

TARTU ÜLIKOOL  
PSÜHHOLOOGIA INSTITUUT

Kai Nurga

***NPSR1* A/T polümorfismi mõju Wisconsin  
kaardisorteerimisülesande sooritusele**

Uurimistöo

Juhendaja Kariina Laas, PhD

2015, Tallinn ja Tartu

## **Kokkuvõte**

### *NPSR1 A/T polümorfismi mõju Wisconsin kaardisorteerimisülesande sooritusele*

Wisconsin kaarditest on käitumuslik test, mida kasutatakse täidesaatvate funktsioonide hindamisel, impulsiivsus mõjutab testi sooritust. Neuropeptiid S (NPS) ja selle retseptor *NPSR1* moodustavad transmittersüsteemi, mis moduleerib aktivatsiooni ning ärevust. Loomadel suureneb NPSi manustamise järel liikumisaktiivsus, mida saab tõlgendada impulsiivsuse väljendusena. Inimeste puhul võimendavad *NPSR1* T-alleeli kandjatel impulsiivsust ning hüperaktiivsust stressirikkad elusündmused. Käesolevas töös uuriti *NPSR1* A/T polümorfismi koosmõju stressirikaste elusündmuste ning sooga Wisconsin kaarditesti tulemustele. Kovariaatidena võeti arvesse eneseraporteeritud impulsiivsust ning vaimset võimekust, mida mõõdeti Raveni testi abil. Kasutati ELIKTU noorema kohordi andmeid aastast 2007, kui osalejad olid 18 aastased (n=417). Leiti, et TT genotüübiga poisid sooritavad kaarditesti A-alleeliga poistest halvemini ( $p<0,05$ ), tüdrukute testitulemused ei sõltunud A/T polümorfismist. *NPSR1* mõjutas testitulemusi rohkem stressirikkaid elusündmusi kogunud noorte puhul ( $p<0,05$ ), TT genotüübiga isikud andsid kõige vähem õigeid vastuseid. Impulsiivsuse arvesse võtmine ei mõjutanud tulemusi, kuid Raveni testi skoorid seletasid ära *NPSR1* ja soo koosmõju testitulemustele.

Märksõnad: *NPSR1* funktsionaalne polümorfism, stressirikkad elusündmused, Wisconsin kaarditest, impulsiivsus, vaimne võimekus

## **Abstract**

### *The effect of NPSR1 A/T polymorphism on performing a Wisconsin Card Sorting Test*

Wisconsin Card Sorting Test is a behavioural test, widely used when measuring cognitive abilities, and is associated with impulsivity. NPS and its receptor NPSR1 constitute a transmitter system that modulates arousal and anxiety. In animal studies, administration of NPS increases locomotor activity, which can be interpreted as an expression of impulsivity. In humans, stressful life events increase impulsivity and hyperactivity more on *NPSR1* T-allele carriers. In the present study interactions of *NPSR1* A/T polymorphism with stressful life events and with gender were studied. Self-reported impulsivity and mental ability were taken into account as covariates. The data was collected in 2007 from the younger cohort of ELIKTU, when the participants were 18 years old (n=417). Boys with the TT genotype performed worse on the Wisconsin Card Test than boys with A-allele ( $p<0,05$ ). Test results for girls were not dependent on A/T polymorphism. In case of more encountered stressful life events, the number of correct answers were dependant on the *NPSR1* genotype: subjects with the TT genotype gave the least amount of correct answers ( $p<0,05$ ). When considering impulsivity as a covariate in *NPSR1* and gender interaction, the results did not differ, but the results from Ravens progressive matrixes test explained the effects of the interaction of gender and genotype.

Keywords: *NPSR1* functional polymorphism, Stressful life events, Wisconsin Card Sorting Test, Impulsivity, Mental Ability

## Sissejuhatus

Käesoleva uurimuse eesmärk on uurida neuropeptiid S retseptori genotüübi (*NPSR1*) A/T polümorfismi seost Wisconsin kaarditesti tulemustega.

Neuropeptiid S (NPS) ja selle retseptor *NPSR1* moodustavad transmittersüsteemi, mis moduleerib bioloogilisi funktsioone nagu ärevus, erutus, liikumine, toidutarbimine, mälu ning sõltuvuse teke. *NPSR1* mRNA leidub nii ajukooses, *olfactory nucleus* es, taalamuses, hüpotaalamuses, amügdalas ning hippokampuses (Guerrini, 2010).

NPSi manustamine rottidele ning hiirtele stimuleerib liikumist, suurendab ärksust ja vähendab peitmiskäitumist koos teiste ärevusega seotud käitumistega (Leonard jt. 2008, Xu jt. 2004). Lisaks hõlbustab NPS hirmuga seotud mälestuste kustutamist (Lukas ja Neumann, 2012). NPSi hakati tema omaduste tõttu nimetama „aktiveerivaks anksiolüütikuks“ (Guerrini, 2010). NPSi mõju rottidele on võrreldud nikotiini mõjuga regulaarsete suitsetajatele – see rahustab, vähendab stressiilminguid, suurendades samal ajal virgust ja aktiivsust.

Loomadega tehtud katsed viisid uurijad oletusele, et aktiivsem NPS süsteem võiks olla seotud kõrgema aktivatsioonitasemega ka inimestel, ning see on praeguseks ka kinnitust leidnud. *NPSR1* geeni rs324981 funktsionaalsel polümorfismil on kaks alleeli, T ja A. T-alleeli seostatakse kõrgema ärevustundlikkusega ja T-alleel koos aktiivsema NPS süsteemiga on seotud kõrgema aktivatsioonitasemega, mis avaldub kõrgemas südamelöögisageduses, tugevamas reaktsioonis vastumeelsetele stiimulitele, kõrgemas paanikahäirete sageduses (Domschke jt. 2011, Okamura jt. 2007), lisaks ka hilisemas magamaminekuajas (Gottlieb, O'Connor, Wilk, 2007). *NPSR1* T-alleeli kandjad on tundlikumad hirmuga seotud stiimulite suhtes (Dannlowski jt. 2011), millega kaasneb kõrgem aktiivsus amügdalas ning rostraalses dorsomediaalses prefrontaalkorteksis (Raczka jt. 2010).

Kõrgem aktivatsioonitase võib viia impulsiivse käitumiseni, on seotud hüperaktiivsuse ning erinevate impulsiivsusega seotud aspektidega. Keskkonnatingimused mõjuvatavad käitumist bioloogiliste soodumustega koos: hüpeaktiivsus ning aktiivsus-tähelepanuhäired (ATH) võivad osaliselt tuleneda geneetilisest materjalist, kuid avalduda vastavalt keskkonnale (Kiive jt. 2010). On uuritud geeni-keskkonna koosmõjusid ATH avaldumisele ning leitud, et soodsad keskkonnatingimused vähendavad riskigeenide avaldumist, kuid võimalik on ka vastupidine, kus ebasoodsad väliskeskkonna mõjud hõlbustavad geeni avaldumist (Rutter jt. 2006).

