

Tartu Ülikool  
Sotsiaalteaduste valdkond  
Psühholoogia instituut

Johan Pastarus

**STRESSI SEOS TRÜPTOFAANI HÜDROKSÜLAAS 2 GEENI  
METÜLEERITUSEGA**

Uurimistöö

Juhendaja: Margus Kanarik

Jooksev pealkiri: *TPH2* metüleerituse ja stressi seosed

Tartu 2022

### Kokkuvõte

Uurimistöö eesmärgiks oli välja selgitada, kas elu jooksul kogetud stress seostub *TPH2* geeni metüleeritusega ning uurida *TPH2* geeni metüleerituse individuaalset stabiilsust kümne aasta vahemikus. Valim koosnes Eesti Laste Isiksuse, Käitumise ja Tervise (ELIKTU) longituuduuringu vanema kohordi meestest. Katseisikutelt võeti geenide uurimiseks vereproov 1998. aastal (15-aastaselt) ja 2008. aastal. Kolmel korral (15-, 18- ja 25-aastaselt) uuriti stressitekitavaid elusündmusi ja pere- ning koolikeskkonda. Lisaks küsiti katseisikute emadelt sündi ümbritseva stressi kohta. Tulemustest selgus, et elu jooksul kogetud stressi tekitavad sündmused (vägivald, väärkohtlemine ja perega seotud stress) võivad tõsta epigeneetiliselt *TPH2* geeni metüleeritust ning positiivsete sündmuste kogemine (toetus ja soojus) võib ennustada madalamat metülatsioonitaset. Kümne aasta jooksul oli *TPH2* metüleeritus tõusnud kõigis metülatsioonipiirkondades peale CpG4, millel ilmnes kõige rohkem seoseid ka keskkonna tunnustega. Käesoleva uurimistöö tulemusel on leitud mitmeid seoseid elu jooksul kogetud stressi ning *TPH2* geeni regulatoorse piirkonna metüleerituse vahel.

**Märksõnad:** *TPH2, metüleeritus, PARQ, SLE, ELIKTU, stress*

### **Abstract**

The aim of this study was to determine whether lifetime stress is associated with *TPH2* gene methylation and to investigate the individual stability of *TPH2* gene methylation over a ten-year period. The sample consisted of men from the senior cohort of the Estonian Children's Personality, Behaviour and Health (ECPBHS) longitudinal study. Blood samples were taken from the subjects for gene testing in 1998 (at the age of 15) and in 2008. Stressful life events and the family and school environment were studied on three occasions (15, 18 and 25 years old). In addition, subjects' mothers were asked about the stress surrounding their birth. The results showed that stress-evoking events (violence, abuse, and family stress) may epigenetically increase *TPH2* gene methylation, and experience of positive events (support, warmth, and favourable relationships) may predict lower methylation levels. Within ten years, *TPH2* methylation was elevated in all methylation sites except CpG4, which also showed the greatest association with environmental characteristics. As a result of the present research, several associations have been found between the stress experienced during life and the methylation of the regulatory region of the *TPH2* gene.

***Keywords: TPH2, methylation, PARQ, SLE, ECPBHS, stress***

## Sissejuhatus

Geenid on inimesel terve elu samasugused, kuid nende avaldumist ja varieeruvust mõjutab tugevalt indiviidi kogetud keskkonnad. Täpsemalt öeldakse, et sotsiaalsed keskkonnad võivad muuta geeni modifikatsioone, kuid ei hõlma DNA järjestuse muutmist (Cao et al., 2013). Illustreerivalt on öeldud, et näiteks geeni avaldumise repressioon on tingitud 25% geenidest ning 75% geenide-keskkonna suhetest (Boyce et al., 2020). Sellised numbrid iseloomustavad, kui oluline on mõista, kuidas mõjutavad keskkonnas tajutud kogemused meie geenide avaldumist või pärssimist. Keskkonna mõju geneetilistele muutusele on näidatud lugematul arvul uuringutes ning see teema on saanud väga populaarseks geenide ja käitumise suhte seletamisel. Üheks peamiseks geeni ekspressiooni mõjutavaks keskkonna faktoriks on stress (Jiang et al., 2019). Näiteks võib elu jooksul kogetud stress mõjutada inimese käitumise regulatsiooni koha pealt oluliste geenide ekspressiooni. Üks protsessidest, mis seda põhjustab on geeni metülatsioon (Hing et al., 2018).

### Geeni metülatsioon

Igal elusorganismil on rakutuumas nukleotiidjärjestus (DNA ja/või RNA), mis sisaldab organismi pärimuslikku infot, kuid mille avaldumine on suuresti tingitud keskkonnast. Nukleotiidahela modifikatsioone, mis reguleerivad geeni “sisse- või väljalülitamist” kutsutakse epigeneetikaks. Epigeneetika uurib DNA ekspressiooni pärilikke muutusi väljaspool püsivat nukleotiidjärjestust (Jiang et al., 2019). Epigeneetika mehhanismideks on DNA metüleerimine ning histoonide modifitseerimine, mida mõjutavad mitmed keskkonnafaktorid (Loscalzo & Handy, 2014). Käesolev töö keskendub DNA metülatsioonile.

DNA metülatsioon on epigeneetiline mehhanism, mis reguleerib geeni ekspressiooni, värvates geenide repressiooniks valke või pärssides transkriptsioonifaktorite seondumist DNA-ga (Moore et al., 2012). DNA metüleerimine on DNA molekuli kovalentne modifikatsioon, mille käigus lisatakse tsütosiini-guanosiini (CpG) dinukleotiidi tsütosiinile ensümaatilisel metüülrühm (Booij et al., 2013). Praeguseini pole DNA metüleerimise täpsed rollid teada, kuid on kirjeldatud, et metüleerimine on hädavajalik rakkude diferentseerimiseks ja organismi embrünaalseks arenguks (Phillips, 2008). Metüleerimine võib mõjutada geenide ekspressiooni tasemeid läbi elu ning erinevatel geenidel on ka omavahel võrreldes oluliselt erinevad metüleerituse tasemed, mistõttu on võimalik võrrelda geenide ekspressiooni

variatiivsust kvantitatiivselt (Gibney & Nolan, 2010). Geenide ekspressiooni variatiivsuse uurimise kaudu on võimalik avastada seoseid geenide, keskkonna ning inimese käitumise vahel. Näiteks, kui inimene kasvab varajases eas vaesuses või stressirohkete sündmuste keskel, siis võiks selline keskkond kutsuda esile geeniekspressiooni variatiivsust läbi teatud geenide metülatsiooni, mis võib omakorda tuua täiskasvanueas mitmeid stressiga seotud käitumislikke fenotüpe nagu kohanemis- või käitumisraskuseid (Boyce et al., 2020).

### **Stress ja geenid**

Krooniline stress ning negatiivsed elukogemused võivad viia tõsiste meeleolu- ning ärevushäireteni, kuid siiani on siiski lõplikult teadmata, kui suurel määral on see seotud geeni metüleeritusega (Hing et al., 2018).

