerated in alcohol dependence. *Translational Psychiatry* 8, 182.
- Rosoff, D.B., Clarke, T., Adams, M.J. ym. 2019. Educational attainment impacts drinking behaviors and risk for alcohol dependence: results from a two-sample Mendelian randomization study with ~780,000 participants. *Molecular Psychiatry*.
- Ryan, J., Wrigglesworth, J., Loong, J., Peter D Fransquet, P. D. & Woods, R. L. 2020. A Systematic Review and Meta-analysis of Environmental, Lifestyle, and Health Factors

- Associated with DNA Methylation Age, *The Journals of Gerontology: Series A* 75 (3), 481–494.
- Saksela, E. 2014. Väistämätön vanhuuskuolema. *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim* 130 (18), 1843–1850.
- Santosa, S. & Jensen, M. D. 2015. The Sexual Dimorphism of Lipid Kinetics in Humans. *Frontiers in endocrinology* 6, 103.
- Sebastiani, P., Gurinovich, A., Bae, H., Andersen, S., Malovini, A., Atzmon, G., Villa, F., Kraja, A. T., Ben-Avraham, D., Barzilai, N., Puca, A. & Perls, T. T. 2017. Four genome-wide association studies identify new extreme longevity variants. *The journals of gerontology, Series A, Biological sciences and medical sciences* 72 (11), 1453–1464.
- Settersten, Jr., R. A. & Godlewski, B. 2016. Concepts and theories of age and aging. Teoksessa V. L. Bengtson, & R. A. Settersten, Jr. (toim.) *Handbook of theories of aging*. 3.painos. New York: Springer Publishing Company, 29–44.
- Shah, N. R. & Braverman, E. R. 2012. Measuring Adiposity in Patients: The Utility of Body Mass Index (BMI), Percent Body Fat, and Leptin. *Plos one* 7 (4), e33308.
- Shah, S., McRae, A. F., Marioni, R. E., Harris, S. E., Gibson, J., Henders, A. K., Redmond, P., ym. 2014. Genetic and environmental exposures constrain epigenetic drift over the human life course. *Genome Research* 24 (11), 1725–1733.
- Shores, M. M. & Matsumoto, A. M. 2014. Testosterone, aging and survival: biomarker or deficiency. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity* 21 (3), 209–216.
- Sillanpää, E., Ollikainen, M., Kaprio, J. ym. 2019. Leisure-time physical activity and DNA methylation age — a twin study. *Clinical Epigenetics* 11, 12.
- Silventoinen, K., Rokholm, B., J Kaprio, J. & Sørensen, T. I. A. 2010. The genetic and environmental influences on childhood obesity: a systematic review of twin and adoption studies. *International Journal of Obesity* 34, 29–40.
- Simpkin, A. J., Hemani, G., Suderman, M., Gaunt, T. R., Lyttleton, O., Mcardle, W. L., Ring, ym. 2016. Prenatal and early life influences on epigenetic age in children: a study of mother-offspring pairs from two cohort studies. *Human molecular genetics* 25 (1), 191–201.
- Smith, Z. D. & Meissner, A. 2013. DNA methylation: roles in mammalian development. *Nature Reviews Genetics* 14, 204–220.

- Stahre, M., Roeber, J., Kanny, D., Brewer, R. D. & Zhang, X. 2014. Contribution of excessive alcohol consumption to deaths and years of potential life lost in the United States. *Preventing chronic disease*, 11, E109.
- Stubbs, T. M., Bonder, M. J., Stark, A. K., Krueger, F., BI Ageing Clock Team, von Meyenn, F., Stegle, O. & Reik, W. 2017. Multi-tissue DNA methylation age predictor in mouse. *Genome biology* 18 (1), 68.
- Sundberg, L., Agahi, N., Fritzell, J. & Fors, S. 2018. Why is the gender gap in life expectancy decreasing? The impact of age- and cause-specific mortality in Sweden 1997-2014. *International journal of public health* 63 (6), 673–681.