Leitud on ka aktiivsus-tähelepanuhäirega seotud sümptomite suurem avaldumine TT homosügootsete meeste hulgas ning rohkemate **stressirikaste elusündmuste** (ik *stressful life events*, SLE) puhul kõrgem impulsiivsus ning hüperaktiivsuse tase mõlemast soost katseisikute puhul (Laas jt. 2014b). Erineva NPSR1 genotüübiga isikud reageerivad keskkonnateguritele erinevalt. Kui TT genotüüp on vastuvõtlikum stressirikastele elusündmustele, siis AA genotüübiga inimesi mõjutavad rohkem peresuhted – toetavate peresuhete korral esineb kõrgem adaptiivne ning madalam maladaptiivne impulsiivsus (Laas jt. 2014b).

**Impulsiivsus** on mitmedimensiooniline konstrukt, mis hõlmab kognitiivsete protsesside vajakajäämisi, täpsemalt suutmatust pärssida tekkinud reaktsiooni, informatsiooni liiga kiiret ning pealiskaudset töötlemist, võimetust lükata edasi naudingut ning suundumust elada hetke nimel ilma tulevikule või oma tegude tagajärgedele mõtlemata (Leshem ja Glicksohn, 2012). Otsuse tegemine on keeruline kognitiivne protsess, mis hõlmab ka otsuse tegemisele eelneva valiku tegemist (Buelow ja Suhr, 2009). Impulsiivsete tegutsejate käitumisele ei eelne põhjalikku poolt- ja vastuargumentide analüüsi, nad ei arutle oma tegude võimalike tagajärgede üle, tegutsetakse tihti enne kaalutletud otsuse langetamist (Leshem ja Glicksohn, 2012). Käesolevas töös on impulsiivsuse mõõdikuks Adaptiivse ja Maladaptiivse Impulsiivsuse skaala ehk AMIS (Paaver jt, 2006). Eelnevalt on leitud seos T-alleeli ning AMISe kõrgema skoori vahel (Laas jt. 2015) ja tuvastatud TT genotüübiga isikute impulsiivsem käitumine (Laas, 2014a).

Impulsiivsusega on seotud **Wisconsin kaardisorteerimistest** ehk WCST, mis töötati välja mõõtmaks inimese võimet muutuvate tingimuste puhul informatsiooni erinevalt töödelda (ik *shifting cognitive set and categorization*) (Grant ja Berg, 1948). Hiljem tehtud uurimustes leiti, et frontaalsagara kahjustusega inimeste testisoorituse tulemused erinevad kontrollgrupi omadest (Milner, 1963). Impulsiivse kontrolli, planeerimise ning teiste kognitiivsete funktsioonide muutust juhib nn. „kognitiivse kontrolli võrgustik“, mis hõlmab lateraalset prefrontaalkoort, parietaalkoort ning osi anterioorsest vöökäärust, mis areneb järk-järgult pikema perioodi vältel kuni noorema täiskasvanueani (Steinberg jt. 2008). WCST tulemusi saab seostada impulsiivsuse kognitiivse dimensiooni, õppimise juures tehtavate vigade ning otsuste tegemise võimega (Leshem ja Glicksohn, 2012). WCST sooritamisega suureneb dorsolateraalne prefrontaalkoore (DLPFC) aktiivsus. DLPFC tööks on täidesaatvate funktsioonide nagu tähelepanu fookuse suunamise, õppimise, eriolukordades muutustega toime tulemise ning õige reaktsiooni valimise koos sobimatu väljajätmisega ja tuleviku planeerimise juhtimine

(Leshem ja Glicksohn, 2012). WCST sooritamisel mängivad oma rolli nii kõrgemad kui madalamad infotöötlusprotsessid ning see on viinud vaidlusteni, kas WCST on usaldusväärne mõõtmaks puhtalt frontaalsagaras toimuvat, kuna planeeritud tegevuse korral on aktiivsed ka teised ajuosad. Samas teeb WCST kompleksne olemus oma seotusega frontaalsagara aktiivsusega sellest hea vahendi mõõtmaks üldisi täidesaatvaid funktsioone (Godinez, 2012). Testi sooritus hõlmab nii tegevuse planeerimist kui eesmärgistatud tegevuse elluviimist (Chou jt. 2010).

Varem ei ole WCST sooritust *NPSRI* polümorfismidega seostatud, kuid eelnevat arvesse võttes on alust arvata, et kaarditesti tulemused sõltuvad stressirikaste elusündmuste ja *NPSRI* A/T polümorfismi koosmõjust.

Kuna kaarditesti tulemused võivad olla mõjutatud ka teistest muutujatest, nende hulgas vastaja vaimne võimekus ja impulsiivsus, siis võtan oma töös kovariaatidena arvesse eneseraporteeritud impulsiivsust (Adaptiivse ja Maladaptiivse impulsiivsuse skaala; Paaver jt. 2006) ja Raveni testi (Raven, Raven, & Court, 1998) tulemusi.

Oma töös kontrollin võimalikku seost stressirikaste elusündmuste, *NPSRI* A/T polümorfismi ning Wisconsin kaarditesti tulemuste vahel. Esitan alljärgnevad hüpoteesid:

1. *NPSRI* seosed WCST tulemustega sõltuvad soost.
2. TT genotüübiga poisid sooritavad testi kehvemini kui A-alleeliga poisid.
3. TT geenivariandiga isikud sooritavad WCST halvemini, kui nad on kogenud rohkem stressirikkaid elusündmusi.
4. Impulsiivsuse ja vaimse võimekuse kovariaatidena arvesse võtmisel muutuvad *NPSRI* genotüübi seosed testisooritusega ebaolulisteks.

## **Meetodid ja uurimistöö vahendid**

### **Valim**

Kasutan oma töös Eesti laste isiksuse, käitumise ja tervise longituuduuringu (ELIKTU) noorema kohordi andmeid (Harro jt. 2001).

1998. aasta septembrist kuni 1999. aasta juunini koguti Tartus ning Tartu maakonnas kokku 545 9-aastase lapse ning 584 15-aastase nooruki andmed. Vanused valiti kiirete muutuste perioodi – puberteedi alguse ning lõpu järgi. Kutsed uuringus osaleda saadeti kokku 25 linna-

ning maakonnakooli 1486le 9- ja 15-aastasele lapsele, kellest 1129 uuringus vanemate nõusolekul osalesid. Kasutan töös noorema kohordi andmeid aastatest 2004 ja 2007, kui uuritavad olid vastavalt 15- ja 18-aastased: Wisconsin kaarditest viidi 417 osalejaga (235 tüdrukut ja 182 poissi) läbi 18-aastaselt, stressirikkaid elusündmusi olid nad raporteerinud 15-aastaselt.

### **Stressirikkad elusündmused**

Stressirikkad elusündmused (ik. *stressful life events*, SLE) käesolevas uuringus on eneseraporteeritud 15-aastaselt ning küsimused hõlmasid teemasid nagu vanemate surm, perekonna purunemine, vanemate töö kaotamine, alkoholism perekonnas, vaesus, enda ning lähedaste tervisehäired, õnnetused ja traumad, füüsiline ja vaimne väärkohtlemine, enesetapukatsed, kodunt lahkumine ilma sellest teatamata, lähedase depressioon ning suitsiid (Reif jt. 2011).

