

TARTU ÜLIKOOL  
LOODUS- JA TEHNOLOOGIATEADUSKOND  
MOLEKULAAR- JA RAKUBIOLOOGIA INSTITUUT  
BIOTEHNOLOOGIA ÕPPETOOL

Kadi Rosenthal

Ülegenoomne assotsiatsiooniuuring rasvumusega seotud sagedaste ja  
harvade geneetiliste variantide leidmiseks Eesti populatsioonis

Magistritöö

Juhendaja Reedik Mägi, PhD

TARTU 2015

## SISUKORD

Lühendid.....	4
Sissejuhatus .....	5
1 Kirjanduse ülevaade .....	6
1.1 Ülekaalulisus ja rasvumus .....	6
1.1.1 Definiitsioon ja põhjused.....	6
1.2 Kehamassi hindamine.....	7
1.2.1 Kehamassiindeks .....	7
1.2.2 Teised hindamismeetodid .....	8
1.3 Ülekaalulisuse ja rasvumuse levimus.....	9
1.3.1 Levimus arenguriikides .....	10
1.3.2 Levimus Eestis.....	11
1.4 Rasvumuse tagajärjed.....	11
1.5 Rasvumus lapseas .....	12
1.6 Rasvumuse geneetika .....	13
1.6.1 Monogeenne ja sündroomne rasvumus .....	14
1.6.2 Mittesündroomne rasvumus .....	14
1.6.3 Uurimise meetodid .....	14
1.6.4 Rasvumuse geneetika uurimise probleemid .....	16
1.6.5 Tähtsamad tulemused .....	17
1.6.5.1 Rasvamassi ja rasvumusega seotud geen - <i>FTO</i> .....	18
1.6.5.2 Melanokortiin-4 retseptor – <i>MC4R</i> .....	19
1.6.5.3 Erinevused etnilistes populatsioonides.....	19
1.7 Söögiisu reguleerimine.....	20
1.7.1 Aju piirkondade roll toitumises .....	21
1.7.1.1 Hüpoalaamus.....	21
1.7.1.2 Ajutüve dorsaalne ja vagaalne kompleks .....	22
1.7.2 Perifeersed signaalid.....	22
1.7.2.1 Insuliin ja leptiin.....	22
1.7.2.2 Tähtsaimad seedeelundkonna hormoonid .....	23
1.7.2.2.1 Greliin ja obestatiin.....	24
1.7.2.2.2 Peptiid YY .....	25
1.7.2.2.3 Glükagooni-sarnane valk .....	25
1.7.2.2.4 Pankrease polüpeptiid .....	26
1.8 Ravivõimalused .....	26
1.8.1 Kirurgiline sekkumine .....	27
2 Eksperimentaalosa .....	29
2.1 Töö eesmärk .....	29
2.2 Materjal ja meetodika.....	29
2.2.1 Andmevalim .....	29
2.2.2 Genotüpiseerimine.....	31
2.2.2.1 Genotüpiseerimise protsess .....	31
2.2.3 Kvaliteedikontroll.....	32
2.2.4 Imputatsioon .....	33
2.2.5 Statistiline analüüs.....	34
2.2.5.1 Sagedaste variantide analüüs.....	34
2.2.5.2 Harvade variantide analüüs .....	35
2.3 Tulemused .....	35
2.4 Arutelu .....	40
Kokkuvõte .....	44
Resümees/Summary.....	45
Tänuõnad.....	46

Kasutatud kirjandus .....	47
Kasutatud veebiaadressid .....	61
Lisad .....	62
Lisa 1. ....	62
Lisa 2. ....	64
Lisa 3. ....	65
Lisa 4. ....	66
Lisa 5. ....	66

## Lühendid

<b>ACLY</b>	ATP tsitraadi lüaas
<b>AgRP</b>	Agouti-sarnane valk
<b>AP</b>	<i>Area postrema</i> ; tuum ajutüve dorsaalses vagaalses kompleksis (DVC)
<b>ARC</b>	Kaar- ehk arkuaattuum
<b>BDNF</b>	Tserebraalne neurotroofne faktor ( <i>brain-derived neurotrophic factor</i> )
<b>CART</b>	Kokaiini ja amfetamiini poolt reguleeritav transkript
<b>CR</b>	Edukalt genotüüpiseeritud indiviidide protsentuaalne osakaal markeril ( <i>Call Rate</i> )
<b>DVC</b>	Dorsaalne vagaalne kompleks ( <i>Dorsal vagal complex</i> )
<b>EGCUT</b>	Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramu ( <i>Estonian Genome Center, University of Tartu</i> )
<b>GHSR</b>	Kasvuhormooni sekreteeriv retseptor ( <i>Growth hormone secretagogue receptor</i> )
<b>GLP</b>	Glükagooni-sarnane valk ( <i>Glucagon-like peptide</i> )
<b>GWAS</b>	Ülegenoomne assotsiatsiooniuuring ( <i>Genome-Wide Association Study</i> )
<b>HWE</b>	Hardy-Weinbergi tasakaalustatus ( <i>Hardy-Weinberg Equilibrium</i> )
<b>KMI</b>	Kehamassiindeks ( <i>Body Mass Index, BMI</i> )
<b>KNS</b>	Kesknärvisüsteem
<b>LD</b>	Ahelduse tasakaalustamatus ( <i>Linkage Disequilibrium, LD</i> )
<b>MAF</b>	Vähemesineva alleeli sagedus ( <i>Minor Allele Frequency</i> )
<b>MDS</b>	Multidimensionaalse skaleerimise meetod ( <i>Multidimensional Scaling</i> )
<b>MC3R/MC4R</b>	Melanokortiin-3 retseptor/ melanokortiin-4 retseptor
<b>NPY</b>	Neuropeptiid Y
<b>NTS</b>	<i>Nucleus tractus solitarius</i> tuum DVC-s
<b>OR4X2</b>	Haistmisretseptor, perekond 4, alaperekond X, liige 2
<b>POMC</b>	Pro-opiomelanokortiin
<b>PP</b>	Pankrease polüpeptiid
<b>PVN</b>	Paraventrikulaarne tuum
<b>PYY</b>	Peptiid YY
<b>SNP</b>	Ühenukleotiidiline polümorfism ( <i>Single-Nucleotide Polymorphism</i> )
<b>WHO</b>	Maailma terviseorganisatsioon ( <i>World Health Organization</i> )

## Sissejuhatus

Ülekaalulisus ja rasvumus on ülemaailmne epideemia, mis tõstab mitmete krooniliste ja potentsiaalselt surmavate haiguste riski, kahjustades seeläbi nii individuaalset kui ka rahva tervist (Locke jt., 2015). Rasvumust põhjustavate molekulaarsete mehhanismide põhjalikum uurimine aitab paremini mõista selle tekkepõhjuseid. Üldiselt on teada, et ülekaalulisuse ja rasvumuse epideemia on põhjustatud mitmete geneetiliste, käitumuslike ja keskkondlike tegurite poolt, mis mõjutavad organismi energeetilist tasakaalu ja seeläbi ka kehakaalu regulatsiooni (Speakman, 2004). Geneetilised tegurid mõjutavad kehamassiindeksi (KMI) varieeruvust umbes 40-70% ulatuses, millest võib järeldada, et ülekaalulisusel ja rasvumusel on tugev geneetiline komponent (Maes jt., 1997; Zaitlen jt., 2013). Varasemalt läbiviidud ülegenoomsetest assotsiatsiooniuringutest (*Genome-Wide Association Studies, GWAS*) on leitud mitmeid olulisi seoseid ülekaalulisuse, rasvumuse ja sagedaste geneetiliste variantide vahel. Kuigi seni leitud geneetilised variandid kirjeldavad ära umbes 2,7% KMI varieeruvusest, siis hinnanguliselt peaks sagedased geneetilised variandid mõjutama KMI varieeruvust kuni 21% ulatuses (Locke jt., 2015).

Käesoleva töö eesmärgiks oli identifitseerida seoseid rasvumuse ning sagedaste ja harvade geneetiliste variantide vahel Eesti populatsioonis, kasutades KMI protsenteile ja viies nendega läbi ülegenoomse assotsiatsiooniuringu. Rasvumuse riski tõstvate harvade geneetiliste variantide identifitseerimiseks teostasime lisaks ühe-markeri põhiste analüüsidele ka geenipiirkondade põhised analüüsid, mille puhul testitakse korraga kõiki harvu geneetilisi variante antud geenipiirkonnas. Rasvumuse aluseks olevate molekulaarsete põhjuste tuvastamisega on võimalik sellest haigusest parem ülevaade saada ning välja töötada uusi või parandada juba olemasolevaid ennetus- ja ravimeetodeid.

# 1 Kirjanduse ülevaade

## 1.1 Ülekaalulisus ja rasvumus

### 1.1.1 Definiitsioon ja põhjused

Ülekaalulisust ja rasvumust defineeritakse kui ebanormaalset ja liigset keharasva kogunemist organismis, mis põhjustab elundispetsiifilisi tüsistusi ja võib seeläbi kahjustada tervist (SIGN, 2010; WHO, 2015). Rasvumus on muutunud globaalseks epideemiaks, mida seostatakse suurenenud haigestumusega ja suremusega (Maes jt., 1997; Zaitlen jt., 2013). Viimase kolmekümne aasta jooksul on rasvumus täiskasvanute seas kahekordistunud ja laste seas kolmekordistunud. See tähendab, et 21. sajandil on rasvumus maailmas kõige sagedasem toitumisega seotud haigus (WHO, 2015).

Rasvumuse risk on kujundatud erinevate sotsiaalsete, käitumuslike, metaboolsete, rakuliste ja molekulaarsete tegurite poolt (Caballero, 2005). Üldiselt on teada, et ülekaalulisus tekib energia tasakaalutuse tagajärjel – toidust saadud energia ületab organismi energiatarbimise (*energy expenditure*). Selle tagajärjeks on energia tasakaalu kaldumine positiivses suunas, mis viib pikema perioodi jooksul liigse rasvkoe tekkeni ja indiviidi rasvumuse riski suurenemiseni (WHO, 2000; WHO, 2015). Energia tasakaalutus ei pea sealjuures ulatuslik olema – on leitud, et negatiivse energia tasakaalu tekitamises (organismi energiatarbimine suurem kui toidust saadud energia) 100 kcal/päevas ulatuses hoiaks ära ebatervisliku kaalu tõusu umbes 90%-l populatsioonist (Hill jt., 2000). Individuaalse vastuvõtlikkuse rasvumusele määravad ka erinevad geneetilised eelsoodumused (Maes jt., 1997). Sellegipoolest on globaalse ülekaalulisuse ja rasvumuse levimuse üldisemaks põhjuseks viimaste aastakümnete jooksul toimunud olulised muutused populatsioonide käitumismustrites ja ühiskonnas (linnastumine) (WHO, 2000; WHO, 2015). Inimeste toidust saadava energia kogused on suurenenud, sest suure kalorsusega suhkru- ja rasvarikkad toidud on odavamad ja inimestele lihtsamini kättesaadavad. Samaaegselt on vähenenud inimeste füüsiline aktiivsus, kuna ühiskonnas on levinud nii-öelda istuvad tööd ning igapäevaselt kasutatakse transpordivahendeid, mis nõuavad organismilt vähe energiatarbimist (WHO, 2015).

Maailma terviseorganisatsiooni väitel (*World Health Organization*, WHO) mõjutavad ülekaalukad industriaalsed arengud tugevasti rasvumuse epideemia suurenemist. Samal ajal ei ole tulemuslike muutuste saavutamiseks kasutusele võetud piisavalt häid meetmeid, et ümber kujundada globaalset sotsiaalset raamistikku. Selle parandamiseks peaksid riikide valitsused aitama muuta inimeste füüsilise aktiivsuse harjumusi ning parandama madala energiatasemega ja toitaineterikaste toitude kättesaadavust (WHO, 2015).

## 1.2 Kehamassi hindamine

### 1.2.1 Kehamassiindeks

Vastavalt WHO juhistele defineeritakse ülekaalulisust ja rasvumust läbi KMI, mis hindab indiviidi kaalu ja pikkuse suhet. Sellega klassifitseeritakse individid vastavalt ala-, normaal- või ülekaalu ja rasvumuse gruppidesse. KMI (varasemalt Quetelet' indeks) leidmiseks jagatakse kehakaal kilogrammides pikkuse ruuduga meetrites ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). Näiteks täiskasvanul, kes kaalub 70 kg ja kelle pikkus on 1,75 m on KMI 22,9 (WHO, 2015).

$$\text{KMI} = 70 \text{ (kg)} / (1,75 \times 1,75) \text{ (m}^2\text{)} = 22,9$$

WHO on kategoriseerinud KMI põhjal täiskasvanute ülekaalu ja rasvumuse nelja klassi, mis on toodud välja tabelis 1 (WHO, 2000).

**Tabel 1.** Rahvusvaheline ülekaalu ja rasvumuse klassifikatsioon KMI põhjal. Rasvumuse kategooriad on jagatud nelja klassi (ülekaal ehk eel-rasvumus ja rasvumuse 3 klassi) (aluseks WHO, 2000).

