

TARTU ÜLIKOOL
BIOLOOGIA-GEOGRAAFIATEADUSKOND
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT

Veronika Tammekivi

Meeleolu- ja ärevushäirete kujunemise geneetiline
komponent: 21 neurotransmissiooniseoselise
kandidaatgeeni polümorfismide analüüs

Magistritöö

Juhendajad: Prof. Andres Metspalu, M.D., Ph.D.
Tiit Nikopensius, M.Sc.

TARTU
2006

Sisukord

Sisukord.....	2
Lühendid ja mõisted	3
Sissejuhatus	4
1. Kirjanduse ülevaade	5
1.1 Meeleolu- ja ärevushäired	5
1.1.1 Meeleolu- ja ärevushäirete klassifikatsioon	6
1.1.2 Meeleolu- ja ärevushäirete kujunemisel osalevad faktorid	8
1.2 Komplekshaigused	9
1.2.1 Komplekshaiguste geneetilise komponendi kaardistamine	10
1.2.2 Assotsiatsiooniuuringud	10
1.3 LD	13
1.4 Rahvusvaheline HapMap projekt	14
1.5 Meeleolu- ja ärevushäirete kandidaatgeenid	16
1.5.1 Koletsüstokiniini ja tema retseptorite geenid	17
1.5.2 Dopaminergilise süsteemi geenid	18
1.5.3 Serotonergilise süsteemi geenid	19
1.5.4 Opioidse süsteemi geenid	21
2. Materjal ja metoodika	23
2.1. DNA proovid	23
2.2. Genotüpiseerimine	25
2.2.1. Oligonukleotiidide disain	25
2.2.2. Klaaskandja ettevalmistamine ja praimerite sidumine	26
2.2.3. PCR-i produktide ettevalmistamine APEX reaktsiooniks	26
2.2.4. Praimerekstensiooni reaktsioon	28
2.3. Signaali detekteerimine ja kiibi andmete analüüs	28
2.4. Andmete statistiline analüüs	30
3. Tulemused	32
3.1. Genotüpiseerimisandmete võrdlev analüüs	32
3.2. Assotsiatsioonianalüüs	35
3.3. LD analüüs	40
3.4. Haplotüübianalüüs	41
3.5. Uuringu võimsus ehk <i>power</i>	45
4. Arutelu	47
Kokkuvõte	56
Summary	57
Tänuavaldused	58
Viited	59
Lisad	67

Lühendid ja mõisted

ADHD	hüperaktiivsus tähelepanu puudulikkusega (<i>attention deficit hyperactivity disorder</i>)
APEX	oligonukleotiidmaatriksil põhinev praimerekstensioon (<i>Arrayed Primer Extension</i>)
bp	aluspaar (<i>base pair</i>)
cSNP	kodeerivas alas asuv ühenukleotiidne polümorfism
Cy3	tsüaniinvärv 3
Cy5	tsüaniinvärv 5
D'	standardiseeritud LD koefitsient D
dATP	desoksüadenosiintrifosfaat
dCTP	desoksütsütidiintrifosfaat
ddNTP	didesoksünukleotiid
dGTP	desoksüguanosiintrifosfaat
dTTP	desoksütümidiniintrifosfaat
dUTP	desoksüuridiintrifosfaat
GAD	generaliseeritud ärevushäire (<i>Generalised Anxiety Disorder</i>)
htSNP	haplotüüpi kirjeldav SNP (<i>haplotype tagging SNP</i>)
kb	tuhat aluspaari
LD	ahelduse tasakaalustamatus (<i>Linkage Disequilibrium</i>)
MAF	minoorse alleeli sagedus (<i>Minor Allele Frequency</i>)
OR	riskifaktor (<i>Odds Ratio</i>)
p	kromosoomi lühike õlg
PCR	polümeraasi ahelreaktsioon (<i>Polymerase Chain Reaction</i>)
q	kromosoomi pikk õlg
RFLP	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>
SD	standardhälve (<i>standard deviation</i>)
SNP	ühenukleotiidne polümorfism (<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>)
STR	<i>Short Tandem Repeat</i>
tagSNP	omavahel aheldunud markereid kirjeldav üksik SNP
Taq	<i>Thermus aquaticus</i> 'e DNA polümeraas
U	ühik
UNG	uratsiil-N-glükosülaas
UTR	mittetransleeritav piirkond (<i>untranslated region</i>)
VNTR	<i>Variable Number of Tandem Repeats</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>

Sissejuhatus

Depressioon ja ärevus on seisundid, mis tabavad inimesi kaasaegses maailmas üha sagedamini ning tekitavad sotsiaalset ja majanduslikku kahju nii indiviidi kui ka ühiskonna tasandil. Depressiooni peetakse üheks sagedasemaks töövõimetust põhjustavaks teguriks. Levinud psüühikahäirete, nagu meeleolu- ja ärevushäired, tõhusamaks diagnoosimiseks, ravimiseks ja vältimiseks on vaja detailselt mõista nende tekkepõhjuseid.

Psüühikahäireid peetakse komplekshaigusteks, mille kujunemisel osalevad pärilikud tegurid kombineerituna keskkonnafaktoritega. Tähtsamateks väliskeskkonna riskifaktoriteks on sotsiaalmajanduslikud olud nagu väike sissetulek, madal haridustase, töötus ja lähedaste ning perekonna toetuse puudumine. Geneetiliste riskifaktorite kohta teatakse tänapäeval oluliselt vähem.

Meeleolu- ja ärevushäiretega seostatakse sageli kesknärvisüsteemiseoselisi neurotransmissioonisüsteeme, mille kaudu toimivad keemilised ained, mis mõjutavad psüühikat. Kesksemateks peetakse monoaminergilist süsteemi, mis hõlmab serotoniini ja dopamiini funktsionaalseid radasid. Samuti on vaatluse all endogeenne opioidne süsteem ja koletsüstokiniini süsteem. Arvatakse, et variatsioonid nende süsteemide geenides võivad põhjustada eelsoodumust haiguse kujunemiseks.

Kaasajal kasutatakse haigusfenotüübi ja kandidaatgeenide järjestuse variantide vahelise seose leidmiseks sageli *case-control* assotsiatsiooniuuringuid, kus võrreldakse haigestunud inimesi tervetega. Kui mingi geenivariant esineb oluliselt sagedamini haigusfenotüübiga indiviididel kui tervetel, siis võib eeldada, et antud muutus geenis võib olla seotud haiguse kujunemisega. Kõige sagedasemad variatsioonid inimese genoomis on ühenukleotiidsed polümorfismid (SNP-d), mis on kujunenud enimkasutatavateks markeriteks assotsiatsiooniuuringutes. Tänu SNP genotüpiseerimismeetodite kiirele arengule on võimalik üheaegselt genotüpiseerida korraga suur hulk markereid.

Magistritöö eesmärgiks oli läbi viia assotsiatsiooniuuring Eesti elanike hulgas selgitamaks, kas eelmainitud neurotransmissioonisüsteemide geenide polümorfismid osalevad meeleolu- ja ärevushäirete kujunemisel.

Käesolev töö on osa koostööprojektist TÜ Füsioloogia Instituudi ja TÜ Psühhiaatriakliinikuga.

1. Kirjanduse ülevaade

1.1 Meeleolu- ja ärevushäired

Depressioon ja ärevus on seisundid, mis mõjutavad 17-20% üldpopulatsioonist (Taylor *et al.*, 2005). Meeleoluhäireid peetakse üheks peamiseks töövõimetuse tekkimise põhjuseks (Kalia, 2005). Depressioon on kõige tavalisem meeleoluhäire, mille esinemissagedus eluea jooksul on 5 – 17% (Abkevich *et al.*, 2003). Bipolaarne häire on samuti suhteliselt sage, esinemissagedus eluea jooksul on 0.5 – 1.5% (Craddock & Jones, 1999). Paanikahäire on tavaline ärevusega seostuv psüühikahäire, mille esinemissagedus eluaja kestel on 3.5% (Kessler *et al.*, 1994).

Euroopa Komisjoni 2004 aasta raporti „*Actions Against Depression*”¹ kohaselt kannatab igal ajahetkel 2 – 10% Euroopa populatsioonist depressiooni või sellega seotud haiguse käes. See mõjutab inimesi sõltumatult vanusest ning muudab nende elukvaliteeti, majanduslikku aktiivsust, õppimisvõimet ja osalemist sotsiaalses kui ka isiklikus elus. Suur osa (30 – 80%) enesetappudest Euroopas on seotud meeleoluhäiretega.

Depressiooni sotsiaalmajanduslik maksumus ei sõltu ainuüksi meditsiinilistest kulutustest, vaid seda mõjutavad suuresti ka töökaotus, haiguspuhkused ja madalam tööviljakus ning kõrgem suremus. Arvatakse, et aastane maksumus on ligikaudu võrdne 1% SKP-ga. Suurbritannias hinnati 2000 aastal depressiooni kogumaksumuseks üle 15 miljardi euro, millest otsesteks ravikuludeks kulus vaid 636 miljonit eurot.

¹ Euroopa Komisjoni 2004 aasta raporti „*Actions Against Depression*” on kättesaadav Euroopa Liidu kodulehel: <http://europa.eu.int>

1.1.1 Meeleolu- ja ärevushäirete klassifikatsioon²

Rahvusvahelise haiguste klassifikatsiooni ICD-10 (WHO *International Classification of Diseases and Related Health Problems, Chapter V*) järgi on meeleoluhäired (F30 – F39) maniakaalne episood e. maania (F30), mille alla mahub ka hüpomaania (F30.1), bipolaarne meeleoluhäire (F31), depressiivne episood e. depressioon (F32), korduv depressiivne häire e. korduv depressioon (F33), püsivad meeleoluhäired (F34), muud meeleoluhäired (F38) ja täpsustamata meeleoluhäired (F39).

Sageli esinevad iseseisvalt või kaasnevad meeleoluhäiretega neurootiliste, stressiga seotud ja somatoformsete haiguste (F40 – F49) hulka kuuluvad foobiad e. foobsed ärevushood (F40), muud ärevushäired (F41), kuhu alla kuuluvad paanikahäire (F41.0) ja generaliseeritud ärevushäire (F41.1) ning obsessiiv-kompulsiivne häire (F42).

Levinuimad meeleoluhäired on depressioon ehk unipolaarne häire (*Major Depressive Disorder – MDD; Unipolar Affective Disorder*), mille korral esinevad depressiooni episoodid ja bipolaarne häire ehk maniakaal-depressiivne häire (*Bipolar Disorder; Manic-Depressive Disorder*), mille korral vahelduvad depressiooni ja maania või hüpomaania episoodid. Levinuim ärevushäire on paanikahäire (*Panic Disorder*).

Depressiooni põhisümptomiteks on alanenud meeleolu, huvide ja elurõõmu kadumine (anhedoonia) ja energia vähenemine. Lisasümptomitena eristatakse tähelepanu- ja kontsentratsioonivõime alanemist, alanenud enesehinnangut ja -usaldust, süü- ja väärtusetusetunnet, trööstitut ja pessimistlikku suhtumist tulevikku, enesekahjustuse- või suitsiidimõtteid või -tegusid, häiritud und, isu alanemist. Depressioon võib esineda kergel mõõdukal või raskel kujul. Kerge depressiooni sümptomid on inimese jaoks tavaliselt ebameeldivad, tal on mõningaid raskusi igapäevases töös ja suhtlemises, kuid tõenäoliselt ei kao tema tegutsemisvõime täielikult. Mõõduka depressiooniga isikul on harilikult märgatavaid raskusi sotsiaalses, tööalases ja koduses tegevuses. Raske depressiooniga patsiendil esineb tavaliselt tugev kurbus või rahutus. Enesehinnangu alanemine või ülearusus- ja süütunne on sageli juhtivad ning eriti rasketel juhtudel on reaalne suitsiidioht.

Maania tunnusteks on meeleolu kõrgenemine, sõltumata isiku olukorrast, mis võib varieeruda muretust heatujulisusest kontrollimatu erutuseni. Meeleolu tõusuga kaasneb energiatulv, mis viib üliaktiivsusele, kõnetungile ja vähenenud unevajadusele. Kaob kontsentreerumisvõime ja sageli tegeletakse ebapraktiliste probleemidega. Mõne

² Psühhiaatriliste haiguste klassifikatsioon ja diagnostilised kirjeldused on võetud TÜ psühhiaatriakliiniku internetileheküljelt: <http://www.kliinikum.ee/psyhhaatriakliinik>

maniakaalse episoodi käigus on meeleolu pigem ärritatud ja kahtlustav kui kõrgenenud. Võivad esineda psühhootilised sümptomid nagu hallutsinatsioonid, suurusehullustus või tagakiusamislul. Maania katkestab peaaegu täielikult igapäevase töö ja normaalse sotsiaalse tegevuse.

Hüpomaania on maania nõrgem aste, mille puhul ei ole hallutsinatsioone ega luulumõtteid. Püsivalt esineb kerge meeleolu kõrgenemine (vähemalt mitu päeva järjest), energia ja aktiivsuse tõus ja tavaliselt ilmne heaolu ning vaimse ja füüsilise töövõime kõrgenemise tunne. Sageli esineb ka kõrgenenud seltskondlikkus, jutukus, familiaarsus, seksuaalsuse tõus ja unevajaduse vähenemine, kuid mitte sellisel määral, et see põhjustaks raskeid häireid töös või sotsiaalsetes suhetes. Kontsentratsioon ja tähelepanu, samuti püsiva töötamise või lõõgastumise võime võivad nõrgeneda.

Paanikahäire põhiliseks iseärasuseks on korduvad rasked ärevushood e. paanikahood, mis ei ole seotud kindla situatsiooni või muude välistingimustega ning seetõttu on subjektile ootamatud ja prognoosimatud. Domineerivateks sümptomiteks on ootamatu algusega südamekloppimine, valu rindkeres, lämbumistunne, nõrkus- ja ebareaalsustunne (depersonalisatsioon või derealisatsioon). Peaaegu alati on surmahirm, hirm kaotada enesekontroll või hirm hulluks minna. Hood kestavad tavaliselt minuteid, vahel ka kauem, nii hoogude sagedus kui ka häire kulg varieeruvad. Paanikahoo ajal tugevnevad hirm ja vegetatiivsed sümptomid sedavõrd, et patsient katkestab käimasoleva tegevuse ja lahkub situatsioonist sageli kiirustades või põgenedes, sõltumata sellest, kus ta parasjagu viibib. Kui hoog tekib spetsiifilises situatsioonis nagu bussis või rahvahulgas, võib patsient hakata hiljem seda situatsiooni vältima. Sagedased ja ettearvamatud paanikahood põhjustavad hirmu üksinda jäämise või avalikesse kohtadesse mineku ees. Paanikahoogudele lisandub sageli püsiv hirm paanikahoogude kordumise ees.

1.1.2 Meeleolu- ja ärevushäirete kujunemisel osalevad faktorid

Depressiooni kujunemisega seostatakse isiklike läbielamisi, raskeid haiguseid, madalamat haridustaset, töötust ja isiklike suhete madalat kvaliteeti. Eestis seostus depressioon kõige enam madala sissetulekuga ja lähedaste ning perekonna toetuse puudumisega (Aluoja *et al.*, 2004). Psühhiaatrilised haigused kuuluvad komplekshaiguste hulka, mille kujunemisel osalevad keskkonnafaktorid kombineerudes geneetilise eelsoodumusega. Perekonna, kaksikute ja adopteerimisüuringud on andnud vihjeid geneetilise komponendi osakaalu kohta haiguse kujunemisel.

Depressioon on kõige tavalisem meeleoluhäire, mille esinemissagedus on 5 – 17% üldpopulatsioonis eluea jooksul ning haigestumisrisk on naistel 2 – 3 korda kõrgem kui meestel (Abkevich *et al.*, 2003). Perekonnauuringute põhjal on patsientide esimese astme lähisugulaste haigestumisrisk kõrgem, hinnanguliselt 10 – 25%. Kaksikute uuringute põhjal on geneetilise komponendi osatähtsuseks hinnatud 36 – 70% (Levinson *et al.*, 2003).

Bipolaarse häire esinemissagedus eluea jooksul on 0.5 – 1.5% ja see esineb naistel ja meestel võrdselt (Craddock & Jones, 1999). Haigestunud indiviidi lähisugulaste haigestumisrisk on 5-10% võrreldes 1% üldpopulatsiooni haigestumisriskiga. Ühemunakaksikute haigestumise konkordantsusmäär on 75-80%, samas kui erimunakaksikutel on see vaid 15 - 20% (Evans *et al.*, 2000). Arvatakse, et bipolaarse häire kujunemisel on geneetilise faktori osakaal ligikaudu 60% ja keskkonnafaktorite osakaal ligikaudu 30 – 40% (Taylor *et al.*, 2002).

Paanikahäire on samuti tihti perekondlik (Weissman *et al.*, 1993), mis viitab tema geneetilisele komponendile. Keskmise esinemissagedus eluea jooksul üldpopulatsioonis on 3.5% ning sagedamini haigestuvad naised kui mehed, vastavalt 5% ja 2% (Kessler *et al.*, 1994). Haiguse kujunemisel mängib tähtsat rolli geneetiline eelsoodumus – haigestumise tõenäosuse aste tõuseb ~10%-ni erimunakaksikutel ja ~25% ühemunakaksikutel võrreldes 3.5% üldpopulatsiooni haigestumisriskiga. Perekonna-uuringud näitavad, et paanikahäirega indiviidide 1. astme lähisugulastel on haiguse esinemissagedus eluaja jooksul vahemikus 8-31% (Finn & Smoller, 2001). Kaksikute ja perekonnauuringute tulemused on näidanud, et geneetilise faktori osakaal moodustab ~ 30-40% haigusfenotüübi kujunemise mõjufaktoritest (Kendler *et al.*, 1993), olles ligikaudu kaks korda madalam näiteks bipolaarse häire vastavast näitajast (Cichon *et al.*, 1996).

1.2 Komplekshaigused

Kuigi inimese genoom on indiviidide vahel 99.9% ulatuses identne, esineb siiski 0.1% ulatuses varieeruvust. See tähendab, et meie genoomis on miljoneid variatsioone, millest suurema osa moodustavad SNP-d. See varieeruvus vastutabki selle eest, et inimesed kannavad erinevaid pärilikke tunnuseid nagu kasv ja välimus, sealhulgas ka eelsoodumust haigustele (Kruglyak & Nickerson, 2001).

Mendeliaalseid haiguseid põhjustavad kindlad mutatsioonid ühes geenis, mis on vajalikud ja piisavad haigusfenotüübi kujunemiseks. Kindlale genotüübile vastab alati kindel fenotüüp. Sellised mutatsioonid on suhteliselt harvad ning arvatakse, et tegemist on hiljuti tekkinud mutatsioonidega, mille vanus ei ületa 2000 aastat (Chakravarti, 1999).

Komplekshaiguseks peetakse haigust, mille pärandumine ei toimu klassikalise Mendeli dominantse, retsessiivse või X-liitelise pärandumise reeglite järgi ning ühe genotüübi tagajärjel võib kujuneda mitu erinevat fenotüüpi tänu juhusele või interaktsioonile teiste geenidega ja keskkonnafaktoritega (mittetäielik penetrantsus ja fenokoopiad). Samuti võivad ühe fenotüübi kujunemise põhjustada mutatsioonid, mis on toimunud erinevates geenides või siis erinevad mutatsioonid samas geenis (geneetiline heterogeensus) (Lander & Schork, 1994). Komplekshaigusteks (*common disease*) peetakse valdavat enamust sageli esinevatest haigustest nagu näiteks kardiovaskulaarsed haigused, tüüp 1 ja 2 diabeet, astma, mitmed vähkkasvajad. Sinna hulka kuuluvad ka psühhiaatrilised haigused. Kuna need haigused esinevad populatsioonis sagedasti, arvatakse, et nende eest vastutavad sagedased polümorfismid (*common variants*), mis on suhteliselt vanad (10000 aastat ja vanemad) (Chakravarti, 1999). Komplekshaigusega seotud alleelide sagedus on populatsioonis kõrge, kuna haigusalleel pole letaalne, vaid annab ainult eelsoodumuse teatud tingimustes vastava fenotüübi kujunemiseks. Seega võivad eelsoodumust kandvat alleeli kanda nii terved kui haiged indiviidid ning vastavat alleeli populatsioonis ei elimineerita (Lander & Schork, 1994).

Komplekshaiguse kujunemisel osaleb rohkem kui üks geen ning fenotüübi ja genotüübi vahel puudub selge seos (Lander & Schork, 1994). Haiguse fenotüüp on paljude erinevate geenide alleelide ja nende poolt põhjustatud efektide summaarne tagajärg (Risch, 2000; Glatt & Freimer, 2002). Enamus komplekshaigust põhjustavaid geenide allelele pärandub üksteisest sõltumatult ning võrreldes monogeensete haigustega on nende alleelivariantide üksikmõju komplekshaiguse avaldumisele väga väike (Glatt & Freimer, 2002). Tunnuse kandjad on pärinud kõrget haigusrisi kandvate (*high-susceptibility*)

geenide kombinatsiooni (Chakravarti, 1999). Geneetilise mudeli kohaselt areneb (haigus)tunnus, kui eelsoodumus vastavale haigusele kombineerub etioloogiliste faktoritega, ületades kindla bioloogilise riski läve (*threshold*).

Kuna esinevad lookused ja alleelid, mis suurendavad riski haigestuda, siis võivad esineda ka lookused ja alleelid, mis seda riski vähendavad. Seega eksisteerib võimalus, et haigus ei kujune mitte seetõttu, et indiviid kannab liiga palju riskialleele, vaid selleks, et päritud on liiga vähe protektiivseid allelele (Chakravarti, 1999).

1.2.1 Komplekshaiguste geneetilise komponendi kaardistamine

Tuntuimad komplekshaiguste kaardistamise strateegiad on aheldusanalüüs (*linkage analysis*) ja assotsiatsiooniuuring (*association study*).

Aheldusanalüüsil uuritakse perekondades DNA markerite koospärandumist haigusega. Selleks vajatakse võimalikult suuri ja mitmeid põlvkondi haaravaid perekondi (Burmeister, 1999). Aheldusanalüüs sobib hästi monogeensete haiguste uurimiseks, kuna võimaldab kindlaks määrata kõrget relatiivset riski kandvaid allelele, mis on peamised haigusfenotüübi põhjustajad. Komplekshaiguste kujunemisel fenotüübile väiksemat mõju avaldavate alleelide detekteerimisel on aheldusanalüüs jäänud nõrgaks ja on paljudel juhtudel andnud vastuolulisi tulemusi. Seetõttu peetakse sobivamaks assotsiatsiooniuuringuid, kuna need omavad suuremat statistilist võimsust (*power*) detekteerida suuremal hulgal väikest efekti omavaid geene (Risch & Merikangas, 1996). Samuti vajatakse assotsiatsiooniuuringutel tunduvalt väiksemat indiviidide hulka, kusjuures patsiendid ei pea olema suguluses, kuna vaadeldakse üksikuid patsiente ja kontrollindiviide. Ka on konkreetsete kandidaatgeenide uurimine odavam kogu genoomi hõlmavast aheldusanalüüsist (Baron, 2002).

1.2.2 Assotsiatsiooniuuringud

Assotsiatsiooniuuringul võrreldakse haigusfenotüübiga indiviide (patsiente) tervete kontrollindiviididega ja vaadeldakse geneetilise markeri alleelide ja genotüüpide või markerhaplotüüpide esinemissageduste erinevusi patsientidel ja kontrollidel (*case-control study*) (Lander & Schork, 1994). Eeldatavasti on minoorse alleeli sagedus suurem patsientidel võrreldes kontrollidega (tegemist on riskialleeliga antud haiguse suhtes), kuid

minoorse alleeli sagedus võib samas olla suurem ka kontrollidel (tegemist on protektiivse alleeliga antud haiguse suhtes). Assotsiatsioon haigusfenotüübi ja markeralleeli vahel on seda tugevam, mida kõrgem on alleeli esinemissagedus patsientidel võrreldes kontrollidega (Collins *et al.*, 1997). Kui uuring näitab assotsiatsiooni haigusfenotüübi ja markeralleeli vahel, siis vastav alleel võib olla ise funktsionaalselt seotud fenotüübi kujunemisega või on aheldunud haigust põhjustava alleeliga. Positiivne tulemus võib tuleneda ka juhusest või olla viga (Cardon & Palmer, 2003).

Ka suguluses olevate indiviididega viiakse läbi assotsiatsiooniuuringuid, mis kujutavad endast perekonnauuringut, kus uuritakse heterosügootseid vanemaid ja haigusfenotüübiga lapsi (*case-parent trios*) (Nowotny *et al.*, 2001). *Case-control* assotsiatsiooniuuring on siiski eelistatud, kuna võimaldab lihtsamini leida suurt hulka patsiente ja kontrollindiviide ning võimaldab paremini uurida hilise avaldumisega haigusi (Cardon & Palmer, 2003).

SNPde kasutamine assotsiatsiooniuuringutel

Ühenukleotiidseid polümorfisme (*single nucleotide polymorphism* – SNP) peetakse sobivaimateks markeriteks komplekshaiguste kaardistamiseks läbiviidavatel assotsiatsiooniuuringutel mitmetel põhjustel:

- SNP-d on inimgenoomis võrreldes teiste markeritega (RFLP, minisatelliitjärjestused – VNTR, mikrosatelliitjärjestused - STR) laialt levinud. Enimlevinud on hinnang, et iga 1000 bp DNA järjestuse kohta esineb üks SNP (Sachidanandam *et al.*, 2001).
- SNP-de mutatsioonisagedus on oluliselt madalam (ligikaudu 2×10^{-8} asendust nukleotiidi kohta põlvkonnas) (Kruglyak & Nickerson, 2001) kui näiteks mikrosatelliitidel (STR) (Schafer & Hawkins, 1998).
- *Microarray* tehnoloogial põhinevad genotüpiseerimismeetodid võimaldavad läbi viia suuremahulisi, kiireid ja täpseid uuringuid ja automatiseeritud tulemuste analüüsi (Landegren *et al.*, 1998; Brookes, 1999).

SNP-deks loetakse ühealuspaarilisi variatsioone genoomses DNA-s, mis esinevad populatsioonis vähemalt 1% või kõrgema sagedusega. Valdavalt on SNP-d bialleelsed markerid (kuid esineb ka tri- ja tetraalleelseid SNP-sid) (Lai, 2001). SNP-d paiknevad genoomis ebaühtlaselt, asudes nii kodeerivates kui ka mittekodeerivates alades, kusjuures sagedasemad on mittekodeerivas alas paiknevad ja sünonüümsed (ei põhjusta aminohappelise järjestuse muutusi) SNP-d kui mittesünonüümsed SNP-d (Gray *et al.*, 2000). Kodeerivas alas asuvaid SNP-sid nimetatakse cSNP-deks ning 40 – 50% nendest

põhjustavad aminohappelise järjestuse muutusi või enneaegset translatsiooni terminatsiooni (Kruglyak & Nickerson, 2001).

Sõltuvalt sellest, milliseid SNP-sid assotsiatsiooniuringutes kasutatakse, jaotatakse kogu genoomi hõlmavad assotsiatsiooniuringud kaudseteks ja otsesteks. Otsesel assotsiatsiooniuringul määratakse ära SNP-d kandidaatgeenide kodeerivates ja regulatoorsetes alades ning detekteeritakse riskialleeli suurenenud esinemissagedust haigestunud indiviididel. Kaudse meetodi puhul leitakse assotsiatsioon haiguse ning neutraalsete polümorfismide vahel, mis paiknevad riskialleeli läheduses nii kodeerivates kui mittekodeerivates alades. See meetod eeldab, et võimalik riskialleel ja selle läheduses asuvad teatud SNP alleelid päranduvad genoomis esineva LD (*linkage disequilibrium*) tõttu väga suure tõenäosusega koos (Collins *et al.*, 1997; Kruglyak, 1999).

1.3 LD

Morgani seaduse järgi on samas kromosoomis paiknevad geenid lineaarselt aheldunud ja nende koospärandumine on seda sagedasem, mida lähemal nad teineteisele asuvad. Geenide koospärandumist võib katkestada homoloogiline rekombinatsioon ehk ristsiire, mille toimumissagedus kahe geeni vahel on seda suurem, mida kaugemal geenid üksteisest paiknevad. Geenide asemel võib vaadelda suvalisi geneetilisi markereid - ka SNP-sid. Kui vaadelda markerite koospärandumise sagedusi, saab koostada geneetilise kaardi, milles vahemaid mõõdetakse sentimorganites (cM). Kahe markeri vaheline kaugus on üks cM, kui nende vahel toimub rekombinatsioon sagedusega 1%. Siiski on leitud, et rekombinatsiooni määrad erinevad kromosoomide kui ka kromosoomipiirkondade lõikes. Seetõttu ei vasta distant geneetilisel kaardil distantile füüsilisel kaardil, mille mõõtühikuks on aluspaar (bp). Näiteks on ühe cM keskmine pikkus 1 Mb, kuid on näidatud, et naistel on see pikem kui meestel ehk, et meestel toimub rekombinatsioon sagedamini. Genoomis esinevad piirkonnad, kus ristsiire toimub eriti sageli ehk rekombinatsiooni *hotspot*'id. On näidatud, et 80% rekombinatsioonisündmustest toimub 20% järjestuse piires (Myers *et al.*, 2005). Sellest võib järeldada, et genoomis asub ka piirkondi, kus rekombinatsioonisündmusi ei toimu või toimub keskmisest märkimisväärselt harvem. Kui sellises piirkonnas asub kaks vaadeldavat markerit, siis on näha, et nad päranduvad koos. Sellist nähtust nimetatakse LD-ks (*linkage disequilibrium*).

Tänu LD-le moodustuvad genoomis piirkonnad, mis päranduvad alati koos ja kus rekombinatsiooni praktiliselt ei toimu. Sellistes piirkondades asuvad geenid või muud markerid päranduvad alati koos. Seega ei ole enam vaja uurida mõlema markeri olemasolu, kuna ühe esinemine ennustab ka teise olemasolu. Teatud piirkonnas asuvate markerite kombinatsiooni nimetatakse haplotüübiks. LD-s olevat piirkonda aga nimetatakse haplotüübiplokiks.

Kõikide markerite sagedused ei ole sarnased isegi siis, kui nad asuvad samas haplotüübiplokis. Seetõttu suudab ühe ploki sees teist markerit ennustada vaid sarnase sagedusega marker. Seega saab haplotüüpe kindlaks määrata, kasutades igast plokist väikest arvu htSNP-sid (Gabriel *et al.*, 2002), kuid et kirjeldada kogu varieeruvust, on vaja mitut erineva sagedusega markerit ehk tagSNP-d. Samuti ei ole ploki piirid alati üheselt määratavad, ning see sõltub valitud meetodist. Kahe markeri vahelise LD mõõtmine on aga lihtsam ja seetõttu saab varieeruvust täpsemini kirjeldada mitte plokkidega, vaid omavahel aheldunud markerite haplotüüpidega.

Kahe markeri vahelise LD mõõtmiseks kasutatakse tänapäeval peamiselt D' ja r^2 parameetreid. D' on vastavalt alleelisagedustele standardiseeritud LD koefitsient D ning D' väärtus hindab kahe lookuse vahelise juhusliku assotsiatsiooni hälvet. r^2 aga on kahe markeri vahelise korrelatsioonikordaja ruut. Kui $D' = 1$, siis viitab see rekombinatsioonisündmuse ajaloolisele mittetoimumisele kahe markeri vahel. $r^2 = 1$ korral on aga alleelisagedused täpselt võrdsed ning ühe SNP alleeli esinemine ennustab täpselt sellega aheldunud SNP vastava alleeli esinemist.

1.4 Rahvusvaheline HapMap projekt³

Rahvusvaheline HapMap projekt (*International HapMap Project*) sai alguse oktoobris 2002. Projekti eesmärgiks oli koostada inimese genoomi DNA järjestuse variatsioonide kaart, et aidata teadlastel leida komplekshaiguste ja -tunnustega seotud geene. Tegemist on mitme riigi teadlaste koostööprojektiga.

Esmalt genotüpiseeriti faas I raames 1.1 miljonit SNP-d ehk 1 SNP umbes iga 5 kb kohta 270 erineva päritoluga indiviidil üle kogu genoomi. Täna on valminud faas II ja HapMap projekti raames on genotüpiseeritud üle 3 miljoni SNP. Uuritud indiviidid pärit neljast erinevast populatsioonist: CEU (*CEPH in Utah*) - Lääne- ja Põhja-Euroopa päritoluga USA Utah osariigi kodanikud, kelle DNA koguti 1980. aastal Centre d'Étude du Polymorphisme Humain (CEPH) poolt (30 triot); CHB (*Chinese in Beijing*) - Han hiinlased Pekingist Hiinast (45 mittesuguluses olevat indiviidi); JPT (*Japanese in Tokyo*) - jaapanlased Tokyost Jaapanist (45 mittesuguluses olevat indiviidi); ja YRI (*Yoruba in Ibadan*) – jorubad Ibadanist Nigeeriast (30 triot).

Projekti kodulehel (<http://www.hapmap.org>) on kõigile tasuta kättesaadavad andmed genotüüpide, LD, alleelisageduste jm kohta erinevates uuritud populatsioonides. Teoreetiliselt saavad teadlased vastavat informatsiooni üle kanda ka teistele päritolult lähedastele populatsioonidele (nt eurooplased peaksid sarnanema üldjoontes CEU-ga). See lihtsustab uuringute planeerimist ja võimaldab tõhusamat markerite valikut. Peamiseks rakenduseks on kujunemas nn tagSNP-de valimine. Samuti on võimalik ennustada huvipakkuva SNP alleelisagedusi uuritavas populatsioonis.

³ Kirjeldus ja andmed on võetud *International HapMap Project*'i ametlikult koduleheküljelt aadressil: <http://www.hapmap.org>

HapMap CEU andmete põhjal valitud tagSNP-d suudavad kirjeldada 90 – 95 % eestlaste SNP-dest ENCODE1 ja ENCODE2 piirkonnas ($r^2 > 0.8$ CEU tagSNP ja eestlaste SNP-de vahel, mille minoorse allelisagedus oli üle 5%) (Montpetit *et al.*, 2006). CEU SNP-de minoorse alleeli sagedus erineb soomlaste 956 14. kromosoomi SNP minoorse alleeli sagedusest 60% juhtudest vähem kui 5% ja 98.8% juhtudest vähem kui 15%. Siiski leidis nende 965 SNP hulgas ka väga erineva sagedusega lookusi (Willer *et al.*, 2006). Seega suudavad esmased uuringud kinnitada, et HapMap andmete kasutamine lähedaste populatsioonide kirjeldamisel on üldjoontes põhjendatud, kuid ei saa unustada, et esineb ka kõrvalekaldeid.

1.5 Meeleolu- ja ärevushäirete kandidaatgeenid⁴

Keemilised ühendid, mida kasutatakse taju ning käitumise mõjutamiseks, on aidanud selgitada psühhopatoloogia molekulaarseid mehhanisme. Selliste keemiliste ühendite märklaudadeks organismis on enamasti neuromediaatorite retseptorid ja transporterid ning metaboolsed ensüümid. Seetõttu on põhiliselt uuritud antud valke kodeerivaid geene, et määrata psühhiaatriliste haiguste molekulaarseid determinante (Glatt & Freimer, 2002).

Juba üle 20 aasta on levinud meeleluhäirete monoamiinide hüpotees, mis põhineb depressiooniravimite toimimisel läbi amiinide retseptorite. Monoamiinid nagu dopamiin, serotoniin ja noradrenaliin toimivad kesknärvisüsteemis läbi postsünaptilistes neuronites asuvate G-valkudega seotud retseptorite, mis muudavad postsünaptiliste neuronite reaktsiooni teistele neurotransmitteritele (Kalia, 2005). Kuna vastavad retseptorid on seotud antidepressantide toime vahendamisega, siis võib oletada, et muutused nende süsteemide normaalses funktsioneerimises võivad avaldada mõju meeleluhäirete kujunemisele ning seetõttu ongi monoaminergilise neurotransmissioonisüsteemi geenid levinud sihtmärgiks meeleolu ja ärevushäirete geneetilise põhjuse uurimisel.