Stressirikaste elusündmuste skoor oli märgitud 367–l katseisikul, nende seas 157 poissi ja 210 tüdrukut. Tulemuste mediaani alusel jaotati vastajad kaheks: 201–l neist jäi SLE skoor vahemikku 0-2 ning 166 vastaja tulemuseks oli 3-17.

### **Wisconsin kaardisorteerimistest**

Wisconsin kaardisorteerimistest ehk WCST (Berg, 1948) on üks laiemalt kasutusel olevatest testidest täidesaatvate funktsioonide uurimisel nii kliinilises- kui eksperimentaalpsühholoogias (Godinez jt, 2012; Barcelo, 2001). Testi sooritaja ülesandeks on jagada kaarte ükshaaval kolme erineva kategooria alusel. Kategooriad on kaardil olevate kujundite värv, arv ning kuju. Ülesande keerukus seisneb selles, et katse sooritaja ei tea, millise kategooria alusel ta kaarte sorteerima peab – õppimine toimub tagasiside abil, milleks on iga kaardisorteerimise juures kas negatiivne või positiivne vastus. Sooritajale on teada, et sorteerimistingimus muutub peale teatud arvu kaartide õigesse kategooriasse asetamist kuni esimesese negatiivse tagasisideni. Seejärel tuleb uus kategooria selgeks õppida vastavalt saadavale tagasisidele ning vastata ka järgmise kategooria puhul järjest õigesti sama arvu kaartide puhul. Ülesanne on sooritatud, kui katseisik läbib edukalt kaheksa kategooriat või kui ära on kasutatud kõik 128 kaarti (Godinez jt. 2012). Testi arvutiversiooni salvestatud andmeteks, mida oma töös kasutan, on katsete arv, õigete ja valede vastuste arv ning protsendid ja sooritatud kategooriate arv. Kaheksa kategooriat sooritas edukalt 227, 128 või vähem katseid tegi 165 vastajat, keskmine õigete vastuste arv oli  $59,75 \pm 0,56$ , valesid vastuseid anti keskmiselt  $46,60 \pm 1,04$ , keskmine õigete vastuste protsent oli  $58,01 \pm 0,61$ .

Keskmiselt sooritati  $6,94 \pm 0,13$  kategooriat. Keskmised tulemused on toodud kujul keskmine  $\pm$  standardhälve (SD). Kaarditest sooritati aastal 2007, mil osalejad olid 18-aastased.

### ***NPSR1* genotüüp**

*NPSR1* A/T genotüübi jaotumine on erinevates etnilistes gruppides erinev: leitud on, et jaapanlaste seas esineb TT genotüüpi palju tihedamini kui sakslaste seas (Okamura jt. 2007). Eestlaste puhul on AA ning TT jaotumine populatsioonis võrdne, moodustades kumbki ühe veerandi ning AT geenivarianti kannab umbes pool eestlastest (Laas, 2014a). Käesoleva töö andmete jaoks on genotüüp (funktsionaalne *NPSR1* rs324982 A/T Asn 107Ile polümorfism) määratud tavapärase DNA polümeraasi ahelreaktsiooni abil. Meetodit on kirjeldatud täpsemalt Domschke jt. 2011 aasta artiklis. *NPSR1* alleelide jaotumine valimis vastab Hardy-Weinbergi tasakaaluseadusele. 213 vastajat olid AT, 108 AA ning 96 TT genotüübiga.

### **Kovariaadid**

#### **Impulsiivsus**

Käesolevas uuringus on impulsiivsuse mõõdikuks enesekohane hinnanguskaala Adaptive and Maladaptive Impulsivity Scale (AMIS; Paaver jt. 2006). AMISega mõõdetud impulsiivsuse skoor tuleneb 24 sõnalise väite hindamisest enda kohta viiepallisel Likerti skaalal. AMISe alaskaalade abil eristatakse kiiret otsustusvõimet ja elamustejanu kirjeldavat Adaptiivset impulsiivsust ning mõtlematust ning käitumise pidurdavaid mehhanisme mõõtvat Maladaptiivset impulsiivsust (Laas jt. 2010), mina kasutan oma töös kovariaadina 18-aastaselt raporteeritud AMISe üldskoori.

#### **Vaimne võimekus**

Teise kovariaadina arvestan tulemustes vaimset võimekust, mida mõõdeti Raveni testi abil. Raveni progresseeruvate maatriksite test on valikuvõimalustega üldintelligentsustest, mille töötas välja Dr. John C. Raven aastal 1936. Testi soorituse edukus viitab võimele loogiliselt mõelda ning oskusele säilitada ning kasutada õpitut. Test koosneb ülesannetest, mis on järjestatud keerukuse alusel ning kus vastajal tuleb leida seos abstraktsete elementide vahel. Minu töös kasutatavad Raveni testi tulemused pärinevad aastast 2004, mil osalejad olid 15-aastased.

#### **Andmeanalüüsi meetodid**

Kasutan oma töös kahe- ning ühefaktorilist dispersioonanalüüsi (ANOVA ja ANCOVA), keskväärtuste erinevuste selgitamiseks Post Hoc testi (LSD), kovariaatidena võtan arvesse AMISe ja Raveni testi tulemusi. Efekti suurusena esitan  $\eta^2$  (*Partial Eta Squared*). Esitan oma

töös keskmised väärtused kujul keskmine  $\pm$  standardhälve. Lisaks uurin pidevtunnuste vahelisi seoseid Pearsonin korrelatsioonianalüüsi abil ning kategoriaalsete muutujate võrdlusel Pearsoni Hii-Ruut statistikut. Kasutasin töös IBM SPSS Statistics 20 programmi tudengiversiooni.

## Tulemused

### **WCST, SLE, impulsiivsus ja vaimne võimekus**

Tüdrukute ja poiste kaarditesti sooritus ei esinenud statistiliselt olulisi erinevusi ( $p > 0,05$ ) üheski testikategoorias. Ka ei esinenud statistiliselt olulisi erinevusi testitulemuste ja SLE skooride vahel ( $p > 0,05$ ). Poiste ja tüdrukute testitulemusi eraldi vaadates ei esinenud olulist seost SLE skoorides ega ka SLE ja testitulemuste vahel ( $p > 0,05$ ). Wisconsin kaarditesti sooritus ei sõltunud seega otseselt SLE skoorist.

Impulsiivsus ei esinenud sugude vahel statistiliselt olulisi erinevusi [ $F(1;414)=0,14$ ;  $p=0,707$ ;  $\eta^2 < 0,001$ ]. SLE on seotud impulsiivsuselga [ $F(1; 364)=12,7$ ;  $p < 0,001$ ;  $\eta^2=0,034$ ]. Madalama SLE skoori puhul oli vastajate keskmine impulsiivsusel tase  $74,15 \pm 11,91$ , kõrgema taseme puhul  $78,07 \pm 11,54$ .