Klass	KMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )
Normaalkaal	18,5-24,9
Eel-rasvumus, ülekaal	25-29,9
Rasvumuse 1. klass	30-34,9
Rasvumuse 2. klass	35-39,9
Rasvumuse 3. klass	$\geq 40$

Kehamassiindeksi arvutamine on täiskasvanute (vanus  $\geq 20$ ) seas enimkasutatav kehakaalu hindamise meetod, kuna see on populatsioonipõhiselt tugevalt korreleeritud keharasva protsendiga ja erinevate rasvumusega kaasnevate haiguste väljakujunemise riskiga ning on soost ja vanusest sõltumatu (WHO, 2000; Meeuwssen jt., 2010). WHO on KMI hindamiseks paika pannud spetsiaalsed piirväärtused (*cut-off*), ülekaalulisuse piiriks KMI väärtuse 25  $\text{kg}/\text{m}^2$  ja rasvumuse piiriks KMI väärtuse 30  $\text{kg}/\text{m}^2$  (WHO, 2015). Need piirväärtused identifitseerivad üleliigse kehakaalu tasemeid, mida seostatakse mitmes populatsioonis kõrgenenud riskiga haigestuda teatud kroonilistesse haigustesse ja suurenenud suremusega (WHO, 1995). KMI meetodisse peaks suhtuma ettevaatlikkusega, kuna sellega pole võimalik eristada keharasva kogust ja jaotumist ning seda, kas kehamass on tõusnud rasv-, lihas- või luukoe suurenemise arvelt (WHO, 2000; Prentice ja Jebb, 2001; Clément ja Basdevant, 2010). Näiteks individid, kellel on väga suur lihaskoe mass, võidakse klassifitseerida ülekaaluliste või rasvunute hulka.

Samuti ei sobi KMI-d kasutada rasedate naiste ja kasvueas laste puhul (McCarthy jt., 2006). Kasvueas lastel ja noortel muutub KMI vanuse ja kasvamise käigus pidevalt, seega ei saa seda kasutada analoogselt täiskasvanutega, kellel on KMI stabiilsem. Nendele on välja arendatud spetsiaalsed vanusele (0,5 aasta täpsusega) ja soole vastavad KMI piirväärtused ja kasvukõverad, mida on võimalik kasutada ka rahvusvahelistes võrdlustes. Noorte puhul tuleks kasutada KMI piirväärtusi ülekaalulisusele ja rasvumusele poistel vastavalt alates 23,3 kg/m<sup>2</sup> ja 28,3 kg/m<sup>2</sup> ning tüdrukutel vastavalt 23,9 kg/m<sup>2</sup> ja 29,1 kg/m<sup>2</sup> (Cole jt., 2000).

Suurenenud KMI-ga seostatavad terviseriskid võivad populatsioonide vahel erineda (WHO, 1995). Näiteks on Aasias teostatud uuringute andmete põhjal leitud, et asiaatidel on üldiselt 3-5% suurem rasvaprotsent kui samast soost, vanusegrupist ja sama KMI-ga valgetel indiviididel (Deurenberg jt., 2002). Lisaks on Aasia indiviididel kõrgenenud risk II tüüpi diabeedi ja veresoonkonna haigustele ka alla WHO KMI piirväärtuse 25 kg/m<sup>2</sup> (NHLBI, 1998).

### **1.2.2 Teised hindamismeetodid**

Ülekaalulisusest ja rasvumusest tulenevate haiguste risk on suurem, kui keharasv on kogunenud kõhupiirkonda. Kuna KMI meetodiga ei ole võimalik määrata rasva jagunemist kehas, kasutatakse uuringutes lisaks KMI-le tihti ka taljeümbermõõdu meetodit. Neid meetodeid koos kasutades saavutatakse kõige parem rasvumusega kaasnevate haiguste riski hindamine (Wyatt, 2013). Erinevates uuringutes kasutatakse keha rasvasisalduse mõõtmiseks lisaks eelnevatele meetoditele ka talje- ja puusaümbermõõdu suhet, nahavoltide mõõtmist, veealust kaalumist, röntgenkiirte töötavat luudensitomeetrit (*Dual-energy X-ray absorptiometry*, DXA aparaat) ja bioelektrilise takistuse analüüsi, mida on kasutatud ka laste uuringutes (Dehghan jt., 2005; Pietrobelli jt., 2003). Taljeümbermõõd arvatakse olevat parim antropomeetiline mõõt kõhupiirkonna ja kogu kehas oleva rasvamassi määramiseks (haigusriskid suurenevad, kui meestel on taljeümbermõõt > 94cm ja naistel > 89cm) (SIGN, 2010). Vaatamata sellele, et näiteks DXA on rasvumuse hindamisel täpsem, on see ka aeganõudvam, kallim ja vajab koolitatud spetsialiste. Lisaks ei anna täpsemad meetodid tingimata KMI-st ja taljeümbermõõdust rohkem informatsiooni (Sierra-Johnson jt., 2004). Wormser jt. ning Ejtahed jt. poolt läbiviidud uuringutes analüüsiti KMI, taljeümbermõõdu ning talje- ja puusaümbermõõdu suhte hindamisvõimekust seoses erinevate haiguste riskidega (kaasa arvatud rasvumuse ja kardiovaskulaarsete haiguste riskidega) ja leiti, et KMI ja taljeümbermõõd andsid üsna sarnaseid tulemusi. Edaspidi soovitati kasutada KMI-d, kuna see on rasvumuse riski ennustamiseks kliiniliselt kõige sagedamini kasutatav, lihtne, odav ja mitte-invasiivne meetod (Wormser jt., 2011; Ejtahed jt., 2014).

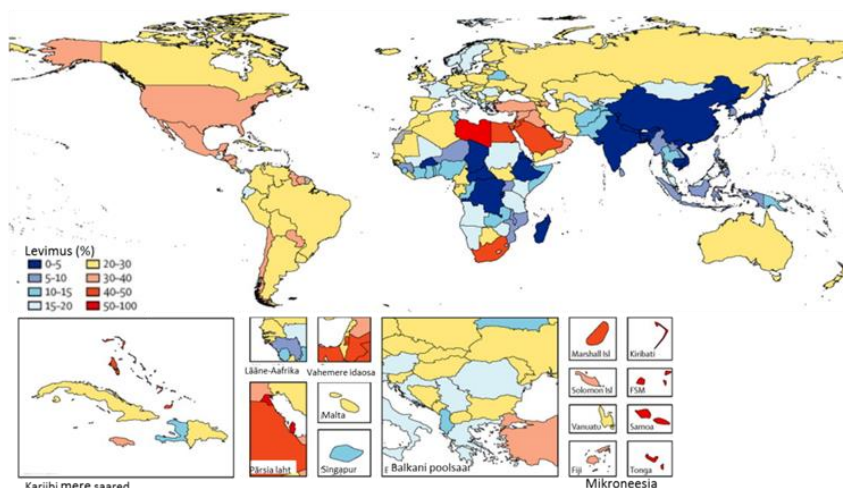


### 1.3 Ülekaalulisuse ja rasvumuse levimus

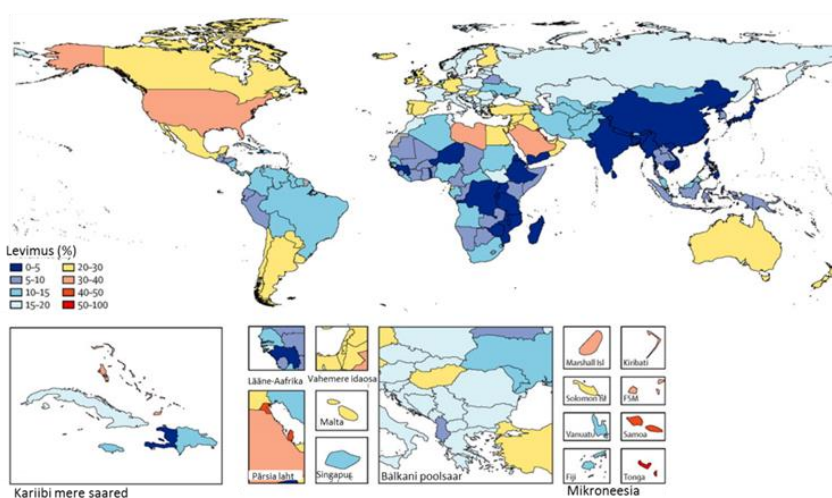
WHO andmete põhjal on ülekaalulisus ja rasvumus jõudnud globaalse epideemia tasemele. Enne 1980. aastat olid rasvumuse levimuse tasemed alla 10%, kuid praeguste andmetega võrreldes on need mitmes riigis kas kahe- või kolmekordistunud. Kogu maailma täiskasvanute populatsioonist oli 2005. aastal umbes 33% ülekaalulised ( $KMI \geq 25$ ) või rasvunud ( $KMI \geq 30$ ) (Kelly jt., 2008). Kolme aasta pärast (aastal 2008) hinnati ülekaaluliste indiviidide arvuks maailmas 1,46 miljardit, millest 205 miljonit meest ja 297 miljonit naist olid rasvunud – globaalselt oli vanusele standardiseeritud rasvumuse levimus meeste seas 9,8% ja naiste seas 13,8%, mis on peaaegu kaks korda suurem kui 1980. aastal (meestel 4,8% ja naistel 7,9%) (Finucane jt., 2011). Veel kuus aastat hiljem (aastal 2014) oli globaalne rasvumuse levimus jõudnud 39%-ni ehk maailmas oli umbes 1,9 miljardit ülekaalus indiviidi, nendest 13% ehk umbes 600 miljonit olid rasvunud. Kui varem arvati rasvumuse levimuse olevat ainult arenenud riikide probleem, siis nüüd seostatakse seda ka arengumaadega. Lisaks on rasvumus muutumas ka laste ja noorukite seas juhtivaks haigusteriski tõstvaks teguriks. WHO hinnangul oli 2013. aastal maailmas peaaegu 42 miljonit alla viieaastast last ülekaalulised või rasvunud (WHO, 2015). Arvatakse, et kui selline arengusuund jätkub, tõuseb 2030. aastaks ülekaaluliste ja rasvunute indiviidide arv maailmas vastavalt 2,16 miljardini ja 1,12 miljardini (38% ja 20% maailma populatsioonist) (Kelly jt., 2008).

Ülekaalulisuse ja rasvumuse levimus varieerub regiooniti märgatavalt. Täiskasvanute seas ületas rasvumuse levimus 50% piiri meeste puhul Tongas ja naiste puhul Kuveidis, Kiribatil ja Mikroneesia Liiduriigis, Liibüas, Kataris, Tongas ja Samoas. Põhja-Ameerikas esineb suurim rasvumuse levimus USA-s – 2013. aastal oli umbes kolmandik meestest (31,6%) ja naistest (33,9%) rasvunud. Kesk-Ameerikas ja Ladina-Ameerikas oli vanusele standardiseeritud rasvumuse levimus 14 riigis suurem kui 20%. Sahara kõrbest lõunasse jäävatel aladel on kõige suurem rasvumuse levimus Lõuna-Aafrika naiste seas (42%). Kuigi rasvumuse levimus on erinevates piirkondades aja jooksul suurenenud, on Hiinas ja Indias see jäänud stabiilselt madalaks. Hiinas on 3,8% meestest ja 5% naistest ning Indias vastavalt 2,7% ja 4,2% rasvunud. Rohkem kui pooled 671 miljonist rasvunud indiviididest maailmas elavad kümnes riigis: USA, Hiina, India, Venemaa, Brasiilia, Mehhiko, Egiptus, Saksamaa, Pakistan ja Indoneesia. Globaalsed rasvumuse levimused on näidatud visuaalselt joonisel 1 (Ng jt., 2014).

A) Vanusele standardiseeritud rasvumuse (KMI  $\geq 30$ ) levimus maailmas, vanus  $\geq 20$ , naised



B) Vanusele standardiseeritud rasvumuse (KMI  $\geq 30$ ) levimus maailmas, vanus  $\geq 20$ , mehed



**Joonis 1.** Vanusele standardiseeritud rasvumuse levimus maailmas. (A) Vanus  $\geq 20$  aastat, naised, 2013. aastal, (B) Vanus  $\geq 20$  aastat, mehed, 2013. aastal. FSM= Mikroneesia Liiduriik (aluseks Ng jt., 2014).

### 1.3.1 Levimus arenguriikides

Kuigi vanusele standardiseeritud rasvumuse levimused on arenguriikides väiksemad kui arenenud riikides, elab 62% maailma rasvunud indiviididest arenguriikides (Ng jt., 2014). Sellistes regioonides eksisteerib alatoitumine ja rasvumine kõrvuti. Indiviidid, kes elavad madala või keskmise sissetulekuga riikides, on sünnieelselt, väikelapse eas ja lapsepõlves suurema tõenäosusega puuduliku toitumisega. Samal ajal on nad pidevas kokkupuutes suure rasva-, suhkru-, soolasisaldusega ja energiamahukate, mikrotoitainete-vaeste toitudega, mis on odavamad ja väiksema vajalike toitainetesisaldusega. Sellised toitumisharjumised koos madala füüsilise aktiivsusega viivad omakorda suurema rasvumise ja alatoitumiseni (WHO, 1995).

### 1.3.2 Levimus Eestis

Tänaeni on Eestis rasvumuse levimuse hinnangud saadud ainult küsimustikepõhistest uuringutest ning objektiivsetel kehakaalu ning pikkuste mõõtmistel põhinevat populatsioonipõhist uuringut ei ole Eestis läbi viidud. Iga kahe aasta tagant teostatakse Eesti Tervise Arengu Instituudi (TAI) poolt läbi rahvastiku toitumisuuring. Seda on Eestis 16–64-aastaste täiskasvanute seas postiküsitlusena läbi viidud alates 1990. aastast igal paarisaastal. Ülekaaluliste ja rasvunud indiviidide levimus Eestis oli 2008. ja 2010. aastal läbiviidud uuringute põhjal 32-49% (Tekkel jt., 2009; Tekkel ja Veideman, 2011). Kaks aastat hiljem teostatud uuring leidis rasvumuse levimuseks Eestis vastavalt vanuse ja taustaandmete järgi 29,9% (Tekkel ja Veideman, 2013). WHO andmetel oli Eestis 2008. aasta seisuga hinnanguliselt ülekaalulised 59% meestest ja 49,4% naistest ning rasvunud 20,9% meestest ja 20,6% naistest (vanus  $\geq 20$ ) (WHO, 2011).