Stressi saab liigitada “heaks”, “kannatavaks” ning “toksiliseks”. Hea ning kannatav stress on vajalik organismi homöostaasiks ning kergemat stressi on võimalik psühholoogiliselt reguleerida. Toksiline stress, mis on pikajaline (kumuleeruv), võib kutsuda esile pikaajalisi kahjustusi nii ajus, kui ka ülejäänud kehas (Jiang et al., 2019). Bioloogiline ringe, mis reguleerib stressi inimorganismis on HPA (hüpotalamuse-hüpofüüsi-neeuropealise) telg. Stressihetkedel toodab inimese HPA telg glükokortikoide, mis mõjutavad paljusid süsteeme terves kehas (Jiang et al., 2019). Uuringud on leidnud, et glükokortikodid muudavad inimajus geeniekspressiooni (Wein, 2018). Näiteks Labonte ja tema kolleegide (2012) töö leidis, et hipokampuse kudedes oli metüleeritud 362 erinevat promotorsaiti nendel, kes sooritasid enestapu. 248 hüpermetüleeritud geenipiirkonda oli nendel, kes kogesid noorena väärkohtlemist ning 114 hüpometüleeritud nendel, kes seda ei kogenud.

Suurenenud *TPH2* geeni metüleeritus võib põhjustada mitmeid tõsiseid meeleolu- ning käitumishäireid (Hing et al., 2018). Mis tähendab, et kindlamateks tulemusteks tuleks teha arvukamalt uuringuid. Suurel määral on uuringuid tehtud serotoniini, dopamiini, glükokortikoidide ja kasvufaktorite radadega seotud geenidega (Jiang et al., 2019). Käesolev uurimistöö keskendub serotoniini rajaga seotud *TPH2* geenile.

### **Trüptofaani hüdroksülaas-2**

Trüptofaani hüdroksülaas-2 ehk *TPH2* geen kodeerib samanimelist ensüümi, mille kättesaadavus ja aktiivsus on määrava tähtsusega 5-HT (serotoniini) biosünteesis (Shen et al., 2020). Serotoniinil on tähtis roll inimese meeleolu reguleerimisel. Hetkel on depressiooni korral kõige laialdasemalt kasutatavaks farmakoloogiliseks ravimiks just serotonenergilist süsteemi mõjutavaid SSRI-d (serotoniini tagasihaarde inhibiitorid) (NHS, 2021). Uuring

(Chen et al., 2017) näitas paroksetiiniga (SSRI) ravitud depressiivsete rottide peal, et *TPH2* kõrge metüleeritus põhjustas tõepoolest madalamat 5-HT kontsentratsiooni ajus. *TPH2* ekspressiooni moduleerivad stressorid ja stressihormoonid ning muutunud *TPH2* ekspressioon on seotud stressireaktsiooni ning stressiga seotud häiretega (Chen & Miller, 2012).

*TPH2* avaldumise tähtsust meeleolule kirjeldab uuring (Chen et al., 2017), mis leidis immunohistokeemilise analüüsi abil depressiivsete rottide puhul vähest *TPH2* ekspressiooni võrreldes tervete rottidega. Veel on leitud, et varajane stressi kogemine põhjustab *TPH2* geeni metüleeritust ning pärsib serotoniini-põhist ravi depressiooni puhul (Shen et al., 2020). Seega varajane stress võib mõjutada oluliselt inimese *TPH2* geeni ekspressiooni, mis omakorda võib põhjustada mitmeid meeleoluhäireid ning võib pärssida antidepressantide ravivõimet. *TPH2* geeni ning elu jooksul kogetud stressi vaheliste suhete kirjeldamine võiks tulevikus tagada inimestele uudseid epigeneetilisi sihtmärke neurobioloogises ravis.

### **Eesti Laste Isiksuse, Käitumise ja Tervise Uuring**

Uurimuses on kasutatud Eesti Laste Isiksuse, Käitumise ja Tervise Uuring (ELIKTU) longituudseid andmeid. ELIKTU on 1998. aastal Eestis loodud prospektiivne projekt, milles osaleb mitmeid erialaspetsialiste ning Tartu Ülikooli teadurid. 1998. aastal kutsuti uuringusse osalema kõik Tartu maakonna koolid (kokku 56), kellest 54 olid nõus projektist osa võtma. Lõpuks osutus randomiseeritult valituks 25 kooli (Kurrikoff et al., 2018). Nüüdseks on ELIKTU läbi viinud 8 uuringu etappi, mis on uurinud katseisikuid alates 9. eluaastast (I etapp) kuni 33. eluaastani (VIII etapp).

ELIKTU uuringutes lasti uuritavatel täita erinevaid küsimustikke läbi mitme eluetapi. ELIKTU kogus uuringu käigus lisaks küsitlustestidele ka laboratoorseid, antropomeetrilisi ning biomeetrilisi andmeid (Harro, 2015).

ELIKTU on jälginud Maailma Terviseorganisatsiooni ja Rahvusvahelise arstiteaduste nõukogu eeskirju biomeditsiiniliste uuringute läbiviimiseks ning Helsingi deklaratsiooni 1975. aasta redaktsiooni nõudmisi. ELIKTU uuringud on heaks kiidetud Tartu Ülikooli inimuuringute eetika komitee poolt (Harro, 2015).

### **Töö eesmärk ja olulisus**

Minu uurimistöö eesmärk oli võrrelda ELIKTU andmete põhjal *TPH2* geeni metülatsiooni individuaalset stabiilsust ning uurida kuidas uuritava elu jooksul ja ema sünnitusel kogetud stress mõjutavad lapse *TPH2* geeni metüleeritust. *TPH2* geeni

metüleeritust ning stressi mõju uurimine võimaldab potentsiaalselt tulevikus rakendada tõhusamalt ajupõhist farmakoloogilist ravi. Samuti oleks oluline läbi korduvate uuringute kaardistada *TPH2* roll psühhopatoloogias.

Töö eesmärgid:

- 1) Leida *TPH2* metüleerituse individuaalne stabiilsus kümne aasta möödudes.
- 2) Millised stressi tekitavad elusündmused (kooli, pere, tööga seotud) põhjustavad *TPH2* metüleeritust?
- 3) Millises eluetapis kogetud stressitekitavad sündmused (sünni ümbritsevad sündmused, 15, 18 ja 25 aasta vanuselt kogetud stress) mõjutavad *TPH2* metüleeritust?
- 4) Kas erinevates eluetappides kogetud stress avaldab kumulatiivset mõju *TPH2* metüleeritusele?

### Meetod

Andmed on kogutud Eesti Laste Isiksuse, Käitumise ja Tervise Uuringu (ELIKTU) käigus. Valimi koguarvuks on 1176 inimest, kellest 593 kuulub nooremasse ning 583 vanemasse kohorti (Kurrikoff, 2012).

Käesolevas uurimistöös kasutatakse ELIKTU uuritavate andmeid, kellelt võeti TÜ Kliinikumi Ühendlaboris geenide uurimiseks veenist vereproov. Täisverd kasutati DNA isoleerimiseks ja genotüpiseerimiseks (Harro, 2015). Antud töös kasutatud uuritavate andmed pärinevad meestelt vanuses 15 ja 25 eluaastat. 1998. aastal võeti verd 15-aastastelt meestelt ( $n = 194$ ) ning 2008. aastal 25-aastastelt meestelt ( $n = 192$ ). Geeni metüleerituse individuaalse stabiilsuse arvutamisel arvestati ainult nende katseisikute tulemustega, kes andsid mõlemal aastal vereproovi ( $n = 191$ ). *TPH2* metülatsiooni on mõõdetud Saksamaal Würzburgis pürosekveneerimise meetodiga. Uuringus mõõdeti metülatsiooni kuues CpG saidis *TPH2* geeni 5'UTR piirkonnas. Edaspidi kasutan geenipiirkonna järel aastanumbrit (1998 või 2008), mis näitab, mis aastal on DNA võetud.