Enesekohane impulsiivsus ei erinenud genotüübiti olulisel määral [ $F(2;413)=0,03$ ;  $p=0,975$ ;  $\eta^2 < 0,001$ ]. Raveni testi tulemused ei olnud samuti otseselt genotüübiga seotud [ $F(2;338)=2,12$ ;  $p=0,122$ ;  $\eta^2=0,012$ ], kuid oluline on märkida ära statistiliselt mitteoluline trend, et TT genotüübiga vastajate keskmine Raveni testi tulemus oli madalam kui AA ja AT puhul, TT keskmine oli  $16,66 \pm 0,52$ ; AA keskmine  $17,59 \pm 0,38$  ja AT keskmine Raveni testi tulemus oli  $17,42 \pm 0,29$ . Hii-ruut test näitas seose puudumist *NPSRI* ja SLE vahel [ $X^2(2, N = 367) = 0,27$ ;  $p = 0,872$ ].

Vaimses võimekusel ei esinenud soolisi erinevusi [ $F(1;339)=1,27$ ;  $p=0,261$ ;  $\eta^2=0,004$ ]. Poiste keskmine Raveni testi tulemus oli  $16,94 \pm 0,37$  ja tüdrukute keskmine  $17,44 \pm 0,26$ . Vaimne võimekus oli seotud kõikide testitulemustega peale õigete vastuste arvu. Korrelatsioon ei olnud kuigi tugev, jäädes iga kord alla 0,3, kuid kõrgem vaimne võimekus oli seotud parema testisooritusega, mis tähendab väiksemat tehtud katsete ja valede vastuste arvu, suuremat õigete vastuste protsenti ning rohkem sooritatud kategooriaid. Impulsiivsus ning vaimne võimekus ei korreleerunud olulisel määral (Tabel 1).

**Tabel 1** Pearsoni korrelatsioonid vaimse võimekuse, impulsiivsuse ja testitulemuste vahel

		Katsete arv	Õigete vastuste arv	Valede vastuste arv	Õigete vastuste protsent	Sooritatud kategooriate arv	Vaimne võimekus	Impulsiivsus
Katsete arv	Korrelatsioon	1	0,420 <sup>***</sup>	0,874 <sup>***</sup>	-0,672 <sup>***</sup>	-0,427 <sup>***</sup>	-0,231 <sup>***</sup>	-0,056
	N	417	417	417	417	417	341	416
Õigete vastuste arv	Korrelatsioon	0,420 <sup>***</sup>	1	-0,074	0,369 <sup>***</sup>	0,530 <sup>***</sup>	0,035	-0,002
	N	417	417	417	417	417	341	416
Valede vastuste arv	Korrelatsioon	0,874 <sup>***</sup>	-0,074	1	-0,936 <sup>***</sup>	-0,754 <sup>***</sup>	-0,282 <sup>***</sup>	-0,060
	N	417	417	417	417	417	341	416
Õigete vastuste protsent	Korrelatsioon	-0,672 <sup>***</sup>	0,369 <sup>***</sup>	-0,936 <sup>***</sup>	1	0,862 <sup>***</sup>	0,279 <sup>***</sup>	0,043
	N	417	417	417	417	417	341	416
Sooritatud kategooriate arv	Korrelatsioon	-0,427 <sup>***</sup>	0,530 <sup>***</sup>	-0,754 <sup>***</sup>	0,862 <sup>***</sup>	1	0,233 <sup>***</sup>	0,055
	N	417	417	417	417	417	341	416
Vaimne võimekus	Korrelatsioon	-0,231 <sup>***</sup>	0,035	-0,282 <sup>***</sup>	0,279 <sup>***</sup>	0,233 <sup>***</sup>	1	0,071
	N	341	341	341	341	341	341	340
Impulsiivsus	Korrelatsioon	-0,056	-0,002	-0,060	0,043	0,055	0,071	1
	N	416	416	416	416	416	340	416

\*\*\* Korrelatsioon on statistiliselt oluline tasemel  $p < 0,001$

### NPSR1 seosed testisooritusega

WCST tulemuste ja NPSRI vahel ei esinenud statistiliselt olulisi seoseid (Tabel 2). Ka kovariaatide arvesse võtmine ei muutnud olulisel määral tulemusi (pole näidatud).

**Tabel 2** NPSRI seos testitulemustega. Vabaduseastmete arv on 2.

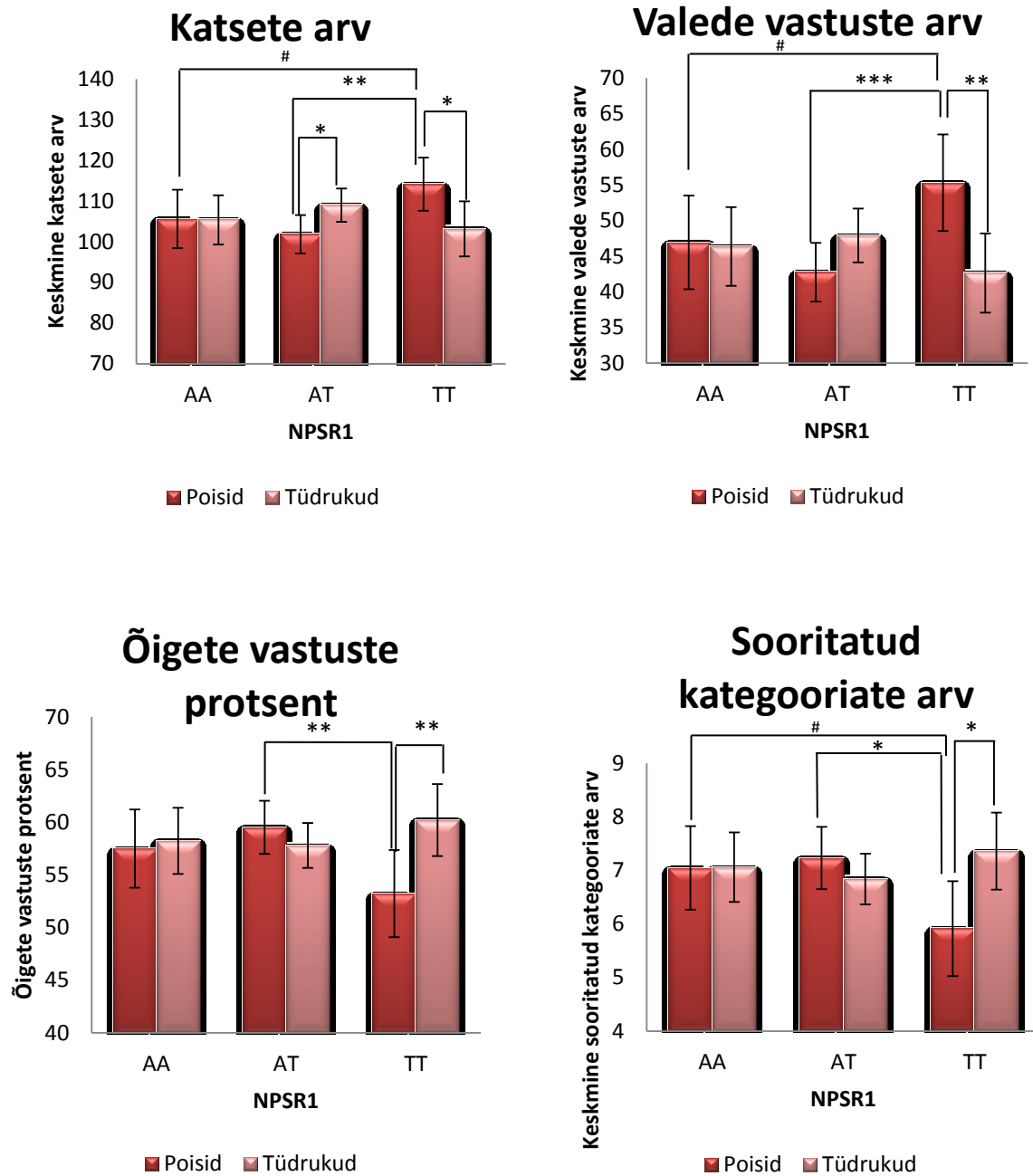
WCST	F	<i>p</i>	$\eta^2$
Katsete arv	0,51	0,603	0,002
Õigete vastuste arv	0,48	0,617	0,002
Valede vastuste arv	0,69	0,502	0,003
Õigete vastuste protsent	0,62	0,538	0,003
Sooritatud kategooriate arv	0,67	0,513	0,003