### 1.4 Rasvumuse tagajärjed

Ülekaalulisuse ja rasvumusega kaasnevad mitmed kompleksed haigused, mis mõjutavad omakorda tugevalt ka majandust. Ülekaalulisus ja rasvumus on põhilised riskifaktorid mittenakkuslikele haigustele, kuna suurenenud kehamassist tulenevad kahjulikud ainevahetuslikud mõjud insuliini resistentsusele, vererõhule ning kolesterooli ja triglütseriidide sünteesile. Rasvumus suurendab riski haigestuda II tüüpi diabeeti, kõrgvererõhutõppe, maailmas peamiseks surma põhjuseks olevatesse südame-veresoonkonna haigustesse (põhiliselt südamega seotud haigused ja südame infarkt), lihasluukonna haigustesse (eriti osteoartriit – halvav degeneratiivne liigeste haigus), soodustab osade kasvajate (endometriaalsed, rinna- ja soolekasvajad) arengut ning tekitab depressiooni. Mida kõrgem on KMI, seda suurem on risk haigestuda eelpool mainitud haigustesse – näiteks südame- ja vererõhu risk tõuseb iga KMI ühiku kohta 8% võrra (WHO, 2000; Li jt., 2006; Dixon, 2010).

Rasvumus, insuliini resistentsus ja kardiovaskulaarsed riskifaktorid on omavahel seoses ja neid defineeritakse kui metaboolne sündroom. Seda iseloomustab ebasoodne lipiidide profiil, kõhupiirkonna ja vistseraalse keharasva liigsus, glükoosi taseme tõus, insuliini resistentsus ja kõrge arteriaalne vererõhk (Alberti jt., 2005). Metaboolse sündroomi esinemisega kaasneb kõrge risk haigestuda II tüüpi diabeeti ja südame-veresoonkonna haigustesse. Rasvumuse ja diabeedi kaksik-epideemia vähendamine on 21. sajandi üks keerulisemaid väljakutseid. WHO andmetel on maailmas 220 miljonit II tüüpi diabeediga patsienti ning 60% kõigist II tüüpi diabeedi juhtudest on põhjustatud rasvumusest (WHO, 2000; TECotDaCoD, 2003).

Rasvumuse levimusest tulenev kroonilise haiguse koorem ei ole seotud ainult tõsiste tervisehäiretega, vaid tekitab riikidele ka majanduslikult täiendavad kulusid. Rasvumus hõlmab arenenud riikidele tervishoiu kuludest hinnanguliselt 2-6%, kuid reaalsed kulud on palju kõrgemad, kuna esialgsetes arvutustes pole arvestatud kõikide rasvumusega kaasnevate haigustega (WHO 2000; Yach jt., 2006; Withrow ja Alter, 2011). Näiteks prognoositakse Ühendkuningriikides 2050. aastaks, et rasvumuse rahaline koormus ulatub kuni 67 miljardi euroni (McPherson jt., 2007).

## 1.5 Rasvumus lapseas

KMI kriteeriumide kasutamine lastel on näidanud, et rasvumuse levimus laste seas on viimase 20-30 aasta jooksul sarnaselt täiskasvanutele suurenenud (Boodhna, 2013). Ülekaaluliste ja rasvunud kooliealiste laste arv maailmas oli 2004. aastal vähemalt 155 miljonit. Globaalne ülekaalulisuse ja rasvumuse levimus oli 5-17 aastaste laste seas hinnanguliselt vastavalt 10% ja 2-3% (Lobstein jt., 2004). Arenenud riikides oli 2013. aastal 23,8% poisslastest ja 22,6% tüdrukutest ülekaalulisused või rasvunud. Arenguriikides oli ülekaalulisuse ja rasvumuse levimus vastavalt poisslaste seas 12,9% ja tüdrukute seas 13,4% (Ng jt., 2014). Lapseea ülekaalulisust seostakse suurema rasvumuse riskiga ja halvatusena täiskasvanueas ning enneaegse surmaga. Peale tulevaste riskide esineb ülekaalulistel ja rasvunud lastel ka hingamisraskusi koos uneapnoega, kõrgemat luumurru riski, suurenenud tõenäosust haigestuda levinud kroonilistesse haigustesse (nt kõrgvererõhutõbi, II tüüpi diabeet, kardiovaskulaarsed haigused), kõrgem risk mõnede kasvajate arenguks ja neil on levinud ka psühholoogilised probleemid (Haslam ja James, 2005; WHO, 2015). Erinevate uuringute tulemused on näidanud, et toitumuslik käitumine määrab lastel suure osa rasvumuse riskist. Vahemere dieet, mida iseloomustab taimetoitude, punase liha ja suure kiudainete sisaldusega toitute ning vähene magustatud jookide osakaal, on laste tervise parandamiseks üks võimalikke meetodeid (Lazarou jt., 2010). Tänapäeval on vastupidiselt populaarsed läänelikud toitumisharjumused, mis koosnevad suure rasvasisaldusega töödeldud toitudest ja mida seostatakse suurenenud rasvumuse levimusega laste seas (Song jt., 2010).

Päritavad tegurid mõjutavad laste ülekaalu ja rasvumuse väljaarenemist läbi erinevate mehhanismide, näiteks läbi organismi energiatarbimise, söömisharjumuste (küllastus- ja näljatunde tekkimine) ja keha koostise (ültrasva osakaal, vistseraalne rasv). Lapsevanema kehakaal ja rasvumus ennustavad tõenäosust lapse rasvumuseks: šansside suhe rasvumusele on 2,54, kui isa on rasvunud ja 4,35 kui on ema. Šansside suhe on veelgi suurem – 10,44, kui mõlemad lapsevanemad on rasvunud (Reilly jt., 2005). Selline päritavus võib tuleneda geenidest ning jagatud keskkonnast, kuna lapsevanematel on suur mõju oma lapse

käitumuslikele harjumustele. Kaksikute uuringud on näidanud, et jagatud keskkond mõjutab KMI-d kuni 10% ulatuses (Haworth jt., 2008). Lapsevanema suurt kehakaalu on seostatud lapse madala sünnikaaluga, millel omakorda on seos kõrge riskiga rasvumusele lapse- ja täiskasvanueas ning kardiovaskulaarsete haiguste (Barker jt., 1989).

## 1.6 Rasvumuse geneetika

Kuigi rasvumuse väljaarenemine oleneb paljudest erinevatest teguritest, on mitmed kaksikute, adopteerimise ja perekonna uuringud näidanud, et geneetilistel teguritel on rasvumuse patogeneesile tähtis mõju (Bouchard jt., 1990; Carmelli jt., 1994; Stunkard jt., 1990; Wardle jt., 2008). Wardle jt. poolt läbiviidud kaksikute uuringust (n=5100) on leitud, et KMI pärilikkus, mida defineeritakse kui päritavate teguritega seletatav tunnuse indiviididevaheline variatsioon protsentides, on umbes 77%, mis tähendab, et 77% indiviididevahelisest KMI varieeruvusest on põhjustatud geneetiliste faktorite poolt (Wardle jt., 2008). Võrreldavad hinnangud on leidnud KMI pärilikkuseks 30-50% perekonna uuringutes ja 40-70% kaksikute uuringutes (Maes jt., 1997; Schousboe jt., 2003). O’Rahilly ja Farooqi poolt läbiviidud uuringust leiti, et pärandatavad faktorid mõjutavad rasvumist, muutes nii ainevahetuse kiirust ja liigsete kalorite selektiivset jaotumist rasvaks kui ka söömisharjumusi (küllastus- ja näljatunne, söögikogused) (O’Rahilly ja Farooqi, 2006). Lisaks on leitud, et viimaste kümnendite jooksul ei ole toimunud muutusi genofondis ja seega on rasvumise suur levimus põhjustatud pigem keskkonna ja elustiili faktorite poolt (Allison ja Faith, 2000).

Keskkonna mõju rasvumusele võib avalduda näiteks läbi epigeneetiliste muutuste. On leitud, et epigenoomi paika panemine elutähtsate arengufaaside ajal võib olla mõjutatud keskkondlike tegurite poolt. Näiteks võivad häired metülatsioonis esineda siis, kui lootel puuduvad vajalikud toidust saadavad metüülrühma doonorid või neid on üleliia. Seega võib ema halva toitumise tulemusena lapsel tekkida ülekaalulisus ja rasvumus (Waterland ja Jirtle, 2004). Loote DNA metülatsiooni muustris toimuvad kõrvalkalded võivad tekitada muutusi geeni ekspressioonis, mis avalduvad liigse rasvarakkude jagunemise ja laienemisena ning suure tõenäosusega ka hilisemates arengufaasides rasvumuseks. Üheks näiteks epigeneetilistest seostest rasvumusega on Prader-Willi sündroom, mida tekitavad loote DNA 15q11-q13 regioonis toimuvad geneetilised ja epigeneetilised muutused. Rasvumuse ja keskkonna omavahelisi interaktsioone on seni vähe uuritud. Võib loota, et tulevased uuringud aitavad leida uusi geneetilisi ja epigeneetilisi biomarkereid, mis omakorda võivad aidata kaasa individuaalsete ja suunatud rasvumuse ennetamise meetodite väljaarendamisele (Martínez jt., 2014).

### 1.6.1 Monogeenne ja sündroomne rasvumus

Monogeenset rasvumust põhjustavad enamasti funktsioonikaoga mutatsioonid, mis põhjustavad puudusi söögiisu reguleerivates hormoonides või nende hormoonide retseptorites nagu näiteks leptiin, leptiini retseptor, pro-opiomelanokortiin (POMC) ja melanokortiin-4 retseptor (MC4R) (Montague jt., 1997; Vaisse jt., 1998; Krude jt., 1998). Enamus monogeense rasvumuse vorme on kaardistatud hiirte mudelite põhjal positsioonilist kloonimist kasutades. Inimestel leiti homoloogid skriinides ekstreemse rasvumusega lapsi vastavusse hiirtest leitud geneetiliste defektidega. Kõige sagedasem lapsea rasvumuse monogeenne vorm on põhjustatud *MC4R* geenis olevate mutatsioonide poolt, kuid need kirjeldavad ainult umbes 6% kõikidest monogeense rasvumuse juhtudest (Farooqi jt., 2003). Lisaks on veel erinevaid rasvumuse monogeenseid vorme nagu Alstromi sündroom, mis põhjustab umbes 7% tervisele ohtliku rasvumuse juhtudest lapseas ( $KMI > 40 \text{ kg/m}^2$ ) (Clément ja Ferré, 2003).

Sündroomseks rasvumuseks nimetatakse haruldasi juhtusid, kus rasvumus esineb kindlate seotud kliiniliste fenotüüpidega. Varasemalt ei liigitatud sündroomset rasvumust monogeenselt eraldiseisvana, aga tänapäevaks on erinevad uuringud tõestanud selle heterogeenset geneetilist olemust. See kujutab endast näiteks Prader-Willi sündroomis olevaid vigu genoomsel vermimisel (epigeneetilised muutused) ja Bardet-Biedli sündroomis 15. erinevas geenis olevaid mutatsioone (Butler 2011; Chen jt., 2011).

### 1.6.2 Mittesündroomne rasvumus

Mittesündroomse rasvumuse geneetiliste põhjuste leidmine on monogeense ja sündroomse rasvumusega võrreldes palju keerulisem. Mittesündroomse polügeense rasvumusega seostatud geneetilisi variante on varasemalt uuritud kandidaatgeeni uuringute ja ülegenoomsete aheldusuuringutega. Nende meetodite abil leiti ainult üksikud rasvumusega seotud geneetilised variandid, mis varieerusid etniliste gruppide vahel ning mida oli keeruline erinevates populatsioonides replitseerida (Suviolahti jt., 2003; Boutin jt., 2003; Meyre jt., 2005). Tänapäevaks on mittesündroomse rasvumuse geneetika uurimises tehtud mitmeid edusamme. Enamasti kasutatakse selle uurimiseks laiaulatuslikke geneetilise skriinimise uuringuid suurtes populatsioonides ja konsortsiumites (GWAS-e) (Hardy ja Singleton, 2009).

### 1.6.3 Uurimise meetodid

Komplekssete haiguste geneetiliste tegurite identifitseerimiseks on olemas mitmeid strateegiaid. Rasvumise geneetika uurimisel kasutatakse enamasti kandidaatgeeni analüüse, ülegenoomseid aheldusanalüüse ja ülegenoomseid assotsiatsiooniuringuid (Grant, 2014).



GWAS-des kasutatakse kõige uuemaid genotüpiseerimise tehnoloogiaid, mis põhinevad laialt levinud geneetiliste variatsioonide, enamasti ühenukleotiidiliste polümorfismide (*Single-Nucleotide Polymorphism*, SNP) kasutamisel geneetiliste markeritena, et kirjeldada kogu inimese genoomi sagedasemaid geneetilisi variante. GWAS-de teostamiseks kasutatakse suure markeritihedusega kiipe. Määratud markerite genotüüpe võrreldakse pärast kvaliteedikontrolli läbimist tunnuste varieeruvusega spetsiifilises populatsioonipõhises valimis (Frazer jt., 2007; Stranger jt., 2011). GWAS-de teostamise muudab keerukaks see, et komplekstunnused võivad olla põhjustatud mitmest suure efektisuurusega haruldasest variandist, millel on fenotübile suur mõju, või hoopis paljudest sagedasest variantidest, millel on fenotübile väiksem mõju. Mõlemal juhul võivad põhjuslikud geneetilised variandid olla klasterdunud nii vähestesse geenidesse kui ka üle mitme geeni (polügeenne) (Korte ja Farlow, 2013).