On näidatud, et neuropeptiid CCK-4 suudab intravenoossel süstimisel esile kutsuda paanikahoogusid pooltel normaalsetel inimestel ja pea kõigil paanikahäirega patsientidel (Wang *et al.*, 1998). Samuti on CCK-4 seotud dopamiini vabanemisega *nucleus accumbens*'is (Marshall *et al.*, 1991), mis viitab selle süsteemi seotusele monoaminergilise süsteemiga. Seetõttu on ka koletsüstokiniini ja tema retseptorite geenid leidnud tähelepanu peamiselt paanikahäire, kuid ka teiste meeleolu- ja ärevushäirete uurimisel.

Oopium on tõenäoliselt vanim aine, mida on kasutatud meeleolu mõjutamiseks. Manustamisel tekitab see eufooriat ja leevendab valu. Mitmed oopiumi derivaadid on tänapäeval kasutusel illegaalsete uimastitena, neist tuntuim on heroiin. Tänapäeval teatakse ka endogeenseid opioide nagu enkefaliin, β -endorfiin ja dünorfiin. Nii eksogeensed kui endogeensed opioidid toimivad läbi rakuliste retseptorite, mõjutades meeleolu, motivatsiooni ja valu taju (Kieffer & Gaveriaux-Ruff, 2002). Kuigi opioidse süsteemi geene on peamiselt uuritud seoses sõltuvushaigustega, ei ole välistatud selle süsteemi osalemine ka meeleolu- ja ärevushäirete kujunemisel.

⁴ Kõikide geenide kirjeldused on osaliselt võetud andmebaasidest Ensembl (<http://www.ensembl.org/>) ja NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

1.5.1 Koletsüstokiniini ja tema retseptorite geenid

Koletsüstokiniin (*cholecystokinin* - CCK) on neuromediaatorpeptiid, mis osaleb tähtsates füsioloogilistes funktsioonides kesknärvisüsteemis ja seedetraktis (Crawley & Corwin, 1994) ning on tihedalt seotud teiste neuromediaatorite ja neuropeptiididega (Rehfeld, 2000). CCK esineb koos dopamiiniga dopaminergilistes neuronites ning reguleerib dopamiini vabanemist *nucleus accumbens*'is (Marshall *et al.*, 1991). CCK peptiidide ja retseptorite talitlust kesknärvisüsteemis seostatakse toitumise, valu, emotsioonide ja mälu regulatsiooniga (Crawley & Corwin, 1994). CCK mängib olulist rolli ärevuse ja paanikahoogude neurobioloogias, kuna CCK-4 neuropeptiid kutsub manustamisel esile paanikahoogusid nii paanikahäirega patsientidel kui ka tervetel inimestel (Bradwejn *et al.*, 1990). Samuti on CCK oluline mitmete psüühiliste funktsioonide regulatsioonil (Harada *et al.*, 1998). CCK geen on lokaliseerunud kromosoomi 3pter-p21 regiooni. Geen on kolm eksonit ja transleeritav järjestus algab teisest eksonist, transkribeeritava ala pikkus on 747 bp ja valk 115 aminohappe pikkune prekoletsüstokiniini prekursor, millest lõigatakse ekso- ja endoproteaaside abil aktiivne valk.

Identifitseeritud on kaks CCK retseptorit: peamiselt väljaspool aju esinev e. perifeerne retseptor (CCKAR) ja peamiselt ajus lokaliseeruv e. tsentraalne retseptor (CCKBR).

Koletsüstokiniini retseptor A (CCKAR) on seotud toitumise ja dopamiinist sõltuva käitumisega nii perifeerses kui ka kesknärvisüsteemis. Ta vahendab sapipõie kontraktsioone ja pankrease ensüümide sekretsiooni ning võib osaleda tüseduse, sapikivide tekkimise ja insuliin-mittesõltuva *diabetes mellitus*'e (NIDDM) patogeneesis (Miller *et al.*, 1995; Ulrich *et al.*, 1993). CCKAR lokaliseerub kromosoomi 4p15.2-15.1 regioonis koos dopamiini retseptor D5 (DRD5) geeniga. Geen koosneb viiest eksonist ja transkribeeritava ala pikkus on 1682 bp, kodeerides 428 aminohappest koosneva valgu.

Koletsüstokiniini retseptor B (CCKBR) esineb peamiselt ajus ja vahendab CCK tegevust hüperteesia, ärevuse ja valutundlikkuse puhul (Crawley & Corwin, 1994). Arvatakse, et skisofreenia ja tema kliinilise pildi heterogeensus sõltuvad osaliselt CCK vabanemise vähenemisest või muutustest CCKBR-is (Tachikawa *et al.*, 1999). CCKBR lokaliseerub kromosoomis 11p15.4 koos dopamiini retseptor D4 (DRD4) geeniga. Geen koosneb viiest eksonist ning transkribeeritava ala pikkus on 2112 bp, kodeeritav valk koosneb 447 aminohappest.

Uuringud on näidanud, et CCKAR vahendab CCK-sõltuvat dopamiini vabanemist, samal ajal kui CCKBR vahendab CCK-sõltuvat dopamiini vabanemise inhibitsiooni. (Crawley, 1994; Marshall *et al.*, 1991). Arvatakse, et CCKAR hüperaktiivsus või muutused retseptoris viivad dopamiini vabanemise suurenemisele, mis võib põhjustada eelsoodumust haigestuda skisofreeniasse (Tachikawa *et al.*, 2001).

1.5.2 Dopaminergilise süsteemi geenid

Dopamiin on ajus enimesinev katehhoolamiinergiline neurotransmitter (Massat *et al.*, 2002). Dopamiinil on neurobioloogias kaks tähtsat rolli. Esiteks on dopamiin on vaheühend türosiini ning norepinefriini ja epinefriini biokeemilises rajas. Teiseks on ta neurotransmitter nii perifeerses kui kesknärvisüsteemis (Basu & Dasgupta, 2000; Carey, 2001).

Dopamiini süsteem osaleb tunnetusprotsessides, emotsioonide (heaolu, nauding, eufooria) tekkes, samuti rühi ja motoorika kontrollis ning sisesekretsiooninäärmete funktsioneerimises (Gordon *et al.*, 1997; Wong *et al.*, 2000). Muutused dopamiini süsteemis põhjustavad skisofreenia, Parkinsoni, Huntingtoni ja Alzheimeri tõve sarnaseid tunnuseid. Dopamiini retseptorid on sihtmärgiks psühhoosi, Tourette'i sündroomi ja ADHD ravimitele (Wong *et al.*, 2000). Sõltuvust tekitavad ained nagu kokaiin, amfetamiin, nikotiin ja alkohol stimuleerivad dopamiini süsteemi (Gordon, 1997; Wong, 2000). Dopamiini funktsiooni suurendavate uimastite uuringud on andnud tõendusi dopaminergilise komponendi osalemisel paanikahäires (Stochino *et al.*, 2003).

Dopaminergilised retseptorid on neuraalsetes membraanides paiknevad 7 hüdrofoobse domeeniga transmembraansed valgud. Iga retseptor koosneb umbes 400 aminohappest. Mõned neist retseptoreist sarnanevad G-valke siduvate retseptoritega. Dopaminergilise süsteemi 5 dopamiini retseptorit klassifitseeritakse biokeemiliste ja farmakoloogiliste kriteeriumide alusel kahte perekonda: D1 ja D2. D1 perekonda kuuluvad dopamiini retseptor D1 (DRD1) ja DRD5 (stimuleerivad adenülaatsüklaasi aktiivsust), D2 perekonda kuuluvad DRD2, DRD3 ja DRD4 (inhibeerivad adenülaatsüklaasi aktiivsust) (Gordon *et al.*, 1997; Prasad *et al.*, 2002).

Dopamiini D1 retseptorid reguleerivad neuronite kasvu ja arengut, vahendavad mõningaid käitumisega seotud vastusreaktsioone ning moduleerivad dopamiini retseptori D2 poolt vahendatud reaktsioone. DRD1 geen lokaliseerub kromosoomi 5q35.1 ja koosneb kahest eksonist, mis on 5' mittetransleeritavas regioonis eraldatud väikese introniga

(Grandy *et al.*, 1990; Zhou *et al.*, 1992). Alternatiivsete transkriptsiooni alguskohtade (-1061 ja -1040 bp startkoodoni suhtes) tõttu on sellel geenil kaks erinevat transkripti.

Dopamiini D2 retseptor geen asub kromosoomis 11q22-23 ning koosneb kaheksast eksonist. 29 aminohappe alternatiivne splaissing põhjustab retseptori kahe vormi teket – D2_L (*long*) ja D2_S (*short*) (Grandy *et al.*, 1989a,b).

Dopamiini D3 retseptor on seotud kognitiivsete, emotsionaalsete ning sisesekreetsiooninäärmete funktsioonidega. DRD3 on skisofreenia ja Parkinsoni tõve ravimite märklauaks. DRD3 geen asub kromosoomis 3q13.3 ning koosneb kuuest eksonist, mis on hajutatud 40 kb pikkusel alal (Wong *et al.*, 2000). Alternatiivne splaissing põhjustab viie erineva transkripti tekkimist.

Dopamiini D4 retseptor on samuti skisofreenia ja Parkinsoni tõve ravimite märklauaks. DRD4 asub kromosoomis 11p15.5, koosneb neljast eksonist (Gelernter *et al.*, 1992; Petronis *et al.*, 1993); geenis esineb väga palju polümorfseid piirkondi (Wong *et al.*, 2000).

Dopamiini D5 retseptoril on 10 korda kõrgem afiinsus dopamiinile kui dopamiini retseptoril D1. DRD5 lokaliseerub kromosoomi 4p15.1-15.3 ja koosneb kahest eksonist. Eksonid on omavahel eraldatud introniga, millel võib olla kaks suurust – 179 või 155 nukleotiidi (Beischlag *et al.*, 1995). Tuvastatud on DRD5 pseudogeene asukohaga 1. ja 2. kromosoomis.

Dopamiini retseptorite (DRD1, DRD2, DRD3, DRD4, DRD5) geenides esinevaid polümorfisme on uuritud seoses mitmete neuropsühhiaatriliste haigustega.

Türosiini hüdroksülaas (TH) osaleb türosiini konverteerimisel dopamiiniks. Geen asub kromosoomis 11p15.5 ning koosneb 14 eksonist. 1899 bp pikkune transkript kodeerib 528 aminohapest koonevat valku. Tegemist on limiteeriva ensüümiga katehhoolamiinide sünteesi rajas.

1.5.3 Serotonergilise süsteemi geenid

Serotoniin (5-hüdroksütrüptamiin, 5-HT) on üks olulisemaid kesknärvisüsteemiseoselisi neuromediaatoreid, millel on oluline roll mitmesuguste neuropsühhiaatriliste haiguste patofüsioloogias. Peale meeleolu- ja ärevushäirete seostatakse serotonergilise süsteemi geene ka paljude teiste bioloogiliste ja füsioloogiliste funktsioonidega.

Serotoniini seostatakse magamise, valu, meeleolu, agressiivsuse, liikumise, õppimise ja termoregulatsiooniga (Sanders *et al.*, 2001) ning kehakaalu regulatsiooni ja toitumishäiretega (Hinney *et al.*, 2000). Lisaks neile seostatakse serotoniini suitsiidide ja migreeniga, mitmete psühhiaatriliste seisunditega nagu depressioon, ärevushäired, obsessiiv-kompulsiivne häire ja psühhoos ning narkootiliste ainete kuritarvitamise ja sõltuvusega (Veenstra-VanderWeele *et al.*, 2000).

Serotonergilise neurotransmissioonisüsteemi moodustavad serotoniini retseptorite geenid - praeguseks on kirjeldatud kokku 16 geeni, mis jagunevad 7 klassi: 1 – HTR1A, HTR1B, HTR1D, HTR1E, HTR1F; 2 – HTR2A, HTR2B, HTR2C; 3 – HTR3A, HTR3B, HTR3C; 4 – HTR4A; 5 – HTR5A, HTR5B; 6 – HTR6; 7 – HTR7 (Filip *et al.*, 2005) - ning geenid, mis reguleerivad serotoniini sünteesi (TPH1, TPH2 - *tryptophan hydroxylase1 / 2*), akumulatsiooni (VMAT2 - *vesicular monoamine transporter type-2*), serotoniini tagasihaaret membraani poolt (SLC6A4 - *solute carrier family 6 member 4 - serotonin transporter*) ja serotoniini metabolismi (MAO-A - *monoamine oxidase A*) (Veenstra-VanderWeele *et al.*, 2000). Serotoniin funktsioneerib retseptorite kaudu, mis on integraalsed membraanivalgud 7 hüdrofoobse regiooniga ja seovad serotoniini nanomolaarse afiinsusega (Sanders *et al.*, 2001).

Serotonergilise neurotransmissioonisüsteemi geenidest on käesolevas töös vaatluse all seitse serotoniini retseptori geeni.

Serotoniini retseptor 1A (HTR1A) leidub nii pre- kui postsünaptiliselt. Ta on G-valgu seoseline retseptor ja funktsioneerib primaarselt adenüülütsüklaasi inhibitsiooni kaudu (Raymond *et al.*, 1999). Geen lokaliseerub kromosoomi 5q11.2-q13 ja koosneb ühest eksonist, mille kodeeriv järjestus on 1266 bp, kodeerides 421 aminohappe pikkust valku. HTR1A on hästi kirjeldatud retseptori klass, kuna on arvatavasti seotud ärevushäirete ja depressiooni patogeneesi ja raviga. Paljud ärevuse ja depressiooni ravimid (näiteks *buspirone*) on just selle retseptori agonistid. HTR1A *knockout* hiirtel on täheldatud suurenenud ärevust ja vähenenud stressitaluvust (Parks *et al.*, 1998) ning resistentsust bensodiazepiinide efektide suhtes (Sibille *et al.*, 2001).

Serotoniini retseptor 1B (HTR1B) retseptor on primaarselt presünaptiline G valgu seoseline retseptor, mis toimib peamiselt adenüülütsüklaasi kaudu (Veenstra-VanderWeele *et al.*, 2000). HTR1B retseptoril on nii auto- (presünaptiline) kui heteroretseptori (postsünaptiline) funktsioon (Sanders *et al.*, 2001). HTR1B lokaliseerub kromosoomi 6q13 ja koosneb ühest eksonist, mille kodeeriv järjestus on 1173 bp, ning ta kodeerib 390 aminohappe pikkust valku. HTR1B retseptorit seostatakse agressiivsuse ja

ainete kuritarvitamisega, geeni *knockout* hiirtel täheldati agressiivsuse tõusu ning samuti täheldati hiirtel kõrgeenenud alkoholi ja kokaiini tarbimist (Veenstra-VanderWeele *et al.*, 2000).

Serotoniini retseptor 2A (HTR2A) retseptor on postsünaptiline G-valgu seoseline retseptor, mis aktiveerib fosfoinositiidi hüdrolyüsi (Veenstra-VanderWeele *et al.*, 2000) ja aktiveerib fosfolipaas C-d (Raymond *et al.*, 1999). HTR2A geen lokaliseerub kromosoomi 13q14-q21 ja sisaldab 3 eksonit. 2720 bp pikkune transkript kodeerib 471 aminohappe pikkust valku.

Serotoniini retseptor 2C (HTR2C) retseptor on postsünaptilise G-valgu seoseline retseptor, mis aktiveerib guanüültsüklaasi ja fosfoinositiidi hüdrolyüsi (Kaufman *et al.*, 1995). Geen lokaliseerub kromosoomi 13q14-q21 ja koosneb neljast eksonist. Transkripti pikkus on 1377 bp ning see kodeerib 458 aminohappe pikkust valku. Retseptor on eeldavasti seotud toitumishäiretega, HTR2C *knockout* hiirtel on märkimisväärselt suurenenud kehakaal (Tecott *et al.*, 1995). Seda retseptorit seostatakse ka hallutsinatsioonidega, kuna LSD, amfetamiin ja klosapiin omavad suhteliselt kõrget afiinsust retseptori suhtes.

Serotoniini retseptor 3A (HTR3A) retseptori esinemistihedus võrreldes teiste serotoniini retseptoritega kesknärvisüsteemis on väiksem. HTR3A geen lokaliseerub kromosoomi 11q23.1 ning sisaldab 8 eksonit. 2297 bp pikkune transkript kodeerib 510 aminohappe pikkust valku.

Serotoniini transporter (*solute carrier family 6 - SLC6A4*) on transmembraanne valk, mis transpordib serotoniini sünaptsist tagasi neuronisse, lõpetades serotoniini toimimise. Serotoniini transporter on depressiooni ja obsessiiv-kompulsiivse häire ravis kasutatavate serotoniini tagasihaarde (*reuptake*) inhibiitorite sihtmärk (Veenstra-VanderWeele *et al.*, 2000). Geen lokaliseerub kromosoomi 17q11.1-q12 ja sisaldab 14 eksonit. 2508 bp pikkune transkript kodeerib 630 aminohappelise valku.

Trüptofaani hüdroksülaas (TPH1) katalüüsib trüptofaani konverteerimist 5-hüdroksütrüptofaaniks, millest saadakse pärast dekarboksüleerimist serotoniin. Geen lokaliseerub kromosoomi 11p15.3-p14 ja sisaldab 11 eksonit. 1401 bp pikkune transkript kodeerib 466 aminohappe pikkust valku. Tegemist on limiteeriva ensüümiga, millest sõltub tekkiva serotoniini hulk.

1.5.4 Opioidse süsteemi geenid

Endogeensete opiaatide süsteem koosneb kolmest prekursorvalgu geenist, mis kodeerivad enkefaliine, dünorfiine ja β -endorfiini. Samuti kuulub siia süsteemi kolm retseptorit mu-opioid retseptor (OPRM1), delta-opioid retseptor (OPRD1) ja kappi-opioid retseptor (OPRK1).

OPRM1, OPRD1 ja OPRK1 on sarnase ennustatud valgustruktuuriga retseptorid ning nad kuuluvad G-valkudega seotud retseptorite hulka.

Pro-opiomelanokortiin (POMC) kodeerib prekursorvalku, millest on võimalik koespetsiifiliste prohormooni konverteaside abil lõigata kümme erineva funktsiooniga peptiidi. Opioidses süsteemis osaleb nendest β -endorfiin. Geen lokaliseerub kromosoomi 2p23.3 ning koosneb kolmest eksonist. 1295 bp pikkune transkript kodeerib 267 aminohappe pikkust prekursorvalku.

Proenkefaliin (PENK) kodeerib prekursorvalku, millest pärast signaaljärjestuse eemaldamist peptidaasidega lõigatakse koespetsiifiliselt erinevaid aktiivseid enkefaliine. Geen lokaliseerub kromosoomi 8q23-q24 ning koosneb kahest eksonist. 1195 bp pikkune transkript kodeerib 267 aminohappe pikkust prekursorvalku. Enkefaliini peptiidid osalevad mitmes bioloogilises protsessis nagu stressivastuse kujunemine, valutundlikkus ja immuunsus. Samuti on näidatud nende osalemist psühhopatoloogiate nagu Alzheimer'i, Parkinson'i, Huntington'i haiguse ning skisofreenia juures (Ernst *et al.*, 2006). Enkefaliinid võivad leevendada ülepaisutatud ja depressiivset vastust pingelistele keskkonnatingimustele.

Mu-opioid retseptor (OPRM1) on peamine sihtmärk opiaatidele, vahendades teiste hulgas ka morfiini ja heroini toimet. Samuti on ta retseptoriks endogeensetele opioididele β -endorfiinile ja enkefaliinidele. Geen lokaliseerub kromosoomi 6q24-q25, koosneb neljast eksonist ning 2516 bp pikkune transkript kodeerib 462 ah pikkust valku.

Delta-opioid retseptor (OPRD1) vahendab osaliselt enkefaliinide toimet. Lokaliseerub kromosoomi 1p36.1-p34.3, koosneb kolmest eksonist ning 1774 bp pikkune transkript kodeerib 372 ah pikkust valku.

Kappi-opioid retseptor (OPRK1) Geen lokaliseerub kromosoomi 8q11.2, sisaldab nelja eksonit ning 4959 bp pikkune transkript kodeerib 380 ah pikkust valku. Arvatakse, et vastupidiselt mu- ja delta-retseptoritele, mis vahendavad opiaatide tasustavat (*rewarding*) toimet, vahendab kappi retseptor vastumeelsustunnet opiaatide suhtes (Saito *et al.*, 2003).

2. Materjal ja metoodika

2.1. DNA proovid

Patsientide (269 mittesuguluses olevat indiviidi) ja kontrollindiviidide (160 mittesuguluses olevat indiviidi, kelle puhul 1. astme lähisugulastel ei ole täheldatud psüühikahäireid nagu unipolaarne häire, skisofreenia, bipolaarne häire) vereproovid koguti Dr. Jakov Šliki poolt TÜ Psühhiaatrikliinikus ning DNA eraldati TÜ Füsioloogia Instituudis.

Patsientide diagnooside koodid vastavad WHO (*World Health Organization*) rahvusvahelisele haiguste klassifikatsioonile ICD-10 (*International Classification of Diseases and Related Health Problems, Chapter V*) ning on kinnitatud ka vastavalt DSM-IV (*Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, American Psychiatric Association*) kriteeriumitele struktureeritud diagnostilise intervjuu (*Structured Clinical Interview for DSM-IV - SCID*) abil.

Patsiendid jagati vastavalt diagnoosidele depressiooni, bipolaarse häire ja paanikahäire gruppideks, mis omakorda jaotati vastavalt haiguse esinemisele iseseisvalt või koosavaldumisele teiste meeleolu- või ärevushäiretega. Gruppide diagnooside kirjeldused on esitatud Tabelis 1.

Tabel 1. Töös käsitletud patsientide grupid.

	Patsientide rühm	Rühma diagnoos
Depressioon (177)	MDD (177)	Unipolaarne häire (69) + unipolaarne häire koos kaasneva paanikahäirega (60) või muu ärevushäirega (48)
	MD0 (69)	Unipolaarne häire (69)
Bipolaarne häire (47)	BPA (47)	Bipolaarne häire (12) + bipolaarne häire koos kaasneva paanikahäirega (22) või muu ärevushäirega (13)
	BP0 (12)	Bipolaarne häire (12)
Paanikahäire (127)	PDE (127)	Paanikahäire (42) + paanikahäire koos kaasneva depressiooniga (60), bipolaarse häirega (22) või muu ärevushäirega (3)
	PDD (60)	Paanikahäire koos kaasneva depressiooniga (60)
	PD0 (42)	Paanikahäire (42)

Statistilise analüüsi jaoks moodustati patsientidest üldrühm, kuhu kuulusid kõik meeleolu- ja ärevushäiretega patsiendid (n = 269). Lisaks moodustati 8 alarühma: MDD+BPA (n = 224), MD0+BP0 (n = 81), MDD (n = 177), MD0 (n = 69), BPA (n = 47), PDE (n = 127), PDD (n = 60) ja PD0 (n = 42) ning kontrollrühm (n = 160). Paanikahäire rühmade jaoks valiti samade 160 kontrollindiviidi hulgast uus kontrollrühm (n = 146), mille liikmete sooline jaotuvus on sarnasem patsiendirühmadega. Patsiendigruppide ja kontrollrühma ealine ja sooline jaotuvus on toodud Tabelis 2.

Tabel 2. Ealine ja sooline jaotuvus töös käsitletud uuringurühmades.

Rühm	Indiviidide arv			Vanus		
	Mehed	Naised	Kokku	Keskmine vanus	SD	Vanusepiirid
MDD	39	138	177	40.3	13.5	18-73
MD0	16	53	69	40.3	15.0	18-73
BPA	21	26	47	35.4	12.6	17-65
PDE	23	104	127	38.4	13.0	18-73
PDD	9	51	60	39.7	12.9	18-69
PD0	6	36	42	37.9	12.9	20-73
Kokku (patsiendid)	67	202	269	39.1	13.4	17-73
Kontroll	49	111	160	37.7	14.2	18-71
Kontroll (paanikarühm)	37	109	146	38.7	14.0	18-71
Kokku	116	311	429	38.6	13.7	18-71

2.2. Genotüüpiseerimine

Indiviidide genotüüpiseerimiseks kasutati APEX meetodit. APEX (*Arrayed Primer EXtension*) ehk praimerekstensioon oligonukleotiidmaatriksil on DNA analüüsi meetod, mis võimaldab uurida erinevaid mutatsioone mistahes lookustes. APEX meetod võimaldab üheaegselt visualiseerida kogu uuritava järjestuse, kulutamata hilisemates analüüsietappides aega fragmentide eraldamisele (Tõnisson *et al.*, 2000a).

DNA järjestuse identifitseerimisel APEX meetodil kasutatakse üheaegselt kahte mehhanismi: esiteks komplementaarsete fragmentide hübridisatsiooni praimeritele ja teiseks märklaud-DNA-st sõltuvat praimerekstensiooni reaktsiooni termostabiilse DNA polümeraasiga.

DNA järjestuse määramise põhietapid APEX meetodil on uuritava DNA amplifikatsioon polümeraasi ahelreaktsiooniga (PCR), amplifitseeritud DNA kontsentreerimine ja puhastamine, DNA fragmenteerimine, APEX reaktsioon ning signaali detekteerimine ja analüüs.

Fragmenteeritud märklaud-DNA hübridiseeritakse APEX reaktsiooni käigus klaaskandjal 5' otsaga kinnitatud proovidele (primeritele), millele järgneb märklaud-DNA-st sõltuv praimerekstensiooni reaktsioon DNA polümeraasiga.

APEX meetodil kasutatakse nelja erinevat fluorestsentsmärgist ühes reaktsioonis, mis võimaldab saada ühelt slaidilt info kogu uuritava järjestuse kohta, seejuures korraga mõlemalt DNA ahelalt. Reaktsiooni tulemusena identifitseerib iga maatriksil olev proov ühe nukleotiidi märklaud-DNA järjestuses (Shumaker *et al.*, 1996).

Slaidid loetakse GenoramaTM 003 detektoriga, kasutades igale fluorestsentsvärvile vastavat laserit ja emissioonfiltrit. Analüüsi käigus mõõdetakse signaalide intensiivsusi igas proovi seandumispunktis ning saadud tulemusi võrreldakse kontrolljärjestustega (Tõnisson *et al.*, 2000b). APEX meetodit kasutatakse resekveneerimisel, mutatsioonanalüüsil ja genotüüpiseerimisel (Shumaker *et al.*, 1996).

2.2.1. Oligonukleotiidide disain

Uuritavad kandidaatgeenid ja nende polümorfismid valiti koostööpartnerite poolt kirjanduse andmete põhjal 2001. aasta seisuga, kui oli suhteliselt vähe teada inimese genoomi variatsioonide kohta.

Iga uuritava polümorfismi jaoks leiti andmebaasidest (www.ensembl.org; www.ncbi.nih.gov/Genbank) genoomne järjestus, mille järgi telliti 25-meersed praimerid (Sigma Genosys, Pampisford, UK) 5'-3' suunas kodeeriva ja mittekodeeriva ahela järgi. Seega igat uuritavat polümorfismi/mutatsiooni uuriti ühel maatriksil nii kodeerival kui mittekodeerival märklaud-DNA ahelal korraga.

Võimalike sekundaarstruktuuride esinemist oligonukleotiidides kontrolliti vastavate arvutiprogrammidega (Georg Slavin, Asper, Tartu) ja "Primer Premier Version 4.04" (Premier Biosoft International, Palo Alto, CA, USA), mis ennustavad dimeere ja juuksenõel-struktuure. G. Slavini programm pakub välja ka *mismatch*'e ehk mittekomplementaarseid asendusi, mis vähendavad sekundaarstruktuuride stabiilsust DNA järjestuses. APEX praimerite järjestused on toodud Lisas 2.

2.2.2. Klaaskandja ettevalmistamine ja praimerite sidumine

Kandjana kasutati aminosilaaniga funktsionaliseeritud mikroskoobi katteklaase (24 × 60 mm, Menzel GmbH, Braunschweig, GER). Klaaside silaanimiseks kasutati varemavaldatud meetodi (Guo *et al.*, 1994) modifikatsiooni.

25-meersed 5' aminorühmaga modifitseeritud oligonukleotiidid lahustati 0.1 M Na-karbonaatpuhvrts [Na₂CO₃/NaHCO₃ (pH 9)] lõppkontsentratsiooniga 50 µM. Praimerite kandmiseks klaasidele kasutati Virtek•ChipWriter™ Pro (Virtek Vision Inc., Waterloo, Ontario, Kanada) robotit. Igat proovi kanti klaasile kahes korduses.

Klaaside ettevalmistus ja printimine teostati Asperis (Asper Biotech, Tartu, Eesti).

2.2.3. PCR-i produktide ettevalmistamine APEX reaktsiooniks

90 uuritavat polümorfismi (Lisa 1) sisaldava piirkonna DNA amplifitseeriti 67 eraldi PCR reaktsiooniga (PCR praimerite järjestused Lisas 3). Iga PCR-i reaktsioonisegu sisaldas 2.5 µl 10× PCR puhvrit [750 mM Tris-HCl (pH 8.8), 200 mM (NH₄)₂SO₄, 0.1% Tween 20; MBI Fermentas, Vilnius, Leedu]; 1.5 mM MgCl₂; 0.2 mM dATP, dCTP, dGTP, 0.16 mM dTTP, 0.04 mM dUTP (Amersham Biosciences Inc., Milwaukee, WI, USA); 10 pmol igat

praimerit (Sigma Genosys); 1 U rekombinantset *Taq* DNA polümeraasi (Naxo, Tartu, Eesti); 50 ng uuritavat DNA-d ning ddH₂O-d lõppmahuni (25 µl).

Amplifikatsioonid viidi läbi Eppendorf Mastercycler Gradient (Eppendorf GmbH, Hamburg, GER) ja PTC-200 (MJ Research, Inc. Watertown, MA, USA) PCR-i masinatega järgmistel tingimustel:

Programm 1 (touchdown):

algne denaturatsioon:	95°C 5 min	
denaturatsioon:	95°C 25 sek	
praimerite seondumine:	68°C 30 sek	} 2 tsüklit (temperatuuri langus tsükli
ekstensioon:	72°C 30 sek	kohta 2°C)
denaturatsioon:	95°C 25 sek	
praimerite seondumine:	64°C 30 sek	} 11 tsüklit
ekstensioon:	72°C 30 sek	
denaturatsioon:	95°C 25 sek	
praimerite seondumine:	63°C 30 sek	} 3 tsüklit (temperatuuri langus tsükli
ekstensioon:	72°C 30 sek	kohta 1°C)
denaturatsioon:	95°C 25 sek	
praimerite seondumine:	60°C 30 sek	} 22 tsüklit
ekstensioon:	72°C 30 sek	
inkubatsioon:	72°C 6 min	

Programm 2:

algne denaturatsioon:	95°C 5 min	
denaturatsioon:	95°C 30 sek	
praimerite seondumine:	55°C 40 sek	} 34 tsüklit
ekstensioon:	72°C 40 sek	
inkubatsioon:	72°C 6 min	

Kõik PCR-i produktid kontrolliti geelelektroforeesil 1.5% agarosgeelis 0.5× TBE (45 mM Tris-boraat; 1 mM EDTA-Na₂ (dinaatriumetüleendiamiintetraatsetaat)) puhvrts. Kontrollitud produktid koguti kokku, kontsentreeriti ja puhastati, kasutades Urisep[®] Mini-

100 ultrafiltratsioonikolonne (DiaSys Europe Ltd., Wokingham, Berkshire, UK) vastavalt valmistajatehase protokollile. Kontsentreerimiseks kasutati 300 µl PCR-i produkti. Saadud ~10 µl kontsentreeritud produktile lisati 5 µl ddH₂O-d.

Puhastatud ja kontsentreeritud produktid fragmenteeriti uratsiil-*N*-glükosülaasiga (UNG, Epicentre Technologies, Madison, WI, USA) ning töödeldi kreveti aluselise fosfataasiga (SAP, Amersham Biosciences Inc.) 1× UNG-puhvril [50 mM Tris-HCl (pH 9.0), 20 mM (NH₄)₂SO₄] 1 tund 37°C juures. Reaktsioonis kasutati 15 µl kontsentreeritud PCR produkti, 1 U UNG-i, 1 U SAP-i ja 1/10 mahtu 10× UNG-i reaktsioonipuhvrit. Fragmentatsiooni kontrollimiseks denatureeriti 2 µl produkti 10 minutit 95°C juures ning seejärel kontrolliti geelelektroforeesil.

2.2.4. Paimerekstensiooni reaktsioon

Enne APEX reaktsiooni pesti klaasid kolm korda 2 min 95°C ddH₂O-ga. Reaktsioonisegu (kogumaht 30 µl) sisaldas 20 µl fragmenteeritud PCR-i produkte, 5 U ThermoSequenaseTM DNA polümeraasi (Amersham Biosciences Inc.) vastavas lahjenduspuhvril, 5 µl ThermoSequenase reaktsioonipuhvrit [260 mM Tris-HCl (pH 9.5), 65 mM MgCl₂] ja erinevate fluorokroomidega konjugeeritud didesoksünukleotiidide segu (0.75 µl 50 µM Texas Red-ddATP, 1 µl 50 µM Cy5-ddUTP, Cy3-ddCTP ja FL-12 (fluorestssein-12)-ddGTP (Perkin Elmer Life Sciences, Boston, MA, USA, Amersham Biosciences Inc.). Hübridisatsioonipuhvril olev DNA denatureeriti 95°C juures 10 min, lisati termostabiilne DNA polümeraas ning nelja erineva fluorestsentsmärgisega ddNTP-de segu. Seejärel kanti kogu reaktsioonisegu eelnevalt pestud ning kuivatatud klaasile ning kaeti LifterSlip[®] katteklaasiga (Erie Scientific Company, Portsmouth, NH, USA). APEX reaktsioon viidi läbi 58°C juures 20 minutit. Pärast reaktsiooni pesti klaasid 2 min 95°C ddH₂O-ga, seejärel 3 min 0.1% Alconox[®]-i lahusega (Alconox Inc., New York, NY, USA) ning kaks korda 2 min 95°C ddH₂O-ga ja kuivatati.

2.3. Signaali detekteerimine ja kiibi andmete analüüs

Fluorestseeruv signaal visualiseeritakse CCD kaameraga kombineeritud 4-kanalise täielikul sisepeegeldusfluorestsentsil põhineva detektoriga Genorama™ 003 (Estla Ltd., Tartu, Eesti). Fluorestsentsvärvid ergastatakse totaalse sisepeegelduse abil laserkiire juhtimisel klaasi sisse, kus viimane käitub lainekandjana. Ergastatakse vastava laseriga ja kasutades emissioonifiltreid (Tabel 3) visualiseeritakse signaalid spektraalselt eraldatud värvidest.

Praimerekstensiooni meetodil kasutatavate klaaside paremaks lugemiseks detektoriga kasutati spetsiaalseid ühest otsast matistatud klaase (Estla, Ltd., Tartu, Eesti). Nii parandatakse oluliselt klaaside ergastamist, sest sellise klaasi puhul toimib matistatud pind täiendavate ergastustsentritena.

Fluorestseini kiire pleekumise vastu kanti klaasile *antifade*-reagenti (SlowFade®, Molecular Probes, Eugene, OR, USA) ning kaeti seejärel katteklaasiga. Klaase loeti iga kanali kohta 120 sekundit (Tabel 3).