### NPSR1 × Sugu koosmõju testitulemustele

Geenivariandi ja soo interaktsiooni ning WCST tulemuste vahel esines statistiliselt olulisi seoseid kõikide testitulemuste puhul peale õigete vastuste arvu (Joonis 1 ja tabelid 3 ja 4). Interaktsiooni mõju jäi püsima ka impulsiivsust kovariaadina arvestades, kuid seos muutus statistiliselt ebaoluliseks, kui kovariaadiks oli vaimne võimekus (Tabel 3).

**Tabel 3** NPSRI ja soo interaktsiooni mõju WCST tulemustele. Vabaduseastmete arv on 2. Paksemas kirjas on olulised seosed.

WCST	NPSRI x Sugu			NPSRI x Sugu Impulsiivsust kovariaadina			NPSRI x Sugu Vaimne võimekus kovariaadina		
	F	<i>P</i>	$\eta^2$	F	<i>p</i>	$\eta^2$	F	<i>p</i>	$\eta^2$
Katsete arv	5,10	<b>0,006</b>	0,024	5,29	<b>0,005</b>	0,025	2,45	0,084	0,015
Õigete vastuste arv	0,18	0,832	0,001	0,20	0,822	0,001	0,06	0,939	0,000
Valede vastuste arv	5,90	<b>0,003</b>	0,028	6,17	<b>0,002</b>	0,029	2,84	0,06	0,017
Õigete vastuste protsent	4,09	<b>0,017</b>	0,020	4,26	<b>0,015</b>	0,020	1,44	0,237	0,009
Sooritatud kategooriate arv	3,89	<b>0,021</b>	0,019	4,12	<b>0,017</b>	0,020	2,17	0,116	0,013



**Joonis 1** NPSR1 × sugu koosmõju Wisconsin kaarditesti tulemustele. Olulised seosed on joonisel kujutatud tärnidega, # -  $p < 0,09$ ; \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$ . Vertikaalsed kitsad jooned tulpade peal tähistavad 95% usalduspiire (95%CI).

Lisaanalüüs näitas, et seos *NPSR1* ja testitulemuste vahel esines üksnes poisie puhul, tüdrukute testitulemused ei sõltunud genotüübist (Tabel 4). Erinevused tulemustes jäid püsima ka enesekohast impulsiivsust arvesse võttes ning muutusid statistiliselt ebaolulisteks, kui arvestasin kovariaadina Raveni testi tulemusi (ei ole näidatud).

**Tabel 4** *NPSR1* seos WCST tulemustega poisie ja tüdrukute puhul eraldi. Paksemas kirjas on olulised seosed.

WCST	Poisid			Tüdrukud		
	F	<i>p</i>	$\eta^2$	F	<i>p</i>	$\eta^2$
Katsete arv	4,50	<b>0,012</b>	0,048	1,25	0,290	0,011
Õigete vastuste arv	0,02	0,981	0,000	0,74	0,477	0,006
Valede vastuste arv	5,49	<b>0,005</b>	0,058	1,11	0,332	0,009
Õigete vastuste protsent	3,83	<b>0,023</b>	0,041	0,71	0,495	0,006
Sooritatud kategooriate arv	3,56	<b>0,031</b>	0,038	0,72	0,490	0,006

TT genotüübiga poisid tegid WCST sooritusel kõige rohkem katseid, nende keskmine valede vastuste arv oli kõige suurem, õigete vastuste protsent väikseim ning nad läbisid keskmiselt kõige vähem kategooriaid (Joonis 1). TT genotüübi puhul sõltusid WCST tulemused soost kõige enam.

Võrreldes poisitel TT homosügootsete vastajate testitulemusi A-alleeliga vastajate omadega, paistavad olulised erinevused veelgi enam välja (Tabel 4a).

**Tabel 4a** Erinevused poisie testitulemustes *NPSR1* TT genotüübi ning A-alleeliga vastajate seas. Paksemas kirjas on olulised seosed.

WCST	F	<i>p</i>	$\eta^2$
Katsete arv	8,22	<b>0,005</b>	0,044
Õigete vastuste arv	0,00	0,916	0,000
Valede vastuste arv	9,82	<b>0,002</b>	0,052
Õigete vastuste protsent	6,93	<b>0,009</b>	0,037
Sooritatud kategooriate arv	7,02	<b>0,009</b>	0,038

**NPSR1 × SLE koosmõju testitulemustele**

Geenivariandil ja SLE skooril oli statistiliselt oluline koosmõju WCST õigete vastuste arvule (Tabel 5 ja joonis 2). Tulemus jäi oluliseks ka enesekohast impulsiivsust ning vaimset võimekust kovariaatidena arvestades (Tabel 5).