GWAS-de tulemusena on alates esimesest, 2006. aastal teostatud rasvumuse riski GWAS-st, identifitseeritud ligikaudu 100 rasvumuse riskiga seotud lookust (Fall ja Ingelsson, 2014; Locke jt., 2015). Suurt osa leitud lookustest on seostatud geenidega, mida ekspresseeritakse tugevalt ajus (eriti hüpotaalamuses). See viitab asjaolule, et energia tasakaalu reguleerivatel geenidel on suurem tähtsus rasvumuse tekkimisel kui metabolismiga seotud geenidel (Van Vliet-Ostaptchouk jt., 2009). Locke jt. poolt 2015. aastal avaldatud uuring, milles kasutati 339 224 indiviidi andmeid, andis põhjanevaid, rasvumuse ja sellega kaasnevate metaboolsete häirete riskidega seotud uusi leide (Locke jt., 2015; Shungin jt., 2015). KMI-le keskendunud uuringus leiti üle genoomi 97 ( $p < 5 \times 10^{-8}$ ) rasvumusega seotud lookust, millest 56 olid uued ja 41 varem kirjeldatud piirkonnad. Need 97 leitud lookust kirjeldavad 2,7% KMI varieeruvusest ja arvatakse, et kõik ülekaalu ja rasvumusega seotud sagedased geneetilised variandid kokku mõjutavad KMI-d umbes 21% ulatuses. Lisaks leiti sarnaselt varasemate läbiviidud monogeense rasvumuse sündroomi uuringute tulemustega, et rasvumuse eelsoodumust põhjustavad regioonid genoomis on seotud kesknärvisüsteemiga (KNS), spetsiifiliselt selle alaga hüpotaalamuses, mis reguleerib inimese toitumisharjumusi ja keha massi (Locke jt., 2015).

Suur osa KMI geneetilisest varieeruvusest on endiselt seletamata ning samuti on teadmata enamiku GWAS-de abil tuvastatud geneetiliste variantide täpsem bioloogiline funktsioon. Samas võivad need avastused kaasa aidata kehakaaluga seotud uute bioloogiliste radade tuvastamisele (Clément ja Basdevant, 2010). Praeguseks on leitud näiteks toitumise ja nälgimise signaalidele reageerivad sünaptilise plastilisuse ja glutamaadi retseptori aktiivsuse rajad, mida reguleeritakse hüpotaalamuse tsükli mõjutavate ja põhiliste rasvumusega seotud

molekulide, nagu näiteks tserebraalne neurotroofne faktor (BDNF) ja MC4R, poolt (Locke jt., 2015; Wu jt., 2012; Shen jt., 2013). Lookused, millel on tuvastatud seos KMI muutustega, on leitud kattuvat ka neuroloogilise arenguga seotud geenide ja bioloogiliste radadega (Locke jt., 2015).

Lisaks kogu KMI jaotuse uurimisele võib eraldi uurida ka ekstreemseid rasvumuse juhtusid ja võrrelda neid normaalkaalus inimestega (Grant, 2014). GWAS-de käigus leitud lookused, mis mõjutavad keha massi, kirjeldavad ainult väikese osa rasvumuse päritavusest (Lee jt., 2011). Põhjuseid sellele on mitmeid: suuresti on uurimata madala sagedusega geneetiliste variantide mõju, sagedaste variantide puudulik genoomi katvus, epistaas, geeni-keskkonna vastastikune toime ja fenotüüpne heterogeensus. Ekstreemide kasutamine muudab läbiviidavad uuringud efektiivsemaks, kuna geneetiliste variantide efekti mõju võib ekstreemide puhul olla suurem, genotüüpiseerimiseks on vaja kasutada vähem uurimisaluseid ning keskkonna tegurite mõju tunnuse varieeruvusele on väiksem. Ekstreemide defineerimine antropomeetriliste omaduste puhul, eriti KMI korral, on varieeruv. Üks võimalus on kasutada populatsiooni jaotuses protsentiile (näiteks piirväärtusena suuremaid kui 95. või 97. protsentiil) ja teine KMI väärtuseid (näiteks KMI piirväärtus  $\geq 40 \text{ kg/m}^2$ ). Ühine meetod ekstreemide defineerimisel on omaduse jaotuse kaheks vastandiks jagamine ja andmete analüüsimine juht-kontroll uuringuna (Berndt jt., 2013). Varasemalt ekstreemse rasvumusega indiviididega läbi viidud uuringutega on leitud mitmeid lookuseid, mis on ülegenoomselt tähtsad või selle piiri lähedal. Näiteks on leitud ekstreemse rasvumusega tugevaid seoseid geneetiliste variantidel geenides *PCSK1* ja *PTER*, kuid samas pole suuremõõtmelistes meta-analüüsidest suudetud avastada nende ülegenoomset tähtsust (Willer jt., 2009; Meyre jt., 2009; Speliotes jt., 2010). Lisaks on leitud mitmeid lookuseid ka KMI-d mõjutavate kandidaatgeenide lähedal, mis vajaksid täpsemat uurimist (Berndt jt., 2013).

#### **1.6.4 Rasvumuse geneetika uurimise probleemid**

Rasvumuse aluseks oleva bioloogia uurimisel on mitmeid uurimata tahke, mida takistavad puudujäägid senistes teadmistes ja andmekogudes. Näiteks mikrobioomi reguleerivatest geneetilisest teguritest ei ole täpset ülevaadet. Teadaolevad mehhanismid, mida mikroobid soolestikus võivad peremeesorganismi metabolismi ja immuunsüsteemi mõjutamiseks kasutada, toimuvad läbi geneetiliste variantide *Toll-like* retseptori 5-e (TLR5), glükagooni-sarnase valgu (GLP-1/2) geenides ja lipopolüsahhariidide taseme muutuste (Vijay-Kumar jt., 2010; Henao-Mejia jt., 2012; Madsbad, 2014). Ühest varasemast uuringust on leitud, et soolestiku bakterite hõimkondade *Bacteroidetes* ja *Firmicutes* sisaldus organismis on korrelatsioonis organismi energia talletamise võimega toidust (Turnbaugh jt., 2006).



GWAS-de teostamisel on üheks põhiliseks probleemiks populatsiooni stratifikatsioon – erinevast põlvnemisest tulenevad alleelisageduste erinevused juhtude ja kontrollide vahel, mis võivad põhjustada valepositiivseid tulemusi. GWAS-des populatsiooni stratifikatsiooni parandamiseks on võimalik kasutada näiteks peakomponentanalüüsi (PCA) või multidimensionaalset skaleerimist (MDS), mis on võimelised tuvastama populatsiooni struktuuri (Price jt., 2006; Li ja Yu, 2008). Lisaks on GWAS-de probleemiks asjaolu, et nendest leitud sagedaste geneetiliste variantidega suudetakse seletada uuritava omaduse pärilikkusest vähem kui 50%. Arvatakse, et paljusid haigusi võivad põhjustada sagedaste variantide asemel harvad geneetilised variandid ning seega on seni läbi viidud GWAS-de tulemused puudulikud. Sellest tulenevalt on järjest enam hakatud läbi viima assotsiatsiooniuringuid ka harvade geneetiliste variantidega (Zuk jt., 2014).

Selle jaoks, et täpsustada ja leida rohkem KMI muutustele aluseks olevaid geneetilisi mehhanisme, tuleks läbi viia suurema andmemahuga sagedaste ja ka harvade geneetiliste variantide uuringuid (kaasa arvatud need, mis põhinevad imputatsioonil, harvasid variante sisaldavatel genotüpiseerimiskiipidel ja genoomide sekveneerimistel), uurida mikrobioomi mõju ülekaalulisuse kujunemisel ning jätkata arvutusvahendite ja -meetodite arendamist (Locke jt., 2015).

### **1.6.5 Tähtsamad tulemused**

Enamiku rasvumuse eelsoodumusega seotud lookuste puhul ei ole kindlalt identifitseeritud põhjuslikku geeni ega isegi põhjuslikku geneetilist varianti. Samuti ei ole suudetud paljude kandidaatgeenide puhul seletada nende funktsiooni ja täpset seost rasvumusega. Kuigi paljud avastatud geneetilised variandid kattuvad leitud piirkondades mitme geeniga, on ka rasvumusega seotud spetsiifilisi geene. Kõige sagedasemad tulemused rasvumuse riskiga seotud GWAS-dest on mutatsioonid *FTO* (rasvamassi ja rasvumusega seotud geen) ja *MC4R* geenides. Antud GWAS-de tulemusi on replitseeritud nii laste kui ka täiskasvanute populatsioonides (Dina jt., 2007; Haworth jt., 2008; Loos jt., 2008; Willer jt., 2009; Hardy jt., 2010; Liem jt., 2010; Liu jt., 2010). Need kaks geeni on KNS-is kõrgelt ekspresseeritud ja neil on tähtis osa energia homöostaasis. Mitmed uuringud on näidanud *FTO* ja *MC4R* geenides olevate polümorfismide seost muutustega tarbitavates toidukogustes ja ka kõrvalkalletega organismi energiatarbimises (Haupt jt., 2009; Razquin jt., 2011; Speakman jt., 2008).

### 1.6.5.1 Rasvamassi ja rasvumusega seotud geen - *FTO*

*FTO* geen asub 16. kromosoomis ja kodeerib ensüümi, mis on homoloogne mitte-heemi ja 2-oksüglutaraadi oksügenaasi superperekonnas olevate valkudega. Selles perekonnas olevaid valke seostatakse post-translatsiooniliste modifikatsioonidega, DNA parandamisega ja rasvhapete metabolismiga (Sanchez-Pulido ja Andrade-Navarro, 2007). *FTO* geeni avaldumise mõju pole veel täpselt välja selgitatud. Võrreldes enamuse teiste avastatud geenidega, milles oleval funktsionikaoga mutatsioonid avalduvad raskekujulise monogeense rasvumusega (*MC4R*, *POMC*; *BDNF* ja *PCSK1*), on *FTO* geenil fenotüübile teistsugune mõju. *FTO* geeni funktsiooni kadumine avaldub sünnijärgselt kasvu- ja psüühikahälvetena, mikrotsefaaliana (tavalisest väiksem pea ümbermõõt), aju funktsiooni puudulikkusena ja näo düsmorfoosina (Boissel jt., 2009). *Fto* geeni puudulikel hiirtel on rasvkoe märgatav vähenemine ja sale fenotüüp ning neil on ka suurem suremus. Sale fenotüüp tulenes neil organismi suurenenud energiatarbimisest, kuigi füüsiliselt olid hiired vähem aktiivsemad ja sõid rohkem kui kontrollgrupi hiired (Fischer jt., 2009). *Fto* üleekspressioon põhjustab hiirtel doosist sõltuvat keha ja rasvamassi suurenemist, mis on põhjustatud rohkem söömisest. Hiirtel, kellel on *Fto* ekspressioon suurenenud ja toituvad kõrge rasvasisaldusega toidust, areneb välja glükoositalumatus (Church jt., 2010). *Fto* geeni ekspresseeritakse hiirtel tugevalt ajus, eriti hüpotaalamuses, mis on põhiline söögiisu reguleeriv piirkond (Gerken jt., 2007). Need tulemused on kooskõlas leitud tulemustega inimeste seas, kus *FTO* geenis olevate mutatsioonidel on tuvastatud mõju söömisharjumustele (Haupt jt., 2009). Smemo jt. poolt läbiviidud uuringu tulemused näitasid, et rasvumuse riski suurendavatel geneetilistel variantidel *FTO* geenis on seos *IRX3* geeni ekspressiooniga, mis on tähtis keha massi ja kompositsiooni määramisel (Smemo jt., 2014). *IRX3* üleekspressioon rasvarakkudes on iseloomulik tunnus patsientidel, kelle kaal on pärast maovähendus-operatsiooni langenud (Dankel jt., 2010).

*FTO* geeni lookuses on GWAS-dest leitud mitmeid SNP-sid, mida on seostatud rasvumusest tulenevate omadustega. *FTO* geeniga seotud lookused leiti esmalt GWAS-ist, mis uuris II tüüpi diabeedi seoseid geneetiliste variantidega (Frayling jt., 2007). Hilisemalt on *FTO* mõju KMI-le replitseeritud mitmes erineva etnilise kuuluvusega populatsioonis. Avastatud on kümnest riskialleelist koosnev klaster *FTO* geeni 1. intronis, millel on tugev seos rasvumuse riskiga. Iga seal asuva *FTO* riskialleeli puhul on näidatud, et need suurendavad KMI-d 0,40-0,66 kg/m<sup>2</sup> võrra (1,8 meetrise indiviidi puhul 1,3-2,1 kg). Euroopa päritolu suurtes populatsioonides kannavad 63% indiviididest vähemalt ühte *FTO* riskialleeli ja 16% on selle suhtes homosügootsed. Samal ajal on KMI varieeruvus *FTO* variantide poolt seletatav vaid 1-1,3% ulatuses (Loos ja Bouchard, 2008). *FTO* on praeguseks enim uuritud rasvumusega

seotud geen. *FTO* geeni täpsem uurimine võib aidata arendada olemasolevaid ja leida uusi meetodeid, mida oleks võimalik rakendada ka GWAS-dest avastatud teiste rasvumusega seotud geenide uurimiseks ja kasutamiseks rasvumuse epideemia vähendamisel (Boissel jt., 2009).