### Sünni ümbritsev stress

Küsitluste abil uuriti 15-aastaseks saavate katsealuste emade käest andmeid lapse sünnituse kohta. Küsitluses uuriti sünnitamise kulgemise, rahalise seisukorra, ema tervise ja toitumise ning lapse biomeetriliste andmete (sünnikaal ja -pikkus) kohta. Lisaks pidid emad täpsustama sünnitamisel esinenud probleeme. Märkitud sündmustest kujunes käesoleva

uurimistöö käigus välja süüdi ümbritsev stressi skoor (Süüdi ümbritsev stress), mis jäi vahemikku 0-5.

### **Koolistress**

ELIKTU uuritavatel on koolistressiga seoses küsitud 15- ning 18-aastastelt õpilastelt üksteist küsimust, mis peegeldaksid kooli atmosfääri ning lapse suhteid õpetajate ja klassikaaslastega. Peakomponentide analüüs tõi küsimustest välja kolm põhitegurit, mis näitasid suhteid õpetajatega, koolikaaslastega ning kiusamist/tõrjumist (Vaht et al., 2016). Käesolevas töös uurisin *TPH2* geeni metüleerituste seost nii 15- kui 18-aastaselt mõõdetud alaskaaladega: Koolikiusamine, Ebameeldivused Kooliga ja Soosivad ning Mitte Soosivad Suhted Klassikaaslastega ja Õpetajatega.

### **Perekeskkond ja perega seotud stress**

Perekeskkonna hindamiseks täitsid katseisikud PARQ (Parental Acceptance-Rejection Questionnaire) küsimustiku. PARQ on enesekohane küsimustik, mille eesmärk on välja selgitada laste praeguseid arusaamu ning täiskasvanute retrospektiivseid mälestusi selle kohta, kas nad kogesid lapsepõlves vähemal või suuremal määral aktsepteerimist või mitte tunnustamist. ELIKTU valim täitis PARQ küsimustiku 25-aastaselt retrospektiivselt 18-aastase vanuse olukorra kohta. PARQ-i skaalad jagunevad nelja peakomponenti: Vanemate Kontroll (control), Vaenulikkus (hostility), Hoolimatus (neglect) ja Eristamatu Mittetunnustamine (undifferentiated rejection) (Rohner & Ali, 2020). Katseisikud pidid küsimustikule vastama nelja punktilise Likeri skaala järgi.

Lisaks täitsid uuritavad perekeskkonna uurimiseks loodud Tartu Peresuhete küsimustiku, mis koosneb seitsmest erinevast alaskaalast. Nendeks skaaladeks on Alavääristamine, Lähedus, Toetus, Vägivald, Väärkohtlemine (mis koosneb Vägivalla ning Alavääristamise väärtustest) ja Soojus (mis koosneb Läheduse ning Toetuse väärtustest). Iga alaskaala juures oli seitse küsimust (näiteks “Kas sinu peal on ükski pereliige kasutanud füüsilist vägivalda?”). Vastama pidid katseisikud nelja- või viiepunktilise Likerti skaala järgi (Kurrikoff, 2012). Käesoleva töö andmed on kogutud 15. aastastelt poistelt, kellele moodustus alaskaala Alavääristamise kohta. 18. aastastelt meestelt vastanud noorte kohta moodustus skaalad Läheduse, Toetuse, Soojuse, Alavääristamise, Vägivalla ning Väärkohtlemise kohta.

### **Stressitekitavad elusündmused ja kumuleeruv stress**

Antud töös käsitletakse skaalasid, mis peegeldavad elu jooksul kogetud stressirohkusi elusündmused. Elusündmused küsiti 15-, 18-, ning 25-vanuses.

Elu jooksul kogetud stressi mõõdeti erinevate stressitekitavate elusündmuste (ingl. k. *Stressful life events*, SLE) küsimustike abil. SLE küsimustikud erinesid läbi uuringu faaside, kuna nimekirjas olevad stressiolukorrad oli aastate jooksul täiendatud ja/või muudetud. Küsimustikus pidid katseisikud märkima stressirikaste elusündmuste nimekirjast elu jooksul kogetud sündmused. Stressirohkete elusündmuste loendis oli 17 erinevat ebasoodsat sündmust. Sinna kuulusid lahutus, romantilise suhte lõppemine, lahkuminek olulisest inimesest, konfliktid partneriga, konfliktid pereliikmega, isiklik kriis, surm või mõne lähedase inimese tõsine haigus, rünnaku ohvriks jäämine, rahalised raskused, elamisraskused, tõsine haigus või vigastus, koondamine, vallandamine, seadusega probleemid, röövi ohvriks jäämine, probleemid tööl, liiklusõnnetus või muu raske õnnetus.

Viimase aasta jooksul kogetud stressirohkused sündmused (25-aastaselt) klassifitseeriti pere (viimase aasta või viimase viie aasta jooksul lähedastega seotud stress) ning isiklikult kogetud (viimase aasta või viie aasta jooksul isiklikult kogetud stress) stressiskoorideks (Kurrikoff, 2012). Kogustressi skoori (25-aastaselt) moodustasid isiklikud ning perega seotud sündmused kokku.

Kumulatiivse stressi ning metüleerituse uurimiseks lõin uurimistöö käigus elu jooksul kogetud stressi skoori, mille moodustasid kokku kolmel etapil kogetud stressi sündmused. Nendeks olid 15-aastaselt stressitekitavate sündmuste, 18-aastaselt stressitekitavate sündmuste ning 25-aastaselt viimase viie aasta jooksul kogetud stressitekitavate sündmuste skoorid. Kumuleeruva stressi alla kuuluvad ka alaskaalad, mis peegeldavad vähemalt viie aasta stressi sündmuste tulemusi (näiteks viimase viie aasta jooksul perega seotud stress).

### **Gruppide moodustamine**

Selleks, et analüüsida gruppide vahelisi erinevusi kooli-, pere- ning sündiümbritseva stressi vahel, lõin iga alaskaala juurde kolm gruppi vastavalt saadud skoori suurusele: madal (alla 33% skoor), keskmine (33%-66% skoor) ning kõrge (üle 66% skoor).

### **Andmeanalüüs**

Kvantitatiivsete meetodite abil uurin, kas elu jooksul kogetud stress on mõjutanud katseisikute *TPH2* geeni metüleeritust. Analüüsides on kasutatud mitteparameetrilisi teste. Katseisikute individuaalset geeni metüleerituse stabiilsust analüüsin kordusmõõtmiseks

mõeldud Friedmani testi abil. Korrelatsiooni arvutamisel on kasutatud Spearmani korrelatsioonikordajat. Alaskaalade põhjal tekkinud gruppide võrdlemiseks viin läbi sõltumatute gruppidega Kruskal-Wallise testi. Rohkete arvutuste tõttu esitan töös ainult statistiliselt olulised või olulisusele lähenevad tulemused. Arvutuste tegemiseks kasutan JAPS rakenduse versiooni 0.16.

## Tulemused

### Geeni metüleerituse individuaalne stabiilsus

Kõigi piirkondade metüleeritus (CpG1, CpG2, CpG3, CpG5, CpG6) peale CpG4 ( $Z = 0.064$ ,  $p = 0.948$ ) oli kümne aasta jooksul statistiliselt olulisel määral tõusnud, korrelatsioonid jäid vahemikku  $r = 0.123 - 0.370$  (Tabel 1.).