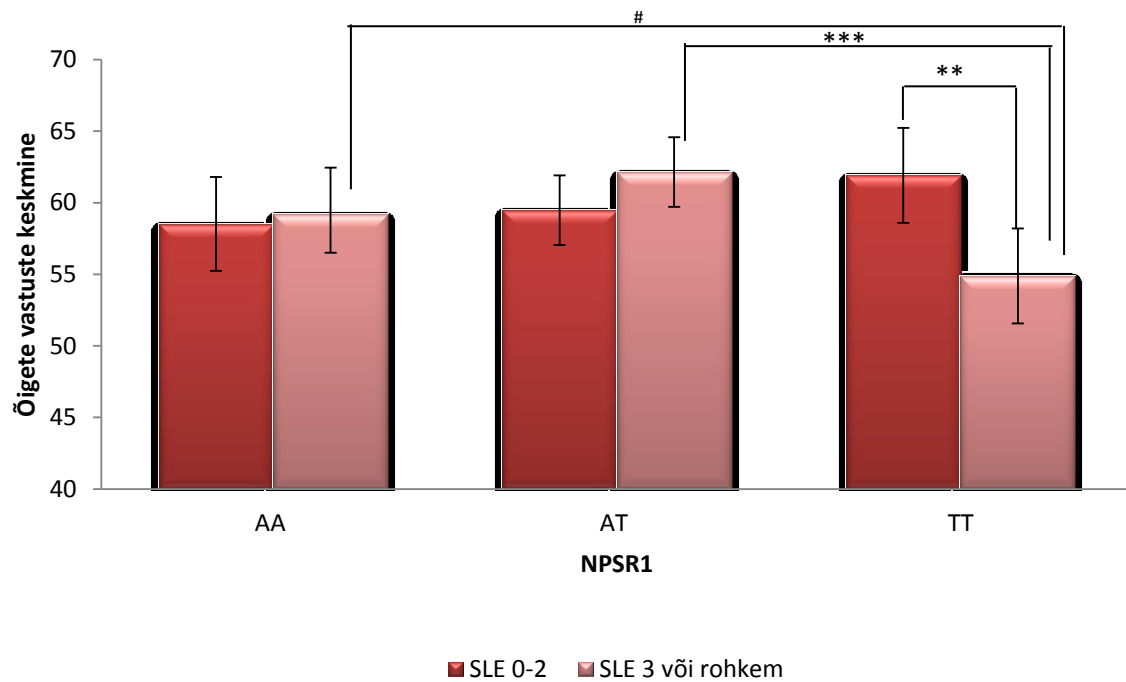
Kui võrrelda õigete vastuste arvu TT genotüübiga isikute ja A-alleeliga uuritavate vahel, siis tulevad TT genotüübiga isikute erinevused testisoorituses veelgi tugevamalt välja [F(1; 363)=9,95,  $p=0,002$ ,  $\eta^2 = 0,027$ ].

**Tabel 5** NPSR1 × SLE koosmõju WCST tulemustele. Vabaduseastmete arv on 2. Paksemas kirjas on olulised seosed

WCST	NPSR1 x SLE			NPSR1 x SLE Impulsiivsus kovariaadina			NPSR1 x SLE Vaimne võimekus kovariaadina		
	F	<i>p</i>	$\eta^2$	F	<i>p</i>	$\eta^2$	F	<i>p</i>	$\eta^2$
Katsete arv	1,91	0,150	0,010	2.16	0,117	0,012	0,96	0,386	0,006
Õigete vastuste arv	5,20	<b>0,006</b>	0,028	5.37	<b>0,005</b>	0,029	6.20	<b>0,002</b>	0,036
Valede vastuste arv	0,25	0,778	0,001	0,38	0,686	0,002	0,10	0,904	0,001
Õigete vastuste protsent	0,53	0,592	0,003	0,58	0,558	0,003	1.45	0,236	0,009
Sooritatud kategooriate arv	0,27	0,767	0,001	0,30	0,740	0,002	0,99	0,373	0,006

SLE madalama skooriga testi sooritajate õigete vastuste arv ei sõltunud genotüübist [F(2;198)=1,082;  $p=0,341$ ;  $\eta^2=0,011$ ], oluline erinevus õigete vastuste tulemustes genotüübi esines kõrgema SLE skooriga vastajate seas [F(2;163)=5,99;  $p=0,003$ ;  $\eta^2=0,068$ ] (Joonis 2).

## NPSR1 x SLE koosmõju õigete vastuste arvule



**Joonis 2** Genotüübi ja stressirikaste elusündmuste koosmõju õigete vastuste arvule. Vertikaalsed kitsad jooned tulpade peal tähistavad 95% usalduspiire (95%CI). #  $p=0,079$ ; \*\* -  $p<0,01$ ; \*\*\* -  $p<0,001$

## Arutelu

Käesoleva töö alguses püstitasin neli hüpoteesi, mis leidsid kõik vähemalt osaliselt kinnitust. Kooskõlas esimese hüpoteesiga leidis tõestust see, et *NPSR1* seosed Wisconsin kaarditesti tulemustega sõltuvad soost, täpsemalt sõltuvad statistiliselt olulisel määral soost kaarditesti tehtud katsete arv, valede vastuste arv, õigete vastuste protsent ning sooritatud kategooriate arv. Vastavalt teisele püstitatud hüpoteesile sooritasid TT genotüübiga poisid kaarditesti halvemini A-alleeliga poistest ning nii A- kui T-alleeliga tüdrukutest. TT genotüübiga poisid tegid kaarditestis kõige rohkem katseid, sellega koos oli nende valede vastuste üldarv kõige suurem ning õigete vastuste protsent kõige väiksem. Tulemuseks oli väikseim sooritatud kategooriate arv, kuna kaarditest lõpetatakse 128 katse järel hoolimata sellest, kui palju kategooriaid selleks hetkeks sooritatud on. TT genotüübiga vastajate tulemused olid ka vastavalt kolmandale püstitatud hüpoteesile kõige enam mõjutatud stressirikaste elusündmuste määra. Kõrgema SLE skoori ning TT genotüübiga vastajate keskmine õigete vastuste arv oli oluliselt madalam väiksema SLE skooriga vastajate ning A-alleeliga vastajate õigete vastuste arvust. Neljandaks püstitatud hüpoteesiks oli, et kovariaatide arvesse võtmisel muutuvad *NPSR1* genotüübi seosed testisooritusega ebaolulisteks. See hüpotees leidis kinnitust vaid geenivariandi ning soo interaktsiooni puhul, kus Raveni testi tulemused seletasid ära tulemuste erinevused. Püsima jäid olulised erinevused sugudevahelises võrdluses impulsiivsust kovariaadina arvestades ning mõlema kovariaadi puhul stressirikaste elusündmuste skoori ning geenivariandi interaktsioonis.

Enesekohane impulsiivsus seega soolisi erinevusi tulemustes ei selgitanud, AMISE tulemust kovariaadina arvestades muutus erinevuste statistiline olulisus veelgi suuremaks, kuid vaimset võimekust mõõtvat Raveni testi tulemusi arvesse võttes kahanesis erinevused ebaolulisteks. Üheks võimalikuks põhjuseks sellise tulemuse puhul võib pidada apekti, et Raveni test on oma olemuselt pigem sarnane Wisconsin kaarditestile kui AMISE küsimustikule. Raveni testi sooritamine nõuab sarnaselt kaarditestile suurel määral fookuse hoidmist, tähelepanu suunamist muutuvate tingimuste puhul ning püsivust terve test läbida. AMISE küsimustele vastates aga nii palju pingutama ei pea, sest õigeid-valesid vastuseid ei ole – siin analüüsitakse endale meeldivaid tegevusi ning olukordi (nt. *Mulle meeldib end proovile panna tundmatutes olukordades*) ning hinnatakse enda võimalikku käitumist erinevates situatsioonides (nt. *Mõnikord teen ma midagi mõtlematut, mida hiljem kahetsen*) ning vastuste seas on ka võimalus „raske öelda“.