#### 1.6.5.2 Melanokortiin-4 retseptor – *MC4R*

*MC4R* geen kodeerib G valguga seotud transmembraanset retseptorvalku, millel on seos energia homöostaasi reguleerimisega. Selle retseptori inaktiveerimine hiirtes viib neil täiskasvanueas rasvumuse tekkeni ning seda on samuti seostatud hüperfaagiaga, hüperinsulineemiaga, hüperglükeemiaga ja suurenenud lineaarse kasvuga (Huszar jt., 1997). 1998. aastal näidati inimese geenide uuringutega, et mutatsioonid *MC4R* geenis võivad põhjustada monogeenset rasvumust (Vaisse jt., 1998). Erinevalt leptiinist või leptiini retseptoris olevatest mutatsioonidest (tuvastatud seos ülekaalulisuse ja rasvumuse riskiga), avalduvad mutatsioonid *MC4R* geenis hilisemas elufaasis ja on seotud suurema kasvuga (Huszar jt., 1997). 2008. aastal tõestati esimest korda, et geneetilised variandid *MC4R* geeni lähedal mõjutavad ka sagedast polügeenset rasvumust (Loos jt., 2008). *MC4R* valgul on leitud mitmeid funktsioone: söögiisu regulatsioon, kardiovaskulaarsed toimed, glükoosi ja lipiidide homöostaas, reproduktsioon ning sõltuvuse ja valu aistinguga seotud toimed (Tao, 2010).

#### 1.6.5.3 Erinevused etnilistes populatsioonides

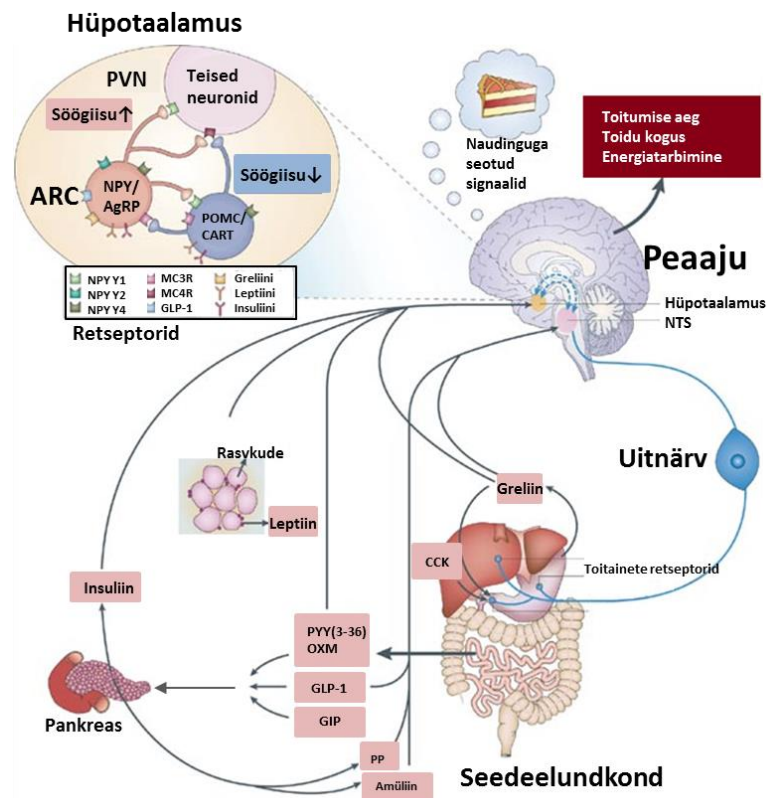
Rasvumuse levimus ja sellega seotud geneetiliste variantide sagedused varieeruvad oluliselt erinevates etnilistes populatsioonides (Yako jt., 2015). Rasvumusega seotud GWAS-des on enamasti kasutatud indiviide, kes on Euroopa päritolu (Lu ja Loos, 2013). Uuringuid on läbi viidud ka Aasia populatsioonides, aga leitud tulemused, kus rasvumuse riski on seostatud geenidega *GNPDA2*, *KCTD15*, *NEGR1*, *MC4R*, *SEC16B* ja *ETV5*, ei ole olnud järjepidevad (Cheung jt., 2010; Wang jt., 2012; Hong jt., 2013; Xi jt., 2013). Viimasel ajal on hakatud GWAS-e läbi viima ka Aafrika populatsioonides, kus leitud assotsiatsioonide replikatsiooniuringud erinevates populatsioonides ei ole alati andnud olulisi tulemusi. See võib tuleneda erinevustest populatsioonide geneetilises taustas ja ahelduse tasakaalustamatuse (*linkage disequilibrium*, LD) muustites, piiratud informatsioonist rasvumusega seotud lookuste kohta, madalast statistilisest võimsusest või uuringutes kasutatud varieeruvatest meetoditest. Kõik need faktorid takistavad erinevate rasvumusega seotud metaboolsete radade leidmist ja nende täpsemat uurimist (Yako jt., 2015). Näiteks on *FTO* geenis olevatel SNP-del Aafrika päritolu indiviidide seas KMI-ga nõrgem korrelatsioon kui Euroopa päritolu indiviidide seas. Erinevat etnilist päritolu populatsioonide põhjal saadud tulemusi võrreldes

on suudetud täpsustada varasemalt tuvastatud riskialleelide klastrit *FTO* geeni 1. intronis ning tuvastada geneetilisi variante, millel on KMI-le suurim mõju (Peters jt., 2013; Loos ja Yeo, 2014).

## 1.7 Söögiisu reguleerimine

Kuna pärilikud tegurid määravad suure osa rasvumusest, peaksid need toimima läbi füsioloogiliste süsteemide. Nendeks on näiteks toitumisega ja organismi energiatarbimisega seotud neurohormonaalsed süsteemid, mis vahendavad informatsiooni energiavarude, toitainete sisalduse ja imendumise, aistingute ja keskkonna kohta (Coll jt., 2007). Energia homöostaasis on tähtis roll hüpotaalamuses asuvatel kaar- ehk arkuuaattuumal (ARC) ja paraventrikulaarsel tuumal (PVN) (Berthoud ja Morrison, 2008; Morton jt., 2006). Hüpotaalamus saab rasvumise ja toitainetega seotud signaale (hormoonid ja neurotransmitterid) keha energeetilist olekut näitavatest perifeersetest süsteemidest, tõlgendab neid ja annab need edasi informatsioonina. Seejärel muudetakse söömiskäitumist ehk suurendatakse või vähendatakse toidukoguseid ning toimuvad muutused neuroendokriinses süsteemis, mis reguleerib organismi energiatarbimist ja metaboolseid protsesse, kaasa arvatud erinevate hormoonide sekretsiooni (kasvu-, soo- ja kilpnäärme hormoonid, kortisool ja insuliin) (Berthoud ja Morrison, 2008; Morton jt., 2006). Lisaks ARC-le on energia homöostaasis tähtis roll ka ajutüve dorsaalsel vagaalsel kompleksil (DVC). Hüpotaalamuse söögiisu ja energia bilansi kontrolli aluseks olev neuraalne tsükkel on olnud paljude rasvumuse uuringute eesmärgiks (Farooqi, 2000). Mudelsüsteemidest on leitud mitmeid sellega seotud sihtmärk-geene, millega viiakse edaspidi ravimeetodite arendamiseks läbi ka inimuuringuid. Põhilised söögiisu reguleerivad hormoonid on leptiin ja enteroendokriinsed hormoonid (greliin ja selle retseptor ning peptiid YY (PYY)) (Grant, 2014).

Pärast söömist aktiveeritakse organismis mao mehhanoretseptorid, muutub ringlevate toitainete kontsentratsioon ja vabastatakse söögiisu alandavad hormoonid, mis vähendavad järgnevat söömise tahet (Delzenne jt., 2010). Pikemaajalised energia tasakaalu ja keha rasvaprotsendiga seotud signaalid, nagu näiteks leptiini vahendatud signaalid, seonduvad samaaegselt KNS-i tsükliga, et reguleerida toidukoguseid (Farooqi jt., 2007). Lisaks homöostaatsele energia tasakaalu tagasiside mehhanismidele, mõjutavad söögiisu ka mitmed teised tegurid: toidu välimus, maitse, sotsiaalsed, kultuurilised ja majanduslikud faktorid. Söögiisu reguleerimist vahendavad samuti nauding ja mäluga seotud neuraalsed tsüklid. Kokkuvõtlikult võib öelda, et homöostaatsete ja mitte-homöostaatsete tegurite vahel on seos ja need mõjuvad näljatunnet suurendavatele või vähendavatele vastustele kooskõlastatult (Zheng ja Berthoud, 2007). Söögiisu reguleerimise protsess aju piirkondade, perifeersete signaalide poolt on kujutatud joonisel 2.



**Joonis 2.** Söögiisu reguleerimise protsess aju piirkondade ja perifeersetel signaalide (seedeelundkonna hormoonid, insuliin ja leptiin) poolt. GLP-1 ja gastriline inhibiitorpeptiid (GIP) (integrinid), PYY(3-36), okintomoduliin (OXM), pankrease polüpeptiid (PP) ja amüliin, koletsüstekiniin (CCK) ja greliin on põhilised seedeelundkonna hormoonid, mida vahendab DVC-s oleva NTS-ga uitnärv (aluseks Kenny 2011).

## 1.7.1 Aju piirkondade roll toitumises

### 1.7.1.1 Hüpotaalamus

Hüpotaalamusel, täpsemalt ARC-l, on söögiisu reguleerimisel keskne roll. Kuna ARC asub *eminetia mediana*-s (selle kaudu liiguvad arvatavalt signaalid KNS-i), on see ideaalselt positsioneeritud kaaskoordineerima söömist. ARC-is olevad kahjustused avalduvad hiirtel hüperfaagia ja rasvumusena (Olney, 1969).

ARC-is asub kahte tüüpi neuroneid. Esimene diskreetne grupp neuroneid sisaldab leptiini seondavaid neuropeptiid Y (NPY) ja agouti-sarnaseid (AgRP) valke, mille aktiveerimisel söögiisu suureneb (Clark jt., 1984). Samas piirkonnas on vastupidise mõjuga leptiini seondavaid POMC valke ning kokaiini ja amfetamiini poolt reguleeritavat transkripti (CART) sisaldav teine grupp neuroneid, mis on võimelised inhibeerima esimest gruppi neuroneid. POMC on alfa-melanotsüüte stimuleeriva hormooni ( $\alpha$ -MSH) prekursor, mis mõjub

melanokortiini retseptoritele (MC3R ja MC4R) ja vähendab sellega söögiisu (Schwartz jt., 2000). MC4R ja BDNF valgud on leptiin-melanokortiini rajas ühed tähtsamad valgud (Morton jt., 2006). CART-il on arvatavalt kas söögiisu tõstev või alandav funktsioon, olenevalt selle sihtmärgist. Keskne ajuvatsakese-sisene CART-i administreerimine vähendab rottidel söömist ja selle sisestamine otse ARC-i suurendab söögiisu (Abbott jt., 2001). NPY/AgRP-st neuronitest lähtuvad aksonid ja POMC/CART neuronid projekteeruvad ARC-ist teistesse hüpotaalamuse tuumadesse, millest üheks tähtsamaks on PVN. PVN-i hävitamine viib rottidel hüperfaagia ja rasvumuse tekkimiseni (Leibowitz jt., 1981).

#### 1.7.1.2 Ajutüve dorsaalne ja vagaalne kompleks

DVC koosneb tuumadest *nucleus tractus solitarius* (NTS), *area postrema* (AP) ja vagaalsest (uitnärvi) dorsaalsest motoorsest tuumast. DVC on arvatavalt oluline vahendaja toitumise perifeersete signaalide ja hüpotaalamuse tuumade vahel (uitnärv ulatub kaugemale kaelast allapoole kui teised kraniaalnärvid) (Bailey, 2008). Ajutüvest lähtuvad mitmed neuraalsed projektsioonid hüpotaalamusse ja tagasi (Ter Horst jt., 1989). Lisaks sellele kannavad uitnärvi afferentsid sensoorset informatsiooni seedeorganitest NTS-i. Uuringud närilistega on näidanud, et nende närvide läbilõikel suureneb toidu kogus ja söömise aeg (Schwartz, 2000).

#### 1.7.2 **Perifeersed signaalid**

Energia tasakaalu kontrollimine toimub läbi soolestikust tulenevate küllastustunde ning rasvumuse ja toitainetega seotud signaalide. Toidu söömise järgselt vabastatakse soolestikus seedeelundkonna hormoonid, mis inhibeerivad edasist toitumist vahendades küllastustunde tekkimist (näiteks PYY ja GLP-1). Lisaks nendele on veel erinevaid söögiisu vähendavaid seedeelundkonna hormoone, mis on näidatud tabelis 2 (De Silva ja Bloom, 2012). Vastupidiselt söögiisu vähendavatele hormoonidele sekreteeritakse seedeelundkonna hormooni greliini näljatunde olukorras ja see stimuleerib söömist (Wren jt., 2001; Druce jt., 2005). Rasvumuse signaalid annavad tagasisidet organismi energia varudest ajule ning need on vahendatud ringlevate hormoonide leptiini ja insuliini poolt (Perry ja Wang, 2012).