Tabel 3. “Genorama™ 003” laserid ja vastavad emissioonifiltrid nelja erineva fluorestsentsvärvi detekteerimiseks

Värv	Laser	Emissioonifilter	Lugemise aeg
Fluorestseiin (FL-12)	488 nm (sinine) Ar ⁺	520 nm	120 sek
Cy3	543 nm (roheline) HeNe	570 nm	120 sek
Texas Red	594 nm (kollane) HeNe	620 nm	120 sek
Cy5	633 nm (punane) HeNe	670 nm	120 sek

Saadud fluorestsentssignaalid teisendati DNA järjestuse andmeteks kasutades Image Pro Plus™ 3.0 (Media Cybernetics, Inc. Silver Spring, MD, USA) arvutiprogrammi. Analüüsimisel kasutati Genorama™ 4.1 arvutiprogrammi (Asper Biotech Ltd., Tartu, Eesti), mis analüüsib signaalide tugevusi erinevates nukleotiidide kanalites ning võrdleb saadud tulemusi kontrolljärjestustega. Analüüsi käigus võrreldi erinevates kanalites signaalide intensiivsusi igas oligonukleotiidi immobilisatsiooni punktis ning määrati nukleotiidide lülitumised kindlates positsioonides.

Paralleelselt kasutati ka APEX reaktsioonil saadud slaidide andmebaasi kasutatavat programmi PicDb™ (Asper Biotech Ltd., Tartu, Eesti), mis võimaldab üheaegselt võrrelda üht uuritavat positsiooni paljudel erinevatel klaasidel.

2.4. Andmete statistiline analüüs

APEX reaktsiooni tulemusel saadud DNA järjestuse andmete statistiliseks analüüsiks kasutati arvutiprogrammi Haploview Vers. 3.2 (Barrett *et al.*, 2005). Programmiga hinnati genotüpiseerimise õnnestumise määra (*call rate*) iga SNP lookuse korral ning kontrolliti SNP lookuse genotüüpide vastavust Hardy-Weinbergi tasakaalule kontrollidel ja patsientidel. Samuti kasutati Haploview programmi integreeritud tagSNP valimiseks ja hindamiseks loodud tööriista Tagger (deBakker *et al.*, 2005), et leida võrdluspopulatsiooni CEU andmete põhjal käesolevas töös uuritud polümorfismidega aheldunud SNP-sid. Aheldatuse kriteeriumiks kasutati $r^2 = 1$, mis näitab, et ühe SNP alleeli esinemine ennustab alati teise SNP vastava alleeli esinemist. r^2 on markerite korrelatsioonikoefitsiendi ruut.

Sama programmi kasutati ka alleelisageduste arvutamiseks patsientidel ja kontrollidel. Alleelse jaotuvuse erinevuse määramiseks kontrollidel ja patsientidel kasutati χ^2 testi ning tulemuste tähendusrikkust hinnati p-väärtusega, mis kirjeldab tõenäosust, et tulemused on saadud juhuslikult.

Statistilise analüüsi tulemuste interpretatsioon sõltub sellest, millist p-väärtust (*significance probability* ehk olulisuse tõenäosus) lugeda statistiliselt oluliseks ehk kuhu asetada α (*significance level* ehk olulisuse nivoo) tase. Üldiselt loetakse statistiliselt tähendusrikkaks (*significant*) $p < 0.05$, kuid komplekshaiguste puhul peetakse seda liiga pehmeks kriteeriumiks.

Antud töös klassifitseeriti assotsiatsioonitestide tulemused järgmiselt:

- $p < 0.1$ statistiliselt oletatav (*suggestive*),
- $p \leq 0.05$ piiripealne (*borderline*),
- $p \leq 0.01$ tähendusrikas (*significant*),
- $p \leq 0.001$ väga tähendusrikas (*highly significant*).

Paljude lookuste samaaegse uurimise (*multiple testing*) tõttu tekkiva vea vältimiseks kasutati permutatsiooni testi. Viidi läbi 1000 permutatsiooni.

LD analüüsiks kasutati programmi SNP Assistant 1.0 (Biodata Ltd; <http://www.biodata.ee>). Leiti geenisisesed aheldunud lookuspaarid kõigis uuringugruppide ühendrühmades (patsiendid + kontrollid). LD hindamisel kasutati D' väärtust, mis on vastavalt alleelisagedustele standardiseeritud LD koefitsient D ning see hindab kahe lookuse vahelise juhusliku assotsiatsiooni hälvet (Lewontin, 1988). Tulemus, kus $D' = 1$,

kirjeldab olukorda, kus kahe markeri vahel ei ole ajalooliselt rekombinatsiooni toimunud. Antud töös klassifitseeriti LD analüüsi tulemused järgmiselt:

$D' > 0.9$ kaks polümorfismi on täielikult aheldunud (absoluutne $D' = 1$)

$D' = 0.8 - 0.9$ polümorfismid on aheldunud

LD analüüs oli vaheetapiks enne haplotüübianalüüsi, leidmaks geenisiseseid aheldunud piirkondi. Haplotüübianalüüs viidi läbi kahe erineva programmiga. Esmalt vaadeldi levinumate haplotüüpide sageduste erinevusi patsientidel ja kontrollidel programmiga Haploview 3.2.

Seejärel viidi haplotüübianalüüs läbi haplotüübi ja haigusfenotüübi vahelist assotsiatsiooni hindava arvutiprogrammiga THESIAS Vers. 2, mis kasutab maksimaalse tõenäosuse algoritmi (*maximum likelihood method for estimation haplotype-phenotype association*) (Tregouet *et al.*, 2004). Haplotüübi efekti haigusfenotüübile hinnati riskifactoriga OR (*odds ratio*). OR näitab teatud sündmuse (antud juhul haplotüübi) esinemissageduste erinevusi patsientide ja kontrollindiviidide hulgas ning arvutatakse, jagades sündmuse esinemise patsientidel sündmuse esinemisega kontrollindiviidide rühmas. Haplotüübi riski hinnatakse antud juhul kõige sagedamini esineva haplotüübi suhtes, mis määratakse haigusfenotüübi suhtes neutraalseks.

Antud töös klassifitseeriti OR väärtus järgmiselt:

$OR < 1$ haplotüüp omab protektiivset efekti haigusele,

$OR > 1$ haplotüüp on seotud vastuvõtlikkusega antud haiguse suhtes, tegemist on nn riskihaplotüübiga.

Saadud riskifaktori väärtust tõlgendatakse sõltuvalt 95% usaldusväärsuse intervallist (*confidence interval*, C.I. – riskifaktori väärtuste vahemik, kuhu paiknevad 95% saadud riskifaktori väärtustest) ja konkreetsest haigusfenotüübist. Analüüsil saadavat riskifaktori väärtust ja sellega seostatavat haplotüübi efekti fenotüübile saab pidada statistiliselt usaldusväärseks ainult siis, kui usaldusväärsuse intervalli sisse ei jää OR väärtust 1.0. Haplotüübiefekti statistilist tähendusrikkust hinnatakse χ^2 p-väärtusega.

Uuringu võimsus ehk *power* arvutati koostöös Bioinformaatika õppetooliga tuginedes Lalouel'i ja Rohrwasser'i (2002) avaldatud tööle. *Power*'i arvutamisel seati olulisuse nivoo $\alpha = 0.05$ tasemele.

3. Tulemused

Töö eesmärgiks oli genotüpiseerida meeleolu- ja ärevushäiretega patsiente ning terveid kontrollindiviide Eestist, et läbi viia *case-control* assotsiatsiooniuuring leidmaks haigusseoselisi markereid uuritavatest kandidaatgeenidest.

3.1. Genotüpiseerimisandmete võrdlev analüüs

Genotüpiseerimise õnnestumise hindamiseks arvutati kõikide uuritud patsientide ($n = 269$) ja kontrollindiviidide ($n = 160$) ühendrühmas 90 uuritud SNP *call rate* ehk vaadeldi, kui suurel hulgal indiviididel saadi genotüübiandmed. Selgus, et poolte SNP-de korral ületas *call rate* 99% ning alla 80% jäi see vaid neljal juhul (-707G/C, -521C/T, -376C/T ja 346C/T) (Lisa 4). Keskmise *call rate* oli 96.5%.

Järgnevalt vaadeldi lookuste genotüüpse jaotuvuse vastavust Hardy-Weinbergi (HW) tasakaalule. Selleks arvutati HW p-väärtus programmiga Haploview 3.2. Vaadeldi vaid kontrollrühma indiviide, kuna patsientide hulgas võibki HW tasakaal olla nihkunud. Lookused ($n = 26$), mille genotüüpne jaotuvus ei vastanud HW tasakaalule ($p < 0.05$), eemaldati edaspidisest uuringust (Lisa 5). SNP 68G/C on X kromosoomi polümorfism ja seetõttu esineb meestel haploidsena ning see ei saagi HW tasakaalule vastata. Seetõttu jäeti polümorfism edasistesse uuringutesse.

Seejärel võrreldi allesjäänud 64 SNP minoorse alleeli sagedusi (MAF) teadaolevate MAF-idega teistes populatsioonides, kasutades Rahvusvahelise HapMap projekti koduleheküljel olevaid andmeid. Eesmärgiks oli kirjeldada MAF-ide kokkulangevust meie uuringurühmas ja HapMap andmebaasi populatsioonidel. Kuna alleelisagedused võivad patsientide hulgas erineda üldpopulatsioonist, siis kasutati võrdlemiseks kontrollrühma alleelisagedusi.

64 lookuse MAF arvutati programmiga Haploview. Uuritud SNP-dest 31 on genotüpiseeritud ka HapMap projekti raames (Lisa 6). MAF-ide erinevus meie uuringu rühma ja HapMap CEU populatsiooni vahel varieerus 0.1 – 34.9%. Varasemalt on näidatud, et 98.8% SNP-de puhul jääb soomlaste ja CEU populatsiooni alleelisageduste erinevus alla 15% (Willer *et al.*, 2006). Samuti on genotüpiseeritud suur hulk eestlaste SNPsid ning võrreldes neid tulemusi on sageduste erinevus sarnane soomlastega või isegi on erinevus väiksem (Montpetit *et al.*, 2006). Käesolevas uuringus olid erinevused palju suuremad (Tabel 4).

Tabel 4. MAF erinevused uuritud populatsioonides võrreldes HapMap andmetega kolme töö andmete põhjal

	Indiviidid (n)	SNP (n)	< 5%	< 10%	< 15%	< 20%	< 30%	< 40%	< 50%
Käesolev töö	160	31							
CEU			48.4	74.2	74.2	83.9	96.8	100.0	
CHB_JPT			19.4	41.9	54.8	64.5	90.3	100.0	
YRI			35.5	51.6	54.8	61.3	87.1	93.5	93.5
ENCODE1	1090	768							
CEU			91.1	98.6	99.2	99.6	99.7	100.0	
CHB_JPT			58.1	68.9	81.0	87.9	98.4	99.6	100.0
YRI			47.8	67.8	81.4	90.1	97.3	99.6	100.0
ENCODE2	1090	768							
CEU			83.1	96.1	98.2	98.4	99.1	99.3	100.0
CHB_JPT			53.3	67.8	77.1	86.1	96.2	98.6	100.0
YRI			43.6	62.2	71.6	79.0	91.7	98.4	100.0
Finnish	1425	956							
CEU			60.0	90.2	98.8				

Mitte kõik uuritud markerid ei sarnanenud oma alleelisagedustega kõige rohkem CEU populatsioonile. CEU populatsioonile sarnanesid 12, CHB_JPT ühendrühmale viis ja YRI rühmale 11 SNPd (Lisa 6).

Kolm SNP-d, 73C/A, -2218T/C ja 921T/C, olid monomorfsed kõigis HapMap rühmades, kuid käesolevas uuringus SNP 73C/A oli väga harv (MAF = 0.016), -2218T/C keskmise sagedusega (MAF = 0.063) ja 921TC suhteliselt sage (MAF = 0.288), samas on antud töös leitud MAF-id lähedased kirjanduses toodud andmetele.

On loomulik, et nii väikese arvu SNP-de kohta ei saa veel usaldusväärseid järeldusi teha. Suurtel erinevustel võib olla mitu selgitust. Esiteks on uuritud indiviidide arv suhteliselt väike ja ei pruugi kajastada väga täpselt kogu populatsiooni alleelisagedusi. Teiseks on ka uuritud SNP-de arv väike ja kõrvalekalle võib olla juhuslik, see tähendab, et uuringusse võisid juhuslikult sattuda varieeruva MAF-iga polümorfismid. Kolmandaks on tegemist geenide piirkonnas asuvate SNP-dega, millele võib mõjuda tugevam valikuline surve. Kuna ligikaudu poolte SNP-de puhul oli erinevus alla 5% ja vaadeldavad lookused vastasid HW tasakaalule, siis võib saadud tulemusi eeldatavalt tõesteks pidada.

Järgnevalt otsiti eelnimetatud 31 polümorfismile nendega aheldunud SNP-d, kasutades jällegi HapMap projekti andmeid ning tagSNP-de valimiseks mõeldud programmi Tagger, mis kirjeldab polümorfismide omavahelist aheldatust. Valikuparameetriks on $r^2 = 1$, kuna see näitab täielikku aheldumist. Selline aheldunud SNP-de otsimine näitab meile, kui kaugemale ulatub LD ja see omakorda annab eelduse oletada, et kui leitakse positiivne assotsiatsioon kindla markeriga, kirjeldab see tegelikult ära ka aheldunud SNP-d ja neile vastava haplotüübi. Samuti võrreldi ka LD tugevust meie uuringurühmal ja CEU populatsioonis.

15-le polümorfismile leiti aheldunud SNPsid (Lisa 7). Samuti olid mõned uuritud polümorfismidest omavahel aheldunud CEU rühmas geenides HTR1B ja OPRK1. LD ulatus varieerus vahemikus ligikaudu 200 bp – 33 kb (Tabel 5). Kuna parameetrid on väga ranged, on tegelik LD ulatus ja omavahel aheldunud SNP-de arv tõenäoliselt suurem.

Tabel 5. HapMap SNP-d meie uuringus ja nendega aheldunud lookused

Geen	SNP	rs number	Aheldunud SNP-d(n)	Piirkond (bp)
CCK	-45C/T 1270C/G	rs1799923 rs754635	7	26701
CCKBR	1550G/A	rs1805002	3	7298
DRD3	25A/G	rs6280	2	227
HTR1B	1778258T/C	rs1778258	2	12225
	129C/T	rs6298	3	4619
	861G/C	rs6296	11	33767
OPRM1	31G/A	rs9479757	15	9251
OPRK1	1365097A/G 1365098G/T 997917A/G	rs1365097 rs1365098 rs997917	11	32651

3.2. Assotsiatsioonianalüüs

Kõigepealt võrreldi erineva fenotüübiga patsientide ühendrühma ja kontrollrühma. Kuigi tegemist on erineva fenotüübiga patsientidega, ei saa välistada, et haiguse tekkimise eelduseks võiks olla sarnane füsioloogiline muutus, mis on põhjustatud geneetilisest erinevusest. Mingi kõrvalekalle neurotransmitterite seoselistes funktsionaalsetes radades võib mõjutada vastuvõtlikkust meeleolu- ja ärevushäiretele, kuid konkreetne fenotüüp kujuneb tänu keskkonnafaktoritele. Selle hüpoteesi kohaselt ei ole alust arvata, et igale fenotüübile vastab erinev genotüüp.

Minoorse alleeli sagedused arvutati kontrollidel ($n = 160$), patsientidel ($n = 269$) ja kontrollide-patsientide ühendrühmal ($n = 429$) programmiga Haploview. Analüüsist jäeti välja lookused, mille minoorse alleeli sagedus jäi alla 0.05 patsientidel ja kontrollidel ($n = 15$). Seejärel vaadeldi allesjäänud 49 lookuse alleelse jaotuvuse erinevusi patsientidel ja kontrollidel (Lisa 8).

Statistiliselt tähendusrikkaid assotsiatsioone leiti nelja polümorfismiga DRD1, DRD2 ja HTR2C geenidest. Lisaks saadi üks piiripealne tulemus CCKAR geeni polümorfismiga (Tabel 6).

Tabel 6. Ühendrühmas saadud tulemused

SNP	Geen	p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Permutatsiooni p-väärtus
			Kontrollid	Patsiendid	
246G/A	CCKAR	0.0101	0.034	0.078	0.6110
-2218T/C	DRD1	0.0000024	0.063	0.008	0.0010
-2102C/A	DRD1	0.0012	0.067	0.022	0.1160
286T/C	DRD2	0.0037	0.287	0.197	0.2890
68G/C	HTR2C	0.0046	0.167	0.100	0.3500

Kõigi lookuste korral, va 246G/A, oli MAF sagedasem kontrollrühmas. Seega on teoreetiliselt tegemist protektiivset efekti kandvate polümorfismidega, mille minoorse alleeli esinemine raskendab fenotüübi kujunemist. Selle oletuse kohaselt on üldpopulatsioonil teatav risk haigestuda ning see risk väheneb tänu vastavate protektiivsete alleelide esinemisele.

SNP 246G/A minoorne alleel A osutus riskialleeliks ehk selle sagedasem esinemine patsientidel võrreldes kontrollrühmaga annab alust oletada, et minoorse alleeli esinemine suurendab tõenäosust haigestuda meeleolu- ja ärevushäiretesse.

Permutatsioonitestil saadi tähendusrikas tulemus vaid SNP -2218T/C korral, teiste markeritega muutused tulemused statistiliselt ebaoluliseks.

Seejärel jagati patsiendid vastavalt diagnoosile 8 alarühma (assotsiatsioonitesti tulemused alarühmades on toodud Lisades 9 – 16).

MDD+BPA (n = 224) alarühma patsientidele on iseloomulik, et neil kõigil esinevad depressiooni episoodid. Sellele võivad lisanduda maania või hüpomaania bipolaarse häire korral või mingi ärevushäire. Sellest grupist on eemaldatud vaid ainult paanikahäire all kannatavad patsiendid, kellel ei esinenud kaasnevat depressiooni ega bipolaarset häiret. Sellise uuringurühma koostamise eesmärgiks on leida meeleoluhäirete, millega võivad kaasneda ka ärevushäired, ja eelkõige depressiooni eelsoodumusega seotud geneetilisi markereid.

Tähendusrikkaid assotsiatsioone leiti nelja polümorfismiga (Tabel 7). Lisaks saadi kolm piiripealset tulemust. Vaid kahes lookuses, 246G/A ja -7054C/A, oli MAF kõrgem patsientidel. Kõigi teiste assotsiatsioonide korral oli jällegi tegemist võimalike protektiivsete alleelidega. Pärast permutatsiooni kadus jällegi tulemuste tähendusrikkus, va SNP -2218T/C korral.

Tabel 7. MDD+BPA rühmas saadud tulemused

SNP	Geen	p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Permutatsiooni p-väärtus
			Kontrollid	Patsiendid	
246G/A	CCKAR	0.0026	0.034	0.089	0.2030
-2218T/C	DRD1	0.000027	0.063	0.009	0.0080
-2102C/A	DRD1	0.0021	0.067	0.012	0.1780
-7054C/A	DRD2	0.0496	0.084	0.129	0.9830
286T/C	DRD2	0.0152	0.287	0.208	0.7290
68G/C	HTR2C	0.0069	0.167	0.100	0.4750
118A/G	OPRM1	0.0261	0.220	0.157	0.8820

MD0+BP0 (n = 81) alarühma kuulusid kõik patsiendid, kellel oli diagnoositud depressioon või bipolaarne häire ilma kaasneva ärevushäireta. Selle rühma koostamise eesmärgiks oli leida ainult meeleoluhäirete kujunemist mõjutavaid geneetilisi markereid. Ärevushäirete eemaldamise üheks põhjuseks on võimalus, et ärevushäire, nagu näiteks paanikahäire, esinemine võib juba iseenesest olla soodustav faktor depressiooni kujunemiseks, kuna põhjustab patsiendile stressi ja ebameeldivusi.

Antud rühmas leiti tähendusrikas assotsiatsioon vaid ühe polümorfismiga - 2218T/C (Tabel 8.). Saadi ka neli piiripealset tulemust. MAF oli kõrgem patsientidel

võrreldes kontrollrühmaga vaid SNP 282C/T korral. Teistel juhtudel on jällegi tegemist protektiivseid allelele kandvate polümorfismidega. Permutatsioonitestil kadus tulemuste tähendusrikkus.

Tabel 8. MD0+BP0 rühmas saadud tulemused

SNP	Geen	p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Permutatsiooni p-väärtus
			Kontrollid	Patsiendid	
-2218TC	DRD1	0.0011	0.063	0.000	0.1100
-2102CA	DRD1	0.0230	0.067	0.019	0.8320
68G/C	HTR2C	0.0278	0.167	0.093	0.8770
282C/T	POMC	0.0159	0.081	0.158	0.6960
118A/G	OPRM1	0.0195	0.22	0.131	0.7730
28C/A	PENK	0.0362	0.404	0.338	0.9390

Järgnevalt vaadeldi kahte depressiooni alarühma. MDD (n = 177) rühm sisaldas kõiki depressiooniga patsiente, kellel võis lisaks esineda kaasnev ärevushäire. MD0 (69) rühma kuulusid patsiendid, kellel depressioon oli ainsaks diagnoositud haiguseks.

Tabel 9. Depressiooni alarühmades MDD ja MD0 saadud tulemused

SNP	Geen	p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Permutatsiooni p-väärtus
			Kontrollid	Patsiendid	
MDD alarühm					
246G/A	CCKAR	0.0043	0.034	0.088	0.9860
-2218T/C	DRD1	0.000033	0.063	0.006	0.1100
-2102C/A	DRD1	0.0050	0.067	0.023	0.8320
-7054C/A	DRD2	0.0268	0.138	0.084	0.9970
286T/C	DRD2	0.0099	0.287	0.198	1.0000
68G/C	HTR2C	0.0182	0.167	0.105	0.8770
MD0 alarühm					
-2218T/C	DRD1	0.0026	0.063	0.000	0.2160
68G/C	HTR2C	0.0253	0.167	0.087	0.8690
282C/T	POMC	0.0087	0.081	0.169	0.4980
118A/G	OPRM1	0.0302	0.220	0.132	0.9140

MDD rühmas saadi neli tähendusrikast ja kaks piiripealset tulemus (Tabel 9). 246A ja 68C osutusid riskialleeliks. Ülejäänud polümorfismid asusid dopamiini retseptorite geenides ja MAF oli kõrgem kontrollrühmas.

Kuuest markerist, millega saadi positiivseid tulemusi MDD rühmas, kahega leiti assotsiatsioon ka **MD0** rühmas. Lisaks leiti veel üks tähendusrikas assotsiatsioon POMC geeni markeriga ja piiripealne tulemus saadi OPRM1 geeni polümorfismiga. Permutatsioonitestil kadus jällegi kõigi tulemuste olulisus.

BPA alarühma kuulusid kõik bipolaarse häirega, millega võib kaasneda ärevushäire, patsiendid (n = 47). Kuna oli võimalik analüüsida vaid 12 patsienti, kellel ainsaks diagnoosiks oli bipolaarne häire, siis vastavat alarühma ei moodustatud.

Tähendusrikas assotsiatsioon leiti OPRM1 geeni polümorfismiga 118A/G (Tabel 10), kus MAF oli kõrgem kontrollidel. Saadi ka kolm piiripealset tulemust ning nendel juhtudel oli MAF kõrgem patsientidel. Permutatsioonitestil kadus tulemuste tähendusrikkus.

Tabel 10. BPA rühmas saadud tulemused

SNP	Geen	p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Permutatsiooni p-väärtus
			Kontrollid	Patsiendid	
246G/A	CCKAR	0.0388	0.034	0.085	0.9570
1481C/T	DRD5	0.0395	0.349	0.467	0.9600
705T/C	HTR1B	0.0325	0.203	0.106	0.9340
118A/G	OPRM1	0.0071	0.22	0.096	0.4360

Paanikahäire alarühmade jaoks valiti uus kontrollrühm (n=146) samade 160 kontrollindiviidi hulgast nii, et ealine ja sooline jaotuvus oleks võimalikult sarnane patsientidega. Seetõttu tuli ka arvutada HW tasakaal ja MAF uues kontrollrühmas. HW tasakaalule ei vastanud ($p < 0.05$) 25 ja MAF oli liiga madal (< 0.05) 16 markeri korral. Edasipääsenud 49 SNP-le arvutati alleelse jaotuvuse erinevuse p-väärtused.

Paanikahäirega patsientidest moodustati kolm alarühma. PDE rühmas olid kõik paanikahäire diagnoosiga patsiendid, kellel võis, kuid ei pidanud olema ka meeleoluhäire või muu ärevushäire. PDD rühma kuulusid paanikahäirega patsiendid, kellel oli diagnoositud ka depressioon, kuid mitte bipolaarne häire ega muu ärevushäire ja PD0 rühma kuulusid patsiendid, kelle ainsaks diagnoosiks oli paanikahäire.

Tähendusrikas assotsiatsioon leiti DRD1 geeni polümorfismiga -2218T/C PDE ja PDD alarühmas (Tabel 11). PD0 alarühmas muutus vastav assotsiatsioon ainult piiripealseks. MAF oli madalam patsientidel rühmas PDE ja minoorset alleeli ei esinenud patsientidel PDD ja PD0 rühmades.

Tabel 11. Paanikahäirega seotud alarühmades saadud tulemused

SNP	Geen	p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Permutatsiooni p-väärtus
			Kontrollid	Patsiendid	
PDE alarühm					

1270C/G	CCK	0.0216	0.138	0.213	0.8320
-2218T/C	DRD1	0.0006	0.066	0.008	0.0620
286T/C	DRD2	0.0013	0.288	0.168	0.1190
-1217G/T	DRD4	0.0233	0.384	0.291	0.8570
-1018C/G	HTR1A	0.0464	0.434	0.477	0.9740
68G/C	HTR2C	0.0321	0.166	0.102	0.9220
PDD alarühm					
1270C/G	CCK	0.0484	0.138	0.217	0.4230
246G/A	CCKAR	0.0090	0.031	0.092	0.5440
-2218T/C	DRD1	0.0044	0.066	0.000	0.3220
286T/C	DRD2	0.0389	0.288	0.185	0.9630
-1018C/G	HTR1A	0.0449	0.434	0.452	0.9820
PD0 alarühm					
-2218T/C	DRD1	0.0173	0.066	0.000	0.7410
-94G/A	DRD1	0.0168	0.162	0.060	0.7340
286T/C	DRD2	0.0462	0.288	0.179	0.9700
102T/C	HTR2A	0.0106	0.214	0.363	0.5960

PDE alarühmas leiti veel üks tähendusrikas assotsiatsioon SNP-ga 286 T/C ning saadi neli piiripealset tulemust. PDD alarühmas leiti samuti veel üks tähendusrikas assotsiatsioon SNP-ga 246G/A. Kolm piiripealset tulemust saadi PDD ja kolm, lisaks -2218T/C-le, PD0 rühmas. Polümorfismidega -94G/A ja 102T/C leiti assotsiatsioon ainult PD0 rühmas. Esines nii protektiivseid kui ka riskiseoselisi markereid. Permutatsioonitestil kadus siingi kõigi tulemuste tähendusrikkus.

3.3. LD analüüs

LD analüüs viidi läbi programmiga SNP Assistant, mis arvutab kahe markeri vahelist aheldatust kirjeldavad parameetrid D' ja r^2 . LD analüüs viidi läbi üldrühma ja kõigi 8 alarühmaga (LD tugevust hinnati patsientide ja kontrollide ühendrühmas). Uuringust jäeti välja 26 lookust (paanikahäire rühmade korral 25 lookust), mille genotüüpne jaotuvus ei vastanud HW tasakaalule. Samuti jäid välja geenid, millest oli genotüpiseeritud vaid üks marker.

LD analüüsil leiti 10 geenist kokku 43 aheldunud markeripaari, mis olid omavahelises LD-s ($D' > 0.8$) mitmes või vähemalt ühes rühmas (Lisa 17). 11 markeripaari olid omavahel aheldunud kõigis uuringurühmades, mis viitab tugevale LD-le antud piirkonnas (Tabel 12.). Aheldunud markeripaaride omavaheline kaugus varieerus vahemikus 27 bp – 61 kb.

Tabel 12. LD analüüsil leitud geenid, kus esines aheldunud markeripaare

Geen	Aheldunud markeripaarid (n)	Kõigis rühmades aheldunud markeripaarid (n)
CCK	3	1
CCKAR	4	2
CCKBR	3	0
DRD1	9	3
DRD2	1	0
HTR1B	12	2
HTR2A	4	1
SLC6A4	1	0
POMC	4	0
OPRM1	2	2

LD analüüs oli vaheetapiks enne haplotüüp-fenotüüp assotsiatsioonianalüüsi, leidmaks aheldunud markereid.

3.4. Haplotüübianalüüs

Kõik aheldunud markeripaarid, millest vähemalt ühe markeriga saadi assotsiatsioonianalüüsil vähemalt oletatav tulemus ($p < 0.1$) valiti esmaseks *case-control* haplotüüp-fenotüüp assotsiatsiooniuringuks. Programmiga Haploview arvutati kahemarkeriliste haplotüüpide sagedused, χ^2 ja sellele vastavad p-väärtused. Kui assotsiatsiooni näidanud SNP oli aheldunud rohkem kui ühe SNP-ga, siis moodustati lisaks kolme- ja neljamarkerilised haplotüübiplokid. Kokku leiti erinevates rühmades 4 sobivat aheldunud markerite plokki neljast geenist (Tabel 13).

Tabel 13. Aheldunud markerite plokid ning rühmad, kus leiti vähemalt oletatav assotsiatsioon vähemalt ühe plokki kuuluva markeriga

Geen	Aheldunud markerid	Rühmad
CCK	-45C/T : 1270C/G	BPA, PDE, PDD
DRD1	-1251G/C : -800T/C : -94G/A : -48G/A	PD0, PDE
HTR2A	-1438A/G : 102T/C	PD0
OPRM1	118A/G : 31G/A	Ühendrühm, MDD+BPA. MD0+BP0, MDD, BPA

CCK geenis leiti markeripaar -45C/T : 1270C/G, mis oli omavahel aheldunud ($D' > 0.95$) kõikides rühmades. BPA rühmas oli vähemalt oletatavalt assotsieerunud ($p < 0.1$) SNP 1270C/G ning PDE ja PDD rühmades mõlemad aheldunud SNP-d (Lisad 13 - 15). Pärast haplotüübi assotsiatsioonitesti saadi statistiliselt piiripealne tulemus BPA ja PDE rühmades, kus sageduselt teine haplotüüp -45T : 1270G osutus võimalikuks riskihaplotüübiks (Tabel 14). Lisaks osutus PDE rühmas haplotüüp -45C : 1270C fenotüübi kujunemise suhtes protektiivseks.

Tabel 14. Markeripaari -45C/T : 1270C/G haplotüübianalüüsi tulemused

HT	PDE				PDD			
	Üld.	Pats.	Kontr.	p-väärtus	Üld.	Pats.	Kontr.	p-väärtus
CC	0.82	0.79	0.86	0.0360	0.84	0.78	0.86	0.0713
TG	0.14	0.17	0.11	0.0338	0.13	0.18	0.11	0.0561
CC	0.04	0.04	0.03	0.4206	0.03	0.04	0.03	0.5888

HT	BPA			
	Üld.	Pats.	Kontr.	p-väärtus
CC	0.84	0.79	0.85	0.1513
TG	0.13	0.19	0.11	0.0470
CC	0.03	0.02	0.03	0.6399

DRD1 geenis esines LD mitme uuritud lookuse vahel ning moodustus haplotüübiplakk -1251G/C : -800T/C : -94G/A : -48G/A (D' väärtused lisas17). PD0 rühmas leiti vähemalt oletatav tulemus SNP-dega -1251G/C ja -94G/A. Mõlemad olid tugevas LD-s omavahel kui ka teiste ümbritsevate markeritega.

Neljamarkerilise haplotüübi analüüsil ei erinenud ühegi leitud haplotüübi esinemise sagedus patsientidel ja kontrollidel sedavõrd, et saada tähendusrikkaid tulemusi. Kombineerides markereid erinevateks kolme- ja kahemarkerilisteks plokkideks leiti, piiripealne assotsiatsioon haplotüübiga -800C : -94A : -48A, mis osutus potentsiaalseks protektiivseks haplotüübiks (Tabel 15). Kõige parem tulemus saadi haplotüübiga -94A : -48A, kus haplotüüp-fenotüüp assotsiatsioon oli isegi natuke tugevam kui -94G/A individuaalne assotsiatsioon.

Tabel 15. DRD1 geeni markerite haplotüübianalüüs PD0 rühmas

HT	-800 : -94 : -48			p-väärtus	HT	-94 : -48			p-väärtus
	Üld.	Pats.	Kontr.			Üld.	Pats.	Kontr.	
CGA	0.43	0.51	0.41	0.0822	GA	0.44	0.51	0.42	0.1284
TGG	0.36	0.39	0.35	0.5141	GG	0.42	0.43	0.42	0.8846
CAA	0.12	0.05	0.14	0.0196	AA	0.13	0.05	0.15	0.0113
CGG	0.06	0.04	0.07	0.2941					
TAA	0.01	0.00	0.01	0.2933					

Kaks individuaalset assotsiatsiooni näidanud markerit kombineeriti ka omavahel ja leiti piiripealne assotsiatsioon kõige sagedasema haplotüübiga -1251G : -94G, mis osutus riskihaplotüübiks lisaks PD0 rühmale ka PDE rühmas (Tabel 16). Kõikide teiste markerikombinatsioonidega olulisi tulemusi ei saadud.

Tabel 16. Markeripaari -1251G/C : -94G/A haplotüübianalüüs PDE ja PD0 rühmas

HT	PDE			p-väärtus	PD0			p-väärtus
	Üld.	Pats.	Kontr.		Üld.	Pats.	Kontr.	
GG	0.84	0.93	0.81	0.0118	0.84	0.87	0.81	0.0418
CA	0.11	0.06	0.12	0.1059	0.11	0.09	0.12	0.1801
GA	0.03	0.01	0.04	0.0557	0.04	0.03	0.04	0.3585
CG	0.02	0.01	0.02	0.5628	0.02	0.01	0.02	0.2031

HTR2A geenis leiti aheldunud markeripaar -1438A/G : 102T/C ($D' \sim 0.85$). Markeriga 102T/C leiti PD0 rühmas piiripealne assotsiatsioon. Kahemarkerilise ploki analüüsil leiti piiripealne tulemus kõige sagedasema haplotüübiga -1438G : 102C, mis osutus võimalikuks riskihaplotüübiks (Tabel 17).

Tabel 17. HTR2A markeripaari -1438A/G : 102T/C haplotüübianalüüs rühmas PD0

HT	Üld.	Pats.	Kontr.	p-väärtus
GC	0.57	0.67	0.54	0.0245
AT	0.29	0.21	0.32	0.0570
AC	0.10	0.11	0.10	0.7746
GT	0.04	0.00	0.05	0.0739

OPRM1 geenis leiti üks aheldunud markeripaar 118A/G : 31G/A ($D' = 0.99$), mis oli aheldunud kõigis uuringurühmades. Markeriga 118A/G saadi vähemalt oletatav assotsiatsioon üldrühmas ja alarühmades MDD+BPA, MD0+BP0, MD0 ja BPA. Haplotüüp-fenotüüp assotsiatsioonitesti saadi vähemalt piiripealseid tulemusi kõigis vaadeldud alarühmades, kuid mitte üldrühmas (Tabel 18). Sageduselt teine haplotüüp 118G : 31G osutus võimalikuks protektiivseks haplotüübiks.