**Tabel 1.** *Friedmani testi ja Spearmani korrelatsioonianalüüsi tulemused*

	T	Z	p-väärtus	Spearmani r
CpG1 1998 & 2008	3968.5	6.797	$p < 0.01$	0.195*
CpG2 1998 & 2008	6520.0	3.461	$p < 0.01$	0.194*
CpG3 1998 & 2008	7133.5	2.554	$p < 0.01$	0.165*
CpG4 1998 & 2008	8929.0	0.064	$p = 0.947$	0.297*
CpG5 1998 & 2008	6681.5	3.250	$p < 0.01$	0.370*
CpG6 1998 & 2008	3905.5	6.880	$p < 0.01$	0.123

*Märkus: \*  $p < 0.01$*

### Sündi ümbritsev stress

CpG2 (2008) ( $r = 0.205$ ,  $p = 0.01$ ), CpG4 (2008) ( $r = 0.151$ ,  $p = 0.05$ ) ja CpG3 (2008) ( $r = 0.139$ ,  $p = 0.07$ ) ning sünnikaalu vahel oli positiivne korrelatsioon. Sündi ümbritseva stressi ning CpG6 (1998) metüleerituse vaheline negatiivne korrelatsioon oli lähedal statistilisele olulisusele ( $r = -0.115$ ,  $p = 0.141$ ). Madala ja kõrgema sündi ümbritseva stressiga inimeste metüleeritus 15-aastaselt oli kõrgem võrreldes keskmise sündi ümbritseva stressi tasemega. (Tabel 2).

### **Koolistress**

Koolikiusamise ning CpG1 (1998) vahel ilmnes positiivne seos ( $r = 0.200$ ,  $p = 0.02$ ). Soosivad Suhted Klassikaaslastega ning geenipiirkondade metüleerimise vahel olid statistiliselt olulisele tulemusele lähedal geenisaidid CpG3 (1998) ( $r = -0.161$ ,  $p = 0.07$ ) ja CpG6 (1998) ( $r = -0.159$ ,  $p = 0.07$ ). Ebameeldivused Kooliga oli positiivses korrelatsioonis ( $r = 0.186$ ,  $p = 0.03$ ) CpG6 (1998) geenisaidi metüleeritusega. Koolistressi alaskaala “Halvad Suhted Õpetajaga” alusel loodud gruppide võrdlus näitas, et kõige kõrgem metüleeritus oli 25-aastaste puhul keskmisel grupil (Tabel 2).

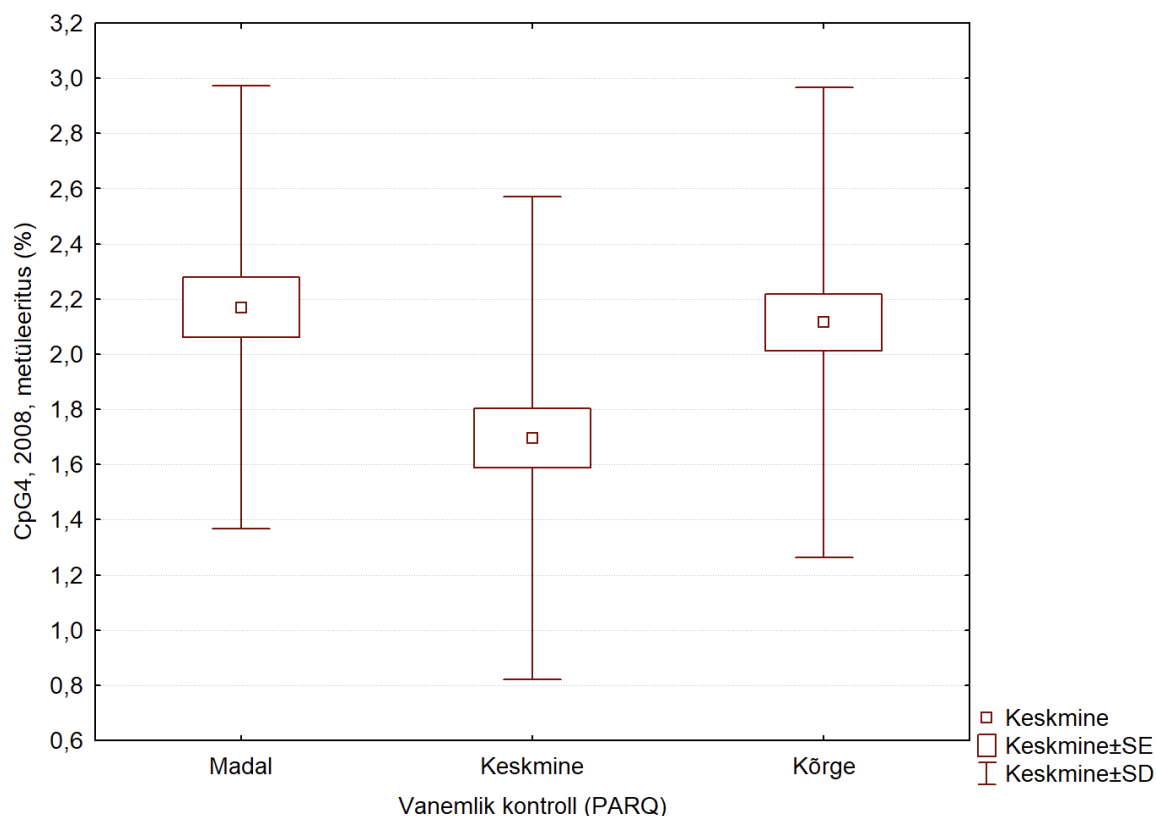
### **Perega seotud stress**

PARQ küsimustiku põhjal saadud vanemate kontrolli alaskaala ning geeni metüleerituse vahel tuli kolm statistilisele olulisusele lähedal tulemust, milleks olid CpG1 (2008) ( $r = -0.129$ ,  $p = 0.08$ ), CpG5 (2008) ( $r = -0.133$ ,  $p = 0.07$ ) ja CpG6 (2008) ( $r = -0.133$ ,  $p = 0.07$ ) geenisaidid.

Tartu Peresuhete skaala alaskaalade põhjal tuli mitu olulist seost. Läheduse ning geenisaidi CpG6 (1998) ( $r = -0.181$ ,  $p = 0.04$ ) vahel tuli negatiivne korrelatsioon. Olulisusele lähedal oli ka CpG4 (2008) ( $r = -0.166$ ,  $p = 0.06$ ) geenipiirkond. Soojuse ning geenipiirkondade metüleerituse vahel ilmnes kaks seost. Nendeks olid CG6 (1998) ( $r = -0.157$ ,  $p = 0.08$ ) ning CpG4 (2008) ( $r = -0.159$ ,  $p = 0.08$ ). Alavääristamise (18-aastaselt) ning geenipiirkondade metüleerituse vahel oli seos CpG5-l (1998) ( $r = -0.130$ ,  $p = 0.07$ ). Vägivald mõjutas CpG4 (2008) geenisaidi ( $r = 0.189$ ,  $p = 0,03$ ) metüleeritust.

Viimase aasta jooksul kogetud lähedastega seotud stressirohkete sündmuste (Pere1a\_25) ning metüleerituse korrelatsioonianalüüsis oli statistiliselt oluline CpG6 (2008) geenisaidi metüleeritus ( $r = 0.177$ ,  $p = 0.01$ ). Analüüsis tuli välja ka CpG4 (2008) ( $r = 0.139$ ,  $p = 0.05$ ) ja CpG5 (2008) ( $r = 0.135$ ,  $p = 0.06$ ) metülatsioonipiirkondade ning lähedastega seotud stressirohkete sündmuste (1. aasta perega seotud) seoseid.