##### 1.7.2.1 Insuliin ja leptiin

Rasvumuse signaalid on seotud pikaajalise energia tasakaalu regulatsiooniga, samal ajal kui seedekulglala valgud muudavad toidu koguseid vastavalt einekordadele. Ringlevate insuliini ja leptiini tasemed on positiivses korrelatsioonis rasvarakkude massiga kehas ja mõjutavad pikaajalist energia tasakaalu regulatsiooni. Ringleva leptiini valgu kõrge kontsentratsioon inhibeerib söömistungi (Soukas jt., 2000; Schwartz, 2000).



Insuliini toodetakse pankrease beeta rakkudes ja sekreteeritakse koheselt pärast einet ning sellel on hästi kirjeldatud hüpoglükeemiline efekt (Polonsky jt., 1988). Ajuvatsakesesisene insuliini süstimine mõjutab paavianitel ja rottidel annuse-põhiselt toidu koguseid ja kehakaalu. Insuliinil võib seega olla lisaks hüpoglükeemilisele efektile ka näljatunnet vähendav toime (Air jt., 2002; Woods jt., 1979). Insuliinil on ka leptiini sünteesi ja sekretsiooni stimuleeriv toime. See toimub valgetes rasvarakkudes läbi tagasiside mehhanismi, mida nimetatakse rasva-insuliini teljeks (Kieffer ja Habener, 2000). Kui toidukoguseid piiratakse, siis ringleva insuliini tase kehas langeb ja aktiveeritakse hüpotaalamuses söögiisu stimuleerivad rajad. Insuliin mõjutab söögiisu samal viisil ja kasutades samu bioloogilisi radasid kui leptiin (Soukas jt., 2000; Schwartz, 2000).

Hiirtel ekspresseeritakse *ob* geeni enim valgetes rasvarakkudes ja see kodeerib valku leptiin. Geenile on tuvastatud homoloog ka inimestel (Considine jt., 1996; Zhang jt., 1994). Leptiinil on päevane ja pulseeriv muster, mis saavutab tippkonsentratsiooni öösel (Saad jt., 1998). Leptiini annustamisega on võimalik leevendada leptiini puudulikkuse poolt põhjustatud hüperfaagiat. Rasvunud inividid on aga leptiini suhtes resistentsed, mis viitab ka nendel leptiini toime puudumisele (Zelissen jt., 2005). Homosügootsed mutatsioonid näriliste *ob* geenis avalduvad raske rasvumusena, täiskasvanud isendid kaaluvad samas keskkonnas üleskasvanud ilma mutatsioonideta närilistest kolm korda rohkem (Ingalls jt., 1950). Sellisel fenotüübil on leptiini puudulikkus, mida on võimalik rekombinantse leptiini manustamisega ravida (Pelleymounter jt., 1995). Homosügootseid mutatsioone leptiini kodeerivas geenis on leitud ka inimestel (Clément jt., 1998). Lisaks on avastatud homosügootset mutatsiooni omavatel inivididel ka teisi endokrinopaatiaid – primaarne testikulaarne või ovariaalne puudulikkus (tingitud KNS-i, hüpotaalamuse või hüpofüüsi düsfunktsioonist) ning kasvuhormooni ja türeotropiini (stimuleerib kilpnäärme hormooni türosiin) madal sekretsioonitase (Lucantoni jt., 2000).

Vastupidiselt eelnevale, ei ole võimalik leptiini retseptori geenides (hüpotaalamuses) mutatsioone omavaid hiiri samade meetoditega ravida (nimetatakse *db/db* hiirteks ja kasutatakse tüüp II diabeedi uurimisel) (Chua jt., 1996). Mutatsioonidel leptiini retseptori geenis on leitud seos muutustega KMI-s ja teistes füsioloogilistes omadustes nagu vererõhk ja insuliini sekretsioon (Yiannakouris jt., 2001; Rosmond jt., 2000; Wauters jt., 2001).

### 1.7.2.2 Tähtsaimad seedeelundkonna hormoonid

Seedeelundkond on keha kõige suurem endokriinne organ, mis sekreteerib üle 30 erineva reguleeriva peptiidhormooni. Suur osa nendest hormoonidest on stimuleeritud seedeelundkonnas olevate toitainete sisalduse poolt ja need seonduvad mitmete retseptoritega,

mis asetsevad seedeelundkonna-aju teljel. Nendega reguleeritakse lühiajalist ja keskmise kestvusega söömistungi ja küllastustunnet. Tähtsamad seedeelundkonna hormoonid on väljatoodud tabelis 2 (De Silva ja Bloom, 2012).

**Tabel 2.** Tähtsamad seedeelundkonna hormoonid, mis reguleerivad söögiisu ja nende iseloomustus (aluseks De Silva ja Bloom, 2012).

	Hormoon	Sekretsiooni regioon	Tähtsaim toime
Näljatunnet vähendavad	PYY	L rakud	Lükkab edasi soolestiku tühjendamist. Efekt uitnärvile ja KNS-ile.
	GLP-1 ja GIP	L rakud	Glükoosist sõltuv insuliini sekretsioon. Lükkab edasi soolestiku tühjendamist. Efekt uitnärvile ja KNS-ile.
	Oksüntomoduliin	L rakud	Glükoosist sõltuv insuliini sekretsioon. Lükkab edasi soolestiku tühjendamist. Efekt uitnärvile ja KNS-ile.
	Glükagoon	Pankrease alfa rakud	Glükoneogenees. Glükogenolüüs.
	Koletsüstokiniin	Soolestiku I rakud	Sapipõie kontraktsioon. Lükkab edasi soolestiku tühjendamist. Pankrease ensüümi sekretsioon.
	Pankrease polüpeptiid	Pankrease PP rakud	Lükkab edasi soolestiku tühjendamist.
	Amüliin	Pankrease beeta rakud	Inhibeerib soolestikus toimuvat sekretsiooni. Lükkab edasi soolestiku tühjendamist. Alandab glükoosi taset veres.
Näljatunnet suurendavad	Greliin	Mao funduse A rakud	Kiirendab soolestiku motoorikat. Kasvuhormooni sekretsioon.

#### **1.7.2.2.1 Greliin ja obestatiin**

Greliin on 28 aminohappe pikkune maos toodetav valk, mis aktiveerib keskselt kasvuhormooni sekreteerivat retseptorit (GHSR) (Kojima jt., 1999). Madalal tasemel leidub greliini ka hüpotaalamuse ARC-is (Cummings jt., 2001). Sarnaselt leptiiniga reageerib greliin perifeersetele signaalidele, mis on seotud toiteainete olemasoluga ning vahendab informatsiooni hüpotaalamusele. Greliini tase tõuseb nälgimise korral ja langeb pärast söömist (Cummings jt., 2002). See on ainuke teadaolev näljatunnet suurendav seedeelundkonna hormoon. Greliin vähendab rasvarakkude kasutamist ning arvatakse, et see vahendab signaali ainevahetuse efektiivsuse parandamiseks (Tschop jt., 2000). GHSR-i kodeerivas geenis on leitud variatsioonid, mis on seotud muutustega KMI-s (Baessler jt., 2005). Vereplasmas tsirkuleeriva greliini madalat taset on seostatud ka eduka pikaajalise kaalulangetamisega (Cummings jt., 2002). Inimestel on leitud ringleva greliini taseme ja KMI vahel negatiivne korrelatsioon (Otto jt., 2001). Greliinil on ka diabeeti soodustav roll, kuna



inhibeerib insuliini sekretsiooni, edendab kehas insuliini resistentsus ning vähendab insuliini tundlikkust (Leite-Moreira ja Soares, 2007). Greliini retseptoreid on leitud veresoonekonnas ja greliin mõjub südame-veresoonekonna tervislikule seisundlikele positiivselt (Tesauro jt., 2010). Seega greliini antagonistide kasutamine kaalulangetus meetodite väljaarendamisel võib inhibeerida greliini kaitsvat toimet veresoonekonna tööle (Taheri jt., 2004). Uuringud on leidnud, et greliini näljatunnet suurendav mõju toimub läbi NPY/AgRP neuronite stimulatsiooni hüpotaalamuse ARC-is (Chen jt., 2004). Greliini söögiisu tõstvat toimet võivad mõjutada ka ajutüvi ja uitnärv. Lisaks võib greliin suurendada toidu tarbimist sellega, et suurendab toidust saadud naudingut (Malik jt., 2008).

Greliini prekursorist avaldub valk obestatiin, millel on greliinile vastupidine efekt ehk see alandab söögiisu. Seda toodavad samad neuroendokriinsed rakud, mis sekreteerivad ka greliini (Zhang jt., 2005). On leitud, et kuigi obestatiinil on samuti südame-veresoonekonnale kaitsev mõju, siis kasutab antud valk selleks greliinist erinevat bioloogilist rada. Seega võib obestatiin olla kasulik terapeutiline vahend vähendamaks suuremust südame-veresoonekonna haigustesse ning kaasa aidata kaalu langetamisel ja metaboolse sündroomi parandamisel (Agnew jt., 2012).

#### ***1.7.2.2.2 Peptiid YY***

PYY on 36 aminohappe pikkune enteroendokriinne hormoon, mida leidub kõige kõrgemas kontsentratsioonis niudesooles ja käärsooles. PYY tase kehas tõuseb vastavuses toidu, eriti suure rasvasisaldusega toidu, tarbimisega (sekreteeritakse sooleepiteeli L-rakkudes 15 minutit peale söömist) ning on näljatingimustes madal (Adrian jt., 1985). Kehas leidub kahte eri ringlevat vormi PYY-d: PYY(1-36) ja PYY(3-36) (Eberlein jt., 1989). PYY(1-36)-l on afiinsus kõigile NPY retseptoritele, samas kui PYY(3-36) seondub kõige suurema afiinsusega hüpotaalamuse NPY tüüp 2 retseptoriga ja pärsib söömistungi (POMC neuronite aktiivsus seejärel tõuseb ja NPY neuronite oma langeb) (Adrian jt., 1985; De Silva ja Bloom, 2012). Nii saledatel kui rasvunud inimestel alandab PYY veenisisene annustamine söögiisu ja toidu tarbimist. Seega erinevalt leptiinist, on PYY tundlikkus rasvunud indiviididel säilinud (Batterham jt., 2002). Lisaks söömistungi reguleerimisele, avaldab PYY mõju ka energia tarbimisele, lükkab edasi soolestiku tühjendamist ja alandab happe sekretsiooni (Ashby ja Bloom, 2007). PYY söögiisu alandav mõju võidakse vahendada läbi ARC-i otsese ning uitnärvilise ja ajutüve mitteotsese toime või mõlemat rada pidi korraga (Batterham jt., 2002).

#### ***1.7.2.2.3 Glükagooni-sarnane valk***

GLP-1 on 31 aminohappe pikkune polüpeptiid, mida ekspresseeritakse valdavalt L-rakkudes proglükagooni geenist ja see on seotud toidu tarbimise ja energia homöostaasiga. GLP-1

põhiline valk hormoonide grupist, mida nimetatakse integriinideks ja sekreteeritakse soolestikus vastusena toidu, eriti glükoosi, tarbimisele. Lisaks GLP-1-le kuulub integriinide rühma ka gastriline inhibiitorpeptiid (GIP). GLP-1 tase on madal nälja tingimustes ja selle tase tõuseb eelnevalt söögikorrale (Baggio ja Drucker, 2007; Vahl jt., 2010). GLP-1 mõju on vahendatud läbi transmembraanse G-valguga seotud retseptorite, mida leidub organismis erinevates kudedes: pankreases, neerudes, südames, kopsudes, soolestikus, endoteelis, ajuripatsis ning ka perifeerses närvisüsteemis ja KNS-is. Pärast GLP-1 avaldumist, algab koheselt selle inaktiveerimine ensüümi dipeptidüül peptidaas-IV (DPP4) poolt ja see viib GLP-1 lühikese pooldumisajani (1-2 minutit) (Baggio ja Drucker, 2007). Veenisisese GLP-1 annustamisega on näidatud, et selle tulemusena vähenevad toidukogused nii normaalse kaaluga kui ka rasvunud indiviididel, kuid võrreldes saledatega, on rasvunute söögijärgne GLP-1 vastus nõrgem (Holst, 2007). GLP-1 valgul on ka leitud seos ateroskleroosi arenemisega. Ühe uuringus tervete, mitte diabeeti põdevate indiviididega läbi viidud GLP-1 annustamise katses tõusis neil atsetüülkoliini vahendamise kaudu küünarvarre vererõhk. See näitab, et GLP-1 valk võib parandada endoteeli-sõltuvat vasodilatsiooni (Basu jt., 2007). Hiljuti leiti, et GLP-1 valgul on ka võime edendada närvikoes rakkude jagunemist ja vähendada nende apoptoosi teket (Harkavyi ja Whitton, 2010).

#### **1.7.2.2.4 Pankrease polüpeptiid**

PP-d sekreteeritakse pankrease Langerhansi saarekeste PP rakkudes. PP alandab söömistungi läbi ajutüves ja hüpotaalamuses asuvate NPY tüüp 4 retseptorite. PP näljatunnet alandav mõju kadus närilistel, kui neil eemaldati uitnärv (vaagus). See viitab sellele, et PP söögiisu alandav toime avaldub samuti läbi uitnärv (Asakawa jt., 2003). Olenevalt annustamise kohast, on uuringutest leitud PP-l toidukogustele erinev mõju. Perifeersel annustamisel avaldub PP näljatunnet vähendav mõju ja ajupiirkondade-kesksel manustamisel vastupidiselt stimuleeritakse söömist (Clark jt., 1984). Ringleva PP valgu tase veres tõuseb pärast söömiskorda vastavuses toidu kalorsusele (Clark jt., 1984; Uhe jt., 1992). Hiirte peal läbi viidud uuring näitas, et PP valku üleekspresseerivad transgeensed isendid omavad saledat keha ja neil on ka väiksemad toidukogused võrreldes metsik-tüüpi kontrollidega (Ueno jt., 1999). Normaalses kaalus inimestel vähendas veenisisene PP valgu annustamine 24-tunnises vahemikus toidu koguseid 25% võrra (Batterham jt., 2003).