Tabel 18. OPRM1 geeni markeripaari 118A/G : 31G/A haplotüübianalüüs

HT	MDD+BPA			p-väärtus	MD0+BP0			p-väärtus
	Üld.	Pats.	Kontr.		Üld.	Pats.	Kontr.	
AG	0.72	0.74	0.70	0.1682	0.71	0.75	0.70	0.1911
GG	0.18	0.16	0.22	0.0253	0.19	0.13	0.22	0.0185
AA	0.10	0.10	0.09	0.4006	0.10	0.12	0.09	0.2573

HT	MD0			p-väärtus	BPA			p-väärtus
	Üld.	Pats.	Kontr.		Üld.	Pats.	Kontr.	
AG	0.71	0.76	0.70	0.1610	0.72	0.80	0.70	0.0510
GG	0.19	0.13	0.22	0.0285	0.19	0.10	0.22	0.0071
AA	0.09	0.10	0.09	0.4230	0.09	0.11	0.09	0.5254

Kõik markerite paarid/plokid analüüsiti ka programmiga Thesias. See programm võimaldab haplotüüpidele arvutada haigusriski seoselise OR väärtuse, mille tähendusrikkust hinnatakse p-väärtusega. Erinevus Haploview'st seisneb selles, et harvem esinevaid haplotüüpe võrreldakse kõige sagedasema haplotüübiga, mida peetakse haigusfenotüübi kujunemise suhtes neutraalseks, ehk selle esinemissagedus patsientidel ja tervetel indiviididel on sarnane. Haploview tulemustes võis ka sagedaseim haplotüüp olla assotsieerunud fenotüübiga.

Piiripealseid tulemusi saadi kolmes geenis (Tabel 19). CCK geeni haplotüüp -45T : 1270G osutus riskiseoseliseks haplotüübiks ning DRD1 geeni haplotüüp -800C : -94A : -48A ja OPRM1 geeni haplotüüp 118G : 31G protektiivse iseloomuga haplotüübiks. HTR2A geeni haplotüübid kaotasid tähendusrikkuse.

Tabel 19. Haplotüübianalüüs programmiga THESIAS

Geen	Rühm	Haplotüüp	OR	95% CI	p-väärtus
CCK	BPA	-45T : 1270G	1.984	1.02209 - 3.85002	0.043
	PDE	-45T : 1270G	1.827	1.06352 - 3.13809	0.030
DRD1	PD0	-800C : -94A : -48A	0.246	0.06455 - 0.93813	0.040
OPRM1	MDD+BPA	118G : 31G	0.660	0.45318 - 0.95956	0.030
	MD0+BP0	118G : 31G	0.579	0.33635 - 0.99587	0.049
	BPA	118G : 31G	0.359	0.15428 - 0.83205	0.016

Üldjoontes sarnanesid erinevate programmidega saadud tulemused ning statistilise tähendusrikkuse hinnangud jäid samaks. Kadusid vaid kõige sagedamate haplotüüpidega leitud assotsiatsioonid.

Peaaegu kõik fenotüüp-haplotüüp assotsiatsioonianalüüsil leitud seosed osutusid piiripealseteks ja tähendusrikas assotsiatsioon leiti vaid BPA rühmas OPRM1 geeni haplotüübiga 118G : 31G, kui kasutati programmi Haploview. Saadud tulemust võis aga suure tõenäosusega mõjutada uuringurühma väike suurus.

3.5. Uuringu võimsus ehk *power*

Kaasaegsete assotsiatsiooniuuringute suurimaks puuduseks on madal *power* ehk saadud positiivseid tulemusi ei suudeta sageli korrata, mille peamiseks põhjuseks on tüüp I viga ehk valepositiivne tulemus. *Power* on tõenäosus, et assotsiatsioonianalüüsi statistiline tähendusrikkus säilib ka siis kui viiakse läbi sõltumatuid kordusuuringuid samas või ka teistes populatsioonides. Kui *power* jääb alla 80%, siis ei saa uuringutulemusi statistiliselt usaldusväärsteks pidada (Lalouel & Rohrwasser, 2002).

Uuringu võimsuse suurendamise üheks võimaluseks on uuringurühmade suurendamine. Sageli ei ole see võimalik sobivate patsientide puudumise või finantsiliste piirangute tõttu.

Käesolevas töös arvutati *power* kõigile positiivset assotsiatsiooni näidanud lookustele, arvestades tähendusrikkuse nivooks $\alpha < 0.05$ (Lisa 18). Uuringu võimsus ehk *power* arvutati koostöös Bioinformaatika õppetooliga tuginedes Lalouel'i ja Rohrwasser'i (2002) avaldatud tööle.

Üldiselt oli käesoleva uuringu võimsus madal. Enamus lookustest jäi 40%-70% piiridesse. Vaid DRD1 geeni polümorfismiga -2218T/C saadud tulemused kõikides rühmades ning SNP-ga -2102C/A saadud tulemus rühmas MDD+BPA osutusid korratavateks, kuid antud juhul võib tulemusi mõjutada madal MAF patsientidel, mille tõttu leiti väga tähendusrikkaid assotsiatsioone. *Power* tõuseks enamiku uuritud lookuste puhul nõutava piirini, kui uuringusse kaasata umbes 400 patsienti ja 400 kontrollindiviidi.

Samuti kasvab oht saada valepositiivseid tulemusi paljude lookuste samaaegsel uurimisel. Kõige lihtsam lahendus sellele probleemile on Bonferroni korrektsioon, mille käigus iga uuritud lookuse korral rakendatakse saadud *p*-väärtuse hinnangut α/m , kus α on tähendusrikkuse aste (0.05) ja *m* uuritud lookuste arv. Samuti on kasutusele võetud teisi meetodeid FWER (*family-wise error rate*) ja FDR (*false discovery rate*) (Yang *et al.*, 2006). Eelmainitud meetodid on aga liiga konservatiivsed ja võivad varjata õige positiivse tulemuse, eriti siis kui on tegemist väikeste uuringurühmadega. Seepärast peaks tõeste ja valede tulemuste eristamiseks kasutama teisi meetodeid, nagu näiteks permutatsioonitest (Shephard *et al.*, 2005). Permutatsiooni on kasutatud näiteks IDE geeni uurimisel seoses diabeediga, kui viidi läbi 1000 testi (Florez *et al.*, 2006). Ka käesolevas töös viidi läbi ka permutatsioonitest, vähendamaks tõenäosust, et positiivne tulemus saadi tänu juhusele paljude lookuste üheaegsel uurimisel (*multiple testing hypothesis*). Tehti 1000 permutatsiooni.

Assotsiatsioonitestidel saadud tähendusrikkad p-väärtused muutusid pärast permutatsiooni mitteoluliseks, välja arvatud DRD1 polümorfismi -2218T/C korral ühendrühmas ja alarühmas MDD+BPA. Neid tulemusi mõjutas kindlasti suhteliselt suur patsientide arv (vastavalt 269 ja 224), ning madal MAF patsientide rühmas.

Kokkuvõtteks võib öelda, et antud uuringu tulemusi ei saa pidada statistiliselt piisavalt usaldusväärseteks uuringu madala võimsuse tõttu ja tulemuste mitteoluliseks muutumise tõttu pärast permutatsiooni. Siiski lubavad need tulemused meil teha põhjuslikke oletusi uuritud geenide polümorfismide osalemise kohta meeleolu- ja ärevushäirete kujunemisel, kuid tulemuste kinnitamiseks oleks kindlasti vaja läbi viia suuremamahulisi kordusuuringuid.

4. Arutelu

Koletsüstokiniini süsteem

CCK ja tema retseptorite geenides leiti assotsiatsioone meeleolu- ja ärevushäiretega kahe polümorfismiga.

CCKAR polümorfism 246G/A oli assotsieerunud ühendrühmas ja alarühmades MDD+BPA, MDD, BPA ja PDD. Alleeli 246A korral on tegemist potentsiaalse riskialleeliga. Kuna tulemusi ei saadud PD0 rühmas ja PDE rühmas, leiti vaid oletatav assotsiatsioon, siis võib arvata, et PDD rühmas seostus marker pigem depressiooni ja paanikahäire koosavaldumisega kui paanikahäire fenotüübiga otseselt. Kuna ka MD0+BP0 ning MD0 rühmas leiti samuti vaid oletatav assotsiatsioon, võib oletada, et antud lookus on seotud meeleoluhäirete ja ärevushäirete koosinemisega, mitte aga ühegi konkreetse üksivalduva haigusega. Kuna piiripealne tulemus saadi ka üldrühmas, siis võiks antud markerit pidada üldiseks meeleolu- ja ärevushäirete markeriks Eesti populatsioonis.

Polümorfism 246G/A asub CCKAR geeni promootori piirkonnas. On näidatud, et 622 bp pikkune järjestus enne transkriptsiooni alguskohta on reguleerivalt oluline (Takata *et al.*, 2002). G/A asendus antud positsioonis modifitseerib GATA-1 (*GATA binding protein 1*) transkriptsioonifaktori seondumipiirkonda geenis (Tachikawa *et al.*, 2001). Siiski pole siiani uuritud, kas antud polümorfismi erinevad alleelid mõjutavad transkriptsiooni aktiivsust. On võimalik, et polümorfism on aheldunud teiste reguleerivate piirkonna järjestuse variatsioonidega.

Paanikahäire alarühmade LD analüüsil oli 246G/A aheldunud 608G/A-ga PDE rühmas ja 3849C/T-ga kõigis kolmes rühmas, kuid viimaste madala MAF-i tõttu neid haplotüübianalüüsil ei kasutatud.

CCKAR geeni polümorfisme on ka varasemalt seoses paanikahäirega uuritud ja on leitud, et promootoripiirkonna polümorfism -128G/T on seotud paanikahäirega (Miyasaka *et al.*, 2004), kuid teistes uuringutes ei ole geeni assotsiatsiooni paanikahäirega leitud (Kato *et al.*, 1996; Kennedy *et al.*, 1999; Hamilton *et al.*, 2001; Ise *et al.*, 2003). Seoses meeleoluhäiretega ei ole geeni polümorfisme uuritud.

Piiripealne assotsiatsioon leiti **CCK** geeni polümorfismiga 1270C/G PDE ja PDD alarühmades, kus 1270G osutus riskialleeliks. Statistiliselt oletatav tulemus sama markeriga saadi BPA alarühmas. Kuna puudus assotsiatsioon PD0 rühmas ja ka BPA rühmas esines paanikahäire ja bipolaarse häire koosavaldumise fenotüübiga patsiente, võib oletada, et antud polümorfism võiks soodustada paanikahäire kujunemist

meeleoluhäiretega patsientidel või vastupidi - meeleoluhäirete kujunemist paanikahäirega indiviididel.

1270C/G on aheldunud -45C/T-ga ($D' = 0.98$). Kahemarkerilisel haplotüübi-analüüsil leiti kolm haplotüüpi, millest sageduselt teine haplotüüp -45G : 1270T osutus PDE rühmas võimalikuks riskihaplotüübiks ning sagedaseim haplotüüp -45C : 1270C omas piiripealset protektiivset efekti. PD0 alarühmas olid vastavad tulemused statistiliselt ainult oletatavad. BPA rühmas muutus oletatav ühe markeri assotsiatsioon pärast kahemarkerilise haplotüübi analüüsi piiripealseks, kus haplotüüp -45G : 1270T osutus võimalikuks riskihaplotüübiks. Seega muutus markeri individuaalne efekt mõnevõrra tugevamaks haplotüübi kontekstis.

Polümorfism 1270C/G paikneb CCK geeni esimeses intronis 7 aluspaari kaugusel ekson 2 algusest, kuuludes mRNA splaisingu aktseptorpiirkonna konsensusjärjestusse. G nukleotiid antud positsioonis võib põhjustada muutusi ekson 2 splaisingul (Bowen *et al.*, 1998). On leitud C/G asenduse seos haigusfenotüübi kujunemisega ka teiste geenide vastavas piirkonnas (Krawczak *et al.*, 1992). β -globiini geeni mRNA splaisingu aktseptorpiirkonna konsensusjärjestuse samas positsioonis paiknev C/G asendus põhjustab β -talasseemiat (Murru *et al.*, 1991).

CCK polümorfism -45C/T asub geeni promootori piirkonnas Sp1 transkriptsioonifaktori seondumiskohas, kuid erinevad alleelid ei põhjusta transkriptsioonitaseme muutumist. On võimalik, et antud lookusega on aheldunud mõni teine funktsionaalset mõju avaldav lookus (Hansen *et al.*, 2000).

Eelmainitud polümorfismid olid täielikult aheldunud, mida on täheldatud ka varasemates töödes (Bowen *et al.*, 1998).

Lisaks omavahelisele aheldatusele on SNP-d -45C/T ja 1270C/G HapMap andmebaasi põhjal absoluutselt aheldunud ($r^2 = 1$) veel kuue SNP-ga CEU populatsioonis (Lisa 7), millest kaugeim asub enam kui 25 kb kaugusel. Üheskoos katavad nad geeni esimesed kaks eksonit, nendevahelise introni ja ~20 kb geeni *upstream* piirkonnast. On võimalik, et kumbki uuritud polümorfism ise psühhiaatriliste häirete kujunemises ei osale, vaid seda teeb mõni teine nendega aheldunud SNP. On näidatud paanikahäire seost promootoripiirkonna STR markeriga, mis on aheldunud SNP-ga -45C/T (Hattori *et al.*, 2001), kuid seost meeleoluhäiretega ei leitud (Hattori *et al.*, 2002). CCK polümorfismi -45C/T on seoses paanikahäirega palju uuritud, kuid seost pole leitud (Hattori *et al.*, 2001; Hamilton *et al.*, 2001; Kennedy *et al.*, 1999).

CCKBR geeni markeritega käesolevas töös seost meeleolu- ja ärevushäiretega ei leitud. Varasemalt on uuritud seost paanikahäirega ja saadud vastandlikke tulemusi erinevate polümorfismidega (Hamilton *et al.*, 2001; Yamada *et al.*, 2001; Kennedy *et al.*, 1999). Käesolevas töös uuritud markeritega 1550G/A ja 2491C/A paanikahäirega seost varasemalt ei leitud (Kato *et al.*, 1996).

PD0 rühmas CCK ega retseptorite geenidega assotsiatsiooni ei leitud, mis lükkab antud juhul ümber hüpoteesi, mille kohaselt CCK süsteemi geenide polümorfismid osalevad otseselt paanikahäire kujunemisel. Siiski võib antud süsteem osaleda meeleolu- ja ärevushäirete kujunemisel üldisemalt, olles iseloomulik just meeleoluhäire ja paanikahäire koosinemisele.

Dopaminergiline süsteem

Dopamiini süsteemis leiti assotsiatsioone nelja geeni - DRD1, DRD2, DRD4 ja DRD5 - polümorfismidega.

DRD1 polümorfism -2218T/C oli fenotüübiga tähendusrikkalt assotsieerunud nii üldrühmas kui ka kõigis alarühmades peale BPA. Ainsana sellel polümorfismi korral oli uuringu võimsus piisavalt tugev ja tulemuste tähendusrikkus säilis pärast permuteerimist ühendrühmas ja alarühmas MDD+BPA. Kui MAF oleks kõrgem patsientide hulgas, oleks tõenäoliselt tegemist vägagi tõsiseltvõetava riskialleeliga, mille esinemine suurendab riski haigestuda. Kuna aga MAF oli sagedasem just kontrollrühmas, kuid siiski suhteliselt väike (6.3%), on keeruline polümorfismi bioloogilist rolli oletada. Seetõttu jäi polümorfism edasises uuringus erilise tähelepanuta.

DRD1 polümorfism -2102C/A oli samuti tähendusrikkalt assotsieerunud üldrühmas ja alarühmades MDD+BPA, MD0+BP0 ja MDD. -2218T/C ja -2102C/A omavahelist aheldatust ei täheldatud. Samuti ei olnud aheldunud ükski teine DRD1 geenis genotüpiseeritud marker. Mõlemal juhul oli tegemist võimalike protektiivset efekti kandvate promootori piirkonna polümorfismidega, mis võiksid olla seotud meeleolu- ja ärevushäirete tekkimisega kõige laiemalt.

Leiti ka üks piiripealne tulemus DRD1 geeni lookusega -94G/A PD0 rühmas. Polümorfism -94G/A oli PD0 rühmas aheldunud mitme uuritud SNP-ga. Haplotüübianalüüsil leiti, et assotsiatsioon fenotüübiga tugevnes veidi, kui SNP-d -94G/A vaadeldi kahemarkerilises plokis, kus haplotüüp -94A : -48A osutus võimalikuks protektiivseks haplotüübiks. Oletatavat assotsiatsiooni täheldati veel markeriga -1251G/C ning kahe fenotüübiseoselise markeri kombineerimisel saadud piiripealne tulemus viitab, et

kõige sagedasem haplotüüp -1251G : -94G võiks olla riskihaplotüüp. Sama tulemus leiti ka PDE rühmas, kus markeriga -94G/A individuaalset seost üldse ei täheldatud, mis viitab vastava haplotüübi võimalikule osalemisele paanikahäire kujunemisel nii iseseisva haigusena kui ka meeleoluhäirete ja teiste ärevushäiretega kaasnedes. PDD rühmas vastav seos puudus, mis võib olla tüüp 2 viga ehk valenegatiivne tulemus või siis näidata, et protektiivne efekt ei toimi paanikahäire ja depressiooni koosinemise korral.

Saadud tulemused viitavad geeni polümorfismide seosele meeleolu- ja ärevushäirete kujunemisega üldisemas plaanis. Erinevad piirkonnad geenis võivad avaldada erinevat toimet.

DRD1 geeni on vähe uuritud seoses meeleolu- ja ärevushäiretega. Varasemalt on leitud seos bipolaarse häire ja haplotüübi -800G : -48C vahel (Ni *et al.*, 2002).

DRD2 geeni kodeeriva piirkonna mittesünonüümne polümorfism 286T/C, mis põhjustab aminohappe vahetust Val96Ala, näitas tähendusrikast assotsiatsiooni üldrühmas ja vähemalt piiripealset assotsiatsiooni alarühmades MDD+BPA, MDD ning kõigis paanikahäire alarühmades. Seega on 286C tõenäoliselt protektiivne alleel, mis on seotud meeleolu- ja ärevushäirete kujunemisega üldiselt. Assotsiatsiooni puudumine rühmades MD0 ja BPA võib viidata, et minoorse alleeli esinemine ei takista depressiooni ega bipolaarse häire tekkimist, kuid tõenäoliselt on selliste tulemuste põhjuseks antud rühmade väike patsientide hulk ja sellega seoses saadud võimalik valenegatiivne tulemus.

DRD2 geeni polümorfismiga -7054C/A saadi piiripealsed tulemused rühmades MDD+BPA ja MDD. -7054A on võimalik protektiivne alleel. Kuna MD0 rühmas saadi vaid oletatav tulemus ja BPA rühmas puudus assotsiatsioon täielikult, võib oletada, et marker on seotud depressiooni ja mingi ärevushäire koosinemisega.

Kaks polümorfismi ei olnud omavahel aheldunud.

DRD2 geeni on uuritud seoses bipolaarse häirega, kuid tähendusrikast assotsiatsiooni ei leitud (Leszczyńska-Rodziewicz *et al.*, 2005).

DRD4 geeni SNP-ga -1217G/T saadi piiripealne tulemus PDE rühmas, kus minoorne alleel osutus protektiivseks. Polümorfism võib olla seotud paanikahäire ja meeleoluhäire koosinemisega. Varasemalt pole suudetud assotsiatsiooni DRD4 geeni ja bipolaarse häire ega depressiooni vahel leida (Leszczyńska-Rodziewicz *et al.*, 2005; Furlong *et al.*, 1998). Tähendusrikast assotsiatsiooni ei leitud ka paanikahäirega (Hamilton *et al.*, 2000).

DRD5 geeni 3'UTR SNP-ga 1481C/T leiti piiripealne tulemus BPA rühmas, kus minoorne alleel osutus protektiivseks bipolaarse häire kujunemisel. Varasemalt on

näidatud, et geeni lähedal asuv mikrosatelliitmarker on seotud skisofreeniaga, kuid mitte bipolaarse häirega (Muir *et al.*, 2001). Sama mikrosatelliitmarkeriga leiti oletatav seos bipolaarse häirega, kus just kõige sagedasem alleel osutus riskiseoseliseks (Kirov *et al.*, 1999).

DRD3 ning TH geeni polümorfismidega käesolevas töös meeleolu- ja ärevushäiretega seost ei leitud.

Saadud tulemused toetavad varasemaid seisukohti, mille kohaselt on muutused dopaminergilise süsteemi geenides seotud meeleolu- ja ärevushäiretega.

Serotonergiline süsteem

Serotonergilises süsteemis leiti assotsiatsioone nelja geeniga: HTR1A, HTR1B, HTR2A ja HTR2C.

HTR2C on X kromosoomi geen ja seetõttu meestel vaid ühe koopiana. Lookuse 68G/C genotüüpne jaotuvus ei saagi vastata HW tasakaalule ja seetõttu teda uuringust ei kõrvaldatud. 68G/C on mittesünonüümne polümorfism, põhjustades aminohappe vahetust (Cys23Ser) transmembraanses domeenis. Ei ole teada, kas antud muutus mõjutab retseptori funktsiooni (Lerer *et al.*, 2001).

Täendusrikas tulemus assotsiatsioonianalüüsil saadi üldrühmas ja alarühmas MDD+BPA. Rühmades MD0+PD0, MDD, MD0 ja PDE saadi piiripealne tulemus. Tõenäoliselt on antud marker seotud meeleluhäiretega, eelkõige depressiooniga, sõltumatult kaasnevatest ärevushäirete esinemisest, kuid ei mängi rolli paanikahäire kujunemisel. 68C on võimalik protektiivne alleel.

Varasemalt on HTR2C geeni polümorfismiga 68G/C läbiviidud mitmeid uuringuid meeleluhäiretega, kuid pole leitud seost ei depressiooni (Frisch *et al.*, 1999) ega bipolaarse häirega (Vincent *et al.*, 1999). Samuti pole leitud seost paanikahäirega (Inada *et al.*, 2003; Fehr *et al.*, 2001) ega ka alkoholismi, GAD ja narkolepsiaga (Fehr *et al.*, 2001). Samas leiti 9 Euroopa riigi elanikega läbiviidud uuringus 68C alleeli seos depressiooni ja bipolaarse häirega (Lerer *et al.*, 2001).

HTR1A SNP-ga -1018C/G saadi piiripealne tulemus rühmades PDE ja PDD, kuid mitte PD0 rühmas. Saadud tulemus viitab SNP võimalikule osalemisele meeleluhäire kujunemisel paanikahäirega patsientidel või vastupidi, kuid ei ole seotud paanikahäirega otseselt. Minoorse alleeli sagedus oli kõrgem patsientidel, mis viitab võimalusele, et tegemist on riskimarkeriga. Power oli väga madal mõlemas rühmas (vastavalt 18% ja 8%) ja seetõttu võib olla tegemist valepositiivse tulemusega.

Antud SNP uurimisel on saadud vastakaid tulemusi. On leitud polümorfismi -1018C/G seos depressiooniga ning lõpuleviidud suitsiididega, kuid selles uuringus osutus -1018G alleel riskialleeliks (Lemond *et al.*, 2003). Samas on näidatud selle seost skisofreenia ja sõltuvushaigustega, kuid mitte depressiooni, bipolaarse häire, paanikahäire, alkoholismi ja enesetappudega (Huang *et al.*, 2004).

Polümorfism -1018C/G paikneb HTR1A geeni promootoripiirkonnas ebakorrektses 26 bp palindroomjärjestuses, kus asub transkriptsiooni supressorvalgu NUDR (*Nuclear DEAF-1 related transcriptional regulator*) seondumisjärjestus. Ajus põhjustab NUDR DNAGA seondudes HTR1A geeni ekspressioonitaseme langemist. NUDR seondub ainult -1018C alleeli sisaldava järjestusega, mistõttu on -1018G alleeli kandjatel vastava geeni ekspressiooni tase kõrgem (Lemond *et al.*, 2003).

HTR1B geeni esimese eksoni sünonüümse polümorfismiga 705C/T (Ala235) saadi piiripealne tulemus rühmas BPA. 705C korral on tegemist võimaliku bipolaarse häire protektiivse alleeliga. On leitud, et antud polümorfismi lähedal asuv marker 861G/C on seotud depressiooni ja sõltuvushaigustega (Huang *et al.*, 2003). Seda markerit uuriti ka käesolevas töös, kuid assotsiatsiooni ei leitud. Samuti ei olnud polümorfismid omavahel aheldunud.

HTR2A geeni polümorfismiga 102T/C saadi piiripealne tulemus rühmas PD0. 102C korral on tegemist võimaliku paanikahäirega seotud riskialleeliga. Kahemarkerilise haplotüübi analüüsil leitud kõige sagedasem riskihaplotüüp -1438G : 102C toetas saadud tulemust.

Ka varem on leitud assotsiatsioon HTR2A geeni polümorfismi 102C/T ja paanikahäire kujunemise vahel (Inada *et al.*, 2003), mis toetab antud töös saadud tulemusi. Seost depressiooniga ei ole leitud (Frisch *et al.*, 1999; Minov *et al.*, 2001; Oswald *et al.*, 2003), samuti ei ole leitud seost bipolaarse häirega (Massat *et al.*, 2000).

HTR2A geeni polümorfism 102T/C asub esimeses eksonis (Ser34), kuid ei põhjusta aminohappe vahetust. Erinevad alleelid antud lookuses ega ka teised DNA järjestuse variatsioonid, mis võivad olla aheldunud kõnealuse lookusega, ei põhjusta HTR2A geeni ekspressioonitaseme muutusi ajus (Bray *et al.*, 2004).

Teiste serotonergilise süsteemi geenidega antud töös seost meeleolu ja ärevushäiretega ei leitud.

Käesoleva töö andmete põhjal on polümorfismid geenis HTR2C seotud meeleoluhäiretega üldisemalt ja HTR1B bipolaarse häirega ning HTR1A ja HTR2A seotud

pigem paanikahäirega. Saadud tulemused viitavad serotonergilise süsteemi geenide võimalikule osalemisele nii meeleolu- kui ka ärevushäirete kujunemisel.

Opioidne süsteem

Opioidses süsteemis leiti assotsiatsioone kolme geeniga: OPRM1, POMC ja PENK.

OPRM1 geeni lookusega 118A/G saadi piiripealseid tulemusi rühmades MDD+BPA, MD0+BP0 ja MD0 ning tähendusrikas assotsiatsioon leiti BPA rühmas. Ühendrühmas ületas p-väärtus napilt olulisuse piiri. See viitab seosele meeleoluhäiretega olenemata kaasnevast ärevushäire fenotüübist, kuid mitte ärevushäiretega. 118G osutus protektiivseks alleeliks.

118A/G on mittesünonüümne polümorfism, mis põhjustab aminohappevahetust Asn40Asp ja asub retseptori ekstratsellulaarses N-terminaalses domeenis (Bond *et al.*, 1998; Kieffer & Gaveriaux-Ruff, 2002; Zhang *et al.*, 2005). Polümorfism ei muuda ligandi seondumise afiinsust väiksemate endogeensete opioididega nagu enkefaliinid, kuid tugevdab seondumist β -endorfiiniga (Bond *et al.*, 1998). Samas on 118G esinemise korral RNA ekspressioonitase ajus vähenenud ja mudelorganismi rakkudes on 118G variandi korral retseptori valgu tase 10 korda väiksem (Zhang *et al.*, 2005). On võimalik, et OPRM1 retseptor on seotud ärevuse tekkimisega ekstreemsetes olukordades (Filliol *et al.*, 2000).

Meie uuringus oli 118G sagedasem kontrollrühmas, mistõttu võib oletada, et tervetel on OPRM1 ekspressioonitase madalam. Miks aga selline nähtus võiks meeleoluhäirete eest kaitsta ei ole selge.

SNP 118A/G oli aheldunud rohkem kui 50 kb kaugusel teises intronis asuva SNP-ga 31G/A kõikides uuringurühmades ($D' \sim 0.999$). Kahemarkerilise haplotüübi analüüsil saadi vähemalt oletatavaid tulemusi kõigis varem nimetatud rühmades sageduselt teise haplotüübiga 118G : 31G, mis osutus võimalikuks protektiivseks haplotüübiks.

Mõlemad SNP-d olid genotüpiseeritud ka HapMap projektis, kuid seal oli nendevaheline aheldatus oluliselt nõrgem CEU populatsioonis ($D' = 0.57$). MAF-ide võrdlemisel ilmnas, et 118A/G on sarnane CEU-ga ja erinevus jääb alla 1%, samas kui 31G/A on meie uuringus rohkem kui 20% sagedasem. Eelnevast võib järeldada, et isegi kui antud haplotüüp esineb Eestis protektiivse haplotüübina, siis on see meie piirkonnale spetsiifiline ja ei mängi rolli meeleoluhäirete kujunemisel teistes populatsioonides.

OPRM1 geeni polümorfisme, on kõige rohkem uuritud seoses sõltuvushaigustega ning on näidatud 118A/G seost alkoholismi ja heroini sõltuvusega (Bart *et al.*, 2005; Bart

et al., 2004; Luo *et al.*, 2003; Schinka *et al.*, 2002). Samuti on saadud vastupidiseid tulemusi (Franke *et al.*, 2001; Gelernter *et al.*, 1999). Ärevuse ja depressiooniga seost ei leitud (Jorm *et al.*, 2002). Seoses bipolaarse häirega antud geeni uuritud pole.

POMC geeni kodeeriva järjestuse sünonüümse polümorfismiga 282C/T (Ser94) leiti assotsiatsioon meeleluhäirete puhta fenotüübi rühmades. Kuna tähendusrikas tulemus saadi unipolaarse häire rühmas MD0 ja MD0+BP0 rühmas saadi vaid piiripealne tulemus, võib eeldada, et antud juhul on tegemist meeleluhäirete, eelkõige depressioonile omase riskiseoselise markeriga, mis ei soodusta teiste fenotüüpide avaldumist.

Peamiselt on POMC geeni uuritud seoses kehakaaluga ning on näidatud selle polümorfismide osalemist tuseduse kujunemisel (Baker *et al.*, 2005; Buono *et al.*, 2005). Seoses depressiooniga antud geeni meie teada uuritud pole, kuid POMC geeni polümorfismidega skisofreenia ja bipolaarse häirega ühes ammus uuringus seost ei leitud (Feder *et al.*, 1985).

Piiripealne tulemus saadi ka **PENK** geenis 5' UTR piirkonna polümorfismiga 28C/A alarühmas MD0+BP0. Antud juhul oli tegemist võimaliku protektiivse efektiga. MD0 rühmas muutus assotsiatsioon oletatavaks ning BPA rühmas kadus täielikult. Võib oletada, et tegemist on meeleluhäire, millega ei kaasne ärevushäireid, seoselise markeriga, kuid tulemuste madal tähendusrikkus ja rühma väike suurus viitavad tüüp I veale.

Varasemas uuringus PENK geeni polümorfismide ja bipolaarse häire vahel seost ei leitud (Alda *et al.*, 2000). Samuti ei leitud seost alkoholismiga (Chan *et al.*, 1994). Siiski on loomudelitel ja aheldusanalüüsil saadud tulemuste kombineerimisel näidatud, et PENK geen on bipolaarse häire kandidaatgeeniks (Ogden *et al.*, 2004). Seoses depressiooni ja paanikahäirega vastava geeni polümorfisme varem uuritud pole.

Polümorfismid OPRD1 ja OPRK1 geenis ei ole antud uuringu põhjal meeleolu- ega ärevushäirete kujunemisel olulised.

Kõik kolm opioidide süsteemist leitud positiivset tulemust olid seotud meeleluhäiretega, kuid mitte paanikahäirega. Seega püstitavad käesoleva töö tulemused hüpoteesi, mille kohaselt on ka opioidse süsteemi geenid seotud meeleluhäirete kujunemisega.

Käesoleva uuringu põhjal on meeleoluhäirete kujunemisel olulised polümorfismid dopaminergilise, serotonergilise ja opioidse süsteemi geenides. Oletatavalt võib seotud olla ka koletsüstokiniini süsteem.

Paanikahäirega võivad olla seotud dopaminergiline, serotonergiline ja kui on tegemist depressiooni ja paanikahäire koosesinemise fenotüübiga, siis ka koletsüstokiniini süsteem, kuid mitte opioidne süsteem.

Siiski on ennatlik teha lõplikke järeldusi süsteemide tasandil, kuna esiteks ei osalenud uuringus kõik vastavate süsteemide geenid ja teiseks ei kirjeldanud uuritud polümorfismid kogu varieeruvust geenide piirkonnas, vaid ainult juhuslikke alasid geenides. Samuti saadi vähe tähendusrikkaid tulemusi ning enamik assotsiatsioone olid ainult piiripealsed ja uuringu statistiline usaldusväärsus polnud piisavalt kõrge. Alarühmades MD0+BP0, MD0, BPA, PDD ja PD0 oli suhteliselt vähe (alla 100) patsiente, mis suurendab tõenäosust tüüp I (valepositiivne) vea, kuid võimalik, et ka tüüp II (valenegatiivne) vea tekkimiseks.

Käesoleva töö tulemusena leiti 7 markerit 6 geenist, mis on tähendusrikkalt assotsieerunud erinevate meeleolu- ja ärevushäiretega Eesti elanikel. Leiti nii protektiivseid kui ka riskiseoselisi allele ja haplotüüpe. Kõikide fenotüüpidega oli assotsieerunud DRD1 geeni polümorfism -2218T/C. Meeleoluhäiretele olid iseloomulikud DRD1 -2102C/A ja HTR2C 68G/C ning jagades meeleoluhäired depressiooniks ja bipolaarseks häireks, leiti veel spetsiifilised markerid POMC 282C/T depressiooni ja OPRM1 118A/G bipolaarse häire korral ning vastav seos jäi ka püsima, kui vaadeldi kahemarkerilist haplotüüpi 118G : 31G. CCKAR polümorfism 246G/A ja DRD2 polümorfism 286T/C olid assotsieerunud meeleoluhäire ja paanikahäire koosesinemisega. Ainult paanikahäirega tähendusrikast assotsiatsiooni ühegi markeriga ei leitud, kuid leiti piiripealsed tulemused DRD1 ja HTR2A geenides, mida toetasid ka haplotüübianalüüsil leitud haplotüüp-fenotüüp assotsiatsioonid. Haplotüübianalüüs toetas veel assotsiatsiooni OPRM1 geenis ja piiripealset tulemust CCKA geenis.

Uuringu tulemuste mõistmisel tekitab segadust erinevate psüühikahäirete sage koosesinemine, mistõttu ei ole võimalik otsustada, kas tegemist on vaid ühele haigusele omase markeriga või koosavaldumise markeriga. Kahjuks oli võimalik uuringusse kaasata suhteliselt vähe ainult kindla „puhta” fenotüübiga patsiente, mis oleks võimaldanud täpsemalt selgitada polümorfismide ja fenotüübi vahelisi assotsiatsioone.

Kokkuvõte

Meeleolu- ja ärevushäired on sagedased seisundid, mis tekitavad kahju nii indiviidi kui ühiskonna tasandil. Psüühikahäired, sealhulgas depressioon, bipolaarne häire ja paanikahäire, kuuluvad komplekshaiguste hulka, mille kujunemisel osalevad keskkonnafaktorid kombineerituna geneetilise faktoriga, mille kohta on tänapäeval puuduvad täpsemad andmed. Sageli seostatakse eelmainitud psüühikahäireid kesknärvisüsteemiseoseliste neurotransmissiooniradade geenidega. Komplekshaiguste kujunemisel osalevate geenide selgitamiseks on sobivaks meetodiks assotsiatsiooniuuring.

Töö praktilises osas genotüpiseeriti APEX meetodiga 429 indiviidi, kellest 269 olid meeleolu- ja ärevushäiretega patsiendid ja 160 kontrollindiviidid Eesti populatsioonist. Uuriti 90 polümorfismi 21 erinevast neurotransmissiooniga seotud geenist. Esmalt viidi läbi marker-fenotüüp assotsiatsioonianalüüs kõikide patsientide ühendrühma ja kontrollrühmaga. Seejärel moodustati patsientidest vastavalt diagnoosile 8 alarühma, et leida kindla fenotüübiga seotud lookusi. Täendusrikkaid assotsiatsioone leiti kuue geeni polümorfismidega. Kõikide fenotüüpidega oli assotsieerunud DRD1 geeni polümorfism -2218T/C. SNP 282C/T (POMC) oli assotsieerunud depressiooniga ja 118A/G (OPRM1) bipolaarse häirega ning meeleoluhäiretele üldisemalt olid iseloomulikud -2102C/A (DRD1) ja 68G/C (HTR2C). Polümorfismid 246G/A (CCKAR) ja 286T/C (DRD2) olid assotsieerunud meeleoluhäire ja paanikahäire koosesinemisega. Lisaks saadi veel mitmeid piiripealseid tulemusi. Ainult paanikahäirega tähendusrikast assotsiatsiooni ühegi markeriga ei leitud, kuid leiti piiripealsed tulemused DRD1 ja HTR2A geenides, mida toetasid ka haplotüübianalüüsil leitud haplotüüp-fenotüüp assotsiatsioonid.