PARQ alaskaala “vanemate kontrolli” põhjal loodud gruppide võrdluses (joonis 1) selgus, et kõige vähem geeni metüleeritust esines 25-aastaste seas keskmisel grupil ja seda kahes geenipiirkonnas (Tabel 2).



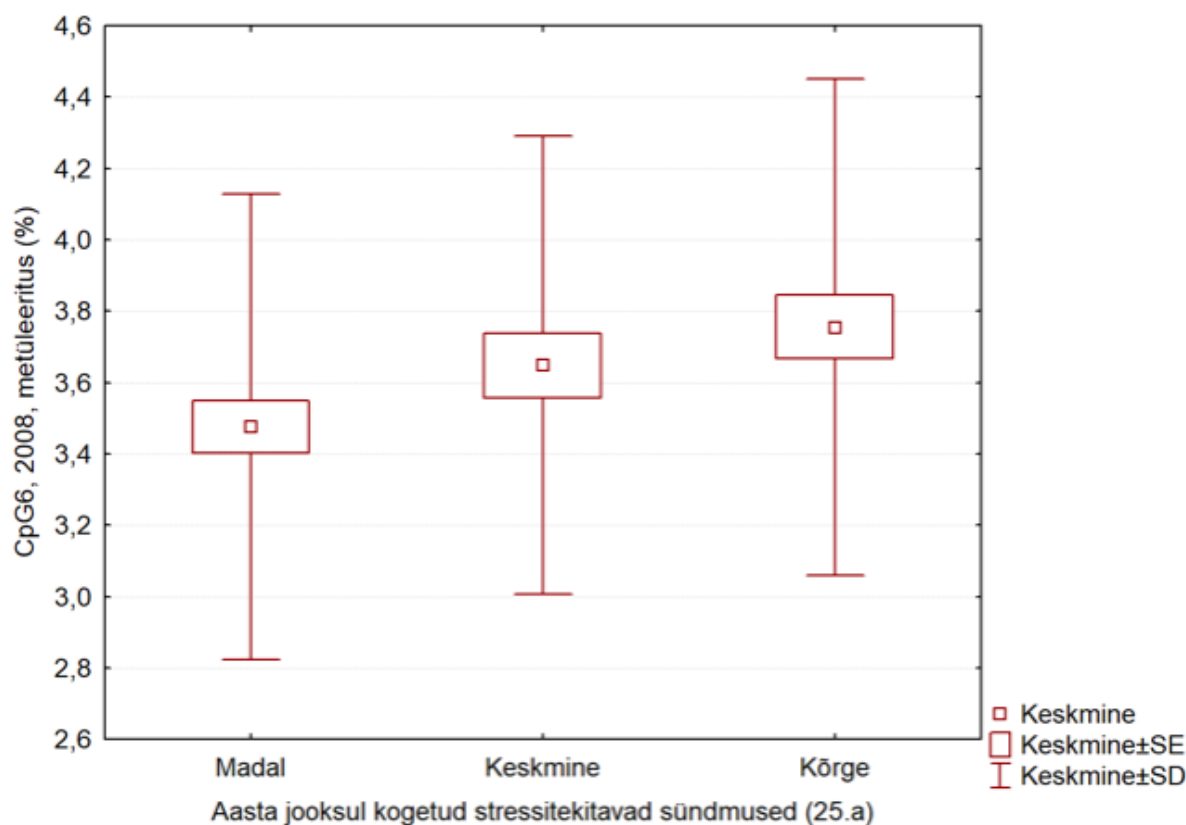
**Joonis 1.** Alaskaala “vanemate kontroll” põhjal tehtud gruppide võrdlus

### Stressirohked isiklikud sündmused

Viimase aasta jooksul kogetud stressirohkete isiklike sündmuste (eelmise aasta isiklikult seotud) ja metüleerituse vahel olid statistilisele olulisusele lähedal CpG4 (2008) ( $r = 0.134$ ,  $p = 0.06$ ) ning CpG5 (2008) ( $r = 0.130$ ,  $p = 0.074$ ) geenisaidid.

### Stressitekitavad elusündmused

15-aastaselt hinnatud stressitekitavate sündmuste skoori (15-aastaselt stressiskoor) ning metüleerituse vahel oli olulised seosed CpG4 (2008) ( $r = 0.171$ ,  $p = 0.02$ ) ning CpG5 ( $r = 0.129$ ,  $p = 0.08$ ) geenisaidiga. Kolm statistiliselt olulist tulemust oli metüleerituse ning 25-aasta vanuselt viimase aasta jooksul kogetud kogustressi (eelmise aasta kogu kogetud stress) vahel. Positiivses korrelatsioonis olid CpG4 (2008) ( $r = 0.157$ ,  $p = 0.03$ ), CpG5 (2008) ( $r = 0.164$ ,  $p = 0.02$ ) ja CpG6 (2008) ( $r = 0.168$ ,  $p = 0.02$ ) geenisaidid. Kogustressi alaskaala “Kogustress viimase aasta jooksul” põhjal loodud gruppide võrdluses on näha lineaarset seost (joonis 2), kus stressi koges enim kolmas grupp (Tabel 3).



**Joonis 2.** Alaskaala “Kogustress viimase aasta jooksul” põhjal tehtud gruppide võrdlus

### Kumuleeruv stress

Viimase viie aasta (25-aastasena) jooksul lähedastega seotud stressirohkete sündmustega (5 aastat perega seotud) oli seos CpG6 (2008) geenisaidil ( $r = 0.128$ ,  $p = 0.07$ ) (vt tabel 1).

Viimase viie aasta (25-aastasena) jooksul isiklikult kogetud stressi (5 aastat kogu kogetud stress) ning kuue geenisaidi metüleerituse vahel oli positiivses korrelatsioonis ( $r = 0.120$ ,  $p = 0.09$ ) CpG4 geenipiirkond.

Kogustressi skooridel põhinenud gruppide (Kogustressi skoori grupp) ning *TPH2* geeni metüleerituse vahel puudus statistiliselt oluline tulemus. Kõige lähemal oli 2008. aastal mõõdetud CpG5 (2008) geenipiirkond ( $r = 0.122$ ,  $p = 0.093$ ).

Terve elu jooksul kogetud stressiskooril põhinenud gruppide (Kogu- ja sünnitusstressi grupp) ning geeni metüleerituse vahel tehtud korrelatsioonianalüüsis tuli üks statistiliselt oluline tulemus, milleks oli CpG1 (1998) geenipiirkond ( $r = 0.141$ ,  $p = 0.049$ ). CpG4 metüleerituse ja stressigrupi vahel oli samuti nõrk, kuigi mitte päris statistiliselt usaldusväärne positiivne korrelatsioon ( $r = 0.121$ ,  $p = 0.095$ ).

Kumuleeruva stressi alaskaala “kogu- ja sündi ümbritseva stressi” järgi loodud grupi võrdlus näitas, et kõige kõrgem geeni metüleeritus oli keskmisel grupil. “Isiklikult viie aasta jooksul kogetud stressi” alaskaala gruppide võrdlus leidis, et kõige väiksem metüleeritus oli nõrgemal grupil (Tabel 3).