## **1.8 Ravivõimalused**

Ülekaalulisuse ja rasvumuse ravimeetodeid on võimalik kasutada süsteemselt astmelise plaanina vastavalt patsiendi vajadustele. Sellises lähenemises on esimeseks etapiks elustiili muutustele keskenduv ravi: toidust saadud energia vähendamine ja/või energia tarbimise

suurendamine (füüsiline aktiivsus), et tekitada negatiivne energia tasakaal (de la Garza jt., 2011; Kushner, 2014). Kui patsient ei suuda elustiili muutustega saavutada vajalikku kehakaalu, tuleks rakendada erinevaid meditsiinilisi teraapiaid (Yanovski ja Yanovski, 2014). Kõige kiiremini arenevaid edusamme on ülekaalulisuse ja rasvumuse ravis tehtud ravimite arendamisega. Ravimifirmad ja sellega seotud uuringufirmad proovivad leida rasvumusevastaste ravimite arendamiseks ühendeid, mille sihtmärgiks oleksid metaboolsed või energia talletamisega seotud mehhanismid (juhitud perifeersetes või KNS-i signaalide poolt). Kuigi paljudel ainetel on leitud prekliinilistes ja kliinilistes katsetes kasulikke mõjusid, siis ainult vähesed on saanud Euroopa Liidu ja/või USA toidu- ja raviametilt (*US Food and Drug Administration*, FDA) kasutusloa. Tõhusate rasvumisvastaste ravimite väljaarendamise vajalikkus on suur, kuid keskenduda tuleks ka leitud ravimite ohutusele ning mõju kasulikkusele, arvestades individidevahelisi erinevusi. *Sibutramine* oli esimene näide rasvumisvastasest ravimist, mis eemaldati müügist, kuna leiti seos kardiovaskulaarsete tüsistuste ja kõrgeenenud insuldi riskiga. Erinevate kõrvaltoimete leidmisele tuleks rohkem keskenduda prekliinilistes ravimite arendamise etappides (Chatzigeorgiou jt., 2014).

Kolmanda etapina võib nende patsientide puhul, kellel on tõsisem rasvumus või kes on vastavalt näidustustele sobilik, kasutada kirurgilist sekkumist (Wyatt, 2013).

### **1.8.1 Kirurgiline sekkumine**

Kirurgilise meetodina rasvumuse ravis kasutatakse bariaatrilist operatsiooni. Selline meetod on viimaste aastate jooksul muutunud järjest populaarsemaks. Tulemused rasvunud indiviididel, kellel on ka II tüüpi diabeet, on olnud muljetavaldavad. Sellest lähtudes on Rahvusvaheline Diabeedi Föderatsioon soovitanud bariaatrilist kirurgiat patsientidele, kelle KMI on 30-35 kg/m<sup>2</sup> ja nende diabeeti ei ole suudetud kontrolli alla saada ravimipõhiste meetoditega (Dixon jt., 2011). Bariaatrilise kirurgia positiivsed tulemused – kaalulangus ja rasvumusega seotud metaboolsete kaashaiguste paranemine – on arvatavalt seotud muutustega seedeelundkonna hormoonide ja rasvkoe metabolismi füsioloogilise vastusega. Metaboolsed mõjud on muutused greliini, GLP-1 ja PYY hormoonide tasemetes. Lisaks tekivad pärast operatsiooni muutused uitnärviga seotud signaalides, mis mõjutavad söömisharjumusi ja kontrolli kehakaalu üle (Ionut jt., 2013; Miras ja le Roux, 2013).

Kolm kõige enam kasutatavat bariaatrilise operatsiooni tüüpi on maobandaaž, mao pikisuunaline resektsioon (LSG) ja maost möödajuhtiv operatsioon (*Roux-en-Y bypass*, RYGB). Kolmas protseduur (RYGB) on nendest kõige tihedamini teostatud operatsiooni tüüp ja annab paremaid tulemusi kui teised meetodid (Schauer jt., 2014). Esimese 5 aasta jooksul saavutatakse RYGB operatsiooni järgselt 25-30%-line kaalukaotus algsest kaalust (Vest jt.,

2013). LSG meetodiga suudetakse saavutada 20-25%-line kaalukaotus (Dixon jt., 2012). Otsus bariaatrilist operatsiooni soovitada peab tulenema riski-kasumi suhtest koos mitme teise faktoriga, näiteks füsiosotsiaalne tervis, patsiendi otsuses operatsiooni teostada kindlaks jäämine, ootused tulemuses ja hind. Vastunäidustused on kõrge operatsiooni risk, pidev ravimite kuritarvitamine või kontrollimatu füsiopatoloogiline seisund nagu depressioon, skisofreenia või buliimia. Kõik patsiendid, keda valitakse bariaatrilisele operatsioonile peavad läbima spetsialistide poolt ulatusliku hindamise (Blackburn jt., 2009).

## 2 Eksperimentaalosa

### 2.1 Töö eesmärk

Käesoleva töö eesmärgiks oli leida seoseid rasvumuse ning sagedaste ja harvade geneetiliste variantide vahel kasutades Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramu (EGCUT) andmestikku. Kehamass on geneetiliste faktorite poolt tugevalt mõjutatud ning rasvumust põhjustavate geneetiliste variantide leidmine ja nendega seotud geenide funktsioonide uurimine annab meile baasteadmised uute ravivõimluste arendamiseks, mis loodetavasti leevendavad ülemaailmset rasvumuse epideemiat.

### 2.2 Materjal ja meetodika

Uuringu käigus viidi läbi nii sagedaste geneetiliste variantide ülegenoomne assotsiatsiooniuuring, kasutades 1000 genoomi projekti referentsile imputeeritud andmeid, kui ka harvade variantide markeri- ja geenipõhised analüüsid, kasutades genotüpiseeritud harvu variante eksoomipiirkondades. Sagedaste ja harvade geneetiliste variantide defineerimiseks on antud töös kasutatud nivood, kus vähemesineva alleeli sagedus on vastavalt suurem-võrdne 1%-ga või väiksem kui 1%.

Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramu on biopank, mille kohorti kuuluvad vabatahtlikult liitunud Eesti elanikkonna täiskasvanud (vanus  $\geq 18$ ) inivid. Praeguseks on sellega liitunud vabatahtlikult umbes 52 000 inimest – ligi 5% Eesti täiskasvanud elanikkonnast. Geenivaramu kohort kirjeldab üsna hästi Eesti populatsiooni vanuselist, soolist ja geograafilist jaotust. Meeste osakaal EGCUT-is on 34% ja naiste oma 66%, mis teeb vastavalt 3,4% ja 5,5% Eesti täiskasvanute populatsioonist. Geenidoonorid läbivad standardiseeritud eksamineerimise (antropomeetrilised mõõdud, vereõhk, puhkeseisundi südamelöögi kiirus) ja loovutavad veeniverd DNA, valgete vererakkude ja plasma testide jaoks. Doonorid täidavad samuti 16-moodulise tervise teemalise küsimustiku: elustiil, dieet, kliinilised diagnoosid vastavalt WHO ICD-10<sup>1</sup> ja ravimid anatoomilis-terapeutilise keemilise klassifikatsiooni ATC<sup>2</sup> koodidele (Leitsalu jt., 2014).

#### 2.2.1 Andmevalim

Uurimuse läbiviimiseks kasutati Tartu Ülikooli Eesti Geenivaramu üle kogu Eesti geenidoonoritelt kogutud DNA proove. Kuna vanadel inimestel hakkab KMI erinevatel põhjustel langema, valisime uuringusse geenidoonoreid vanusega 20-44 eluaastat. Võttes

---

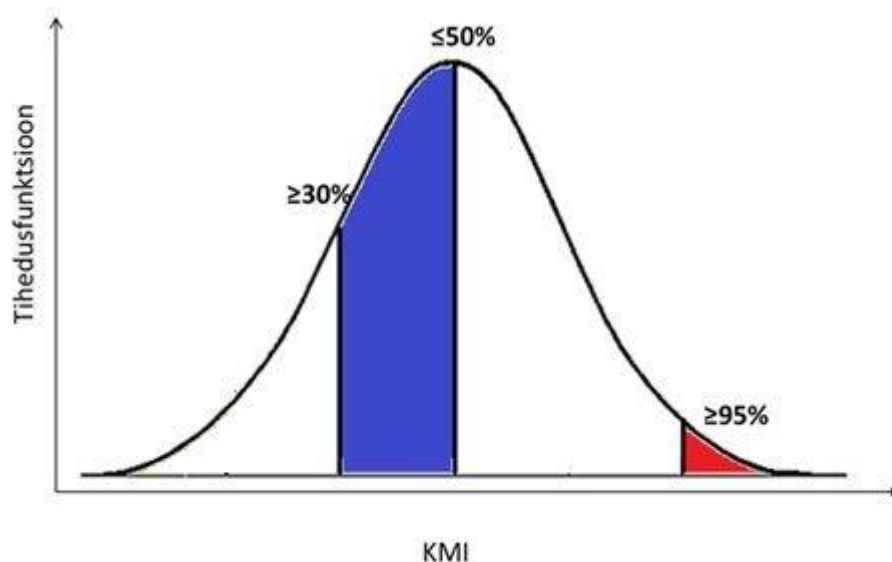
<sup>1</sup> <http://www.who.int/classifications/icd/en/>

<sup>2</sup> [http://www.whocc.no/atc\\_ddd\\_index/](http://www.whocc.no/atc_ddd_index/)

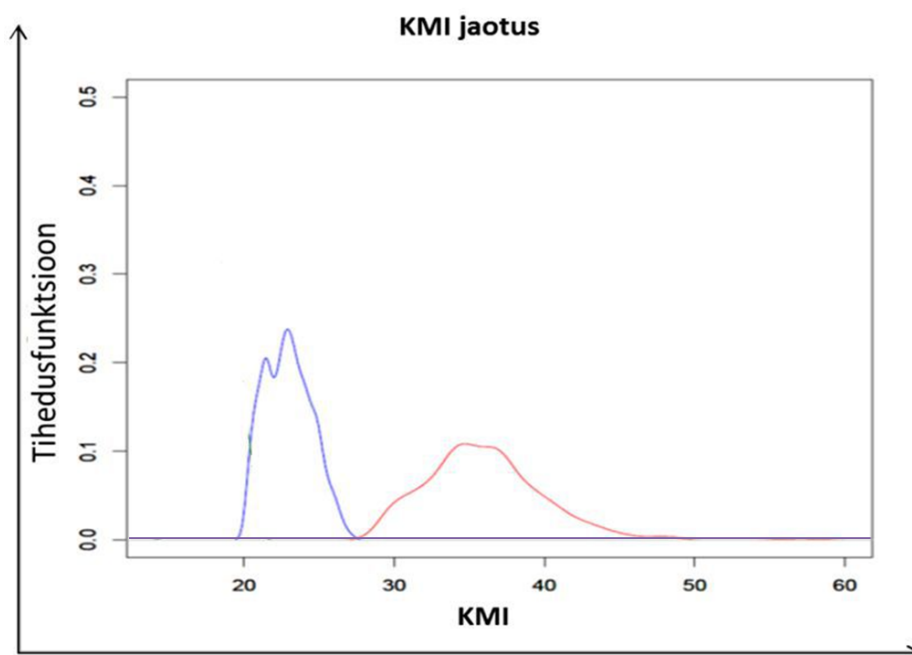
arvesse, et inimeste keskmine KMI suureneb vanusega ning võrrelduna naistega on meestel KMI kõrgem, kasutasime rasvunute ja normaalkaaluliste eristamiseks vanusele ja soole kohandatud KMI protsentiile. Geenidoonorid KMI väärtustega  $\geq 95$  protsentiili valiti juhtudeks ja geenidoonorid KMI väärtustega  $\geq 30 - \leq 50$  protsentiili võeti kontrollideks (joonis 3). Protsentiilid arvatati eraldi meestele ja naistele ning mõlemal soo puhul kasutati protsentiilide leidmiseks vanusekategoriaid aasta kaupa. KMI väärtuste jaotus on näidatud joonisel 4.

Antud uuringust on eemaldatud geenidoonorid, kelle KMI-d mõjutavad erinevad välised faktorid: KMI-ga seotud haigused ja ravimid (ICD koodid ja ravimite toimeained lisades 1 ja 2), uuringuaegne rasedus, taimetoitlus, suitsetamine (rohkem kui 20 sigaretti päevas), alkoholi tarbimine (rohkem kui üks ühik päevas – 10g etanooli), professionaalselt spordiga tegelemine, füüsiline puue ja regulaarse menstruatsiooni puudumine naisgeenidoonoritel. Valikukriteeriumitele vastavate rasvunute valimi suuruseks oli 553 indiviidi, kontrollgrupi indiviide oli 3173.

Käesoleva töö raames teostatavate uuringute läbiviimiseks on geenidoonorid andnud informeeritud nõusoleku ning olemas on Tartu Ülikooli inimuuringute eetika komitee kooskõlastus.



**Joonis 3.** KMI väärtuste jaotus ja uuringus kasutatud KMI vahemikud normaalkaalulistele kontrollidele ( $\geq 30 - \leq 50\%$ , sinine) ja rasvumuse juhtudele ( $\geq 95\%$ , punane). KMI protsentiilid arvatati eraldi meestele ja naistele ning eluaasta kaupa igale vanusekategoriale.