Käesoleva töö tulemused lisavad täiendavat kinnitust dopaminergilise, serotonergilise, opioidse ja tõenäoliselt ka koletsüstokiniini-seoselise neurotransmissiooni süsteemi geenide võimalikule osalemisele meeleolu- ja ärevushäirete kujunemisel.

Summary

Depression and anxiety are serious psychiatric conditions that affect 17 – 20% of the population and they often require medical intervention. Mood and anxiety disorders have great influence on quality of affected individual's personal life as well as on country's economy, due to loss of productivity and costs of medical treatment. Molecular genetic studies have given convincing evidence that neuropsychiatric disorders including major depressive disorder, bipolar disorder and panic disorder have complex inheritance, involving the interaction of multiple genes in combination with environmental factors. Association studies involving multiple candidate genes and applying high-throughput DNA microarray genotyping technology are preferable for detecting molecular determinants of complex traits.

The genes of neurotransmission pathways are considered to contribute to the susceptibility to mood and anxiety disorders. In this study we have undertaken a case-control association study with 90 single nucleotide polymorphisms from 21 different genes involved in dopaminergic, serotonergic, endogenous opioid and cholecystokinin-related neurotransmission system, using Arrayed Primer Extension (APEX) technology for genotyping. 269 unrelated psychiatric patients and 160 sex- and age-matched controls from Estonian population were recruited to identify polymorphisms that may play a role in genetic etiology of mentioned psychiatric conditions.

We found significant association with seven polymorphisms from six genes that may participate in genetic predisposition to disease. -2218T/C (DRD1) was associated to all phenotypes. 282C/T (POMC) was associated with depression and 118A/G (OPRM1) with bipolar disorder. -2102C/A (DRD1) and 68G/C (HTR2C) with mood disorders generally and 246G/A (CCKAR) and 286T/C (DRD2) with mood disorder and panic disorder comorbid phenotype. Only borderline associations with panic disorder were found in DRD1 and HTR2A genes. Haplotype analysis based on LD data and association analysis was performed with four genes including DRD1 and HTR2A. We found haplotypes associated with both higher and lower risk of mood disorder and panic disorder, giving additional support to the association analysis results.

Our findings give supportive evidence to the possible role of genetic variants in dopaminergic, serotonergic, opioid and cholecystokinin-related system genes in genetic predisposition to mood and anxiety disorders.

Tänuavaldused

Suure abi eest käesoleva töö valmimisel soovin tänada oma juhendajat Tiit Nikopensiust. Samuti tänan professor Andres Metspalut. Abivalmiduse ja asjalike nõuannete eest tänan Mari Nelist. Hindan väga Pille Hallasti, Signe Altmäe, Kristel Vabriti ja Evelin Heinaste tööd. Tänan ka koostööpartnereid ja eelkõige Sulev Kõksi. Suur tänu ka kõigile õppetooli inimestele abi ja toetuse eest.

Viited

- Abkevich V, Camp NJ, Hensel CH, Neff CD, Russell DL, Hughes DC, Plenk AM, Lowry MR, Richards RL, Carter C, Frech GC, Stone S, Rowe K, Chau CA, Cortado K, Hunt A, Luce K, O'Neil G, Poarch J, Potter J, Poulsen GH, Saxton H, Bernat-Sestak M, Thompson V, Gutin A, Skolnick MH, Shattuck D, Cannon-Albright L.** (2003) Predisposition locus for major depression at hromosome 12q22-12q23.2. *Am J Hum Genet* 73:1271-1281
- Alda M, Turecki G, Grof P, Cavazzoni P, Duffy A, Grof E, Ahrens B, Berghofer A, Muller-Oerlinghausen B, Dvorakova M, Libigerova E, Vojtechovsky M, Zvolsky P, Joober R, Nilsson A, Prochazka H, Licht RW, Rasmussen NA, Schou M, Vestergaard P, Holzinger A, Schumann C, Thau K, Rouleau GA.** (2000) Association and linkage studies of CRH and PENK genes in bipolar disorder: a collaborative IGSLI study. 96:178-181
- Aluoja A, Šlik J, Vasar V.** (2004) Depressioon ja sortsiaalne toimimine. *Eesti Arst* 4:54-61
- Baker M, Gaukrodger N, Mayosi BM, Imrie H, Farrall M, Watkins H, Connell JM, Avery PJ, Keavney B.** (2005) Association between common polymorphisms of the proopiomelanocortin gene and body fat distribution: a family study. *Diabetes* 54:2492-2496
- Baron M.** (2002) Manic-depression genes and the new millennium: poised for discovery. *Mol Psychiatry* 7:342-358
- Barrett JC, Fry B, Maller J, Daly MJ.** (2005) Haploview: analysis and visualization of LD and haplotype maps. *Bioinformatics* 21:263-265
- Bart G, Heilig M, LaForge KS, Pollak L, Leal SM, Ott J, Kreek MJ.** (2004) Substantial attributable risk related to a functional mu-opioid receptor gene polymorphism in association with heroin addiction in central Sweden. 9:547-549
- Bart G, Kreek MJ, Ott J, LaForge KS, Proudnikov D, Pollak L, Heilig M.** (2005) Increased attributable risk related to a functional mu-opioid receptor gene polymorphism in association with alcohol dependence in central Sweden. *Neuropsychopharmacology* 30:417-422
- Basu S, Dasgupta PS.** (2000) Dopamine, a neurotransmitter, influences the immune system. *J Neuroimmunol* 102:113-124
- Beischlag TV, Marchese A, Meador-Woodruff JH, Damask SP, O'Dowd BF, Tyndale RF, van Tol HH, Seeman P, Niznik HB.** (1995) The human dopamine D5 receptor gene: cloning and characterization of the 5'-flanking and promoter region. *Biochemistry* 34:5960-5970
- Bond C, LaForge KS, Tian M, Melia D, Zhang S, Borg L, Gong J, Schluger J, Strong JA, Leal SM, Tischfield JA, Kreek MJ, Yu L.** (1998) Single-nucleotide polymorphism in the human mu opioid receptor gene alters beta-endorphin binding and activity: possible implications for opiate addiction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:9608-9613
- Bowen T, Norton N, Jacobsen NJ, Guy C, Daniels JK, Sanders RD, Cardno AG, Jones LA, Murphy KC, McGuffin P, Craddock N, O'Donovan MC, Owen MJ.** (1998) Linked polymorphisms upstream of exons 1 and 2 of the human cholecystokinin gene are not associated with schizophrenia or bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 3:67-71
- Bradwejn J, Koszycki D, Meterissian G.** (1990) Cholecystokinin-tetrapeptide induces panic attacks in patients with panic disorder. *Can J Psychiatry* 35:83-85

- Bray NJ, Buckland PR, Hall H, Owen MJ, O'Donovan MC.** (2004) The serotonin-2A receptor gene locus does not contain common polymorphism affecting mRNA levels in adult brain. *Mol Psychiatry* 9:109-114
- Brookes AJ.** (1999) The essence of SNPs. *Gene* 234:177-186
- Buono P, Pasanisi F, Nardelli C, Ieno L, Capone S, Liguori R, Finelli C, Oriani G, Contaldo F, Sacchetti L.** (2005) Six novel mutations in the proopiomelanocortin and melanocortin receptor 4 genes in severely obese adults living in southern Italy. *Clin Chem* 51:1358-1364
- Burmeister M.** (1999) Basic concepts in the study of diseases with complex genetics. *Biol Psychiatry* 45:522-532
- Cardon LR, Palmer LJ.** (2003) Population stratification and spurious allelic association. *Lancet* 361:598-604
- Carey RM.** (2001) Theodore Cooper Lecture: Renal dopamine system: paracrine regulator of sodium homeostasis and blood pressure. *Hypertension* 38:297-302
- Chakravarti A.** (1999) Population genetics--making sense out of sequence. *Nat Genet* 21:56-60
- Chan RJ, McBride AW, Thomasson HR, Ykenney A, Crabb DW.** (1994) Allele frequencies of the preproenkephalin A (PENK) gene CA repeat in Asians, African-Americans, and Caucasians: lack of evidence for different allele frequencies in alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* 18:533-535
- Cichon S, Nothen MM, Stober G, Schroers R, Albus M, Maier W, Rietschel M, Korner J, Weigelt B, Franzek E, Wildenauer D, Fimmers R, Propping P.** (1996) Systematic screening for mutations in the 5'-regulatory region of the human dopamine D1 receptor (DRD1) gene in patients with schizophrenia and bipolar affective disorder. *Am J Med Genet* 67:424-428
- Collins FS, Guyer MS, Charkravarti A.** (1997) Variations on a theme: cataloging human DNA sequence variation. *Science* 278:1580-1581
- Craddock N, Jones I.** (1999) Genetics of bipolar disorder. *J Med Genet* 36:585-594
- Crawley JN, Corwin RL.** (1994) Biological actions of cholecystokinin. *Peptides* 15:731-755
- de Bakker PI, Yelensky R, Pe'er I, Gabriel SB, Daly MJ, Altshuler D.** (2005) Efficiency and power in genetic association studies. *Nat Genet* 37:1217-1223
- Ernst A, Kohrle J, Bergmann A.** (2006) Proenkephalin A 119-159, a stable proenkephalin A precursor fragment identified in human circulation. *Peptides* In press
- Feder J, Gurling HM, Darby J, Cavalli-Sforza LL.** (1985) DNA restriction fragment analysis of the proopiomelanocortin gene in schizophrenia and bipolar disorders. *Am J Hum Genet* 37:286-294
- Evans KL, Lawson D, Meitinger T, Blackwood DH, Porteous DJ.** (2000) Mutational analysis of the Wolfram syndrome gene in two families with chromosome 4p-linked bipolar affective disorder. *Am J Med Genet* 96:158-160
- Fehr C, Schleicher A, Szegedi A, Anghelescu I, Klawe C, Hiemke C, Dahmen N.** (2001) Serotonergic polymorphisms in patients suffering from alcoholism, anxiety disorders and narcolepsy. *Prog Neuropsychopharmacol. Biol Psychiatry* 25:965-982
- Filip M, Frankowska M, Zaniewska M, Golda A, Przegalinski E.** (2005) The serotonergic system and its role in cocaine addiction. *Pharmacol Rep* 57:685-700
- Filliol D, Ghosland S, Chluba J, Martin M, Matthes HW, Simonin F, Befort K, Gaveriaux-Ruff C, Dierich A, LeMeur M, Valverde O, Maldonado R, Kieffer**

- BL.** (2000) Mice deficient for delta- and mu-opioid receptors exhibit opposing alterations of emotional responses. *Nat Genet* 25:195-200
- Finn CT, Smoller JW.** (2001) The genetics of panic disorder. *Curr Psychiatry Rep* 3:131-137
- Florez JC, Wiltshire S, Agapakis CM, Burt NP, de Bakker PI, Almgren P, Bengtsson Bostrom K, Tuomi T, Gaudet D, Daly MJ, Hirschhorn JN, McCarthy MI, Altshuler D, Groop L.** (2006) High-density haplotype structure and association testing of the insulin-degrading enzyme (IDE) gene with type 2 diabetes in 4,206 people. *Diabetes* 55:128-135
- Franke P, Wang T, Nothen MM, Knapp M, Neidt H, Albrecht S, Jahnes E, Propping P, Maier W.** (2001) Nonreplication of association between mu-opioid-receptor gene (OPRM1) A118G polymorphism and substance dependence. *Am J Med Genet* 105:114-119
- Frisch A, Postilnick D, Rockah R, Michaelovsky E, Postilnick S, Birman E, Laor N, Rauchverger B, Kreinin A, Poyurovsky M, Schneidman M, Modai I, Weizman R.** (1999) Association of unipolar major depressive disorder with genes of the serotonergic and dopaminergic pathways. *Mol Psychiatry* 4:389-392
- Furlong RA, Coleman TA, Ho L, Rubinsztein JS, Walsh C, Paykel ES, Rubinsztein DC.** (1998) No association of a functional polymorphism in the dopamine D2 receptor promoter region with bipolar or unipolar affective disorders. *Am J Med Genet* 81:385-387
- Gabriel SB, Schaffner SF, Nguyen H, Moore JM, Roy J, Blumenstiel B, Higgins J, DeFelice M, Lochner A, Faggart M, Liu-Cordero SN, Rotimi C, Adeyemo A, Cooper R, Ward R, Lander ES, Daly MJ, Altshuler D.** (2002) The structure of haplotype blocks in the human genome. *Science* 296:2225-2229
- Gelernter J, Kranzler H, Cubells J.** (1999) Genetics of two mu opioid receptor gene (OPRM1) exon I polymorphisms: population studies, and allele frequencies in alcohol- and drug-dependent subjects. *Mol Psychiatry* 4:476-483
- Gelernter J, Kennedy JL, van Tol HH, Civelli O, Kidd KK.** (1992) The D4 dopamine receptor (DRD4) maps to distal 11p close to HRAS. *Genomics* 13:208-210
- Glatt CE, Freimer NB.** (2002) Association analysis of candidate genes for neuropsychiatric disease: the perpetual campaign. *Trends Genet* 18:307-312
- Gordon YKN, George RS, O'Dowd FB.** (1997) Studies on Dopamine Receptors and Role in Drug Addiction, pp. 95-106. In: E. P. N. Kenneth Blum [ed.], *Handbook of Psychiatric Genetics*. CRC Press Inc., Boca Raton
- Grandy DK, Litt M, Allen L, Bunzow JR, Marchionni M, Makam H, Reed L, Magenis RE, Civelli O.** (1989a). The human dopamine D2 receptor gene is located on chromosome 11 at q22-q23 and identifies a TaqI RFLP. *Am J Hum Genet* 45:778-785
- Grandy DK, Marchionni MA, Makam H, Stofko RE, Alfano M, Frothingham L, Fischer JB, Burke-Howie KJ, Bunzow JR, Server AC.** (1989b) Cloning of the cDNA and gene for a human D2 dopamine receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86:9762-9766
- Grandy DK, Zhou QY, Allen L, Litt R, Magenis RE, Civelli O, Litt M.** (1990) A human D1 dopamine receptor gene is located on chromosome 5 at q35.1 and identifies an EcoRI RFLP. *Am J Hum Genet* 47:828-834
- Gray IC, Campbell DA, Spurr NK** (2000) Single nucleotide polymorphisms as tools in human genetics. *Hum Mol Genet* 9:2403-2408
- Hansen TV, Rehfeld JF, Nielsen FC.** (2000) Function of the C-36 to T polymorphism in the human cholecystokinin gene promoter. *Mol Psychiatry* 5:443-447

- Guo Z, Guilfoyle RA, Thiel AJ, Wang R, Smith LM.** (1994) Direct fluorescence analysis of genetic polymorphisms by hybridization with oligonucleotide arrays on glass supports. *Nucleic Acids Res* 22:5456-5465
- Hamilton SP, Slager SL, Helleby L, Heiman GA, Klein DF, Hodge SE, Weissman MM, Fyer AJ, Knowles JA.** (2001) No association or linkage between polymorphisms in the genes encoding cholecystokinin and the cholecystokinin B receptor and panic disorder. *Mol Psychiatry* 6:59-65
- Hansen TV, Rehfeld JF, Nielsen FC.** (2000) Function of the C-36 to T polymorphism in the human cholecystokinin gene promoter. *Mol Psychiatry* 5:443-447
- Harada S, Okubo T, Tsutsumi M, Takase S, Muramatsu T.** (1998) A new genetic variant in the Sp1 binding cis-element of cholecystokinin gene promoter region and relationship to alcoholism. *Alcohol Clin Exp Res* 22:93S-96S
- Hattori E, Ebihara M, Yamada K, Ohba H, Shibuya H, Yoshikawa T.** (2001) Identification of a compound short tandem repeat stretch in the 5'-upstream region of the cholecystokinin gene, and its association with panic disorder but not with schizophrenia. *Mol Psychiatry* 6:465-470
- Hattori E, Yamada K, Ebihara M, Toyota T, Nankai M, Shibuya H, Yoshikawa T.** (2002) Association study of the short tandem repeat in the 5' upstream region of the cholecystokinin gene with mood disorders in the Japanese population. *Am J Med Genet* 114:523-526
- Hinney A, Remschmidt H, Hebebrand J.** (2000) Candidate gene polymorphisms in eating disorders. *Eur J Pharmacol* 410:147-159
- Huang YY, Battistuzzi C, Oquendo MA, Harkavy-Friedman J, Greenhill L, Zalsman G, Brodsky B, Arango V, Brent DA, Mann JJ.** (2004) Human 5-HT1A receptor C(-1019)G polymorphism and psychopathology. *Int J Neuropsychopharmacol* 7:441-451
- Huang YY, Oquendo MA, Friedman JM, Greenhill LL, Brodsky B, Malone KM, Khait V, Mann JJ.** (2003) Substance abuse disorder and major depression are associated with the human 5-HT1B receptor gene (HTR1B) G861C polymorphism. *Neuropsychopharmacology* 28:163-169
- Inada Y, Yoneda H, Koh J, Sakai J, Himeji A, Kinoshita Y, Akabame K, Hiraoka Y, Sakai T.** (2003) Positive association between panic disorder and polymorphism of the serotonin 2A receptor gene. *Psychiatry Res* 118:25-31
- Ise K, Akiyoshi J, Horinouchi Y, Tsutsumi T, Isogawa K, Nagayama H.** Association between the CCK-A receptor gene and panic disorder. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2003 Apr 1;118(1):29-31.
- Jorm AF, Prior M, Sanson A, Smart D, Zhang Y, Tan S, Easteal S.** Lack of association of a single-nucleotide polymorphism of the mu-opioid receptor gene with anxiety-related traits: results from a cross-sectional study of adults and a longitudinal study of children. *Am J Med Genet.* 2002 Aug 8;114(6):659-64.
- Kalia M.** (2005) Neurobiological basis of depression: an update. *Metabolism* 54:24-27
- Kato T, Wang ZW, Zoega T, Crowe RR.** (1996) Missense mutation of the cholecystokinin B receptor gene: lack of association with panic disorder. *Am J Med Genet* 67:401-405
- Kaufman MJ, Hartig PR, Hoffman BJ.** (1995) Serotonin 5-HT2C receptor stimulates cyclic GMP formation in choroid plexus. *J Neurochem* 64:199-205
- Kendler KS, Neale MC, Kessler RC, Heath AC, Eaves LJ.** (1993) Panic disorder in women: a population-based twin study. *Psychol Med* 23:397-406
- Kennedy JL, Bradwejn J, Koszycki D, King N, Crowe R, Vincent J, Fourie O.** (1999) Investigation of cholecystokinin system genes in panic disorder. *Mol Psychiatry* 4:284-285

- Kessler RC, McGonagle KA, Zhao S, Nelson CB, Hughes M, Eshleman S, Wittchen HU, Kendler KS.** (1994) Lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R psychiatric disorders in the United States. Results from the National Comorbidity Survey. *Arch Gen Psychiatry* 51:8-19
- Kieffer BL, Gaveriaux-Ruff C.** (2002) Exploring the opioid system by gene knockout. *Prog Neurobiol* 66:285-306
- Kirov G, Jones I, McCandless F, Craddock N, Owen MJ.** (1999) Family-based association studies of bipolar disorder with candidate genes involved in dopamine neurotransmission: DBH, DAT1, COMT, DRD2, DRD3 and DRD5. *Mol Psychiatry* 4:558-565
- Krawczak M, Reiss J, Cooper DN.** (1992) The mutational spectrum of single base-pair substitutions in mRNA splice junctions of human genes: causes and consequences. *Hum Genet* 90:41-54
- Kruglyak L** (1999) Prospects for whole-genome linkage disequilibrium mapping of common disease genes. *Nat Genet* 22:139-144
- Kruglyak L, Nickerson DA.** (2001) Variation is the spice of life. *Nat Genet* 27 234-236
- Lai E,** 2001. Application of SNP technologies in medicine: lessons learned and future challenges. *Genome Res* 11:927-929
- Lalouel JM, Rohrwasser A.** (2002) Power and replication in case-control studies. *Am J Hypertens* 15:201-205
- Landegren U, Nilsson M, Kwok PY.** (1998) Reading bits of genetic information: methods for single-nucleotide polymorphism analysis. *Genome Res* 8:769-776
- Lander ES, Schork NJ.** (1994) Genetic dissection of complex traits. *Science* 265:2037-2048
- Lemond S, Turecki G, Bakish D, Du L, Hrdina PD, Bown CD, Sequeira A, Kushwaha N, Morris SJ, Basak A, Ou XM, Albert PR.** (2003) Impaired repression at a 5-hydroxytryptamine 1A receptor gene polymorphism associated with major depression and suicide. *J Neurosci* 23:8788-8799
- Lerer B, Macciardi F, Segman RH, Adolfsson R, Blackwood D, Blairy S, Del Favero J, Dikeos DG, Kaneva R, Lilli R, Massat I, Milanova V, Muir W, Noethen M, Oruc L, Petrova T, Papadimitriou GN, Rietschel M, Serretti A, Souery D, Van Gestel S, Van Broeckhoven C, Mendlewicz J.** (2001) Variability of 5-HT_{2C} receptor cys23ser polymorphism among European populations and vulnerability to affective disorder. *Mol Psychiatry* 6:579-585
- Leszczynska-Rodziewicz A, Hauser J, Dmitrzak-Weglarz M, Skibinka M, Czerski P, Zakrzewska A, Kosmowska M, Rybakowski JK.** Lack of association between polymorphisms of dopamine receptors, type D₂, and bipolar affective illness in a Polish population. *Med Sci Monit.* 2005 Jun;11(6):CR289-295.
- Levinson DF, Zubenko GS, Crowe RR, DePaulo RJ, Scheftner WS, Weissman MM, Holmans P, Zubenko WN, Boutelle S, Murphy-Eberenz K, MacKinnon D, McInnis MG, Marta DH, Adams P, Sassoon S, Knowles JA, Thomas J, Chellis J.** (2003) Genetics of recurrent early-onset depression (GenRED): design and preliminary clinical characteristics of a repository sample for genetic linkage studies. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 119:118-130
- Lewontin RC.** (1988) On measures of gametic disequilibrium. *Genetics* 120:849-852
- Luo X, Kranzler HR, Zhao H, Gelernter J.** (2003) Haplotypes at the OPRM1 locus are associated with susceptibility to substance dependence in European-Americans. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 120:97-108
- Marshall FH, Barnes S, Hughes J, Woodruff GN, Hunter JC.** (1991) Cholecystokinin modulates the release of dopamine from the anterior and posterior nucleus accumbens by two different mechanisms. *J Neurochem* 56:917-922

- Massat I, Souery D, Del-Favero J, Van Gestel S, Serretti A, Macciardi F, Smeraldi E, Kaneva R, Adolfsson R, Nylander PO *et al.*** (2002) Positive association of dopamine D2 receptor polymorphism with bipolar affective disorder in a European multicenter association study of affective disorders. *Am J Med Genet* 114:177-185.
- Massat I, Souery D, Lipp O, Blairy S, Papadimitriou G, Dikeos D, Ackenheil M, Fuchshuber S, Hilger C, Kaneva R, Milanova V, Verheyen G, Raeymaekers P, Staner L, Oruc L, Jakovljevic M, Serretti A, Macciardi F, Van Broeckhoven C, Mendlewicz J.A** (2000) European multicenter association study of HTR2A receptor polymorphism in bipolar affective disorder. *Am J Med Genet* 96:136-140
- Miller LJ, Holicky EL, Ulrich CD, Wieben ED.** (1995) Abnormal processing of the human cholecystokinin receptor gene in association with gallstones and obesity. *Gastroenterology* 109:1375-1380
- Minov C, Baghai TC, Schule C, Zwanzger P, Schwarz MJ, Zill P, Rupprecht R, Bondy B.** (2001) Serotonin-2A-receptor and -transporter polymorphisms: lack of association in patients with major depression. *Neurosci Lett* 303:119-122
- Miyasaka K, Yoshida Y, Matsushita S, Higuchi S, Shirakawa O, Shimokata H, Funakoshi A.** (2004) Association of cholecystokinin-A receptor gene polymorphisms and panic disorder in Japanese. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 127:78-80
- Montpetit A, Nelis M, Laflamme P, Magi R, Ke X, Remm M, Cardon L, Hudson TJ, Metspalu A.** (2006) An Evaluation of the Performance of Tag SNPs Derived from HapMap in a Caucasian Population. *PLoS Genet* 2:e27
- Muir WJ, Thomson ML, McKeon P, Mynett-Johnson L, Whitton C, Evans KL, Porteous DJ, Blackwood DH.** (2001) Markers close to the dopamine D5 receptor gene (DRD5) show significant association with schizophrenia but not bipolar disorder. *Am J Med Genet* 105:152-158
- Murru S, Loudianos G, Deiana M, Camaschella C, Sciarratta GV, Agosti S, Parodi MI, Cerruti P, Cao A, Pirastu M.** (1991) Molecular characterization of beta-thalassemia intermedia in patients of Italian descent and identification of three novel beta-thalassemia mutations. *Blood* 77:1342-1347
- Myers S, Bottolo L, Freeman C, McVean G, Donnelly P.**(2005)A fine-scale map of recombination rates and hotspots across the human genome. *Science* 310:321-324
- Ni X, Trakalo JM, Mundo E, Macciardi FM, Parikh S, Lee L, Kennedy JL.** (2002) Linkage disequilibrium between dopamine D1 receptor gene (DRD1) and bipolar disorder. *Biol Psychiatry* 52:1144-1150
- Nowotny P, Kwon JM, Goate AM.** (2001) SNP analysis to dissect human traits. *Curr Opin Neurobiol* 11:637-641
- Ogden CA, Rich ME, Schork NJ, Paulus MP, Geyer MA, Lohr JB, Kuczenski R, Niculescu AB.** (2004) Candidate genes, pathways and mechanisms for bipolar (manic-depressive) and related disorders: an expanded convergent functional genomics approach. *Mol Psychiatry* 9:1007-1029
- Oswald P, Souery D, Massat I, Del-Favero J, Linotte S, Papadimitriou G, Dikeos D, Kaneva R, Milanova V, Oruc L, Ivezic S, Serretti A, Lilli R, Van Broeckhoven C, Mendlewicz J.** (2003)Lack of association between the 5HT2A receptor polymorphism (T102C) and unipolar affective disorder in a multicentric European study. *Eur Neuropsychopharmacol* 13:365-368
- Parks CL, Robinson PS, Sibille E, Shenk T, Toth M.** (1998) Increased anxiety of mice lacking the serotonin-1A receptor. *Proc Nat Acad Sci* 95:10734-10739

- Petronis A, Van Tol HH, Lichter JB, Livak KJ, Kennedy JL.** (1993) The D4 dopamine receptor gene maps on 11p proximal to HRAS. *Genomics* 18:161-163
- Prasad S, Semwal P, Deshpande S, Bhatia T, Nimgaonkar VL, Thelma BK.** (2002) Molecular genetics of schizophrenia: past, present and future. *J Biosci* 27:35-52
- Raymond JR, Mukhin YV, Gettys TW, Garnovskaya MN.** (1999) The recombinant 5-HT1A receptor: G protein coupling and signalling pathways. *Br J Pharmacol* 127:1751-1764
- Rehfeld JF.** (2002) Cholecystokinin and panic disorder--three unsettled questions. *Regul Pept* 93:79-83
- Risch N, Merikangas K.** (1996) The future of genetic studies of complex human diseases. *Science* 273:1516-1517
- Risch N.** (2000) Searching for genes in complex diseases: lessons from systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 105:1503-1506
- Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, Sherry S,** (2001) A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 409:928-933
- Saito M, Ehringer MA, Toth R, Oros M, Szakall I, Sikela JM, Vadasz C.** (2003) Variants of kappa-opioid receptor gene and mRNA in alcohol-preferring and alcohol-avoiding mice. *Alcohol* 29:39-49
- Sanders AR, Cao Q, Taylor J, Levin TE, Badner JA, Cravchik A, Comeron JM, Naruya S, Del Rosario A, Salvi DA, Walczyk KA, Mowry BJ, Levinson DF, Crowe RR, Silverman JM, Gejman PV.** (2001) Genetic diversity of the human serotonin receptor 1B (HTR1B) gene. *Genomics* 72:1-14
- Schafer AJ, Hawkins JR.** (1998) DNA variation and the future of human genetics. *Nat Biotechnol* 16:33-39
- Schinka JA, Town T, Abdullah L, Crawford FC, Ordorica PI, Francis E, Hughes P, Graves AB, Mortimer JA, Mullan M.** (2002) A functional polymorphism within the mu-opioid receptor gene and risk for abuse of alcohol and other substances. *Mol Psychiatry* 7:224-228
- Shephard N, John S, Cardon L, McCarthy MI, Zeggini E.** (2005) Will the real disease gene please stand up? *BMC Genet* 6 (in press)
- Shumaker JM, Metspalu A, Caskey CT.** (1996) Mutation detection by solid phase primer extension. *Hum Mutat* 7:346-354
- Sibille E, Hen R.** (2001) Serotonin(1A) receptors in mood disorders: a combined genetic and genomic approach. *Behav Pharmacol* 12:429-438
- Stochino ME, Asuni C, Congiu D, Del Zompo M, Severino G.** (2003) Association study between the phenotype migraine without aura-panic disorder and dopaminergic receptor genes. *Pharmacol Res* 48:531-534
- Sullivan PF, Eaves LJ, Kendler KS, Neale MC.** (2001) Genetic case-control association studies in neuropsychiatry. *Arch Gen Psychiatry* 58:1015-1024
- Zhang Y, Wang D, Johnson AD, Papp AC, Sadee W.** (2005) Allelic expression imbalance of human mu opioid receptor (OPRM1) caused by variant A118G. *J Biol Chem* 280:32618-32624
- Zhou QY, Li C, Civelli O.** (1992) Characterization of gene organization and promoter region of the rat dopamine D1 receptor gene. *J Neurochem* 59:1875-1883
- Tachikawa H, Harada S, Kawanishi Y, Okubo T, Suzuki T.** (2001) Linked polymorphisms (-333G>T and -286A>G) in the promoter region of the CCK-A receptor gene may be associated with schizophrenia. *Psychiatry Res* 103:147-155
- Tachikawa H, Harada S, Kawanishi Y, Okubo T, Shiraishi H.** (1999) Novel polymorphism in the promoter and coding regions of the human cholecystokinin B

- receptor gene: an association analysis with schizophrenia. *Am J Med Genet* 88:700-704
- Takata Y, Takeda S, Kawanami T, Takiguchi S, Yoshida Y, Miyasaka K, Funakoshi A.** (2002) Promoter analysis of human cholecystokinin type-A receptor gene. *J Gastroenterol* 37:815-820
- Taylor C, Fricker AD, Devi LA, Gomes I.** (2005) Mechanisms of action of antidepressants: from neurotransmitter systems to signaling pathways. *Cell Signal* 17:549-557
- Taylor L, Faraone SV, Tsuang MT.** (2002) Family, twin, and adoption studies of bipolar disease. *Curr Psychiatry Rep* 4:130-133
- Tecott LH, Sun LM, Akana SF, Strack AM, Lowenstein DH, Dallman MF, Julius D.** (1995) Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5-HT_{2C} serotonin receptors. *Nature* 374:542-546
- Tregouet DA, Tiret L.** (2004) Cox proportional hazards survival regression in haplotype-based association analysis using the Stochastic-EM algorithm. *Eur J Hum Genet* 12:971-974
- Tõnisson N, Kurg A, Kaasik K, Lohmussaar E, Metspalu A** (2000a) Unravelling genetic data by arrayed primer extension. *Clin Chem Lab Med* 38:165-170
- Tõnisson N, Kurg A, Lõhmussaar E, Metspalu A** (2000b) Arrayed Primer Extension on the DNA Chip: Method and Applications. In: *Microarray Biochips Technology* (Scheda M., ed.). Bio Techniques Books, Natick, MA, pp. 247-263
- Ulrich CD, Ferber I, Holicky E, Hadac E, Buell G, Miller LJ.** (1993) Molecular cloning and functional expression of the human gallbladder cholecystokinin A receptor. *Biochem Biophys Res Commun* 193:204-211
- Veenstra- VanderWeele J, Anderson GM, Cook EH Jr.** (2000) Pharmacogenetics and the serotonin system: initial studies and future directions. *Eur J Pharmacol* 410:165-181
- Vincent JB, Masellis M, Lawrence J, Choi V, Gurling HM, Parikh SV, Kennedy JL.** (1999) Genetic association analysis of serotonin system genes in bipolar affective disorder. *Am J Psychiatry* 156:136-138
- Wang Z, Valdes J, Noyes R, Zoega T, Crowe RR.** (1998) Possible association of a cholecystokinin promoter polymorphism (CCK-36CT) with panic disorder. *Am J Med Genet* 81:228-234
- Weissman MM, Bland R, Joyce PR, Newman S, Wells JE, Wittchen HU.** (1993) Sex differences in rates of depression: cross-national perspectives. *J Affect Disord* 29:77-84
- Willer CJ, Scott LJ, Bonnycastle LL, Jackson AU, Chines P, Pruim R, Bark CW, Tsai YY, Pugh EW, Doheny KF, Kinnunen L, Mohlke KL, Valle TT, Bergman RN, Tuomilehto J, Collins FS, Boehnke M.** (2006) Tag SNP selection for Finnish individuals based on the CEPH Utah HapMap database. *Genet Epidemiol* 30:180-190
- Wong AH, Buckle CE, Van Tol HH.** (2000) Polymorphisms in dopamine receptors: what do they tell us? *Eur J Pharmacol* 410:183-200
- Yamada K, Hattori E, Shimizu M, Sugaya A, Shibuya H, Yoshikawa T.** (2001) Association studies of the cholecystokinin B receptor and A_{2a} adenosine receptor genes in panic disorder. *J Neural Transm* 108:837-848
- Yang Q, Cui J, Chazaro I, Cupples LA, Demissie S.** (2005) Power and type I error rate of false discovery rate approaches in genome-wide association studies. *BMC Genet* 6 (in press)