**Tabel 2.** *Kruskal-Wallis testi põhjal saadud grupi võrdlused*

	Lähedus	Soojus	Kontroll kodus	PARQ	Suhted õpetajaga	Koolikiusamine
CG1 (2008)	-	H(2) = 8.790, p=0.123*	H(2) = 7.035, p=.030*	H(2) = 7.863, p= .020**	-	H(2) = 5.921, p=.052*
CG2 (2008)	-	-	H(2) = 14.672, p<.001**	-	H(2) = 9.248, p=.010**	-
CG3 (2008)	-	-	H(2) = 8.993, p=.011*	-	-	-
CpG4 (2008)	-	-	H(2) = 9.851, p=.007**	-	-	-
CpG5 (2008)	-	-	H(2) = 12.811, p=.002*	-	-	-
CG6 (2008)	-	-	H(2) = 9.164, p=.010*	H(2) = 11.536, p=.003**	-	-
CG1 (1998)	-	-	-	-	-	-
CG6 (1998)	H(2) = 7.751, p=.020* M	H(2) = 7.389, p= 0.250*	-	-	-	-

Märkus: \*üks gruppide vaheline oluline erinevus, \*\* kaks olulist gruppide vahelist erinevust

**Tabel 3.** *Kruskal-Wallis testi põhjal saadud grupi võrdlused*

	Sündiümbritsev	Kogustressi	Kogu- ja sündi ümbritsev stress	Isiklikult 5a	Pere 1a	kogustress 1a
CG1 (2008)	H(2) = 5.572, p=.060	-	-	H(2) = 7.254, p= 0.027*	-	-
CG2 (2008)	-	-	-	-	-	-
CG3 (2008)	-	-	-	-	-	-
CpG4 (2008)	H(2) = 9.287, p=.009*	-	-	-	-	H(2) = 7.919, p=.019*
CpG5 (2008)	-	H(2) = 5,952, p=.051*	-	H(2) = 7.392, p= 0.068	-	H(2) = 5.185, p= .075
CG6 (2008)	-	-	-	-	H(2) = 8.568, p=.014*	H(2) = 5.358, p= .067
CG1 (1998)	-	-	H(2) = 6.306, p =.043*	-	-	-
CG6 (1998)	-	-	-	-	-	H(2) = 7.253, p=.027*

Märkus: \*üks gruppide vaheline oluline erinevus, \*\* kaks olulist gruppide vahelist erinevust

**Tabel 4.** Korrelatsioonid, mis olid statistiliselt olulised või sellele lähedal.

Muutuja	CG1 (1998)	CG2 (1998)	CG3 (1998)	CpG4 (1998)	CpG5 (1998)	CG6 (1998)	CG1 (2008)	CG2 (2008)	CG3 (2008)	CpG4 (2008)	CpG5 (2008)	CG6 (2008)
Koolikiusamine	r=0.200**	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Soosivad Suhted Koolis	-	-	r=-0.161*	-	-	r=-0.159*	-	-	-	-	-	-
Ebameeldivused Kooliga	-	-	-	-	-	r=0.186**	-	-	-	-	-	-
Sünnikaal	-	-	-	-	-	-	-	r=0.205**	r=0.139*	r=0.151**	-	-
Süüdi ümbritsev stress	-	-	-	-	-	r=-0.115*	-	-	-	-	-	-
Alavääristamine	-	-	-	-	r=-0.130*	-	-	-	-	-	-	-
Vägivald	-	-	-	-	-	-	-	-	-	r=0.189**	-	-
Vanemate kontroll	-	-	-	-	-	-	r=-0.129*	-	-	-	r=-0.133*	r=-0.133*
Lähedus	-	-	-	-	-	r=-0.181**	-	-	-	r=-0.166*	-	-
Soojus	-	-	-	-	-	r=-0.157**	-	-	-	r=-0.159*	-	-
1. aasta perega seotud (25a.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	r=0.139*	r=0.135*	r=0.177**
5. aastat perega seotud (25a.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	r=0.128*
1. aasta isiklikult kogetud (25a.)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	r=0.134*	r=0.130*	-
15. aastasel stressiskoor	-	-	-	-	-	-	-	-	-	r=0.171**	r=0.129*	-
1. aasta kogu kogetud stress (25.a)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	r=0.157**	r=0.164**	r=0.168**
5.aasta kogu kogetud stress (25.a)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	r=0.120*	-	-
Kogustressi skoori grupp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	r=0.122*	-
Kogu- ja sünnitus stressi grupp	r=0.141**	-	-	-	-	-	-	-	-	r=0.121*	-	-

Märkus: \*\* p&lt;0.05, \*lähedal olulisusele

### Arutelu

Töö eesmärgiks oli uurida *TPH2* geeni individuaalse metüleerituse stabiilsust ELIKTU valimil. Uurisin, kas elu jooksul kogetud või sündi ümbritsev stress võib mõjutada *TPH2* geeni metüleeritust. Selleks, et uurida ka stressi kumuleeruvat mõju metüleeritusele, lõin töös kaks eraldi stressi koonduvust, mis kajastasid mitmes eluetapis kogetud stressi, ning võrdlesin neid koos *TPH2* geenipiirkondade metüleerituse protsentidega.

#### ***TPH2* geeni metüleerituse idividuaalne stabiilsus**

Käesoleva töö üheks eesmärgiks oli vaadata katseisikute geenipiirkondade metüleerituse stabiilsust. Töö käigus tehtud dispersioonianalüüsist selgus, et kõik peale ühe metülatsioonipiirkonna metüleerituse tase on 10 aasta jooksul statistiliselt oluliselt tõusnud. Ainuke geenipiirkond, mille metüleeritus ei olnud oluliselt muutunud, oli CpG4, millel oli mitmeid seoseid erinevate stressi mõõdikutega, mis viitab, et CpG4 oli antud katseisikute puhul kõige tundlikum geenipiirkond.

#### **Millised stressi tekitavad sündmused on seotud *TPH2* geeni metüleeritusega?**

Mitmed varasemad uuringud on leidnud, et stressi tekitavad sündmused põhjustavad geenipiirkondade metüleeritust (Jiang et al., 2019). Siin töös on leitud mitu statistiliselt olulist seost, mis näitavad, et stressiolukorrad võiksid mõjutada *TPH2* geeni metüleeritust. Vägivald, Koolikiusamine ja Ebameeldivused Kooliga, mille kohta uuriti olid seotud *TPH2* geeni 5'UTR piirkonna metüleerituse tõusuga. Selline negatiivsete olukordade mõju metüleeritusele võib viia stressi pikaajalisele mõjule ehk psühhopatoloogiale.

Lähedus oli seotud CpG6 (2008) saidi madalama metüleeritusega. Samuti oli Toetuse ja Läheduse koondskoor (Soojus) negatiivses korrelatsioonis *TPH2* geeni metüleeritusega. Lisaks oli CG6 (2008) geenipiirkonnal negatiivne korrelatsioon Soosivad Suhted Klassikaaslastega ja metüleerituse vahel. Samal geenipiirkonnal tuli positiivne korrelatsioon Ebameeldivus Kooli ning metüleerituse vahel. Millest võib järeldada potentsiaali, et positiivsed kogemused on suutelised kaitsma *TPH2* geeni negatiivse mõju eest. Tulemustest paistab, et stressiolukorrad põhjustavad geenipiirkondade metüleeritust ning positiivsed kogemused toetavad geeni avaldumist.

Huvitav tulemus oli ka olulisusele lähedal negatiivne korrelatsioon metüleerituse ja vanemate kontrolli vahel. Gruppide vahelise analüüsi käigus selgus mittelineaarne seos, kus vanemate kontroll lapse elu üle mõjutas oluliselt rohkem geeni metülatsiooni, kui kuuluti

gruppi, mis koges kõige vähem kodust kontrolli. Kõige vähem oli geen metüleeritud nendel, kes kuulusid keskmisesse gruppi ehk kogesid vanemate kontrollimist, kuid mitte liiga palju ega liiga vähe. Nende tulemuste põhjal võib spekuloida, et mõõdukas kogus vanemate kontrolli elu üle on optimaalne ning seda võib võtta kui lapse distsipliini tekkimist. Samas liigne või vähene kontroll põhjustab lapse arengus stressiolukordi.