- Suomen virallinen tilasto. 2017. 1. Kuolemansyyt 2017. Helsinki: Tilastokeskus. Viitattu 13.11.2019. [www.stat.fi](http://www.stat.fi).
- Suomen virallinen tilasto: Kuolleet. 2017. Tilastokeskus. Viitattu: 14.6.2020. [www.stat.fi/til/kuol/2017/kuol\\_2017\\_2018-04-27\\_tie\\_001\\_fi.html](http://www.stat.fi/til/kuol/2017/kuol_2017_2018-04-27_tie_001_fi.html).
- Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. 2020a. Päihdetilastollinen vuosikirja 2019: Alkoholi ja huumeet. Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. Viitattu 20.2.2020. <http://urn.fi/URN:ISBN:978-952-343-438-7>.
- Terveyden ja hyvinvoinnin laitos. 2020b. Sydän- ja verisuonitautien yleisyys. Viitattu 9.6.2020. <https://thl.fi/fi/web/kansantaudit/sydan-ja-verisuonitaudit/sydan-ja-verisuonitautien-yleisyys>.
- Theodoropoulou, E., Alfredsson, L., Piehl, F., Marabita, F. & Jagodic, M. 2019. Different epigenetic clocks reflect distinct pathophysiological features of multiple sclerosis. *Epigenomics* 11 (12), 1429–1439.
- Thyagarajan, B., Shippee, N., Parsons, H., Vivek, S., Crimmins, E., Faul, J. & Shippee, T. 2019. How Does Subjective Age Get “Under the Skin”? The Association Between Biomarkers and Feeling Older or Younger Than One’s Age: The Health and Retirement Study. *Innovation in Aging* 3 (4), igz035.
- Tieteen termipankki. 2014. Biomarkkeri. Viitattu 5.11.2019. [tieteentermipankki.fi/wiki/Biologia:biomarkkeri](http://tieteentermipankki.fi/wiki/Biologia:biomarkkeri).
- Tilastokeskus 2020. Käsitteet, Dummy-muuttuja. Viitattu 11.4.2020. <https://www.stat.fi/meta/kas/dummy.html>.
- Tilastokeskus/Tilastolaitoksen historiaa. 2019. Elinajanodote. Suomen tilastokeskus. Viitattu 10.12.2019. [www.stat.fi/org/tilastokeskus/elinajanodote](http://www.stat.fi/org/tilastokeskus/elinajanodote).

- Tilastokeskus/väestörakenne. 2019. Väestö ja perheet. Suomen tilastokeskus. Viitattu 25.11.2019. [www.stat.fi/tup/tasaarvo/index.html/vaesto-ja-perheet](http://www.stat.fi/tup/tasaarvo/index.html/vaesto-ja-perheet).
- Toro-Martín, J. de, Guénard, F., Tchernof, A., Hould, F.-S., Lebel, S., Julien, F., Marceau, S. & Vohl, M.-C. 2019. Body mass index is associated with epigenetic age acceleration in the visceral adipose tissue of subjects with severe obesity. *Clinical Epigenetics* 11, 172.
- Trias-Llimós, S. & Janssen, F., 2018. Alcohol and gender gaps in life expectancy in eight Central and Eastern European countries, *European Journal of Public Health* 28 (4), 687–692.
- Vuori, I. 2015. Elintapojen terveysvaikutukset. *Lääketieteellinen aikakauskirja Duodecim* 131 (8), 729–736.
- Wagner, W. 2017. Epigenetic aging clocks in mice and men. *Genome Biology* 18, 107.
- Ward-Caviness, C. K., Nwanaji-Enwerem, J. C., Wolf, K., Wahl, S., Colicino, E., Trevisi, L., Kloog, I., Just, A. C., Vokonas, P., Cyrus, J., Gieger, C., ym. 2016. Long-term exposure to air pollution is associated with biological aging. *Oncotarget* 7 (46), 74510–74525.