Lisad

Lisa 1. Uuritud 90 polümorfismi, nende rs-numbrid ja lokaliseerimine

Geen	Genoomne lokaliseerimine	Polümorfism	rs-number	Lokaliseerimine (HapMap)	Geenisine lokaliseerimine
CCK	3pter-p21	-45C/T	rs1799923	42266886	promootor
		1270C/G	rs754635	42265723	intron 1
		6662C/T	rs3774396	42260329	intron 2
CCKAR	4p15.2-15.1	-128G/T	rs1800908	26243105	promootor
		201A/G	rs1799723	26243058	promootor
		246G/A	(-)	26243013	promootor
		608G/A	rs1800856	26242651	intron 1
		1260T/A	rs1800855	26242000	intron 1
		1266TC	rs1800857	26241994	intron 1
		3849C/T	rs1805037	26234542	ekson 5
CCKBR	11p15.4	-215C/A	rs1799721	6245252	promootor
		109C/T	rs1805000	6245576	ekson 1
		1550G/A	rs1805002	6255429	ekson 2
		2491C/A	rs1800843	6256374	intron 4
DRD1	5q35.1	-2218T/C	rs10078866	174853243	promootor
		-2102C/A	rs10063995	174853127	promootor
		-2030TC	rs10078714	174853055	promootor
		-1251G/C	(-)	174852277	promootor
		-800T/C	rs265981	174851825	ekson 1
		-94G/A	rs5326	174851119	ekson 2
		-48G/A	rs4532	174851073	ekson 2
DRD2	11q22-23	-241A/G	rs1799978	112884002	promootor
		-141Cdel	rs1799732	112883904	promootor
		-7054C/A	(-)	112840077	intron 1
		-913A/G	rs1079597	112833937	intron 1
		-901C/T	rs1079598	112833925	intron 1
		286T/C	(-)	112832738	ekson 2
		3625A/T	rs2234690	112829332	intron 2
		3785C/T	rs1800498	112829239	intron 2
		11924C/G	rs1801028	112821135	ekson 7
		11997T/C	rs6277	112821110	ekson 7
		16893C/G	rs2234689	112816134	3' UTR
		24470C/T	rs1800497	112808479	3' UTR
DRD3	3q13.3	-707G/C	rs1800828	115212450	uORF
		-343G/A	rs1800827	115212086	uORF
		25A/G	rs6280	115211716	ekson1
DRD4	11p15.5	-1217G/T	rs12720364	626321	5' UTR
		-809G/A	rs936461	626729	5' UTR
		-768G/A	rs4987058	626770	5' UTR
		-616C/G	rs747302	626922	5' UTR
		-521C/T	rs1800955	627016	promootor
		-376C/T	rs916455	627161	promootor
DRD5	4p15.1-15.3	1481C/T	rs1967551	9536017	3' UTR
TH	17q11.1-q12	81G/A	rs6356	2147527	ekson 2/3
		205T/C	rs28934579	2145955	ekson 4/5

Lisa 1. (järg)

Geen	Genoomne lokaliseatsioon	Polümorfism	rs-number	Lokaliseatsioon (HapMap)	Geenisene lokaliseatsioon
HTR1A	5q11.2-13	-1018C/G	rs6295	63274449	5' UTR
		-480A/G	(-)		5' UTR
HTR1B	6q13	1778258T/C	rs1778258	78169805	promootor
		1228814C/A	rs1228814	78169416	promootor
		-511G/T	rs130056	78169227	5' UTR
		-161A/T	rs130058	78168877	5' UTR
		129C/T	rs6298	78168588	ekson 1
		276G/A	rs130059	78168441	ekson 1
		371T/G	rs130060	78168346	ekson 1
		705C/T	rs130062	78168012	ekson 1
		861G/C	rs6296	78167856	ekson 1
		6297G/A	rs6297	78167537	3' UTR
HTR2A	13q14.1-14.2	-1438A/G	rs6311	45269479	promootor
		73C/A	rs1805055	45267969	ekson 1
		102T/C	rs6313	45267941	ekson 1
		1354C/T	rs6314	45207035	cSNP
HTR2C	Xq24	68G/C	rs6318	112729988	ekson 1
HTR3A	11q23.1-23.2	1302T/C	rs1150226	113383193	cSNP
		1596G/A	rs1176713	113398077	cSNP
SLC6A4	17q11.1-12	6352A/C	rs6352	28675756	cSNP
		6353G/A	rs6353	28683893	cSNP
		6355G/C	rs6355	28694373	cSNP
TPH	11p15.3-p14	218A/C	rs1800532	18012125	intron 7
		779A/C	rs1799913	18011564	intron 7
POMC	2p23.3	18C/T	rs8192605	25362159	ekson 2
		282C/T	(-)	25359007	ekson 3
		313G/T	(-)	25358976	ekson 3
		346C/T	(-)	25358943	ekson 3
		585C/T	rs2071345	25358704	ekson 3
		866C/T	rs1042571	25358422	ekson 3
OPRM1	6q24-q25	118A/G	rs1799971	154391788	ekson 1
		440C/G	rs17174794	154442101	ekson 2
		31G/A	rs9479757	154442335	intron 2
		691C/G	rs2075572	154442995	intron 2
OPRD1	1p36.1-p34.3	80T/G	rs1042114	28826487	ekson 1
		921T/C	rs2234918	28877109	ekson 3
OPRK1	8q11.2	36G/T	rs1051660	54213522	ekson 1
		1365097A/G	rs1365097	54202751	intron 1
		1365098G/T	rs1365098	54202643	intron 1
		997917A/G	rs997917	54202338	intron 1
		459C/T	rs7815824	54197430	ekson 2
		843A/G	rs702764	54192117	ekson 3
		846C/T	rs16918875	54192114	ekson 3
PENK	8q23-q24	28C/A	rs2609999	57409061	promootor
		808C/del	rs3839874	57403788	5' UTR

Lisa 2. APEX'i praimerid

Geen	Lookus	Kodeeriva ahela praimer	Mittekodeeriva ahela praimer
CCK	-45C/T	5'-TACATGACTGGCCGACGCCGCCGGG-3'	5'-GGGCGGCTGTCTCTTAAATAGCCCC-3'
	1270C/G	5'-GTTAACGCGCCCTCCTCCTTTGCTC-3'	5'-CACACGCCGCTGTTTCATGGCTGTAG-3'
	6662C/T	5'-ATGCAATGTCCCTGTTTCCTTCCTC-3'	5'-GTCCAGAAGGAGCTACAAGGAGCAG-3'
CCKAR	-128G/T	5'-ACATGTGTGTAAAAAGCAGCCACAC-3'	5'-CTGGCTACCCGTTAACCATTCTCAG-3'
	201A/G	5'-CCAGGCTGTCTGTACTCAAGGCCCT-3'	5'-CCCCGGACCTTTCCTGGGCCAGTCT-3'
	246G/A	5'-CCGGGGGAGGTGGGGCGGGGTGAAG-3'	5'-GTGAGCACAAAGCCAAGCCCGCTCCA-3'
	608G/A	5'-CCCCGTCCTTCCAAAGGTAAGTGTC-3'	5'-TTTCCTGAATTAATAACAGCTTC-3'
	1260T/A	5'-TCCATCCCTCCGACTTGCTCCTGTT-3'	5'-CCGCTGGCTGCCACTCTCCAGAGAG-3'
	1266TC	5'-CCTCCGACTTGCTCCTGTTTCTCTC-3'	5'-TCTGCACCGCTGGCTGCCACTCTGC-3'
	3849C/T	5'-GCAGCAGCAGCAGGGCCAACCGCAT-3'	5'-GGTTGGCTGCTGAGCTGTTACTCCG-3'
CCKBR	-215C/A	5'-AGGGAGGGGGTACACAGTCACCTGG-3'	5'-CCGTCCCTCCGCCAGCCTCTGTCCC-3'
	109C/T	5'-CCTCAACAGCAGCAGTGTGGGCAAC-3'	5'-CGAATGCGAGGGGGCTCGCAGCTGA-3'
	1550G/A	5'-CATGGGCACATTCATCTTTGGCACC-3'	5'-AGGTAGGAAACCGCCTTGACAGATGA-3'
	2491C/A	5'-CTGGACCAAGTGAGCAAAATCTGGG-3'	5'-CCGTCGCCCTCCAAAGCTCCGCCTC-3'

Lisa 2. (järg)

Geen	Lookus	Kodeeriva ahela praimer	Mittekodeeriva ahela praimer
DRD1	-1251G/C	5'-GAGACTGGCGAGGTAACCAGGGAGG-3'	5'-CGGAGGACGCCCCGGTGAGTGCTTG-3'
	-2030T/C	5'-TTGAGAGTAAGGCTTGCCTCTCGCC-3'	5'-GCGTTCAAACCTGGGGCGCTAGAGC-3'
	-2102C/A	5'-CGGGGGAACAACGTAAGGCTTGCAC-3'	5'-TGACTCAGCAGCATCCGTGTTCCCC-3'
	-2218T/C	5'-CGGCGAGGCTCCCGCTGAGCTGTG-3'	5'-AAGGTAGTGGGGCCTGCTCAAAGTC-3'
	-800T/C	5'-TCTCCAGCTCTTCAAGGAAGTGGGC-3'	5'-GCCAGGTCCCAAGAGAGGGCGGCGGC-3'
	-48G/A	5'-TCTGACTGACCCCTATTCCCTGCTT-3'	5'-GGGGCTCTGACACCCCTCAAGTTCC-3'
	-94G/A	5'-AATCTGGCTGTGCAAAGTGCTGCCT-3'	5'-TCAGATTTCCAGGAGTCCTCCCCAC-3'
DRD2	-141 ins/del C	5'-ATCCCCCAACCCCTCTACCCGTTT-3'	5'-TACCTCCTCGGCGATCCCCGGCCTG-3'
	-241A/G	5'-AGGACCCAGCCTGCAATCACAGCTT-3'	5'-GCGCTCCCACCCACACCCAGAGTAA-3'
	-901C/T	5'-GAATCACCTATTCAAAGGCGAATC-3'	5'-TAAGGGCAGCAGGAACCACATGATC-3'
	-913A/G	5'-ACAGTGCTGTCAGAATCACCTATTC-3'	5'-GAACCACATGATCGGATTCGCCTTT-3'
	-7054C/A	5'-CCTAATATTTCTATGCACCTTGATG-3'	5'-ACTTCCCCAATCAGAGGTCTAGAAT-3'
	286T/C	5'-ATGCCCTGGGTTGTCTACCTGGAGG-3'	5'-GCTGGAGCAAGCAGGGGACCCACCT-3'
	3625A/T	5'-AAGATATAAGCATCAAGTGTGTTGGA-3'	5'-AGGACTTACCATGTGTCAGGCACTG-3'
	3785C/T	5'-GGTGTGAAGAAAAGAGCCTTGGGTT-3'	5'-AGGAGTGGCCCCAGGTTCCCTAGTC-3'
	11924C/G	5'-CACCAACTGACTCTCCCCGACCCGT-3'	5'-AGGAGTGCTGTGGAGACCGTGGTGG-3'
	11997T/C	5'-CCCACCACGGTCTCCACAGCACTCC-3'	5'-TCTTCTCTGGTTTGGCGGGGCTGTC-3'
	16893C/G	5'-GAGGTGCTGGGATTAACACAGTCAA-3'	5'-CACGAAGGCAGGGCCCGTGACCAT-3'
	24470C/T	5'-TGGACGTCCAGCTGGGCGCCTGCCT-3'	5'-CACAGCCATCCTCAAAGTGCTGGTC-3'
DRD3	-343G/A	5'-TATACTCAGATACTCACTCACATAC-3'	5'-AGGTAAGTAACGGGTGAAGATTGTG-3'
	-707G/C	5'-TTACATGGGAAGAATCTGGAAGTCA-3'	5'-ACCTTAAGCATATTACTTTACCTCT-3'
	25A/G	5'-TATGGCATCTCTGAGCCAAGTGAAGT-3'	5'-GCCCCACAGGTGTAGTTACAGGTGGC-3'
DRD4	-376C/T	5'-GAGCGCCCGAGGGCCGGGACGCACG-3'	5'-GCCAGCGCCATCCTACCCGGCCCGT-3'
	-521C/T	5'-GGGCAGGGGGAGCGGGCGTGAGGG-3'	5'-GCGGACTCGCCTCGACCTCGTGCGC-3'
	-616C/G	5'-GACCGTGGTGGTCGCGGGGGCTGAG-3'	5'-CCGCCCCCCCCCAGCAGCCTCTGGT-3'
	-768G/A	5'-ACCCCCTGCCAGGGTCAGAGGGGC-3'	5'-GGCCCAAGACCGTGAGCTAGGTAGG-3'
	-809G/A	5'-CCTGGCCTCCTAGCGAGCCGAACCT-3'	5'-GGCAGGGGGTACCGGGACCGGACAG-3'
	-1217delG	5'-TGCAGGCCCTTCCCCCGCAGCCCCG-3'	5'-CATGAGCCTCACAGGACAAGGTCAC-3'
DRD5	1481C/T	5'-ATGGATCTGCATAACCGCACAGACA-3'	5'-TTTGCGTGTGTGTGCGTGCTTGTC-3'
TH	81G/A	5'-CTTTGAGGAGAAGGAGGGGAAGGCC-3'	5'-CTCGGGGAGAAGAGCAGGTTTAGCA-3'
	205T/C	5'-CAGGTGTACCGCCAGCGCAGGAAGC-3'	5'-GTACTGGAAGGCGATCTCAGCAATC-3'

Lisa 2. (järg)

Geen	Lookus	Kodeeriva ahela praimer	Mittekodeeriva ahela praimer
HTR1A	-1018C/G	5'-GAGAACGGAGGTAGCTATTTAAAAA-3'	5'-ATGGAAAAAGACCGAGTGTGTCTTC-3'
	-480A/G	5'-GGACGAAAGAGGCAGAAGAGAGAGA-3'	5'-TCTCTCCCCCTCTCTCCTCCTCTCT-3'
HTR1B	1778258T/C	5'-CGCCCTATCTCCCCGCTTCCCACCC-3'	5'-GTTGTCACCCGACCCTCCTACCGGG-3'
	1228814C/A	5'-CGGCCCCGAGCAGCCGCAACTCCAGC-3'	5'-GAGACGGAGCCTAAAAGGGGGGACA-3'
	-511G/T	5'-TGCACCAGCTTGGGGCGAGGGGTGG-3'	5'-GCGAGAGGTCCCGAGATCTTGCATT-3'
	-161A/T	5'-CCCGCCTGCCTTGGCTGCCGCACCC-3'	5'-GGTTCACAAGTAACTAGAGGTCA-3'
	129C/T	5'-CCAAGGACTACATTTACCAGGACTC-3'	5'-GCAGTACTTTCCAGGGTAGGGAGAT-3'
	276G/A	5'-CTAACTACCTGATCGCCTCTCTGGC-3'	5'-GGATGGACACAAGCAGGTCGGTGAC-3'
	371T/G	5'-ACACTGGGCCAGGTGGTCTGTGACT-3'	5'-ACAAGTGATGTCCGACGACAGCCAG-3'
	705C/T	5'-TCTATGGCCGCATATACGTAGAAGC-3'	5'-GCGTCTGTTTCAAAATCCGGGAGCG-3'
	861G/C	5'-GCGAATACGGATCTCCTGTGTATGT-3'	5'-CGGAGACTCGCACTTTGACTTGGTT-3'
	6297G/A	5'-TTTTAAGTGCAAGTTGACTTGCC-3'	5'-GTCGCTTAGGCGACCCCACTGCAAA-3'
HTR2A	-1438A/G	5'-ACTGTTGGCTTTGGATGGAAGTGCC-3'	5'-ATGTCCTCGGAGTGCTGTGAGTGTG-3'
	73C/A	5'-TCCCTAATGCAATTAAATGATGACA-3'	5'-GTTAAAGTCATTACTGTAGAGCCTG-3'
	102T/C	5'-GGCTCTACAGTAATGACTTTAACTC-3'	5'-ATGCATCAGAAGTGTTAGCTTCTCC-3'
	1354C/T	5'-CTCAATGGTTGCTCTAGGAAAGCAG-3'	5'-TTGTCTTTAGAAGCCTCTTCAGAAT-3'
HTR2C	68G/C	5'-CTAATTGGCCTATTGGTTTGGCAAT-3'	5'-TGCTACTGGGCTCACAGAAATATCA-3'
HTR3A	1302T/C	5'-AGCTGCTATTCCACATTTACCTGCT-3'	5'-GGGTGATGCTGTAGGCCAGCACCGC-3'
	1596G/A	5'-AGCTGCTATTCCACATTTACCTGCT-3'	5'-GGGTGATGCTGTAGGCCAGCACCGC-3'
SLC6A4	6352A/C	5'-TGATCATCACTCCAGGGACATTTAA-3'	5'-ATACACACTAACTAGCACGTACCTC-3'
	6353G/A	5'-TAATCACGCTGGGCTTGGACAGCAC-3'	5'-CCATTTCCCCTTCCCATTTCTCAC-3'
	6355G/C	5'-TCAGCAGTTCCAAGTCCTGGTGCGG-3'	5'-TGGGATAGAGTGCCGTGTGTCATCT-3'
TPH	218A/C	5'-TTATTAATTGACAACCTATTAGGTG-3'	5'-TAGCTGCTATTCTGAGCATAGGGAA-3'
	779A/C	5'-TGCAGCGTGACAACTTGTACCTCT-3'	5'-TTCCCTATGCTCAGAATAGCAGCTA-3'

Lisa 2. (järg)

Geen	Lookus	Kodeeriva ahela praimer	Mittekodeeriva ahela praimer
POMC	18C/T	5'-CCTGGAAGATGCCGAGATCGTGCTG-3'	5'-CCAGCAACAGGACCCCCGAGCGGCT-3'
	282C/T	5'-GATTCGACCGCCGCAACAGCAGCAG-3'	5'-TCTGCCCTGCGCCGCTGCTGCCGCT-3'
	313G/T	5'-CAGCAGCGGAGCAGGGCAGAAGCGC-3'	5'-CAGTCTTCGCCCCGCTGAGAAAGTCCT-3'
	346C/T	5'-CTCAGCAGGCGAAGACTGCGGCCCG-3'	5'-CGGGGCTCGGGGCCGCCCTCAGGCA-3'
	585C/T	5'-AGGGAGATGGCCCCGACGGCCCTGC-3'	5'-CGGCCTGGACCCCTGCGCCGTCATC-3'
	866C/T	5'-GGTCGACCCCAAAGCCCTTGCTCT-3'	5'-GCTGGGAGGCGGCAGCAGGGCAGGG-3'
OPRM1	118A/G	5'-GGTCAACTTGTCCCACTTAGATGGC-3'	5'-TTCGGACCGCATGGGTCCGACAGGT-3'
	440C/G	5'-ACCATCCTTTGCAAGATAGTGATCT-3'	5'-GGTGAATGTTATAGTAATCTATG-3'
	31G/A	5'-TGATGTTACCAGCCTGAGGGAAGGA-3'	5'-TCACCAACATATCAGGCTGTGAACC-3'
	691C/G	5'-GTTAGCTCTGGTCAAGGCTAAAAAT-3'	5'-TGTTAATACTGCCATTTTGCTCATT-3'
OPRD1	80T/G	5'-GCCTCGGACGCCTACCCTAGCGCCT-3'	5'-CGACGCATTGGCGCCACCGCTGGGG-3'
	921T/C	5'-CGCTGAACCTGTGCATCGCGCTGGG-3'	5'-CGGGGTTGAGGCTGCTATTGGCGTA-3'
OPRK1	36G/T	5'-CGATCCAGATCTTCCACGGGGAGCC-3'	5'-AGGCGCTCGGGGCGCAGGTAGGGCC-3'
	1365097A/G	5'-AATTCCCATTGTCTCACTAGTTTGT-3'	5'-AGGGAGTAGGTGACTTGCCTGAAAC-3'
	1365098G/T	5'-ATGACATTGTTTTGTCCATTGAGGG-3'	5'-TACTGTAATAATACATTAAATACTA-3'
	997917A/G	5'-TCTTCAGAAGAAAGTAGGGGCAGTG-3'	5'-AGCCATATCACAATCCCATAAGATA-3'
	459C/T	5'-GCATCTTCACCTTGACCATGATGAG-3'	5'-GGCACACGGCAATGTAGCGGTCCAC-3'
	843A/G	5'-CCAGACTGGTCCTGGTGGTGGTGGC-3'	5'-TGGGAGTCCAGCAGACGACGAAGAC-3'
	846C/T	5'-GAATGGTCCTGGTGGTGGTGGCAGT-3'	5'-GAATGGGAGTCCAGCAGACGACGAA-3'
PENK	28C/A	5'-GAGGCCCTACGTCCGCCAGCACACC-3'	5'-GCGGGCGTCGGGGAGAAGCGGGCCC-3'
	808C/del	5'-CGGAGGATTTATGAGATTTTAATAT-3'	5'-GGGCCTGGGGCAACTAGTGGGAAAA-3'

Lisa 3. Kasutatud PCR praimerid

PCR praimer	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')	Pikkus (bp)
CCK 45	GATTAACCTCCACCCACTAGAC	TTGGCGTTTCCAACCGGAGCAG	238
CCK 1270	CTCTGTTGCCCAGCCTTTCAG	CTGGGAACAAGGGCAGAAGTG	314
CCK 6662	GATGCTTTTAGATGCAATGTC	ACAGACAATGAGTTATGAGTG	278
CCK 1 P1	TTGTTCTGTCTCACACAACC	CATTCTAAAGGCGACTTCAG	300
CCK 1 P2	TAAGGAGGTAGAACACAGTCC	GCTTTCACCAAGTGCTGG	540
CCK 1 E1	ATTACACAGCTCTCCAGCAC	CTCCCACAACCTCAATAGTTTC	220
CCK 1 E2	TTAGCATTCTGCTGTCATCAC	TGAAATCCTTGAGCAGATTGG	250
CCK 1 E5	CCAGAAAGGAAACCTAGCACC	GGATGAAGGAAATGGGGGTTC	300
CCK 2 P	GCAGGAGAGAAATCTCTAAGAG	ACCTGCTCACGCTGCGATTC	273
CCK 2 E1	CCGGGTCGAGCTGAGTAAG	GTACAGTGAGAAATAGCTTGTG	157
CCK 2 E2	GATTTGACTGAATGAAGGCTG	ACATCCACAAGAGCTTTAGGC	370
CCK 2 E4	TCTGTGATTACAGCTGGACAG	TCTGTGATTACAGCTGGACAG	327
D1 P1	GCGGTGAGTTAAAAGAACAG	CATGACTGCCAGAACCTGAA	417
D1 P22	GCTTACTTGAGGTTCTGACA	CGTTTGGGGAAAGGATCCCA	589
D1 P3	GATTGCAACTGACTAGCAGA	TTCAGATCCTCATCTTCCT	376
D2 P1	TCAAAGGAGAAGACTGGCGA	CACTGAAGCTGGACAGCTCT	289
D2 1	CAGAAGCTGCTGAGGTTGGA	CCTGCATGTCAAGTTCTTCCT	179
D2 2	ATCCTGCCAAACCTCATCATC	GAGGTTGCAATAGGCAAGATC	222
D2 3	CAGACCACCACCAACTACCT	GGAAGCACCAGGAAACTCAT	162
D2 4	GTGTCAGGGAAGACTTTCAG	GTGACAAAGTACTTGTAAGC	510
D2 5	GAGTCTTCAGAGGGTGAAAG	ACAATGGCGAGCATCTGAGT	420
D2 7	GACGAGTTGTCTAGCAGACT	TGCTGTGTGACACGTCATCT	291
D2 8	TCTAGGAAGGACATGATGCC	CTTCCTGAGTGTCATCAACC	222
D3 E1	GTCTCCTCACAGGAAGCCCCTT	CCGCTCCTTCAGCACAGCCATGC	220
D3 ½	TGGACTAAGATAGATGGGTT	GAGTCTGGTGAGGCTGGAGC	249
D3 5	TCTCCTCCAGGTCAAGACTCAAT	GACTCTTTGGGGCTTGTTGCTT	352
D4 1	CTGCACAAGAGGGACTGAGCCTG	GACAGGGCGTGCGTTAAAGGG	165
D4 Neg3/4	CAGGTCACAGGTCACCCCTCTT	TTGCTCATCTTGGAATTTTGCG	792
D53	GTCCCTTTCTGCAGTGGACACCC	CAGCACCATATCTTCTCTCATAGG	740
D1 P1	GCGGTGAGTTAAAAGAACAG	CATGACTGCCAGAACCTGAA	417
D1 P22	GCTTACTTGAGGTTCTGACA	CGTTTGGGGAAAGGATCCCA	589
D1 P3	GATTGCAACTGACTAGCAGA	TTCAGATCCTCATCTTCCT	376
TH 1	GATGAGTGACACAGCGTCTC	GCAGCTGCACCTCTGCTATA	628
TH 205	GACCCTGACCTGGACTTGGAC	GCCCCTCACTGCCTGTACTGG	284

Lisa 3. (järg)

PCR primer	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')	Pikkus (bp)
SER 1018	GCTGGACTGTTAGATGATAG	ACTCACTTACACACACCAGG	420
SER 1A BC	CAGAGGAAAGAGGCACTCCTC	AGTTCTTACTGCTTCGGCGAA	531
SER 1B 1	TGTGACCATGGCTAAGGACA	TGAAGTCTAGGAGCAGCGCT	651
SER 1B 2	AGTGGCCAGAGAGTGAAAAG	CAGGTTTGTCCCCAGTTGAT	569
SER 1B 3	AACCTATCCTCTGCTCCCTC	GTCCTTTTAGCTGAGTACTCC	415
SER 1B 4	TGTGGGTCTTCTCCATCTCT	AAGGGTAGCCAACACACAAT	471
SER 1B 5	TGCAAAGATGCCTGCTGGTT	GATTTCGACCTACCTGTGGAA	231
SER 2A P2	CTAGCCACCCTGAGCCTATG	TTGTGCAGATTCCCATTAAGG	200
SER 2A 1	CATCTGCTACAAGTTCTGGC	CTACGGCTGTCTAGTAAAGCA	276
SER 2A 3	GCCTACAAGTCTAGCCAACT	TCAGTGTGCCTTCCACAGTT	203
SER 2C 1	TGCATGAGCAACGTATTGTG	CATGCTTACTGCCATGATCA	276
SER 3 2	ATGGGAAACCACTGCAGCCA	GTTCAGACCTTGGCTTGTGA	470
SER 3 4	AGATGAGGACAAAAGGGCAGAC	TGCAGAAGCCCATGAGACAA	251
TrpH 1	CTCCATGGGACTCAACACCA	AGAATGGTACCTGGCATGAA	240
TrpH 2	CAAGAGAAGCCAAGCCAATT	GTGTGAGTCTGAGTGGCCAA	282
SER T1	ACTGCATAGGAACCTCATCT	GTGCACCCAAATGATCAGCT	317
SER T2	TAGGACAGGTCTTGTCAACC	TGGTAAATGCCGAGGAGTCA	320
SER T3	AGCGTGTGAAGATGGAGAAG	TCTACTCGCAGCCTGTGATA	330
OPD 1	CGCCGGCGCCGAGCTGCAGC	CAGCAGCCCCACGGCGCACA	172
OPD 3	GCGCATCACGCGCATGGTGC	CGCGGGCGCGGCTGAACGTG	277
OPG 1	GAGAATGTCAGATGCTCAGC	ACCAGGAAGTTTCCGAAGAG	461
OPG 2	CAGATGCCTTAGCCACCAGT	GAGGATCCAGTTGCAGACAT	244
OPG IVS2	TGCAACTGGATCCTCTCTTC	GTTACAATCTATGGAAC TAG	858
OPG3	CATCCAACCTGGTACTGGGA	GATACAGAACTCTCTGAAGC	389
OPK 1	AAAGGCAGCGAGAAGTCCGT	ACGAACATGACCAGCGAGTT	445
OPK 2	TAACCTGGCTTTGGCAGATG	CTGGACTTGCCAGGTTGTAC	600
OPK 3	TGTCATTGAGTGCTCCTTGC	AATAGCTGGAGAGAGCAGCT	319
OPK IVS1	TGGCATTGATCACACTTGT	TCCTGCTGTTGTTACTGTTA	600
POMC FL1	CTGCTCTTCACAGCATCACC	TCTCGGTCGCGGCTCTTCTT	715
POMC2	TCAAGGTCCTTCCTGGTGAG	GTTGCTTTCCGTGGTGAGGT	222
POMC 3	AAGTACGTCATGGGCCACTT	AGAGGCTGATTATCTGCCAC	696
ENK IVS1	TATAAAGTGGCTCCAGCAGC	GTTGACGCTGTTCCGATGGA	247
ENK 4	TCATGAGAAGAGTAGGTCGC	ACTGTCCCTGAGTCTAGGAT	563

Lisa 4. Uuritud 90 polümorfismi genotüpiseerimise *call rate*

Lookus	call rate (%)
-45C/T	99.5
1270C/G	99.5
6662C/T	98.4
-128G/T	98.6
201A/G	100.0
246G/A	100.0
608G/A	99.8
1260T/A	88.8
1266TC	100.0
3849C/T	99.8
-215C/A	99.8
109C/T	100.0
1550G/A	99.5
2491C/A	97.7
-2218T/C	99.1
-2102C/A	98.6
-2030TC	99.5
-1251G/C	98.8
-800T/C	98.8
-94G/A	99.8
-48G/A	99.5
-241A/G	99.5
-141Cdel	98.1
-7054C/A	100.0
-913A/G	99.8
-901C/T	99.5
286T/C	91.8
3625A/T	100.0
3785C/T	99.3
11924C/G	94.9
11997T/C	99.5
16893C/G	99.8
24470C/T	99.5
-707G/C	99.5
-343G/A	73.9
25A/G	99.5
-1217G/T	100.0
-809G/A	90.4
-768G/A	99.8
-616C/G	98.6
-521C/T	74.6
-376C/T	79.5
1481C/T	97.4
205T/C	100.0
81G/A	99.1

Lookus	call rate (%)
-1018C/G	89.5
-480A/G	95.6
1778258T/C	97.2
1228814C/A	94.9
-511G/T	100.0
-161A/T	100.0
129C/T	99.8
276G/A	100.0
371T/G	99.8
705C/T	97.9
861G/C	100.0
6297G/A	95.6
-1438A/G	99.8
73C/A	97.9
102T/C	100.0
1354C/T	98.4
68G/C	99.8
1302T/C	99.8
1596G/A	97.4
6352A/C	99.8
6353G/A	99.3
6355G/C	99.8
218A/C	82.3
779A/C	99.8
18C/T	100.0
282C/T	87.4
313G/T	81.6
346C/T	74.6
585C/T	86.9
866C/T	84.8
118A/G	99.5
440C/G	100.0
31G/A	99.1
691C/G	99.8
80T/G	88.1
921T/C	99.3
36G/T	93.9
1365097A/G	99.8
1365098G/T	97.4
997917A/G	86.7
459C/T	98.8
843A/G	99.8
846C/T	99.3
28C/A	99.3
808C/del	91.8

Lisa 5. Lookused, mille genotüüpne jaotuvus ei vastanud Hardy-Weinbergi tasakaalule ($p > 0.05$) kontrollrühmas ja paanikahäire rühmade kontrollrühmas

Kontrollrühm (n = 160)	HW p-väärtus	Kontrollrühm (n = 146) (paanika)	HW p-väärtus
1260T/A	0.022	1260T/A	0.036
1266T/C	0.043	1266T/C	0.021
-241A/G	0.0090	-241A/G	0.01
-913A/G	0.0	-913AG	0.0
-901C/T	0.0	-901C/T	0.0
3625A/T	0.012	3625A/T	0.014
3785C/T	0.0	3785C/T	0.0
11924C/G	0.0010	11924C/G	0.0010
-707G/C	0.021	-707G/C	0.048
-521C/T	0.0	-521C/T	0.0
-376C/T	0.013	-376C/T	0.015
-480A/G	0.013	-480A/G	0.013
1228814C/A	0.0060	1228814C/A	0.023
-161A/T	0.0	-161A/T	0.0010
276G/A	0.0	276G/A	0.0
68G/C*	0.024		
1302T/C	0.037	1302T/C	0.031
1596G/A	0.013	1596G/A	0.039
6355G/C	0.0	6355G/C	0.0
218A/C	0.0	218A/C	0.0010
779A/C	0.0	779A/C	0.0
313G/T	0.02	313G/T	0.022
440C/G	0.0090	440C/G	0.0060
36G/T	0.028		
1365098G/T	0.0030	1365098G/T	0.018
997917A/G	0.012	997917A/G	0.012
843A/G	0.0	843A/G	0.0

* Jäeti uuringusse

Lisa 6. HapMap projektis uuritud käesoleva töö polümorfismid ja nende minoorse alleeli sagedused kontrollrühmas (EST) ja HapMap populatsioonides

Geen	SNP	rs-number	MAF			
			EST	CEU	CHB_JPT	YRI
CCK	-45C/T	rs1799923	0.113	0.083	0.296	0.322
	1270C/G	rs754635	0.146	0.083	0.301	0.364
	6662C/T	rs3774396	0.016	0	0.117	0.357
	608G/A	rs1800856	0.035	0	0.091	0.05
CCKBR	1550G/A	rs1805002	0.076	0.042	0.040	0.092
DRD1	-2218T/C	rs10078866	0.063	0	0	0
	-94G/A	rs5326	0.164	0.133	0.242	0.183
	16893C/G	rs2234689	0.278	0.22	0.05	0.212
	24470C/T	rs1800497	0.208	0.225	0.449	0.45
DRD3	-343G/A	rs1800828	0.041	0.246	0.283	0.158
	25A/G	rs6280	0.313	0.35	0.303	0.883
DRD5	1481C/T	rs1967551	0.349	0	0	0.009
HTR1B	1778258T/C	rs1778258	0.232	0.102	0.128	0
	129C/T	rs6298	0.264	0.342	0.55	0.242
	371T/G	rs130060	0.009	0.008	0	0
	861G/C	rs6296	0.262	0.342	0.556	0.242
	6297G/A	rs6297	0.23	0.108	0.141	0
HTR2A	-1438A/G	rs6311	0.418	0.45	0.483	0.375
	73C/A	rs1805055	0.016	-	0	0
	102T/C	rs6313	0.366	0.45	0.489	0.35
	1354C/T	rs6314	0.062	0.075	0	0.161
SLC6A4	6352A/C	rs6352	0.038	0	0.073	0
	6353G/A	rs6353	0.08	0	0	0.054
OPRM1	118A/G	rs1799971	0.161	0.167	0.423	0
	31G/A	rs9479757	0.343	0.117	0.039	0.125
	691C/G	rs2075572	0.467	0.425	0.206	0.617
OPRD1	80T/G	rs1042114	0.108	0.183	0	0.017
	921T/C	rs2234918	0.288		0	
OPRK1	1365097A/G	rs1365097	0.006	0.225	0.399	0.75
	459C/T	rs7815824	0.022	0.042	0.022	0.258
	846C/T	rs16918875	0.158	0.018	0	0.071

Lisa 7. Käesolevas töös uuritud SNP-dega aheldunud SNP-d ja LD ulatus CEU populatsioonis HapMap andmete põhjal (rasvases kirjas on käesoleva uuringu markerid)

Geen	SNP	Aheldunud SNP	Kaugus uuritud SNP-st	Piirkond (bp)
CCK	rs1799923			26701
		rs10460960	42269327	
		rs935112	42272084	
		rs935111	42275247	
		rs9813958	42292138	
		rs9839267	42293216	
		rs9819875	42293587	
CCKBR	rs1805002		6255429	7298
		rs3901667	6255065	
		rs4758402	6248131	
DRD2	rs1799978		112884002	42004
		rs12576181	112905021	
		rs12574578	112906980	
		rs6589382	112917476	
		rs4245151	112918862	
		rs4245152	112923292	
		rs4429089	112925554	
		rs4245153	112926006	
	rs1079597			18257
		rs1079594	112820463	
		rs1076560	112821339	
		rs1079597	112833937	
		rs1079596	112834270	
		rs1125394	112834836	
		rs2471857	112835990	
		rs2471854	112837290	
		rs2471851	112838720	
DRD3	rs6280		115211716	227
		rs324026	115211943	
HTR1B	rs1778258		78169805	12225
		rs12173930	78182030	
	rs1228814		78169416	2459
		rs11568817	78168979	
		rs17273700	78169576	
		rs9361235	78171438	
	rs6298		78168588	4619
		rs13192352	78163969	
		rs6296	78167856	

Lisa 7. (järg)

Geen	SNP	Aheldunud SNP	Kaugus uuritud SNP-st	Piirkond (bp)
OPMR1	rs9479757		154442335	33767
		rs9479756	154441105	
		rs10485057	154444246	
		rs511420	154455023	
		rs1299379	154457211	
		rs1067684	154459692	
		rs645189	154464976	
		rs617648	154466977	
		rs632395	154468242	
		rs599945	154473560	
OPRK1		rs616585	154474872	
	rs1051660		54213522	9251
		rs16918928	54204271	
		rs16918931	54205436	
		rs7843965	54206237	
		rs7840304	54206298	
		rs7844117	54206400	
		rs7813478	54206634	
		rs2303433	54207031	
		rs2303432	54207177	
		rs10504151	54208200	
		rs16918938	54210626	
		rs6998851	54211049	
		rs6982096	54211385	
		rs12056411	54212779	
		rs12056414	54212846	
	rs1365097		54202751	413
		rs1365098	54202643	
		rs997917	54202338	
	rs16918875		54192114	32651
		rs7839445	54190407	
		rs7816233	54195305	
		rs7829470	54195346	
		rs7832039	54195514	
		rs16918900	54197202	
		rs7822011	54199377	
		rs7016275	54199730	
		rs6988508	54201436	
		rs16918955	54213855	
		rs1895827	54223058	