Lisaks näitas gruppide vaheline analüüs, et PARQ testis madalama skooriga katseisikud, need kes märkisid vähem stressi tekitavaid mälestusi perekonna kohta, said kahel geenisaadil madalamad metüleerituse tasemed võrreldes nendega, kes kogesid rohkem perega seotud stressi. Mis kinnitab veelkord, et negatiivsed stressikogemused mõjutavad *TPH2* geeni metüleeritust. Peamised stressorid, mis mõjutasid *TPH2* geeni metüleeritust olid kooli kiusamine, vägivald ning perega seotud stress.

### **Millises eluetapis kogetud stress mõjutab *TPH2* geeni metüleeritust?**

Varasemalt on uuritud stressi mõju prenataalsele arengule. HPA-teljes toodetud glükokortikoidid läbivad platsentalt lootele avaldades postnataalset mõju lapse sünnikaalule ning ajule. Siiski on vähe uuritud kuidas sünni ümbritsev stress mõjutab lapse bioloogilisi mehhanisme (Kertes et al., 2016). ELIKTU uuringus kogutud andmetel uurisin, kuidas mõjutab sünni ümbritsev stress lapse hilisemat *TPH2* geeni metüleeritust.

Burrisse ja kollegide (2013) uuring ei leidnud olulisi tulemusi sünnikaalu ning *IGF2* geeni metüleerituse vahel.

Vastupidist tulemust näitas *TPH2* geeni metüleeritus, kus kaks geenipiirkonda (CpG2 ja CpG4) olid statistiliselt oluliselt positiivses korrelatsioonis sünnikaaluga. Kui aga vaadata sünnitust ümbritsevate sündmuste koguskoori ning geeni metüleeritust, siis ei leidnud ühtegi statistiliselt olulist tulemust. Vastuoluliselt oli kõige lähemal CpG6 geenipiirkond ning selle korrelatsioon oli negatiivne.

Kokkuvõtlikult leidsin, et sünnikaal, mis on eluliselt tähtis faktor lapse arengu juures, oli seotud tulevase *TPH2* geeni normaalse avaldumisega. Samas kui arvestada tervet sünnitusprotsessi, siis suuremat stressi kogevate emade lastel ei esinenud geeni metüleerituses olulist erinevust. Tulevased uuringud võiksid rohkem uurida *TPH2* metüleerituse ning sünnikaalu suhete kohta, et luua kindlamad seosed.

15-aastaselt kogetud stress seostus samuti *TPH2* geeni metüleeritusega, mis tähendab, et sellel eluperioodil kogetud stress mõjutab meie andmete alusel lapse *TPH2* metüleeritavust.

25-aastastelt uuritud isiklike ning lähedastega seotud stressirohkete sündmustega oli käesolevas töös mitu olulist seost, mis näitasid, et stress võib mõjutada geeni metülatsiooni. Tulemustest selgus, et enam mõjutasid geeni metüleeritust sündmused, mis toimusid viimase aasta jooksul ehk 25-aastaselt mõjus viimase aasta stress rohkem, kui viie aasta stress. Viimase aasta jooksul isiklik ning lähedastega seotud stress mõjutas jällegi mõlemas olukorras siinse töö andmete järgi kõige tundlikumat metülatsioonipiirkonda CpG4.

Kui vastata uurimistöö küsimusele, siis võib öelda, et *TPH2* geeni metüleeritust mõjutavad kõikides eluetappides olevad stressirohked sündmused.

### **Kas erinevates eluetappides kogatud stress avaldab kumulatiivset mõju *TPH2* metüleeritusele?**

Siinse töö suurim panus stressi ja metüleerituse uurimisse on kumuleeriva stressi mõjude uurimine. Seda sellepärast, et tegu on longituudse uuringuga ning katseisikutelt on küsitud stressi kohta läbi elu erinevate etappide. Samuti on *TPH2* metülatsiooni tasemeid mõõdetud katseisikutelt kahes ajapunktis. Selleks, et uurida kumuleeruva stressi mõju, lõin kaks stressi üldskoori, millest üks käsitles stressi, mida kogeti 15- kuni 25-aastaselt ning teine, mis liitis eelnevale sündi ümbritseva stressi. Sündi ümbritsev ning elu jooksul kogatud stress avaldasid mõlemad eelnevates analüüsides mõju *TPH2* geeni metüleeritusele.

Vastavalt kogatud stressi sündmustele moodustasid skooridest kolm gruppi 15- kuni 25-aastaselt kogatud stressi, kui ka terve elu jooksul kogatud stressi kohta. Kumuleerival stressil oli oodatust väiksem mõju *TPH2* geeni metüleeritusele. Küll aga erinesid mõlemal gruppide vahelised tulemused. Grupp, kes koges kõige vähem stressi, oli *TPH2* geenipiirkondade metüleeritus madalam võrreldes keskmise ning kõrge stressi grupiga. Mõlema skoori puhul oli kõige kõrgem metüleeritus keskmistel gruppidel. Kolmandad grupid (kõige rohkem stressi sündmused) said võrreldes teise grupiga natukene madalamad metüleerituse tasemed.

### **Piirangud ja edasised uuringud**

Selle uurimistöö piirang oli see, et tulemused olid kõik nõrgad kuni mõõdukad korrelatsioonid ning nende põhjal ei saa teha lõplikke järeldusi. Seega vajavad käesoleva töö järeldused tulevaste *TPH2* geeni metüleerituse ja stressi seoste uuringute kinnitusi. Töö piiranguks on ka valim, mille kalduvus stressoritele on pigem harv. Tulevased tööd võiksid uurida kindlat sotsiaalset gruppi, kes on elu jooksul kogenud suuremal määral stressoreid. Viimaseks piiranguks on töö käigus läbiviidud võrdluste arv, millest leiti olulisi seoseid vähe.

*TPH2* geeni CpG4 geenipiirkond oli töö valimi põhjal kõige tundlikum ehk sellel ilmnas kõige rohkem seoseid keskkonnaga. Samas oli CpG4 ainuke geenipiirkond, mis kümne aasta jooksul oli jäänud metüleerituse taseme poolest stabiilseks. Tulevaste uuringutega võiks teha kindlaks, kas CpG4 oli ainult selle valimi kõige stressitundlikum piirkond või on sellel oluline roll stressi vahendamisel. Töö käigus leidsin paar olulist tulemust *TPH2* geeni hilisema metüleerituse ning sünnikaalu vahel. Oma töö tulemuste põhjal võiks tulevikus uurida äärmusliku sünnikaalu ning selle põhjustatud hilisema geeni metüleerituse seoseid.

Kinnitust sai töö käigus see, et negatiivsed kogemused võivad mõjutada epigeneetiliselt inimesele oluliste geenide metüleeritust. *TPH2* geeni metüleeritus oli suurem, kui inimene oli kogunud negatiivseid sündmuseid nagu vägivald, lähedastega stressiolukorrad ja Ebameeldivused kooliga. Samas näitasid positiivsed kogemused nagu Lähedus ja Toetus, et neil on geeni madalama metüleeritusega. Viimaseks töös leitud seoseks on optimaalse vanemate kontrolli lapse elu üle ning *TPH2* geeni metüleerituse vahel.