Üks võimalik põhjus, miks TT genotüübiga poisid Wisconsin ja Raveni testi halvematele tulemustele sooritasid, võib seisneda ajuaktivatsiooni taseme erinevustes kognitiivsete ülesannete lahendamisel. Üldiselt ei ole tüdrukute ja poiste viisid ülesandeid lahendada samasugused (nt. Bell jt., 2006, Xu jt., 2015), kasutatakse erinevaid viise lahendusteni jõudmisel, ning ülesande ülesehitusest oleneb ka soorituse edukus. Aju aktivatsiooni erinevate ülesannete lahendamisel on eelnevalt palju uuritud, leitud on, et kognitiivseid ülesandeid täites on meessoost isikute ajuaktivatsioon teatud piirkondades kõrgem (Bell, 2006). On teada, et TT genotüübiga uuritavatel on üldine aktivatsioonitase kõrgem kui A-alleeliga uuritavatel (Domschke jt. 2011), ka kaasneb TT genotüübiga suurem ärevustundlikkus (Domschke jt. 2011, Okamura jt. 2007) ning eriti poiste puhul ka impulsiivsus (Laas jt., 2014a), mis kõik mõjutavad testisooritust.

Üheks püstitatud hüpoteesidest oli, et TT geenivariandiga isikud sooritavad Wisconsin kaarditesti halvemini, kui nad on kogenud rohkem stressirikkaid elusündmusi. See hüpotees leidis kinnitust ühes Wisconsin kaarditesti kategoorias, kus kõrge SLE skooriga TT genotüübiga testisooritajad said tulemuseks oluliselt vähem õigeid vastuseid kui vähem stressirikkaid elusündmusi kogenud TT genotüübiga isikud ja A-alleeliga uuritavad. Erinevused esinesid siiski üksnes ühes viiest Wisconsin kaarditesti kategooriast, õigete vastuste arvus. Seose olulisus kasvas nii impulsiivsust kui vaimset võimekust arvesse võttes. Võimalikke põhjuseid, miks need erinevused esinesid ning üksnes õigete vastuste arvus, võiks uurida seoses kaarditesti praegu mõõtmata jäänud tulemustega (nende seas püsivate vigade määr, vt allpool), SLE on TT genotüübiga isikute puhul varasemas uuringus seostatud maladaptiivse impulsiivsusega, seega oli käesoleva uuringu puhul TT genotüübiga isikute kehvem testisooritus kõrgema SLE puhul oodatav tulemus.

Wisconsin kaarditesti soorituse hindamisel on kasutusel mitmeid erinevaid mõõdikuid, üheks neist ka püsivate vigade määr (ik. *number of perseverative errors*), mida mina oma uuringus eraldi ei vaadelnud. Eelnevates uuringutes on leitud seos WCST püsivate vigade ning impulsiivsuse vahel, kuid üksnes gruppides, kes käitumuslikes testides (WCST ja Iowa Gambling Test) oma strateegiaid ei muuda (nn. *non-learning group*) (Leshem ja Glicksohn, 2012). Erinevate testi mõõdikute lisamine edasistesse uuringutesse võib viia täpsema arusaamiseni sellest, mil moel osalejad testi sooritavad ning millised omadused testisooritust mõjutavad. Ka arvestasin käesolevas uuringus impulsiivsuse mõõdikuna adaptiivset ning maladaptiivset impulsiivsust koos, järgmistes kognitiivseid teste käsitlevates uuringutes võiks

impulsiivsuse erinevaid vorme eraldi faktoritena arvesse võtta, selgitamaks, milline käitumine kognitiivsete testide puhul tulemustele mõju avaldab.

Käesolevas uuringus leidsin seose *NPSR1* genotüübi ning Wisconsin kaarditesti tulemuste vahel. Oodatud tulemustest tuli kõige enam esile testitulemuste seos *NPSR1* genotüübiga poiste puhul, TT genotüübiga poisid sooritasid kaarditesti osalejatest kõige halvemini. Soo ja genotüübi koosmõju testitulemustele seletasid ära Raveni testi tulemused. Tüdrukute kaarditesti tulemused ei sõltunud otseselt genotüübist. Teiseks uuritud muutujaks interaktsioonis genotüübiga oli stressirikaste elusündmuste skoor, mis mõjutas kaarditesti tulemusi mõnevõrra üllatuslikult, kuna testi viiest kategooriast avaldus SLE skoori ja genotüübi koosmõju üksnes õigete vastuste üldarvus ning seda väga tugevalt. Antud seos muutus kovariaatide arvesse võtmisel tugevamaks. Arutelus kirjeldatud kaarditesti muid tulemusi arvesse võttes võib selguda, kuidas testi tulemused täpsemalt kujunevad ning millest olulised seosed tulenesid. Rohkemate kogetud stressirikaste elusündmustega T-alleeli kandjatel on varasemates uuringutes leitud kõrgem maladaptiivne impulsiivsus, seega oli käesoleva uuringu puhul TT genotüübiga isikute kehvem testisooritus kõrgema SLE puhul oodatav tulemus.

Avaldan lõpetuseks siirast tänu eelkõige oma fantastilisele juhendajale Kariinale, kes mind õigel ajal maa peale sikutas ja õigel ajal tagant utsitas, kordagi olukorda lootusetuks tunnistamata. Aitäh!

Lisaks tänan kõiki teisi, kes selles protsessis minuga kaasas käisid ning kes minuga veel liituvad.

## Viited

- Bell, E. C., Willson, M. C., Wilman, A.H., Dave, S., Silverstonen, P. H. (2006) Males and females differ in brain activation during cognitive tasks; *NeuroImage*, 30/2, lk 529–538
- Berg, E. A. (1948) A simple objective technique for measuring flexibility in thinking. *Journal of General Psychology* 39, lk. 15–22
- Brown, G. W., Harris, T. (1978) Social origins of depression. London: Free Press
- Buelow, M., Suhr, J. (2013) Personality characteristics and state mood influence individual deck selections on the Iowa Gambling Task, *Personality and Individual Differences* 54(5), lk 593-597
- Chou, L., Kuo, P., Lin, C. H., Chen, W. J. (2010) Genetic and Environmental Influences on the Wisconsin Card Sorting Test Performance in Healthy Adolescents: A Twin/Sibling Study; *Behavioural Genetics* 40, lk. 22–30
- Dannlowski, U., Kugel, H., Franke, F., Stuhrmann, A., Hohoff, C., Zwanzger, P., Domschke, K. jt. (2011) Neuropeptide-S (NPS) Receptor Genotype Modulates Basolateral Amygdala Responsiveness to Aversive Stimuli, *Neuropsychopharmacology* 36, lk. 1879–1885
- Domschke, K., Reif, A., Weber, H., Richter, J., Hohoff, C., Ohrmann, P., Deckert, J. jt. (2011) Neuropeptide S receptor gene – converging evidence for a role in panic disorder. *Molecular Psychiatry* 16, lk. 938–948
- Godinez, D.A., Friedman, N.P., Rhee, S.H., A., Miyake, J. K. (2012) Phenotypic and Genetic Analyses of the Wisconsin Card Sort, *Behavioural Genetics* 42, lk. 209–220
- Gottlieb, D.J., O’Connor, G.T., Wilk, J.B. (2007) Genome-wide association of sleep and circadian phenotypes *BMC Medical Genetics* 8:S9
- Grant, D.A., Berg, E. (1948) A behavioral analysis of degree of reinforcement and ease of shifting to new responses in a Weigl-type card-sorting problem, *Journal of Experimental Psychology*, 38(4), lk. 404-411
- Guerrini, R., Salvadori, S., Rizzi, A., Regoli, D., Calo, G. (2010) Neurobiology, Pharmacology, and Medicinal Chemistry of Neuropeptide S and its Receptor, *Medicinal Research Reviews* 30 (5), lk. 751-777

Hadley, C., Tegegn, A., Tessema, F., Cowan, J. A., Asefa, M., & Galea, S. (2008) Food insecurity, stressful life events and symptoms of anxiety and depression in east Africa: Evidence from the Gilgel Gibe growth and development study. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 62, lk. 980–986.