Lisa 8. Ühendrühmas assotsiatsioonitesti saadud tulemused

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i p-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-45C/T	0.3304	0.136	0.113	0.214	0.121	1.0000
1270C/G	0.4024	0.167	0.146	0.847	0.664	1.0000
6662C/T	0.7341	0.013	0.016	0.064	0.152	1.0000
-128G/T	0.3195	0.026	0.038	1.0	1.0	1.0000
201A/G	0.5193	0.052	0.062	1.0	0.497	1.0000
246G/A	0.0101	0.078	0.034	1.0	0.361	0.6110
608G/A	0.8450	0.037	0.035	1.0	1.0	1.0000
1260T/A	0.0692	0.236	0.296	0.022	0.0	0.9950
1266TC	0.3479	0.21	0.238	0.043	0.432	1.0000
3849C/T	0.6274	0.013	0.0090	1.0	1.0	1.0000
-215C/A	0.0675	0.024	0.047	1.0	1.0	0.9950
109C/T	0.6687	0.08	0.072	0.854	0.133	1.0000
1550G/A	0.6942	0.069	0.076	0.778	0.729	1.0000
2491C/A	0.3120	0.102	0.124	0.36	0.093	1.0000
-2218T/C	2.4030E-6	0.008	0.063	0.942	0.568	0.0010
-2102C/A	0.0012	0.022	0.067	1.0	0.25	0.1160
-2030TC	0.0629	0.013	0.031	1.0	1.0	0.9930
-1251G/C	0.1594	0.11	0.143	0.784	0.739	1.0000
-800T/C	0.3909	0.405	0.375	0.916	0.815	1.0000
-94G/A	0.1111	0.125	0.164	0.819	0.799	1.0000
-48G/A	0.8611	0.431	0.437	0.374	0.023	1.0000
-241A/G	0.3773	0.197	0.222	0.0090	0.0	1.0000
-141Cdel	0.7007	0.157	0.167	0.857	0.419	1.0000
-7054C/A	0.1516	0.115	0.084	1.0	0.274	1.0000
-913A/G	0.0349	0.251	0.318	0.0	0.0	0.9450
-901C/T	0.3764	0.348	0.319	0.0	0.0	1.0000
286T/C	0.0037	0.197	0.287	0.818	0.013	0.2890
3625A/T	0.9750	0.483	0.484	0.012	0.023	1.0000
3785C/T	0.6213	0.401	0.384	0.0	0.0010	1.0000
11924C/G	0.5333	0.313	0.293	0.0010	0.0	1.0000
11997T/C	0.4727	0.054	0.066	0.987	0.436	1.0000
16893C/G	0.8556	0.272	0.278	0.919	0.927	1.0000
24470C/T	0.7807	0.2	0.208	0.552	0.379	1.0000
-707G/C	0.5848	0.049	0.041	1.0	0.427	1.0000
-343G/A	0.0427	0.222	0.294	0.021	0.0010	0.9690
25A/G	0.2844	0.279	0.313	0.251	0.017	1.0000
-1217G/T	0.1726	0.338	0.384	0.741	0.237	1.0000
-809G/A	0.8924	0.208	0.204	0.933	0.22	1.0000
-768G/A	0.7141	0.136	0.145	0.655	0.01	1.0000
-616C/G	0.5501	0.299	0.318	0.395	0.0010	1.0000
-521C/T	0.0176	0.493	0.408	0.0	0.0	0.7790
-376C/T	0.2355	0.022	0.038	0.013	0.0020	1.0000
1481C/T	0.1694	0.397	0.349	0.957	0.348	1.0000
205T/C	2.4324E-6	0.002	0.047	1.0	1.0	0.0010

Lisa 8. (järg)

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i P-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-1018C/G	0.2163	0.474	0.429	0.153	0.042	1.0000
-480A/G	0.0862	0.064	0.097	0.013	0.156	0.9980
1778258T/C	0.3183	0.203	0.232	0.053	0.015	1.0000
1228814C/A	0.6402	0.467	0.45	0.0060	0.0	1.0000
-511G/T	0.4225	0.007	0.0030	1.0	1.0	1.0000
-161A/T	0.4527	0.238	0.216	0.0	0.0	1.0000
129C/T	0.9107	0.268	0.264	0.306	0.947	1.0000
276G/A	0.4020	0.414	0.444	0.0	0.0	1.0000
371T/G	0.7537	0.007	0.0090	1.0	1.0	1.0000
705C/T	0.3534	0.177	0.203	0.121	0.319	1.0000
861G/C	0.6453	0.277	0.262	1.0	0.999	1.0000
6297G/A	0.3560	0.202	0.23	1.0	0.019	1.0000
-1438A/G	0.4910	0.442	0.418	0.171	0.0070	1.0000
73C/A	0.2641	0.028	0.016	1.0	0.413	1.0000
102T/C	0.5553	0.346	0.366	0.673	0.979	1.0000
1354C/T	0.7054	0.056	0.062	0.897	0.828	1.0000
68G/C	0.0046	0.1	0.167	0.024	0.0050	0.3500
1302T/C	0.3952	0.089	0.107	0.037	0.058	1.0000
1596G/A	0.1237	0.206	0.252	0.013	0.169	1.0000
6352A/C	0.1306	0.02	0.038	0.388	0.524	1.0000
6353G/A	0.2564	0.059	0.08	0.709	0.269	1.0000
6355G/C	0.3690	0.273	0.302	0.0	0.0	1.0000
218A/C	0.0559	0.357	0.287	0.0	0.0	0.9890
779A/C	0.4938	0.287	0.266	0.0	0.0	1.0000
18C/T	0.5985	0.004	0.0060	1.0	1.0	1.0000
282C/T	0.1880	0.111	0.081	0.081	1.0	1.0000
313G/T	0.0705	0.018	0.04	0.02	0.035	0.9950
346C/T	0.8512	0.024	0.022	1.0	1.0	1.0000
585C/T	0.2067	0.087	0.062	1.0	0.772	1.0000
866C/T	0.7703	0.15	0.158	1.0	0.635	1.0000
118A/G	0.0690	0.17	0.22	1.0	0.645	0.9950
440C/G	0.8434	0.164	0.169	0.0090	0.0	1.0000
31G/A	0.4518	0.101	0.085	1.0	0.908	1.0000
691C/G	0.4690	0.437	0.462	0.911	0.786	1.0000
80T/G	0.9026	0.09	0.087	0.669	1.0	1.0000
921T/C	0.7619	0.365	0.375	0.188	0.053	1.0000
36G/T	0.2352	0.195	0.161	0.028	0.0	1.0000
1365097A/G	0.6541	0.303	0.318	1.0	0.636	1.0000
1365098G/T	0.6219	0.326	0.343	0.0030	0.0020	1.0000
997917A/G	0.6892	0.451	0.467	0.012	0.0	1.0000
459C/T	0.8466	0.103	0.108	0.038	0.327	1.0000
843A/G	0.7199	0.276	0.288	0.0	0.0	1.0000
846C/T	0.5955	0.022	0.028	1.0	1.0	1.0000
28C/A	0.0900	0.378	0.437	1.0	0.901	1.0000
81G/A	0.3367	0.364	0.397	0.499	0.935	1.0000
808C/del	0.7031	0.321	0.334	0.102	0.0	1.0000

Lisa 9.Rühmas MDD+BPA assotsiatsioonitesti saadud tulemused

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i p-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-45C/T	0.3808	0.135	0.113	0.214	0.238	1.0000
1270C/G	0.5142	0.163	0.146	0.847	0.807	1.0000
6662C/T	0.9714	0.016	0.016	0.064	0.169	1.0000
-128G/T	0.2758	0.025	0.038	1.0	1.0	1.0000
201A/G	0.5072	0.051	0.062	1.0	0.576	1.0000
246G/A	0.0026	0.089	0.034	1.0	0.338	0.2030
608G/A	0.9334	0.033	0.035	1.0	1.0	1.0000
1260T/A	0.2005	0.251	0.296	0.022	0.0	1.0000
1266TC	0.3239	0.208	0.238	0.043	0.546	1.0000
3849C/T	0.6055	0.013	0.0090	1.0	1.0	1.0000
-215C/A	0.1317	0.027	0.047	1.0	1.0	1.0000
109C/T	0.3860	0.089	0.072	0.854	0.125	1.0000
1550G/A	0.9056	0.074	0.076	0.778	0.698	1.0000
2491C/A	0.2045	0.095	0.124	0.36	0.224	1.0000
-2218T/C	2.6737E-5	0.009	0.063	0.942	0.624	0.0080
-2102C/A	0.0021	0.022	0.067	1.0	0.945	0.1780
-2030TC	0.1457	0.016	0.031	1.0	1.0	1.0000
-1251G/C	0.3332	0.119	0.143	0.784	0.424	1.0000
-800T/C	0.3924	0.406	0.375	0.916	0.838	1.0000
-94G/A	0.3356	0.138	0.164	0.819	0.446	1.0000
-48G/A	0.8076	0.428	0.437	0.374	0.015	1.0000
-241A/G	0.3032	0.191	0.222	0.0090	0.0	1.0000
-141Cdel	0.7172	0.157	0.167	0.857	0.673	1.0000
-7054C/A	0.0496	0.129	0.084	1.0	0.253	0.9830
-913A/G	0.0469	0.252	0.318	0.0	0.0	0.9790
-901C/T	0.5225	0.341	0.319	0.0	0.0	1.0000
286T/C	0.0152	0.208	0.287	0.818	0.02	0.7290
3625A/T	0.8548	0.491	0.484	0.012	0.015	1.0000
3785C/T	0.5043	0.408	0.384	0.0	0.0030	1.0000
11924C/G	0.6582	0.308	0.293	0.0010	0.0010	1.0000
11997T/C	0.8562	0.063	0.066	0.987	0.386	1.0000
16893C/G	0.7285	0.267	0.278	0.919	0.719	1.0000
24470C/T	0.8458	0.202	0.208	0.552	0.29	1.0000
-707G/C	0.4012	0.054	0.041	1.0	0.428	1.0000
-343G/A	0.1011	0.232	0.294	0.021	0.0	1.0000
25A/G	0.3740	0.283	0.313	0.251	0.0070	1.0000
-1217G/T	0.3686	0.353	0.384	0.741	0.202	1.0000
-809G/A	0.8584	0.198	0.204	0.933	0.475	1.0000
-768G/A	0.8750	0.141	0.145	0.655	0.017	1.0000
-616C/G	0.4901	0.295	0.318	0.395	0.018	1.0000
-521C/T	0.0116	0.482	0.408	0.0	0.0	0.6490
-376C/T	0.3595	0.025	0.038	0.013	0.0020	1.0000
1481C/T	0.1319	0.403	0.349	0.957	0.343	1.0000
205T/C	3.6923E-6	0	0.047	1.0	1.0	0.0010

Lisa 9. (järg)

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i P-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-1018C/G	0.3742	0.463	0.429	0.153	0.012	1.0000
-480A/G	0.0643	0.061	0.097	0.013	0.094	0.9980
1778258T/C	0.5302	0.213	0.232	0.053	0.0060	1.0000
1228814C/A	0.9205	0.446	0.45	0.0060	0.0	1.0000
-511G/T	0.7693	0.004	0.0030	1.0	1.0	1.0000
-161A/T	0.8595	0.221	0.216	0.0	0.0	1.0000
129C/T	0.8549	0.27	0.264	0.306	0.754	1.0000
276G/A	0.5058	0.42	0.444	0.0	0.0	1.0000
371T/G	0.9423	0.009	0.0090	1.0	1.0	1.0000
705C/T	0.1125	0.158	0.203	0.121	0.689	1.0000
861G/C	0.6605	0.277	0.262	1.0	1.0	1.0000
6297G/A	0.5193	0.21	0.23	1.0	0.0060	1.0000
-1438A/G	0.2064	0.464	0.418	0.171	0.019	1.0000
73C/A	0.1842	0.032	0.016	1.0	0.415	1.0000
102T/C	0.9395	0.368	0.366	0.673	1.0	1.0000
1354C/T	0.8174	0.058	0.062	0.897	0.769	1.0000
68G/C	0.0069	0.1	0.167	0.024	0.0070	0.4750
1302T/C	0.4798	0.092	0.107	0.037	0.037	1.0000
1596G/A	0.2409	0.215	0.252	0.013	0.163	1.0000
6352A/C	0.2082	0.022	0.038	0.388	0.534	1.0000
6353G/A	0.1913	0.056	0.08	0.709	0.358	1.0000
6355G/C	0.2711	0.266	0.302	0.0	0.0	1.0000
218A/C	0.0196	0.377	0.287	0.0	0.0	0.8030
779A/C	0.7551	0.256	0.266	0.0	0.0	1.0000
18C/T	0.3788	0.002	0.0060	1.0	1.0	1.0000
282C/T	0.1417	0.116	0.081	0.081	1.0	1.0000
313G/T	0.0378	0.014	0.04	0.02	0.021	0.9600
346C/T	0.6670	0.028	0.022	1.0	1.0	1.0000
585C/T	0.0958	0.098	0.062	1.0	0.757	1.0000
866C/T	0.5859	0.142	0.158	1.0	0.489	1.0000
118A/G	0.0261	0.157	0.22	1.0	0.781	0.8820
440C/G	0.3717	0.145	0.169	0.0090	0.0	1.0000
31G/A	0.4135	0.103	0.085	1.0	1.0	1.0000
691C/G	0.4589	0.435	0.462	0.911	1.0	1.0000
80T/G	0.6543	0.077	0.087	0.669	1.0	1.0000
921T/C	0.4902	0.351	0.375	0.188	0.044	1.0000
36G/T	0.2170	0.197	0.161	0.028	0.0	1.0000
1365097A/G	0.4150	0.29	0.318	1.0	0.592	1.0000
1365098G/T	0.4618	0.317	0.343	0.0030	0.0010	1.0000
997917A/G	0.2713	0.423	0.467	0.012	0.0	1.0000
459C/T	0.7651	0.101	0.108	0.038	0.409	1.0000
843A/G	0.2613	0.251	0.288	0.0	0.0	1.0000
846C/T	0.2340	0.016	0.028	1.0	1.0	1.0000
28C/A	0.1172	0.381	0.437	1.0	0.73	1.0000
81G/A	0.4157	0.368	0.397	0.499	1.0	1.0000
808C/del	0.6628	0.319	0.334	0.102	0.0	1.0000

Lisa 10. Rühmas MD0+BP0 assotsiatsioonitesti saadud tulemused

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i p-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-45C/T	0.8945	0.117	0.113	0.214	0.302	1.0000
1270C/G	0.9157	0.142	0.146	0.847	1.0	1.0000
6662C/T	0.8416	0.019	0.016	0.064	0.117	1.0000
-128G/T	0.4311	0.025	0.038	1.0	1.0	1.0000
201A/G	0.8194	0.068	0.062	1.0	0.714	1.0000
246G/A	0.0534	0.074	0.034	1.0	1.0	0.9860
608G/A	0.8910	0.037	0.035	1.0	1.0	1.0000
1260T/A	0.0216	0.193	0.296	0.022	0.0010	0.8120
1266TC	0.7075	0.222	0.238	0.043	0.211	1.0000
3849C/T	0.1843	0.025	0.0090	1.0	1.0	1.0000
-215C/A	0.6078	0.037	0.047	1.0	1.0	1.0000
109C/T	0.4253	0.093	0.072	0.854	0.411	1.0000
1550G/A	0.8678	0.08	0.076	0.778	0.834	1.0000
2491C/A	0.4657	0.101	0.124	0.36	0.357	1.0000
-2218T/C	0.0011	0	0.063	0.942	0.676	0.1100
-2102C/A	0.0230	0.019	0.067	1.0	0.919	0.8320
-2030TC	0.0830	0.006	0.031	1.0	1.0	0.9970
-1251G/C	0.8452	0.15	0.143	0.784	0.844	1.0000
-800T/C	0.6200	0.352	0.375	0.916	0.353	1.0000
-94G/A	0.5387	0.142	0.164	0.819	1.0	1.0000
-48G/A	0.1522	0.369	0.437	0.374	0.088	1.0000
-241A/G	0.9380	0.219	0.222	0.0090	0.0	1.0000
-141Cdel	0.5312	0.19	0.167	0.857	0.483	1.0000
-7054C/A	0.0776	0.136	0.084	1.0	0.534	0.9970
-913A/G	0.1430	0.253	0.318	0.0	0.0	0.9990
-901C/T	0.1253	0.389	0.319	0.0	0.0	0.9990
286T/C	0.1978	0.23	0.287	0.818	0.131	1.0000
3625A/T	0.6511	0.494	0.484	0.012	0.0060	1.0000
3785C/T	0.6520	0.405	0.384	0.0	0.0030	1.0000
11924C/G	0.5917	0.269	0.293	0.0010	0.0030	1.0000
11997T/C	0.7421	0.074	0.066	0.987	0.614	1.0000
16893C/G	0.4647	0.247	0.278	0.919	0.903	1.0000
24470C/T	0.8471	0.2	0.208	0.552	0.16	1.0000
-707G/C	0.6564	0.049	0.041	1.0	0.731	1.0000
-343G/A	0.0117	0.172	0.294	0.021	0.048	0.5850
25A/G	0.0515	0.228	0.313	0.251	0.178	0.9830
-1217G/T	0.7647	0.37	0.384	0.741	0.16	1.0000
-809G/A	0.6566	0.186	0.204	0.933	0.716	1.0000
-768G/A	0.9183	0.148	0.145	0.655	0.17	1.0000
-616C/G	0.2184	0.375	0.318	0.395	0.03	1.0000
-521C/T	0.0009	0.409	0.408	0.0	0.0	0.0880
-376C/T	0.8841	0.035	0.038	0.013	0.0020	1.0000
1481C/T	0.8427	0.34	0.349	0.957	0.813	1.0000
205T/C	0.0051	0	0.047	1.0	1.0	0.3600

Lisa 10. (järg)

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i P-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-1018C/G	0.4570	0.392	0.429	0.153	0.028	1.0000
-480A/G	0.6305	0.112	0.097	0.013	0.137	1.0000
1778258T/C	0.0983	0.167	0.232	0.053	0.0020	0.9990
1228814C/A	0.8041	0.438	0.45	0.0060	0.0	1.0000
-511G/T	0.6229	0.006	0.0030	1.0	1.0	1.0000
-161A/T	0.3546	0.253	0.216	0.0	0.0	1.0000
129C/T	0.5785	0.241	0.264	0.306	0.528	1.0000
276G/A	0.7094	0.426	0.444	0.0	0.0	1.0000
371T/G	0.7664	0.012	0.0090	1.0	1.0	1.0000
705C/T	0.4398	0.234	0.203	0.121	0.986	1.0000
861G/C	0.6047	0.241	0.262	1.0	1.0	1.0000
6297G/A	0.1918	0.177	0.23	1.0	0.083	1.0000
-1438A/G	0.0670	0.494	0.418	0.171	0.088	0.9960
73C/A	0.5184	0.025	0.016	1.0	1.0	1.0000
102T/C	0.9187	0.37	0.366	0.673	0.555	1.0000
1354C/T	0.7767	0.056	0.062	0.897	1.0	1.0000
68G/C	0.0278	0.093	0.167	0.024	0.018	0.8770
1302T/C	0.6240	0.093	0.107	0.037	0.011	1.0000
1596G/A	0.9107	0.247	0.252	0.013	0.087	1.0000
6352A/C	0.1180	0.012	0.038	0.388	0.354	0.9990
6353G/A	0.8305	0.074	0.08	0.709	0.439	1.0000
6355G/C	0.4901	0.272	0.302	0.0	0.0	1.0000
218A/C	0.0122	0.412	0.287	0.0	0.0	0.5930
779A/C	0.1580	0.327	0.266	0.0	0.0	1.0000
18C/T	0.3133	0	0.0060	1.0	1.0	1.0000
282C/T	0.0159	0.158	0.081	0.081	0.866	0.6960
313G/T	0.1548	0.014	0.04	0.02	0.019	1.0000
346C/T	0.2316	0.044	0.022	1.0	1.0	1.0000
585C/T	0.0807	0.11	0.062	1.0	1.0	0.9970
866C/T	0.4858	0.132	0.158	1.0	1.0	1.0000
118A/G	0.0195	0.131	0.22	1.0	0.994	0.7730
440C/G	0.4485	0.142	0.169	0.0090	0.0010	1.0000
31G/A	0.2639	0.117	0.085	1.0	0.744	1.0000
691C/G	0.2029	0.401	0.462	0.911	0.566	1.0000
80T/G	0.6523	0.074	0.087	0.669	1.0	1.0000
921T/C	0.8143	0.386	0.375	0.188	0.315	1.0000
36G/T	0.9700	0.162	0.161	0.028	0.0	1.0000
1365097A/G	0.9401	0.321	0.318	1.0	0.822	1.0000
1365098G/T	0.7303	0.327	0.343	0.0030	0.0060	1.0000
997917A/G	0.7754	0.452	0.467	0.012	0.0	1.0000
459C/T	0.6088	0.093	0.108	0.038	0.164	1.0000
843A/G	0.7329	0.302	0.288	0.0	0.0	1.0000
846C/T	0.8341	0.025	0.028	1.0	1.0	1.0000
28C/A	0.0362	0.338	0.437	1.0	0.719	0.9390
81G/A	0.1716	0.333	0.397	0.499	0.291	1.0000
808C/del	0.9439	0.338	0.334	0.102	0.0030	1.0000

Lisa 11. Rühmas MDD assotsiatsioonitesti saadud tulemused

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i p-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-45C/T	0.6577	0.124	0.113	0.214	0.238	1.0000
1270C/G	0.8004	0.153	0.146	0.847	0.722	1.0000
6662C/T	0.8475	0.014	0.016	0.064	0.133	1.0000
-128G/T	0.2313	0.023	0.038	1.0	1.0	1.0000
201A/G	0.9849	0.062	0.062	1.0	0.512	1.0000
246G/A	0.0043	0.088	0.034	1.0	0.512	0.9860
608G/A	0.9607	0.034	0.035	1.0	1.0	1.0000
1260T/A	0.2635	0.255	0.296	0.022	0.0	0.8120
1266TC	0.5962	0.22	0.238	0.043	0.748	1.0000
3849C/T	0.5643	0.014	0.0090	1.0	1.0	1.0000
-215C/A	0.1957	0.028	0.047	1.0	1.0	1.0000
109C/T	0.2601	0.096	0.072	0.854	0.15	1.0000
1550G/A	0.6763	0.085	0.076	0.778	0.726	1.0000
2491C/A	0.2690	0.097	0.124	0.36	0.153	1.0000
-2218T/C	3.3307E-5	0.006	0.063	0.942	0.599	0.1100
-2102C/A	0.0050	0.023	0.067	1.0	0.944	0.8320
-2030TC	0.1320	0.014	0.031	1.0	1.0	0.9970
-1251G/C	0.4377	0.123	0.143	0.784	0.561	1.0000
-800T/C	0.7070	0.389	0.375	0.916	0.492	1.0000
-94G/A	0.3098	0.136	0.164	0.819	0.729	1.0000
-48G/A	0.5181	0.412	0.437	0.374	0.015	1.0000
-241A/G	0.6754	0.209	0.222	0.0090	0.0	1.0000
-141Cdel	0.4771	0.147	0.167	0.857	0.869	1.0000
-7054C/A	0.0268	0.138	0.084	1.0	0.344	0.9970
-913A/G	0.0469	0.249	0.318	0.0	0.0	0.9990
-901C/T	0.3583	0.352	0.319	0.0	0.0	0.9990
286T/C	0.0099	0.198	0.287	0.818	0.045	1.0000
3625A/T	0.7399	0.497	0.484	0.012	0.011	1.0000
3785C/T	0.6118	0.403	0.384	0.0	0.0050	1.0000
11924C/G	0.5574	0.314	0.293	0.0010	0.0010	1.0000
11997T/C	0.7338	0.06	0.066	0.987	0.508	1.0000
16893C/G	0.6247	0.261	0.278	0.919	0.943	1.0000
24470C/T	0.5771	0.19	0.208	0.552	0.103	1.0000
-707G/C	0.5165	0.051	0.041	1.0	0.296	1.0000
-343G/A	0.0548	0.219	0.294	0.021	0.0010	0.5850
25A/G	0.1483	0.263	0.313	0.251	0.032	0.9830
-1217G/T	0.3590	0.35	0.384	0.741	0.275	1.0000
-809G/A	0.9440	0.201	0.204	0.933	0.34	1.0000
-768G/A	0.6560	0.133	0.145	0.655	0.056	1.0000
-616C/G	0.4212	0.29	0.318	0.395	0.035	1.0000
-521C/T	0.0059	0.466	0.408	0.0	0.0	0.0880
-376C/T	0.5150	0.028	0.038	0.013	0.0020	1.0000
1481C/T	0.2519	0.392	0.349	0.957	0.316	1.0000
205T/C	3.7946E-5	0	0.047	1.0	1.0	0.3600

Lisa 11. (järg)

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i P-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-1018C/G	0.3805	0.464	0.429	0.153	0.013	1.0000
-480A/G	0.0968	0.062	0.097	0.013	0.073	1.0000
1778258T/C	0.4458	0.207	0.232	0.053	0.014	0.9990
1228814C/A	0.8026	0.44	0.45	0.0060	0.0	1.0000
-511G/T	0.6229	0.006	0.0030	1.0	1.0	1.0000
-161A/T	0.6185	0.232	0.216	0.0	0.0	1.0000
129C/T	0.9001	0.26	0.264	0.306	0.655	1.0000
276G/A	0.6529	0.427	0.444	0.0	0.0	1.0000
371T/G	0.8950	0.008	0.0090	1.0	1.0	1.0000
705C/T	0.3115	0.172	0.203	0.121	0.755	1.0000
861G/C	0.8634	0.268	0.262	1.0	1.0	1.0000
6297G/A	0.5331	0.209	0.23	1.0	0.02	1.0000
-1438A/G	0.4196	0.449	0.418	0.171	0.016	0.9960
73C/A	0.3996	0.026	0.016	1.0	1.0	1.0000
102T/C	0.9132	0.362	0.366	0.673	0.981	1.0000
1354C/T	0.9977	0.062	0.062	0.897	0.716	1.0000
68G/C	0.0182	0.105	0.167	0.024	0.015	0.8770
1302T/C	0.8249	0.102	0.107	0.037	0.034	1.0000
1596G/A	0.1614	0.206	0.252	0.013	0.145	1.0000
6352A/C	0.2489	0.023	0.038	0.388	0.505	0.9990
6353G/A	0.1773	0.054	0.08	0.709	0.439	1.0000
6355G/C	0.3791	0.271	0.302	0.0	0.0	1.0000
218A/C	0.0653	0.361	0.287	0.0	0.0	0.5930
779A/C	0.8005	0.257	0.266	0.0	0.0	1.0000
18C/T	0.5047	0.003	0.0060	1.0	1.0	1.0000
282C/T	0.0935	0.123	0.081	0.081	1.0	0.6960
313G/T	0.0224	0.01	0.04	0.02	0.014	1.0000
346C/T	0.5729	0.03	0.022	1.0	1.0	1.0000
585C/T	0.2163	0.089	0.062	1.0	1.0	0.9970
866C/T	0.2648	0.125	0.158	1.0	1.0	1.0000
118A/G	0.1045	0.17	0.22	1.0	0.721	0.7730
440C/G	0.7111	0.158	0.169	0.0090	0.0	1.0000
31G/A	0.4574	0.102	0.085	1.0	1.0	1.0000
691C/G	0.3917	0.429	0.462	0.911	0.807	1.0000
80T/G	0.6245	0.076	0.087	0.669	0.821	1.0000
921T/C	0.7292	0.362	0.375	0.188	0.04	1.0000
36G/T	0.4778	0.182	0.161	0.028	0.0	1.0000
1365097A/G	0.3619	0.285	0.318	1.0	0.85	1.0000
1365098G/T	0.2136	0.298	0.343	0.0030	0.0010	1.0000
997917A/G	0.1970	0.413	0.467	0.012	0.0	1.0000
459C/T	0.4706	0.091	0.108	0.038	0.412	1.0000
843A/G	0.2911	0.251	0.288	0.0	0.0	1.0000
846C/T	0.2066	0.014	0.028	1.0	1.0	1.0000
28C/A	0.1543	0.383	0.437	1.0	0.625	0.9390
81G/A	0.2381	0.353	0.397	0.499	0.653	1.0000
808C/del	0.6828	0.319	0.334	0.102	0.0	1.0000

Lisa 12. Rühmas MD0 assotsiatsioonitesti saadud tulemused

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i p-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-45C/T	0.9327	0.116	0.113	0.214	0.355	1.0000
1270C/G	0.9858	0.145	0.146	0.847	1.0	1.0000
6662C/T	0.9036	0.014	0.016	0.064	0.092	1.0000
-128G/T	0.6167	0.029	0.038	1.0	1.0	1.0000
201A/G	0.5011	0.08	0.062	1.0	0.673	1.0000
246G/A	0.0738	0.072	0.034	1.0	1.0	0.9970
608G/A	0.6454	0.043	0.035	1.0	1.0	1.0000
1260T/A	0.0888	0.214	0.296	0.022	0.0020	1.0000
1266TC	0.8383	0.246	0.238	0.043	0.184	1.0000
3849C/T	0.2856	0.022	0.0090	1.0	1.0	1.0000
-215C/A	0.6003	0.036	0.047	1.0	1.0	1.0000
109C/T	0.4153	0.094	0.072	0.854	0.449	1.0000
1550G/A	0.6897	0.087	0.076	0.778	0.83	1.0000
2491C/A	0.3851	0.096	0.124	0.36	0.286	1.0000
-2218T/C	0.0026	0	0.063	0.942	0.706	0.2160
-2102C/A	0.0505	0.022	0.067	1.0	0.956	0.9890
-2030TC	0.1262	0.007	0.031	1.0	1.0	1.0000
-1251G/C	0.9173	0.147	0.143	0.784	0.981	1.0000
-800T/C	0.6862	0.355	0.375	0.916	0.251	1.0000
-94G/A	0.6169	0.145	0.164	0.819	1.0	1.0000
-48G/A	0.1790	0.37	0.437	0.374	0.057	1.0000
-241A/G	0.9758	0.221	0.222	0.0090	0.0	1.0000
-141Cdel	0.8978	0.162	0.167	0.857	0.82	1.0000
-7054C/A	0.0816	0.138	0.084	1.0	0.617	1.0000
-913A/G	0.1700	0.254	0.318	0.0	0.0	1.0000
-901C/T	0.0518	0.413	0.319	0.0	0.0	0.9890
286T/C	0.1436	0.219	0.287	0.818	0.22	1.0000
3625A/T	0.8693	0.493	0.484	0.012	0.01	1.0000
3785C/T	0.9514	0.381	0.384	0.0	0.0030	1.0000
11924C/G	0.6003	0.268	0.293	0.0010	0.0020	1.0000
11997T/C	0.7457	0.058	0.066	0.987	0.773	1.0000
16893C/G	0.1269	0.21	0.278	0.919	1.0	1.0000
24470C/T	0.8914	0.213	0.208	0.552	0.169	1.0000
-707G/C	0.6275	0.051	0.041	1.0	0.703	1.0000
-343G/A	0.0084	0.16	0.294	0.021	0.027	0.4930
25A/G	0.0546	0.225	0.313	0.251	0.196	0.9900
-1217G/T	0.4581	0.348	0.384	0.741	0.35	1.0000
-809G/A	0.9817	0.205	0.204	0.933	0.689	1.0000
-768G/A	0.9939	0.145	0.145	0.655	0.223	1.0000
-616C/G	0.4748	0.353	0.318	0.395	0.08	1.0000
-521C/T	0.0031	0.421	0.408	0.0	0.0	0.2470
-376C/T	0.8713	0.042	0.038	0.013	0.0020	1.0000
1481C/T	0.8682	0.341	0.349	0.957	0.733	1.0000
205T/C	0.0097	0	0.047	1.0	1.0	0.5530

Lisa 12. (järg)

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i P-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-1018C/G	0.3772	0.383	0.429	0.153	0.025	1.0000
-480A/G	0.7055	0.109	0.097	0.013	0.099	1.0000
1778258T/C	0.1670	0.174	0.232	0.053	0.0040	1.0000
1228814C/A	0.8767	0.442	0.45	0.0060	0.0	1.0000
-511G/T	0.5394	0.007	0.0030	1.0	1.0	1.0000
-161A/T	0.2217	0.268	0.216	0.0	0.0	1.0000
129C/T	0.6905	0.246	0.264	0.306	0.418	1.0000
276G/A	0.7483	0.428	0.444	0.0	0.0	1.0000
371T/G	0.6337	0.014	0.0090	1.0	1.0	1.0000
705C/T	0.4014	0.239	0.203	0.121	1.0	1.0000
861G/C	0.7173	0.246	0.262	1.0	0.881	1.0000
6297G/A	0.2092	0.176	0.23	1.0	0.258	1.0000
-1438A/G	0.1409	0.493	0.418	0.171	0.072	1.0000
73C/A	0.6789	0.022	0.016	1.0	1.0	1.0000
102T/C	0.9462	0.362	0.366	0.673	0.534	1.0000
1354C/T	0.9002	0.065	0.062	0.897	1.0	1.0000
68G/C	0.0253	0.087	0.167	0.024	0.043	0.8690
1302T/C	0.8612	0.101	0.107	0.037	0.011	1.0000
1596G/A	0.7776	0.239	0.252	0.013	0.156	1.0000
6352A/C	0.0723	0.007	0.038	0.388	0.323	0.9970
6353G/A	0.7933	0.072	0.08	0.709	0.48	1.0000
6355G/C	0.5679	0.275	0.302	0.0	0.0	1.0000
218A/C	0.0189	0.408	0.287	0.0	0.0	0.7950
779A/C	0.1412	0.333	0.266	0.0	0.0	1.0000
18C/T	0.3520	0	0.0060	1.0	1.0	1.0000
282C/T	0.0087	0.169	0.081	0.081	0.814	0.4980
313G/T	0.2310	0.017	0.04	0.02	0.021	1.0000
346C/T	0.1461	0.051	0.022	1.0	1.0	1.0000
585C/T	0.1288	0.105	0.062	1.0	0.617	1.0000
866C/T	0.3708	0.123	0.158	1.0	1.0	1.0000
118A/G	0.0302	0.132	0.22	1.0	1.0	0.9140
440C/G	0.6600	0.152	0.169	0.0090	0.0010	1.0000
31G/A	0.4316	0.109	0.085	1.0	0.584	1.0000
691C/G	0.2083	0.399	0.462	0.911	0.764	1.0000
80T/G	0.5698	0.07	0.087	0.669	0.482	1.0000
921T/C	0.9701	0.373	0.375	0.188	0.363	1.0000
36G/T	0.8320	0.169	0.161	0.028	0.0010	1.0000
1365097A/G	0.7792	0.304	0.318	1.0	1.0	1.0000
1365098G/T	0.4224	0.304	0.343	0.0030	0.0030	1.0000
997917A/G	0.5530	0.434	0.467	0.012	0.0	1.0000
459C/T	0.2445	0.072	0.108	0.038	0.085	1.0000
843A/G	0.9593	0.29	0.288	0.0	0.0	1.0000
846C/T	0.3881	0.015	0.028	1.0	1.0	1.0000
28C/A	0.0693	0.346	0.437	1.0	0.685	0.9940
81G/A	0.2519	0.341	0.397	0.499	0.166	1.0000
808C/del	0.7707	0.349	0.334	0.102	0.0070	1.0000