- Weidner, C. I., Lin, Q., Koch, C. M. ym. 2014. Aging of blood can be tracked by DNA methylation changes at just three CpG sites. *Genome Biol* 15, R24.
- Winter, J. E., MacInnis, R. J., Wattanapenpaiboon, N. & Nowson, C. A. 2014. BMI and all-cause mortality in older adults: a meta-analysis. *The American Journal of Clinical Nutrition* 99, 875–890.
- Wolf, E. J., Logue, M. W., Morrison, F. G., Wilcox, E. S., Stone, A., Schichman, S. A., McGlinchey, R. E., Milberg, W. P. & Miller, M. W. 2019. Posttraumatic psychopathology and the pace of the epigenetic clock: a longitudinal investigation. *Psychological medicine* 49(5), 791–800.
- World Health Organisation. 2019. Body mass index – BMI. Viitattu 14.10.2019. [www.euro.who.int](http://www.euro.who.int).
- World Health Organisation. 2017. Cardiovascular diseases (CVDs). Viitattu 13.11.2019. [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds)).
- World Health Organisation. 2018. The top 10 causes of death. Viitattu 6.12.2019. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>.



- Xiao, X., Wang, W., Sa, R., Qiu, L. & Liu, F. 2019. The Investigation of Sex Differences in the Effect of Body Mass Index. *International journal of hypertension*, 1360328.
- Yang, Y., Gao, X., Just, A. C., Colicino, E., Wang, C., Coull, B. A., Hou, L., Zheng, Y., Vokonas, P., Schwartz, J. & Baccarelli, A. A. 2019. Smoking-Related DNA Methylation is Associated with DNA Methylation Phenotypic Age Acceleration: The Veterans Affairs Normative Aging Study. *International journal of environmental research and public health* 16 (13), 2356.
- Yousefi, P., Huen, K., Davé, V., Barcellos, L., Eskenazi, B. & Holland, N. 2015. Sex differences in DNA methylation assessed by 450 K BeadChip in newborns. *BMC Genomics* 16, 911.
- Yusuf, S., Joseph, P., Rangarajan, S., Islam, S., Mentz, A., Hystad, P., ... & Dagenais, G. 2019. Modifiable risk factors, cardiovascular disease, and mortality in 155 722 individuals from 21 high-income, middle-income, and low-income countries (PURE): a prospective cohort study. *The Lancet*. Viitattu 6.12.2019. [www.thelancet.com](http://www.thelancet.com).
- Zampieri, M., Ciccarone, F., Calabrese, R., Franceschi, C., Bürkle, A. & Caiafa, P. 2015. Reconfiguration of DNA methylation in aging. *Mechanisms of Ageing and Development* 151, 60–70.
- Zhang, Q., Vallerga, C.L., Walker, R.M. ym. 2019. Improved precision of epigenetic clock estimates across tissues and its implication for biological ageing. *Genome Medicine* 11, 54.
- Zhang, Y., Wilson, R., Heiss, J., Breitling, L. P., Saum, K.-U., Scho, B., Holleccek, B., Waldenberger, M., Peters, A. & Brenner, H. 2017. DNA methylation signatures in peripheral blood strongly predict all-cause mortality. *Nature Communications* 8, 14617.
- Zhang, Y., Yang, R., Burwinkel, B. Breitling, L. P. & Brenner, H. ym. 2014. F2RL3 methylation as a biomarker of current and lifetime smoking exposures. *Environ Health Perspect* 122 (2),131–137.
- Zhao, W., Ammous, F., Ratliff, S., Liu, L., Yu, M., Mosley, T. H., Sharon L. R., Kardia, S. L. R. & Smith, J. A. 2019. Education and Lifestyle Factors Are Associated with DNA Methylation Clocks in Older African Americans. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 16, 3141.