Harro, M., Eensoo, D., Kiive, E., Merenäkk, L., Alepi, J., Oreland, L., Harro, J. (2001) Platelet Monoamine Oxidase in Healthy 9- and 15- years Old Children: The Effect of Gender, Smoking and Puberty, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 25(8), lk. 1497–1511

Kiive, E., Kurrikoff, T., Mäestu, J., Harro, J. (2010) Effect of  $\alpha$ 2A-adrenoceptor C-1291G genotype and maltreatment on hyperactivity and inattention in adolescents *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 34, lk 219–224

Laas, K., Reif, A., Herterich, S. (2010) The effect of a functional NOS1 promoter polymorphism on impulsivity is moderated by platelet MAO activity. *Psychopharmacology* 209, lk 255–261

Laas, K., Reif, A., Kiive, E., Domschke, K., Lesch, K., Veidebaum, T., Harro J. (2014a) A functional NPSR1 gene variant and environment shape personality and impulsive action: A longitudinal study *Journal of Psychopharmacology*, 28(3), lk. 227–236

Laas, K., Reif, A., Akkermann, K., Kiive, E., Domschke, K., Lesch, K-P., Veidebaum, T., Harro, J. (2014b) Interaction of the neuropeptide S receptor gene Asn107Ile variant and environment: contribution to affective and anxiety disorders, and suicidal behaviour *International Journal of Neuropsychopharmacology* 17, lk. 541–552

Laas, K., Eensoo, D., Paaver, M., Lesch, K-P., , Reif, A., Harro, J. (2015), Further evidence for the association of the NPSR1 gene A/T polymorphism (Asn107Ile) with impulsivity and hyperactivity *Journal of Psychopharmacology* lk 1-6

Leonard, S.K., Dwyer, J.M., Sukoff, R.S.J., Platt, B., Logue, S.F., Neal, S.J., Malberg, J.E., Ring, R.H. jt. (2008) Pharmacology of neuropeptide S in mice: Therapeutic relevance to anxiety disorders. *Psychopharmacology* (Berl) 197, lk. 601–611

Leshem, R., Glicksohn, J. (2012) A Critical Look at the Relationship Between Impulsivity and Decision-Making in Adolescents: Are They Related or Separate Factors? *Developmental Psychology*, 37(8), lk. 712–731

Lukas, M., Neumann, I.D. (2012) Nasal application of neuropeptide S reduces anxiety and prolongs memory in rats: Social versus non-social effects. *Neuropharmacology* 62, lk. 398–405

Milner, B. (1963) Effects of Different Brain Lesions on Card Sorting The Role of the Frontal Lobes, *Archives of Neurology*

Okamura, N., Hashimoto, K., Iyo, M., Shimizu, E., Dempfle, A., Friedel, S., Rainer, K. (2007) Reinscheid Gender-specific association of a functional coding polymorphism in the Neuropeptide S receptor gene with panic disorder but not with schizophrenia or attention-deficit/hyperactivity disorder *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 31, lk 1444–1448

Paaver, M., Eensoo, D., Pulver, A. (2006) Adaptive and maladaptive impulsivity, platelet monoamine oxidase (MAO) activity and risk-admitting in different types of risky drivers. *Psychopharmacology*, 186, lk. 32–40

Phillips, Anna C.; Carroll, D.; Der, G. (2015) Negative life events and symptoms of depression and anxiety: stress causation and/or stress generation *Anxiety, Stress & Coping* Vol. 28/ 4, lk 357-368

Raczka, K.A., Gartmann, N., Mechias, M. (2010) A neuropeptide S receptor variant associated with overinterpretation of fear reactions: A potential neurogenetic basis for catastrophizing. *Molecular Psychiatry* 15 1045, lk. 1067–1074

Raven, J., Raven, J.C., Court, J.H. (1998) Manual for Raven's Progressive Matrices and Vocabulary Scales, Pearson, San Antonio, TX

Reif, A; Kiive, E; Kurrikoff, T. (2011) A functional NOS1 promoter polymorphism interacts with adverse environment on functional and dysfunctional impulsivity. *Psychopharmacology*, 214, lk. 239–248

Reinscheid, R.K., Xu, Y.L., Okamura, N., Zeng, J., Chung, S., Pai, R., Wang, Z., Civelli, O. (2005) Pharmacological Characterization of Human and Murine Neuropeptide S Receptor Variants. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 315, lk. 1338–1345.

Rutter, M., Moffitt, T.E., Caspi, A. (2006) Gene–environment interplay and psychopathology: multiple varieties but real effects *Journal of Child Psychology and Psychiatry* 47:3/4 lk. 226–261

Strawn, J.R., Bitter, S.M., Weber, W.A., Chu, W-J., Whitsel, R.M., Adler, C., Cerullo, M.A., DelBello, M.P. (2012) Neurocircuitry of generalized anxiety disorder in adolescents: a pilot functional neuroimaging and functional connectivity study. *Depress Anxiety* 29, lk 939–947

Steinberg, L., Albert, D., Cauffman, E., Banich, M., Graham, S., & Woolard, J. (2008) Age differences in sensation seeking and impulsivity as indexed by behavior and self-report: Evidence for a dual systems model. *Developmental Psychology*, 44, lk. 1764–1778

Xu, C., Li, C., Wu, H., Wu, Y., Hu, S., Zhu, Y., Zhang, W., Zhang, X. jt. (2015) Gender Differences in Cerebral Regional Homogeneity of Adult Healthy Volunteers: A Resting-State fMRI Study; *BioMed Research International*, 2015, Article ID 183074

Xu, Y.L., Reinscheid, R.K., Huitron-Resendiz, S., Clark, S.D., Wang, Z., Lin, S.H., Brucher, F.A., Civelli, O. jt. (2004) Neuropeptide S: A neuropeptide promoting arousal and anxiolytic-like effects. *Neuron*; 43, lk. 487–497

Zuroff, D. C., Mongrain, M., & Santor, D. A. (2004) Conceptualizing and measuring personality vulnerability to depression: Comment on Coyne and Whiffen (1995). *Psychological Bulletin*, 130, lk. 489–511

NPSR1, Wisconsin kaardisorteerimistest ja stressirikad elusündmused

*Käesolevaga kinnitan, et olen korrektselt 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.  
Kai Nurga*