Lisa 13. Rühmas BPA assotsiatsioonitesti saadud tulemused

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i p-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-45C/T	0.0715	0.185	0.113	0.214	0.23	0.9980
1270C/G	0.1196	0.213	0.146	0.847	0.863	1.0000
6662C/T	0.7317	0.021	0.016	0.064	0.102	1.0000
-128G/T	0.8283	0.043	0.038	1.0	1.0	1.0000
201A/G	0.1172	0.021	0.062	1.0	1.0	1.0000
246G/A	0.0388	0.085	0.034	1.0	1.0	0.9570
608G/A	0.8999	0.032	0.035	1.0	1.0	1.0000
1260T/A	0.3558	0.244	0.296	0.022	0.0030	1.0000
1266TC	0.0672	0.149	0.238	0.043	0.183	0.9940
3849C/T	0.9123	0.011	0.0090	1.0	1.0	1.0000
-215C/A	0.2675	0.021	0.047	1.0	1.0	1.0000
109C/T	0.7882	0.064	0.072	0.854	0.697	1.0000
1550G/A	0.1307	0.032	0.076	0.778	0.8	1.0000
2491C/A	0.3275	0.087	0.124	0.36	0.505	1.0000
-2218T/C	0.1229	0.022	0.063	0.942	0.897	1.0000
-2102C/A	0.0906	0.021	0.067	1.0	0.966	1.0000
-2030TC	0.6065	0.021	0.031	1.0	1.0	1.0000
-1251G/C	0.3577	0.106	0.143	0.784	1.0	1.0000
-800T/C	0.1058	0.468	0.375	0.916	0.836	1.0000
-94G/A	0.7348	0.149	0.164	0.819	1.0	1.0000
-48G/A	0.3769	0.489	0.437	0.374	0.3	1.0000
-241A/G	0.0249	0.117	0.222	0.0090	0.035	0.8770
-141Cdel	0.5186	0.196	0.167	0.857	1.0	1.0000
-7054C/A	0.9821	0.085	0.084	1.0	1.0	1.0000
-913A/G	0.2484	0.255	0.318	0.0	0.0	1.0000
-901C/T	0.7014	0.298	0.319	0.0	0.0	1.0000
286T/C	0.2686	0.226	0.287	0.818	0.556	1.0000
3625A/T	0.7811	0.468	0.484	0.012	0.022	1.0000
3785C/T	0.4652	0.426	0.384	0.0	0.0	1.0000
11924C/G	0.9576	0.295	0.293	0.0010	0.0010	1.0000
11997T/C	0.9394	0.064	0.066	0.987	0.804	1.0000
16893C/G	0.5661	0.309	0.278	0.919	0.781	1.0000
24470C/T	0.5819	0.234	0.208	0.552	1.0	1.0000
-707G/C	0.3445	0.064	0.041	1.0	1.0	1.0000
-343G/A	0.7200	0.269	0.294	0.021	0.01	1.0000
25A/G	0.3788	0.362	0.313	0.251	0.109	1.0000
-1217G/T	0.8328	0.372	0.384	0.741	1.0	1.0000
-809G/A	0.8320	0.193	0.204	0.933	1.0	1.0000
-768G/A	0.7205	0.16	0.145	0.655	0.272	1.0000
-616C/G	0.8905	0.326	0.318	0.395	0.172	1.0000
-521C/T	0.3305	0.473	0.408	0.0	0.0	1.0000
-376C/T	0.2956	0.014	0.038	0.013	0.013	1.0000
1481C/T	0.0395	0.467	0.349	0.957	0.857	0.9600
205T/C	0.0325	0	0.047	1.0	1.0	0.9340

Lisa 13. (järg)

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i P-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-1018C/G	0.6633	0.457	0.429	0.153	0.23	1.0000
-480A/G	0.2175	0.056	0.097	0.013	0.019	1.0000
1778258T/C	0.9794	0.233	0.232	0.053	0.022	1.0000
1228814C/A	0.5040	0.489	0.45	0.0060	0.0010	1.0000
-511G/T	0.5874	0	0.0030	1.0	1.0	1.0000
-161A/T	0.6136	0.191	0.216	0.0	0.0	1.0000
129C/T	0.5185	0.298	0.264	0.306	0.4	1.0000
276G/A	0.2954	0.383	0.444	0.0	0.0	1.0000
371T/G	0.9167	0.011	0.0090	1.0	1.0	1.0000
705C/T	0.0325	0.106	0.203	0.121	0.162	0.9340
861G/C	0.4973	0.298	0.262	1.0	1.0	1.0000
6297G/A	0.7112	0.211	0.23	1.0	0.455	1.0000
-1438A/G	0.0513	0.468	0.418	0.171	0.256	0.9810
73C/A	0.0387	0.054	0.016	1.0	0.217	0.9540
102T/C	0.4963	0.404	0.366	0.673	0.632	1.0000
1354C/T	0.2617	0.032	0.062	0.897	0.914	1.0000
68G/C	0.1537	0.106	0.167	0.024	0.0040	1.0000
1302T/C	0.0581	0.043	0.107	0.037	0.035	0.9850
1596G/A	0.8078	0.239	0.252	0.013	0.02	1.0000
6352A/C	0.4390	0.021	0.038	0.388	0.408	1.0000
6353G/A	0.6123	0.064	0.08	0.709	0.583	1.0000
6355G/C	0.3826	0.255	0.302	0.0	0.0	1.0000
218A/C	0.0557	0.409	0.287	0.0	0.0	0.9830
779A/C	0.9274	0.261	0.266	0.0	0.0	1.0000
18C/T	0.6592	0.011	0.0060	1.0	1.0	1.0000
282C/T	0.8967	0.085	0.081	0.081	0.188	1.0000
313G/T	0.6487	0.029	0.04	0.02	0.028	1.0000
346C/T	0.7995	0.017	0.022	1.0	1.0	1.0000
585C/T	0.0935	0.118	0.062	1.0	1.0	1.0000
866C/T	0.2157	0.218	0.158	1.0	0.379	1.0000
118A/G	0.0071	0.096	0.22	1.0	0.975	0.4360
440C/G	0.0832	0.096	0.169	0.0090	0.0080	1.0000
31G/A	0.5339	0.106	0.085	1.0	0.996	1.0000
691C/G	0.9208	0.468	0.462	0.911	0.644	1.0000
80T/G	0.5751	0.108	0.087	0.669	0.856	1.0000
921T/C	0.2377	0.309	0.375	0.188	0.204	1.0000
36G/T	0.0453	0.256	0.161	0.028	0.0	0.9680
1365097A/G	0.8675	0.309	0.318	1.0	0.776	1.0000
1365098G/T	0.6379	0.37	0.343	0.0030	0.0050	1.0000
997917A/G	0.8059	0.451	0.467	0.012	0.0030	1.0000
459C/T	0.5884	0.128	0.108	0.038	0.052	1.0000
843A/G	0.3607	0.239	0.288	0.0	0.0	1.0000
846C/T	0.7105	0.021	0.028	1.0	1.0	1.0000
28C/A	0.3510	0.383	0.437	1.0	0.896	1.0000
81G/A	0.9058	0.404	0.397	0.499	1.0	1.0000
808C/del	0.9625	0.337	0.334	0.102	0.0060	1.0000

Lisa 14. Rühmas PDE assotsiatsioonitesti saadud tulemused

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i p-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-45C/T	0.0703	0.167	0.113	0.26	0.165	0.9980
1270C/G	0.0216	0.213	0.138	1.0	0.838	0.8320
6662C/T	0.6094	0.012	0.017	0.07	0.104	1.0000
-128G/T	0.6865	0.032	0.038	1.0	1.0	1.0000
201A/G	0.4908	0.051	0.065	1.0	0.762	1.0000
246G/A	0.0728	0.063	0.031	1.0	1.0	0.9980
608G/A	0.9399	0.035	0.034	1.0	1.0	1.0000
1260T/A	0.4188	0.268	0.301	0.036	0.0	1.0000
1266TC	0.9906	0.24	0.24	0.021	0.979	1.0000
3849C/T	0.5378	0.012	0.0070	1.0	1.0	1.0000
-215C/A	0.0343	0.016	0.048	1.0	1.0	0.9370
109C/T	0.3666	0.059	0.079	0.781	0.501	1.0000
1550G/A	0.3661	0.063	0.083	0.703	1.0	1.0000
2491C/A	0.8157	0.107	0.113	1.0	0.405	1.0000
-2218T/C	0.0006	0.008	0.066	0.935	0.667	0.0620
-2102C/A	0.0554	0.028	0.062	0.864	0.201	0.9850
-2030TC	0.1278	0.012	0.031	1.0	1.0	1.0000
-1251G/C	0.0815	0.094	0.143	1.0	1.0	0.9980
-800T/C	0.4122	0.409	0.375	0.825	1.0	1.0000
-94G/A	0.1079	0.114	0.162	1.0	1.0	1.0000
-48G/A	0.8161	0.441	0.431	0.432	0.323	1.0000
-241A/G	0.4170	0.201	0.229	0.01	0.0020	1.0000
-141Cdel	0.4324	0.139	0.163	1.0	0.44	1.0000
-7054C/A	0.6968	0.102	0.092	1.0	1.0	1.0000
-913A/G	0.1195	0.26	0.321	0.0	0.0	1.0000
-901C/T	0.7484	0.345	0.332	0.0	0.0	1.0000
286T/C	0.0013	0.168	0.288	1.0	0.412	0.1190
3625A/T	0.2545	0.441	0.49	0.014	0.092	1.0000
3785C/T	0.5182	0.366	0.393	0.0	0.0	1.0000
11924C/G	0.5115	0.324	0.297	0.0010	0.0	1.0000
11997T/C	0.0509	0.032	0.069	0.99	0.959	0.9800
16893C/G	0.6372	0.282	0.264	1.0	0.878	1.0000
24470C/T	0.5345	0.189	0.21	0.695	0.624	1.0000
-707G/C	0.8672	0.044	0.041	1.0	1.0	1.0000
-343G/A	0.2142	0.245	0.298	0.048	0.0020	1.0000
25A/G	0.9014	0.311	0.316	0.387	0.095	1.0000
-1217G/T	0.0233	0.291	0.384	0.688	0.989	0.8570
-809G/A	0.9762	0.207	0.208	1.0	0.213	1.0000
-768G/A	0.1421	0.114	0.158	0.528	0.167	1.0000
-616C/G	0.1388	0.256	0.314	0.152	0.0080	1.0000
-521C/T	0.0920	0.491	0.427	0.0	0.0	1.0000
-376C/T	0.0764	0.014	0.041	0.015	0.015	0.9980
1481C/T	0.1807	0.399	0.343	1.0	0.669	1.0000
205T/C	0.0017	0.004	0.048	1.0	1.0	0.1490

Lisa 14. (järg)

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i P-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-1018C/G	0.0464	0.477	0.434	0.202	0.46	0.9740
-480A/G	0.0683	0.058	0.101	0.013	0.038	0.9980
1778258T/C	0.8548	0.225	0.232	0.329	0.511	1.0000
1228814C/A	0.6986	0.452	0.435	0.023	0.0	1.0000
-511G/T	0.2517	0.012	0.0030	1.0	1.0	1.0000
-161A/T	0.5105	0.232	0.209	0.0010	0.0	1.0000
129C/T	0.5830	0.28	0.259	1.0	0.989	1.0000
276G/A	0.4461	0.409	0.442	0.0	0.0	1.0000
371T/G	0.1041	0	0.01	1.0	1.0	1.0000
705C/T	0.4202	0.192	0.22	0.2	1.0	1.0000
861G/C	0.4059	0.299	0.267	1.0	1.0	1.0000
6297G/A	0.7667	0.23	0.241	1.0	0.695	1.0000
-1438A/G	0.9985	0.417	0.417	0.053	0.015	1.0000
73C/A	0.2151	0.024	0.01	1.0	1.0	1.0000
102T/C	0.3746	0.327	0.363	0.619	1.0	1.0000
1354C/T	0.9191	0.059	0.061	0.811	0.475	1.0000
68G/C	0.0321	0.102	0.166	0.127	0.198	0.9220
1302T/C	0.3558	0.087	0.11	0.031	0.212	1.0000
1596G/A	0.0069	0.167	0.264	0.039	0.151	0.4330
6352A/C	0.6433	0.028	0.034	1.0	1.0	1.0000
6353G/A	0.4711	0.067	0.083	0.703	0.389	1.0000
6355G/C	0.3748	0.276	0.31	0.0	0.0	1.0000
218A/C	0.4854	0.306	0.277	0.0010	0.0	1.0000
779A/C	0.3026	0.321	0.281	0.0	0.0	1.0000
18C/T	0.9213	0.004	0.0030	1.0	1.0	1.0000
282C/T	0.2549	0.118	0.087	0.097	0.455	1.0000
313G/T	0.3431	0.026	0.042	0.022	0.046	1.0000
346C/T	0.4921	0.014	0.023	1.0	1.0	1.0000
585C/T	0.6345	0.077	0.066	1.0	1.0	1.0000
866C/T	0.6569	0.143	0.157	1.0	0.565	1.0000
118A/G	0.3123	0.181	0.216	1.0	0.51	1.0000
440C/G	0.5671	0.201	0.182	0.0060	0.0	1.0000
31G/A	0.3151	0.112	0.086	1.0	0.49	1.0000
691C/G	0.9047	0.461	0.466	1.0	0.222	1.0000
80T/G	0.1764	0.118	0.081	0.825	1.0	1.0000
921T/C	0.8441	0.385	0.377	0.146	0.011	1.0000
36G/T	0.4242	0.186	0.159	0.053	0.0	1.0000
1365097A/G	0.6063	0.291	0.312	0.832	0.339	1.0000
1365098G/T	0.9488	0.324	0.326	0.018	0.038	1.0000
997917A/G	0.5536	0.495	0.468	0.012	0.0	1.0000
459C/T	0.7355	0.089	0.097	0.258	0.366	1.0000
843A/G	0.7083	0.27	0.284	0.0	0.0	1.0000
846C/T	0.9985	0.028	0.028	1.0	1.0	1.0000
28C/A	0.3608	0.389	0.428	0.764	1.0	1.0000
81G/A	0.3682	0.358	0.396	0.304	0.768	1.0000
808C/del	0.5484	0.329	0.354	0.154	0.0030	1.0000

Lisa15. Rühmas PDD assotsiatsioonitesti saadud tulemused

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i p-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-45C/T	0.0903	0.175	0.113	0.26	0.207	1.0000
1270C/G	0.0484	0.217	0.138	1.0	0.726	0.9860
6662C/T	0.9702	0.017	0.017	0.07	0.103	1.0000
-128G/T	0.2550	0.017	0.038	1.0	1.0	1.0000
201A/G	0.7984	0.058	0.065	1.0	0.862	1.0000
246G/A	0.0090	0.092	0.031	1.0	1.0	0.5440
608G/A	0.6257	0.025	0.034	1.0	1.0	1.0000
1260T/A	0.7405	0.318	0.301	0.036	0.0	1.0000
1266TC	0.6900	0.258	0.24	0.021	0.506	1.0000
3849C/T	0.3462	0.017	0.0070	1.0	1.0	1.0000
-215C/A	0.2821	0.025	0.048	1.0	1.0	1.0000
109C/T	0.8967	0.075	0.079	0.781	0.542	1.0000
1550G/A	1.0000	0.083	0.083	0.703	1.0	1.0000
2491C/A	0.5509	0.093	0.113	1.0	0.801	1.0000
-2218T/C	0.0044	0	0.066	0.935	0.711	0.3220
-2102C/A	0.1183	0.025	0.062	0.864	0.837	1.0000
-2030TC	0.1752	0.008	0.031	1.0	1.0	1.0000
-1251G/C	0.6245	0.125	0.143	1.0	0.9	1.0000
-800T/C	0.8740	0.367	0.375	0.825	0.837	1.0000
-94G/A	0.4629	0.133	0.162	1.0	0.917	1.0000
-48G/A	0.5626	0.4	0.431	0.432	0.266	1.0000
-241A/G	0.9221	0.225	0.229	0.01	0.0020	1.0000
-141Cdel	0.4855	0.136	0.163	1.0	0.897	1.0000
-7054C/A	0.0889	0.15	0.092	1.0	1.0	1.0000
-913A/G	0.2110	0.258	0.321	0.0	0.0	1.0000
-901C/T	0.8878	0.325	0.332	0.0	0.0	1.0000
286T/C	0.0389	0.185	0.288	1.0	0.618	0.9630
3625A/T	0.7858	0.475	0.49	0.014	0.053	1.0000
3785C/T	0.8536	0.383	0.393	0.0	0.0010	1.0000
11924C/G	0.4807	0.333	0.297	0.0010	0.0020	1.0000
11997T/C	0.3099	0.042	0.069	0.99	0.914	1.0000
16893C/G	0.3958	0.305	0.264	1.0	1.0	1.0000
24470C/T	0.2266	0.158	0.21	0.695	0.599	1.0000
-707G/C	0.9532	0.042	0.041	1.0	1.0	1.0000
-343G/A	0.6196	0.271	0.298	0.048	0.0030	1.0000
25A/G	0.8796	0.308	0.316	0.387	0.142	1.0000
-1217G/T	0.1082	0.3	0.384	0.688	1.0	1.0000
-809G/A	0.8960	0.202	0.208	1.0	0.558	1.0000
-768G/A	0.1952	0.108	0.158	0.528	0.344	1.0000
-616C/G	0.1024	0.233	0.314	0.152	0.109	1.0000
-521C/T	0.0421	0.446	0.427	0.0	0.0	0.9770
-376C/T	0.3413	0.02	0.041	0.015	0.019	1.0000
1481C/T	0.5667	0.373	0.343	1.0	0.755	1.0000
205T/C	0.0147	0	0.048	1.0	1.0	0.7070

Lisa 15. (järg)

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i P-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-1018C/G	0.0449	0.452	0.434	0.202	0.296	0.9820
-480A/G	0.1915	0.06	0.101	0.013	0.024	1.0000
1778258T/C	0.4073	0.271	0.232	0.329	0.286	1.0000
1228814C/A	0.1939	0.364	0.435	0.023	0.0090	1.0000
-511G/T	0.5148	0.008	0.0030	1.0	1.0	1.0000
-161A/T	0.5566	0.183	0.209	0.0010	0.0	1.0000
129C/T	0.8660	0.267	0.259	1.0	0.547	1.0000
276G/A	0.8753	0.433	0.442	0.0	0.0	1.0000
371T/G	0.2635	0	0.01	1.0	1.0	1.0000
705C/T	0.2506	0.169	0.22	0.2	0.634	1.0000
861G/C	0.6119	0.292	0.267	1.0	0.691	1.0000
6297G/A	0.3657	0.284	0.241	1.0	0.438	1.0000
-1438A/G	0.9914	0.417	0.417	0.053	0.042	1.0000
73C/A	0.2591	0.025	0.01	1.0	1.0	1.0000
102T/C	0.9442	0.367	0.363	0.619	0.923	1.0000
1354C/T	0.8351	0.067	0.061	0.811	0.337	1.0000
68G/C	0.2090	0.117	0.166	0.127	0.304	1.0000
1302T/C	0.5744	0.092	0.11	0.031	0.104	1.0000
1596G/A	0.0063	0.138	0.264	0.039	0.082	0.4230
6352A/C	0.4604	0.05	0.034	1.0	1.0	1.0000
6353G/A	0.3852	0.058	0.083	0.703	0.583	1.0000
6355G/C	0.2934	0.258	0.31	0.0	0.0	1.0000
218A/C	0.9698	0.279	0.277	0.0010	0.0	1.0000
779A/C	0.6420	0.258	0.281	0.0	0.0	1.0000
18C/T	0.5210	0	0.0030	1.0	1.0	1.0000
282C/T	0.1330	0.139	0.087	0.097	0.549	1.0000
313G/T	0.1127	0.009	0.042	0.022	0.016	1.0000
346C/T	0.4442	0.01	0.023	1.0	1.0	1.0000
585C/T	0.5536	0.083	0.066	1.0	1.0	1.0000
866C/T	0.1337	0.098	0.157	1.0	0.911	1.0000
118A/G	0.3509	0.175	0.216	1.0	0.646	1.0000
440C/G	0.5277	0.208	0.182	0.0060	0.0	1.0000
31G/A	0.1325	0.136	0.086	1.0	0.748	1.0000
691C/G	0.8643	0.475	0.466	1.0	0.338	1.0000
80T/G	0.4554	0.105	0.081	0.825	1.0	1.0000
921T/C	0.8044	0.39	0.377	0.146	0.0070	1.0000
36G/T	0.9114	0.164	0.159	0.053	0.0010	1.0000
1365097A/G	0.2120	0.25	0.312	0.832	0.286	1.0000
1365098G/T	0.1815	0.259	0.326	0.018	0.067	1.0000
997917A/G	0.5522	0.434	0.468	0.012	0.0	1.0000
459C/T	0.5054	0.076	0.097	0.258	0.435	1.0000
843A/G	0.0764	0.2	0.284	0.0	0.0	0.9980
846C/T	0.5143	0.017	0.028	1.0	1.0	1.0000
28C/A	0.6996	0.407	0.428	0.764	0.64	1.0000
81G/A	0.4781	0.358	0.396	0.304	0.444	1.0000
808C/del	0.7302	0.336	0.354	0.154	0.0090	1.0000

Lisa 16. Rühmas PD0 assotsiatsioonitesti saadud tulemused

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i p-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-45C/T	0.4577	0.143	0.113	0.26	0.1	1.0000
1270C/G	0.2346	0.19	0.138	1.0	1.0	1.0000
6662C/T	0.2337	0	0.017	0.07	0.055	1.0000
-128G/T	0.5429	0.024	0.038	1.0	1.0	1.0000
201A/G	0.5565	0.048	0.065	1.0	0.977	1.0000
246G/A	0.7368	0.024	0.031	1.0	1.0	1.0000
608G/A	0.2969	0.06	0.034	1.0	1.0	1.0000
1260T/A	0.0135	0.158	0.301	0.036	0.0030	0.6670
1266TC	0.9754	0.238	0.24	0.021	0.085	1.0000
3849C/T	0.6463	0.012	0.0070	1.0	1.0	1.0000
-215C/A	0.1346	0.012	0.048	1.0	1.0	1.0000
109C/T	0.0748	0.024	0.079	0.781	0.851	0.9970
1550G/A	0.2750	0.048	0.083	0.703	0.667	1.0000
2491C/A	0.4673	0.143	0.113	1.0	0.496	1.0000
-2218T/C	0.0173	0	0.066	0.935	0.767	0.7410
-2102C/A	0.1782	0.024	0.062	0.864	0.172	1.0000
-2030TC	0.1022	0	0.031	1.0	1.0	1.0000
-1251G/C	0.0818	0.071	0.143	1.0	0.664	0.9990
-800T/C	0.7666	0.393	0.375	0.825	0.733	1.0000
-94G/A	0.0168	0.06	0.162	1.0	0.537	0.7340
-48G/A	0.8778	0.44	0.431	0.432	0.463	1.0000
-241A/G	0.9500	0.226	0.229	0.01	0.0010	1.0000
-141Cdel	0.8533	0.155	0.163	1.0	0.917	1.0000
-7054C/A	0.3403	0.06	0.092	1.0	1.0	1.0000
-913A/G	0.3039	0.262	0.321	0.0	0.0	1.0000
-901C/T	0.4393	0.378	0.332	0.0	0.0	1.0000
286T/C	0.0462	0.179	0.288	1.0	0.748	0.9700
3625A/T	0.5461	0.452	0.49	0.014	0.02	1.0000
3785C/T	0.6903	0.369	0.393	0.0	0.0	1.0000
11924C/G	0.3309	0.354	0.297	0.0010	0.0	1.0000
11997T/C	0.1214	0.024	0.069	0.99	1.0	1.0000
16893C/G	0.8534	0.274	0.264	1.0	1.0	1.0000
24470C/T	0.8743	0.202	0.21	0.695	0.826	1.0000
-707G/C	0.4813	0.024	0.041	1.0	1.0	1.0000
-343G/A	0.0916	0.202	0.298	0.048	0.045	0.9990
25A/G	0.2461	0.25	0.316	0.387	0.337	1.0000
-1217G/T	0.0646	0.274	0.384	0.688	0.659	0.9940
-809G/A	0.4143	0.25	0.208	1.0	0.483	1.0000
-768G/A	0.5494	0.131	0.158	0.528	0.315	1.0000
-616C/G	0.9550	0.317	0.314	0.152	0.0060	1.0000
-521C/T	0.9733	0.425	0.427	0.0	0.0010	1.0000
-376C/T	0.2149	0.012	0.041	0.015	0.014	1.0000
1481C/T	0.8564	0.354	0.343	1.0	1.0	1.0000
205T/C	0.1369	0.012	0.048	1.0	1.0	1.0000

Lisa 16. (järg)

Lookus	Assotsiatsioonitesti p-väärtus	Minoorse alleeli sagedus		Hardy-Weinberg'i P-väärtus		Permutatsiooni p-väärtus
		patsiendid	kontrollid	kontrollid	koos	
-1018C/G	0.1465	0.475	0.434	0.202	0.374	1.0000
-480A/G	0.4779	0.075	0.101	0.013	0.027	1.0000
1778258T/C	0.1141	0.15	0.232	0.329	0.538	1.0000
1228814C/A	0.0687	0.45	0.435	0.023	0.0030	0.9950
-511G/T	0.0642	0.024	0.0030	1.0	1.0	0.9940
-161A/T	0.0540	0.31	0.209	0.0010	0.0	0.9830
129C/T	0.9518	0.262	0.259	1.0	1.0	1.0000
276G/A	0.4249	0.393	0.442	0.0	0.0	1.0000
371T/G	0.3493	0	0.01	1.0	1.0	1.0000
705C/T	0.3631	0.268	0.22	0.2	1.0	1.0000
861G/C	0.7356	0.286	0.267	1.0	0.941	1.0000
6297G/A	0.1532	0.167	0.241	1.0	0.897	1.0000
-1438A/G	0.1138	0.321	0.417	0.053	0.0070	1.0000
73C/A	0.8785	0.012	0.01	1.0	1.0	1.0000
102T/C	0.0106	0.214	0.363	0.619	0.696	0.5960
1354C/T	0.9564	0.06	0.061	0.811	0.986	1.0000
68G/C	0.0611	0.083	0.166	0.127	0.151	0.9890
1302T/C	0.6932	0.095	0.11	0.031	0.082	1.0000
1596G/A	0.0273	0.146	0.264	0.039	0.031	0.8590
6352A/C	0.2808	0.012	0.034	1.0	1.0	1.0000
6353G/A	0.7244	0.071	0.083	0.703	0.561	1.0000
6355G/C	0.9886	0.31	0.31	0.0	0.0	1.0000
218A/C	0.7149	0.256	0.277	0.0010	0.0	1.0000
779A/C	0.0178	0.417	0.281	0.0	0.0	0.7460
18C/T	0.5912	0	0.0030	1.0	1.0	1.0000
282C/T	0.7625	0.098	0.087	0.097	0.056	1.0000
313G/T	0.8299	0.037	0.042	0.022	0.039	1.0000
346C/T	0.5576	0.012	0.023	1.0	1.0	1.0000
585C/T	0.8363	0.06	0.066	1.0	0.972	1.0000
866C/T	0.8762	0.15	0.157	1.0	1.0	1.0000
118A/G	0.6635	0.238	0.216	1.0	1.0	1.0000
440C/G	0.1042	0.262	0.182	0.0060	0.0	1.0000
31G/A	0.7495	0.098	0.086	1.0	1.0	1.0000
691C/G	0.8285	0.452	0.466	1.0	0.689	1.0000
80T/G	0.4687	0.107	0.081	0.825	0.496	1.0000
921T/C	0.5073	0.417	0.377	0.146	0.18	1.0000
36G/T	0.6129	0.183	0.159	0.053	0.0030	1.0000
1365097A/G	0.3220	0.369	0.312	0.832	0.957	1.0000
1365098G/T	0.3073	0.388	0.326	0.018	0.037	1.0000
997917A/G	0.0584	0.408	0.468	0.012	0.0	0.9890
459C/T	0.3005	0.138	0.097	0.258	0.249	1.0000
843A/G	0.0122	0.429	0.284	0.0	0.0	0.6400
846C/T	0.3589	0.048	0.028	1.0	1.0	1.0000
28C/A	0.1765	0.345	0.428	0.764	0.839	1.0000
81G/A	0.9608	0.393	0.396	0.304	0.457	1.0000
808C/del	0.7800	0.338	0.354	0.154	0.159	1.0000

Lisa 17. LD analüüsil leitud aheldunud lookuspaarid üldrühmas ja alarühmades

	Aheldunud markeripaar		D'					
Geen	Marker1	Marker2	Üldrühm	MDD+BPA	MD0+BP0	MDD	MD0	BPA
CCK	1270C/G	45C/T	0.9775	0.9746	0.9563	0.9697	0.9537	0.9539
	6662C/T	1270C/G			0.9997		0.9995	0.9997
	6662C/T	45C/T			0.9985		0.8975	0.9986
CCKAR	608G/A	128G/T	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
	608G/A	246G/A						
	3849C/T	246G/A						
	3849C/T	128G/T	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
CCKBR	215C/A	1550G/A						0.9996
	215C/A	2491C/A	0.8035					
	1550G/A	2491C/A	0.8257	0.8055	0.8970	0.9975		
DRD1	1251G/C	2030T/C	0.9995	0.9997	0.9999	1.0000	0.9999	0.9238
	48G/A	1251G/C		0.8037				0.8499
	48G/A	800T/C	0.9149	0.9045	0.9365	0.9112	0.9328	0.9017
	48G/A	94G/A	0.9219	0.9582	0.9342	0.9524	0.9318	0.9364
	94G/A	800T/C			0.8288		0.8226	
	94G/A	1251G/C	0.8365	0.8360	0.8200		0.8273	0.8147
	48G/A	2030T/C			0.9989		0.9990	0.9996
	800T/C	1251G/C				0.8461		0.8011
	800T/C	2030T/C			0.9593		0.9814	0.9994
DRD2	24470C/T	16893C/G	0.8585	0.8293		0.8449		
HTR1B	371T/G	511G/T	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	
	371T/G	129C/T						1.0000
	511G/T	1778258T/C	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	
	6297G/A	861G/C	0.8393	0.8331		0.8574		
	6297G/A	129C/T	0.9567	0.9559	0.9999		0.9998	0.9028
	6297G/A	511G/T	0.9997	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	
	6297G/A	371T/G						1.0000
	705C/T	511G/T	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000	
	861G/C	129C/T	0.9324	0.9250	0.8770	0.9130	0.8712	0.9000
	861G/C	371T/G						0.9999
	861G/C	511G/T			0.9999		0.9999	
	129C/T	511G/T			0.9999		0.9999	
HTR2A	102T/C	1438AG	0.8469	0.8318		0.8448		
	102T/C	73C/A	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999	0.9999
	1354C/T	73C/A	0.9996	0.9996		0.9530		
	73C/A	1438A/G			0.9999		0.9999	
SLC6A4	6352A/C	6353G/A			0.9389	0.9999	0.8024	0.9129
POMC	282C/T	18C/T	1.0000	1.0000		1.0000		1.0000
	346C/T	18C/T	1.0000	1.0000		1.0000		1.0000
	585C/T	18C/T	1.0000	1.0000		1.0000		1.0000
	866C/T	18C/T	1.0000			0.9999		0.9999
OPRM1	118A/G	31G/A	0.9999	0.9999	0.9997	0.9999	0.9998	0.9999
	31G/A	691C/G	0.9337	0.9263	0.8820	0.9147	0.8719	0.9999

Lisa 17. (järg)

Aheldunud markeripaar			D'		
Geen	Marker1	Geen	PDE	PDD	PD0
CCK	1270C/G	45C/T	0.9665	0.9541	0.9457
	6662C/T	1270C/G			
	6662C/T	45C/T			
CCKAR	608G/A	128G/T	1.0000	1.0000	1.0000
	608G/A	246G/A	0.9301		
	3849C/T	246G/A	1.0000	1.0000	1.0000
	3849C/T	128G/T	1.0000	1.0000	1.0000
CCKBR	215C/A	1550G/A	0.9998	0.9999	0.9997
	215C/A	2491C/A			
	1550G/A	2491C/A			
DRD1	1251G/C	2030T/C		0.9998	0.9997
	48G/A	1251G/C	0.8040	0.8410	
	48G/A	800T/C	0.9097	0.9004	0.9317
	48G/A	94G/A	0.8866	0.9279	0.8416
	94G/A	800T/C			0.8093
	94G/A	1251G/C	0.8493	0.8438	0.8176
	48G/A	2030T/C			0.9996
	800T/C	1251G/C	0.8547	0.9024	0.8957
DRD2	800T/C	2030T/C	0.9989	0.9942	0.9989
	24470C/T	16893C/G	0.9133	0.8469	0.8819
HTR1B	371T/G	511G/T			
	371T/G	129C/T	1.0000	1.0000	1.0000
	511G/T	1778258T/C	1.0000	1.0000	1.0000
	6297G/A	861G/C	0.8412	0.8240	
	6297G/A	129C/T	0.9999	0.9999	0.9997
	6297G/A	511G/T	0.9995	1.0000	
	6297G/A	371T/G	1.0000	1.0000	1.0000
	705C/T	511G/T	1.0000		1.0000
	861G/C	129C/T	0.9511	0.9338	0.9271
	861G/C	371T/G	1.0000	1.0000	1.0000
	861G/C	511G/T		1.0000	
	129C/T	511G/T	1.0000	1.0000	1.0000
HTR2A	102T/C	1438AG	0.8350	0.8209	0.8175
	102T/C	73C/A	0.9993	0.9990	0.9999
	1354C/T	73C/A			
	73C/A	1438A/G			0.9995
SLC6A4	6352A/C	6353G/A			0.8708
POMC	282C/T	18C/T	1.0000		
	346C/T	18C/T	1.0000		
	585C/T	18C/T	1.0000		
	866C/T	18C/T			
OPRM1	118A/G	31G/A	0.9999	0.9999	0.9999
	31G/A	691C/G	0.9999	0.9999	0.9999

Lisa 18. *Power*'i analüüsi tulemused üldrühmas või alarühmades fenotüübiga vähemalt piiripealselt assotsieerunud polüморfismidega

Geen	SNP	Rühm	Power
CCK	1270C/G	PDE	0.50
		PDD	0.39
CCKAR	246G/A	Ühendrühm	0.62
		MDD+BPA	0.73
		MDD	0.68
		BPA	0.38
		PDD	0.53
DRD1	-2218T/C	Ühendrühm	0.95
		MDD+BPA	0.92
		MD0+BP0	0.98
		MDD	0.94
		MD0	0.97
		PDE	0.88
		PDD	0.96
		PD0	0.91
	-2102C/A	Ühendrühm	0.73
		MDD+BPA	0.90
		MD0+BP0	0.57
		MDD	0.64
	-94G/A	PD0	0.60
DRD2	-7054C/A	MDD+BPA	0.41
		MDD	0.48
	286T/C	Ühendrühm	0.68
		MDD+BPA	0.55
		MDD	0.60
		PDE	0.77
		PDD	0.48
		PD0	0.43
DRD4	-1217G/T	PDE	0.49
DRD5	1418C/T	BPA	0.42
HTR1A	-1018C/G	PDE	0.18
		PDD	0.08
HTR1B	705C/T	BPA	0.50
HTR2A	102T/C	PD0	0.60
HTR2C	68G/C	Ühendrühm	0.63
		MDD+BPA	0.61
		MD0+BP0	0.49
		MDD	0.51
		MD0	0.52
		PDE	0.47
POMC	282C/T	MD0+BP0	0.55
		MD0	0.59
OPRM1	118A/G	MDD+BPA	0.47
		MD0+BP0	0.53
		MD0	0.49
		BPA	0.67
PENK	28C/A	MD0+BP0	0.26