**Kasutatud kirjandus**

- Booij, L., Wang, D., Lévesque, M. L., Tremblay, R. E., & Szyf, M. (2013). Looking beyond the DNA sequence: the relevance of DNA methylation processes for the stress–diathesis model of depression. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 368(1615), 20120251. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0251>
- Boyce, W. T., Sokolowski, M. B., & Robinson, G. E. (2020). Genes and environments, development and time. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(38), 23235–23241. <https://doi.org/10.1073/pnas.2016710117>
- Burris, H. H., Braun, J. M., Byun, H. M., Tarantini, L., Mercado, A., Wright, R. J., Schnaas, L., Baccarelli, A. A., Wright, R. O., & Tellez-Rojo, M. M. (2013). Association between birth weight and DNA methylation of IGF2, glucocorticoid receptor and repetitive elements LINE-1 and Alu. *Epigenomics*, 5(3), 271–281. <https://doi.org/10.2217/epi.13.24>
- Cao, J. X., Zhang, H. P., & Du, L. X. (2013). Influence of environmental factors on DNA methylation. *Hereditas (Beijing)*, 35(7), 839–846. <https://doi.org/10.3724/sp.j.1005.2013.00839>
- Chen, G. L., & Miller, G. M. (2012). Advances in tryptophan hydroxylase-2 gene expression regulation: New insights into serotonin-stress interaction and clinical implications. *American Journal of Medical Genetics Part B: Neuropsychiatric Genetics*, 159B(2), 152–171. <https://doi.org/10.1002/ajmg.b.32023>
- Chen, Y., Xu, H., Zhu, M., Liu, K., Lin, B., Luo, R., Chen, C., & Li, M. (2017). Stress inhibits tryptophan hydroxylase expression in a rat model of depression. *Oncotarget*, 8(38), 63247–63257. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.18780>
- Gibney, E., Nolan, C. Epigenetics and gene expression. *Heredity* 105, 4–13 (2010). <https://doi.org/10.1038/hdy.2010.54>

- Harro, J. (2015). Ülevaade uuringu kujunemisest: Euroopa noorte südameuuringust Eesti laste isiksuse-, käitumise ja tervise uuringuks. K. Akkermann, D. Eensoo, E. Kiive, T. Kurrikoff, K. Laas, K. Lehto, H. M. Loit, J. Mäestu, M. Paaver, T. Tulviste, M. Vaht, T. Veidebaum, I. Villa, & V. Volke (Eds.), *LAPSEST TÄISKASVANUKS, EESTIS. ELIKTU 1998–2015* (p. 10). Eesti Ülikoolide Kirjastus.  
[http://www.ecpbhs.ee/wp-content/uploads/2015/10/Lapsest\\_t%C3%A4iskasvanuks\\_Eestis.pdf](http://www.ecpbhs.ee/wp-content/uploads/2015/10/Lapsest_t%C3%A4iskasvanuks_Eestis.pdf)
- Hing, B., Braun, P., Cordner, Z. A., Ewald, E. R., Moody, L., McKane, M., Willour, V. L., Tamashiro, K. L., & Potash, J. B. (2018). Chronic social stress induces DNA methylation changes at an evolutionary conserved intergenic region in chromosome X. *Epigenetics*, *13*(6), 627–641. <https://doi.org/10.1080/15592294.2018.1486654>
- Jiang, S., Postovit, L., Cattaneo, A., Binder, E. B., & Aitchison, K. J. (2019). Epigenetic Modifications in Stress Response Genes Associated With Childhood Trauma. *Frontiers in Psychiatry*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2019.00808>
- Kertes, D. A., Kamin, H. S., Hughes, D. A., Rodney, N. C., Bhatt, S., & Mulligan, C. J. (2016). Prenatal Maternal Stress Predicts Methylation of Genes Regulating the Hypothalamic–Pituitary–Adrenocortical System in Mothers and Newborns in the Democratic Republic of Congo. *Child Development*, *87*(1), 61–72.  
<https://doi.org/10.1111/cdev.12487>
- Kurrikoff, T. (2012). *Interpersonal relationships and behaviour: moderation by functional gene variants*. Doktoritöö. Tartu Ülikool, psühholoogia instituut.
- Kurrikoff, T., Kaarma, K., Tooding, L. M., Vaht, M., Tulviste, T., Veidebaum, T., & Harro, J. (2018). Association of the COMT Val108/158Met genotype with professional career and education: The Val-allele is more frequent in managers and in enterprising occupations. *Personality and Individual Differences*, *121*, 213–217.  
<https://doi.org/10.1016/j.paid.2017.05.002>
- Labonté, B., Suderman, M., Maussion, G., Navaro, L., Yerko, V., Mahar, I., Bureau, A., Mechawar, N., Szyf, M., Meaney, M. J., & Turecki, G. (2012). Genome-wide Epigenetic Regulation by Early-Life Trauma. *Archives of General Psychiatry*, *69*(7).  
<https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.2287>

- Loscalzo, J., & Handy, D. E. (2014). Epigenetic Modifications: Basic Mechanisms and Role in Cardiovascular Disease (2013 Grover Conference Series). *Pulmonary Circulation*, 4(2), 169–174. <https://doi.org/10.1086/675979>
- Moore, L. D., Le, T., & Fan, G. (2012). DNA Methylation and Its Basic Function. *Neuropsychopharmacology*, 38(1), 23–38. <https://doi.org/10.1038/npp.2012.112>
- Natural Health Service (NHS) veebilehekülg. (2021, December 17). *Overview - Selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs)*. Vaadatud 22.12.2021  
<https://www.nhs.uk/mental-health/talking-therapies-medicine-treatments/medicines-and-psychiatry/ssri-antidepressants/overview/>
- Phillips, T. (2008). The Role of Methylation in Gene Expression. *Nature Education*, 1(116).  
<https://www.nature.com/scitable/topicpage/the-role-of-methylation-in-gene-expression-1070/>
- Rohner, P.R., & Ali, S. (2016). Parental Acceptance-Rejection Questionnaire (PARQ). In *Encyclopedia of Personality and Individual Differences* (pp. 1–4). Springer, Cham.  
[https://doi.org/10.1007/978-3-319-28099-8\\_56-1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-28099-8_56-1)
- Shen, T., Li, X., Chen, L., Chen, Z., Tan, T., Hua, T., Chen, B., Yuan, Y., Zhang, Z., Kuney, L., & Xu, Z. (2020). The relationship of tryptophan hydroxylase-2 methylation to early-life stress and its impact on short-term antidepressant treatment response. *Journal of Affective Disorders*, 276, 850–858.  
<https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.07.111>
- Vaht, M., Kurrikoff, T., Laas, K., Veidebaum, T., & Harro, J. (2016). Oxytocin receptor gene variation rs53576 and alcohol abuse in a longitudinal population representative study. *Psychoneuroendocrinology*, 74, 333–341.  
<https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.09.018>

### **Tänuõnad**

Tahan tänada oma juhendajat, Margus Kanarikku ning Aneth Lvovsi. Nende suunamine aitas tohutult palju kaasa selle uurimistöö valmimisele.

*Käesolevaga kinnitan, et olen korrekselt viidanud kõigile oma töös kasutatud teiste autorite poolt loodud kirjalikele töödele, lausetele, mõtetele, ideedele või andmetele.*

*Olen nõus oma töö avaldamisega Tartu Ülikooli digitaalarhiivis DSpace.*

*Johan Pastarus*