**Joonis 4.** KMI väärtuste jaotus ja uuringus kasutatud KMI vahemikud normaalkaalulistele kontrollidele (sinine) ja rasvunud (punane) juhtudele.

## 2.2.2 Genotüpiseerimine

Indiviidide ülegenoomse genotüpiseerimine viidi läbi Illumina Infinium II tehnoloogia abil kasutades Illumina Infinium PsychArray BeadChip kiipe, järgides tootjafirma poolt välja töötatud standardprotokolle ja kasutades tootja poolt valmistatud reaktiivide komplekte ([www.illumina.com](http://www.illumina.com)).

Antud kiibiga on võimalik inimese genoomist genotüpiseerida umbes 600 tuhandet markerit: 280 tuhandet eksoomide uurimisele fokuseeritud varianti, milledest enamik on mittesünonüümsed muutused geenides, 270 tuhandet tagSNP-d (omavahel aheldunud markereid kirjeldav üksik SNP kõrge LD-ga genoomi regioonis), mis kirjeldavad sagedasi geneetilisi variante ülegenoomselt ja võimaldavad ülegenoomset imputatsiooni, ning umbes 50 tuhandest markerist, mida seostatakse sagedaste psühhiaatriliste haigustega.

Genotüpiseerimine viidi läbi EGCUT Genotüpiseerimiskeskuses ajavahemikul mai-september 2014. Genotüpiseerimist teostasid osaliselt ise genotüpiseerimiskeskuse vanemlaborandi Viljo Soo juhendamisel.

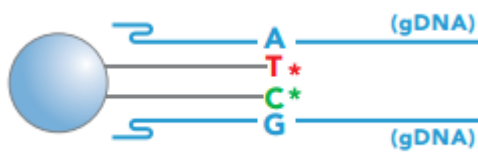
### 2.2.2.1 Genotüpiseerimise protsess

Genotüpiseerimise protsess viidi läbi kasutades Illumina BeadArray mikrokiibi tehnoloogiat. See põhineb silikaat kerakestel - miljonid kerakesed (3 mikromeetrit) on kinnitatud klaasi pinnale. Iga kerake esindab ühte järjestust genoomist ning on kaetud vastava

lookusspetsiifiliste oligonukleotiididega, mida on kerakese pinnal sadu tuhandeid ([www.illumina.com](http://www.illumina.com)).

Kiipidega läbiviidav genotüpiseerimine on kuue-etapiline protsess. Esimeses etapis toimub kogu genoomi amplifikatsioon: puhta DNA denatureerimine ning paljundamine isotermilises reaktsioonis üleöö inkubeerimisega. Teises etapis toimub amplifitseeritud DNA ensümaatilise fragmenteerimine lühikesteks juppideks. Sellega tagatakse optimaalne kinnitumine klaasi pinnale. Seejärel toimub DNA puhastamine alkoholiga, resuspendeerimine hübridisatsiooni puhvris ja kiibile kandmine (kiibil on mikrokerakesed, kus on kindlale lookusele vastavad praimerid) (3. ja 4. etapp). DNA jupid kinnituvad komplementaarselt kerakestel olevate oligonukleotiididele ja hübridiseerumata DNA proovid pestakse klaasilt (5. etapp). Ühildumise protsessi on kujutatud joonisel 5. Järgnevalt pikendatakse oligonukleotiidid ühe märgistatud ddNTP võrra ja igale märgistatud oligonukleotiidile seondub fluorestsentsmärgisega molekul (6. etapp) ([www.illumina.com](http://www.illumina.com)).

Seejärel toimub lugemine: iScan lugeja kasutab laserit, et kiibil olevat fluori ergastada. BeadChip-i sektsioonidest saadud fluoridelt tulenevaid valguskiirgusi registreeritakse kõrg-resolutsiooniga piltidena. Nendest piltidest saadud värvi intensiivsuste andmetest määratakse genotüübid, kasutades GenomeStudio Genotüpiseerimise moodulit<sup>3</sup> ning seejärel kasutatakse zCall tarkvara (Goldstein jt., 2012) harvade variantide määramata jäänud genotüüpide leidmiseks ([www.illumina.com](http://www.illumina.com)).



**Joonis 5.** Märgistatud, fragmenteeritud DNA lõigu seondumine kiibil olevate geeni-spetsiifiliste järjestusega, mis on seondunud mikrokerakestega ([www.illumina.com](http://www.illumina.com)).

### 2.2.3 Kvaliteedikontroll

Genotüpiseerimise järgselt läbis uuritav kohort kvaliteedikontrolli järgnevate parameetrite ning näitajate osas:

1) edukalt genotüpiseeritud markerite protsentuaalne osakaal (*Call Rate*, CR) nii indiviidi kui iga markeri kohta; 2) markeri vähemesineva alleeli sagedus (*Minor Allele Frequency*, MAF);

<sup>3</sup> <http://www.illumina.com/applications/microarrays/microarray-software/genomestudio.html>



3) markeri Hardy-Weinbergi tasakaalustatus (*Hardy-Weinberg equilibrium*, HWE); 4) indiviididevaheline sugulus; 5) genotüübi ja fenotüübipõhise soo mitte-kokkulangemine.

Edasistest analüüsides jäeti välja individid, kelle CR oli  $< 95\%$ , liigne heterosügootsus (keskmise  $\pm(3 \times SD)$ ), MDS analüüsil eurooplastest eraldi klasterduvad proovid kasutades HapMap2 (The International Hapmap Consortium, 2003) referentsi. Sugulaste tuvastamiseks hinnati ühiselt eellaselt päritud piirkondade osakaalu genoomis (*Identical by Descent*, IBD) ning madalama CR-iga vähemalt kolmanda põlve sugulane jäeti edasisest analüüsist välja. Samuti eemaldati individid, kelle raporteeritud fenotüübi sugu ei vastanud geneetiliste andmete põhjal ennustatud soole. Kvaliteedikontrolli läbis 3550 indiviidi: 1305 meest ja 2245 naist.

Samuti eemaldati SNP-d, mis ei vastanud järgnevatele kriteeriumitele: CR  $< 95\%$ , HWE testi p-väärtus  $< 1 \times 10^{-6}$ , mitte-autosomaalsed markerid ning markerid, mille genotüpiseerimisel ei suudetud usaldusväärselt genotüüpe klasterdada (klastrid eraldusskoor  $< 0,4$ , GenTrain skoor vastavalt andmetele  $< 0,6$ ). Sagedaste variantide imputatsiooni eelselt eemaldati uuringus markerid, mille MAF  $< 1\%$  ja SNP-d, mille alleelideks olid A/T või C/G. Andmete kvaliteedikontroll ja filtreerimine viidi läbi kasutades programme Illumina GenomeStudio versioon 3.1<sup>4</sup>, PLINK v1.8 (Purcell jt., 2007) ja R3.0.2 (R Core Team, 2013). Kvaliteedikontrolli teostas EGCUT vanemteadur Reedik Mägi.

## 2.2.4 Imputatsioon

Genotüpiseerimisel jäävad paljud SNP-de genotüübid identifitseerimata ja määratakse genotüübid konkreetsele hulgal "informatiivsetele" markeritele. Selleks kasutatakse LD struktuuri, et leida need geneetilised variandid, mida uuringus tehtud genotüpiseerimise käigus otseselt ei identifitseerita (Halperin ja Stephan, 2009). LD esineb, kui genoomis erinevates lookustest pärit geneetilised variandid on omavahel assotsieerunud tugevamalt kui seda võiks oodata juhuse alusel (Nordborg ja Tavaré, 2002). Genotüüpide imputatsiooni abil saab lisaks genotüpiseeritud markeritele hinnata ka nende lähedal paiknevate ja korreleeritud geneetiliste variantide genotüüpe, mis annab uuringule lisainformatsiooni ning tõstab uuringu võimsust (Spencer jt., 2009). Imputatsiooniks kasutatakse referentsandmestikku, milles sekveneeritakse hulgaliselt genoome ja seega identifitseeritakse suures mahus geneetilisi markereid. Puuduolevate geneetiliste variantide imputatsioonil eeldatakse, et referentsandmestik ja uuritav andmestik on geneetiliselt lähedased ja neil on ühine LD struktuur

---

<sup>4</sup> <http://www.illumina.com/applications/microarrays/microarray-software/genomestudio.html>

(Halperin ja Stephan, 2009). Puuduvate genotüüpide imputatsioon puhastatud andmetega viidi antud uuringus läbi programmidega SHAPEIT v2 (imputatsioonile eelnev haplotüüpide faasimine) (Delaneau jt., 2013) ja Impute v2.2.2 (Howie jt., 2009). Referentsvalimina kasutati imputatsioonil 1000 genoomi projekti referentshaplotüüpe (1000 Genomes Phase 3 integrated haplotypes, Oct. 2014), mis koosnesid 5008 Euroopa päritolu haplotüübist (www.1000genomes.org) (Abecasis jt., 2012). Imputatsiooni järgselt eemaldati analüüsist markerid imputatsiooni kvaliteediskoori (proper\_info) ja MAF-i alusel (proper\_info > 0.8 ja MAF > 0.01). Pärast imputatsioon oli andmestikus 280 595 genotüpiseeritud ja 8 315 066 imputeeritud markerit. Imputatsioon viidi läbi EGCUT teaduri Evelin Mihailovi poolt. Edukalt genotüpiseeritud, imputeeritud ja valikukriteeriumitele vastavate geenidoonorite arv ning nende keskmised KMI näitajad on toodud välja tabelis 3.

**Tabel 3.** Valikukriteeriumitele vastavate geenidoonorite arv, kes õnnestus edukalt genotüpiseerida ja imputeerida ning keskmised KMI näitajad.

Sugu	Kontrollid			Rasvunud		
	Mehed	Naised	Kokku	Mehed	Naised	Kokku
<b>Arv</b>	1103	1926	3029	202	319	521
<b>Keskmine vanus (std. hälve)</b>	30,0 (7,5)	31,6 (7,3)	31,0 (7,4)	28,2 (6,7)	30,9 (7,1)	29,8 (7,0)
<b>Keskmine KMI (std. hälve)</b>	24,1 (1,3)	22,3 (1,3)	22,9 (1,6)	35,0 (3,2)	36,7 (4,2)	36,0 (4,0)

## 2.2.5 Statistiline analüüs

### 2.2.5.1 Sagedaste variantide analüüs

Geneetiliste variantide ja fenotüübi vaheline ülegenoomne assotsiatsioonianalüüs viidi läbi programmiga SNPTEST v2.5 (Marchini jt., 2007) kasutades genotüpiseeritud ja imputeeritud geneetilisi variante MAF-ga üle 1%. Selleks kasutati logistilise regressiooni alleeliefektide aditiivset geneetilist mudelit: haiguse väljakujunemise riskifaktor on heterosügootide puhul  $r$  ja homosügootide puhul  $2r$  (Lewis, 2002). Uuringus kasutati autosomaalsete kromosoomide andmeid.

Populatsiooni stratifikatsiooni korrigeerimiseks arvutati proovide omavahelise suguluse põhjal MDS meetodil peakomponendid programmiga PLINK. MDS meetodiga

visualiseeritakse substruktuurid, antakse populatsiooni geneetilisest varieeruvusest kvantitatiivsed näitajad ning identifitseeritakse väliseid indiviide. PLINK kasutab populatsiooni stratifikatsiooni hindamiseks täieliku-ahelduse hierarhilist klasterdumist. Protsess algab sellest, et igat indiviidi vaadeldakse kui eraldi klastrit suurusega 1, mille järel hakatakse järjest kokku panema omavahel kõige sarnasemaid indiviide (klastreid) ja liidetakse ühiseks klastriks. Seejärel võrreldakse üksikuid klastreid ja moodustunud uusi klastreid ning liidetakse uuesti sarnasuse alusel. Klasterdumine peatub kui kõik indiviidid kuuluvad ühte klastrisse või spetsiaalsete eelnevalt määratud piirangute järel (Price jt., 2006). GWAS-des kasutatakse populatsiooni struktuuri hindamiseks sagedasi omavahel mitte-korreleeritud ( $r^2 < 0.2$ ) SNP-de andmeid üle genoomi (Purcell jt., 2007).

Kovariaatidena kasutati analüüsis vanust, sugu ja populatsiooni stratifikatsiooni vähendamiseks nelja esimest peakomponenti. Vältimaks mitmesest testimisest tulenevat viga, arvestati ülegenoomselt statistiliselt oluliseks geneetilised variandid, mille  $p < 5 \times 10^{-8}$  (Pe'er jt., 2008).

#### 2.2.5.2 Harvade variantide analüüs

Markeri kaupa tehtud harvade variantide analüüs teostati genotüpiseeritud markeritega, mille MAF oli  $< 1\%$ . Geeni kaupa analüüsides valiti geenipiirkondadest geneetilised variandid, mis olid (a) mittesünonüümsed ja (b) funktsioonikaoga variandid ja kasutati samuti ainult variante, mille MAF on  $< 1\%$ . Kovariaatidena kasutati vanust, sugu ja nelja esimest peakomponenti. Tööks kasutati programmi EFACTS v3.2.6<sup>5</sup> - markeri kaupa analüüsi viidi läbi kasutades logistilist Wald testi ning geeni kaupa analüüs kasutades SKAT-O testi (Lee jt., 2012). Uuringus kasutati autosomaalsete kromosoomide andmeid. GWAS-i ja harvade variantide analüüsi teostas in iseseisvalt.

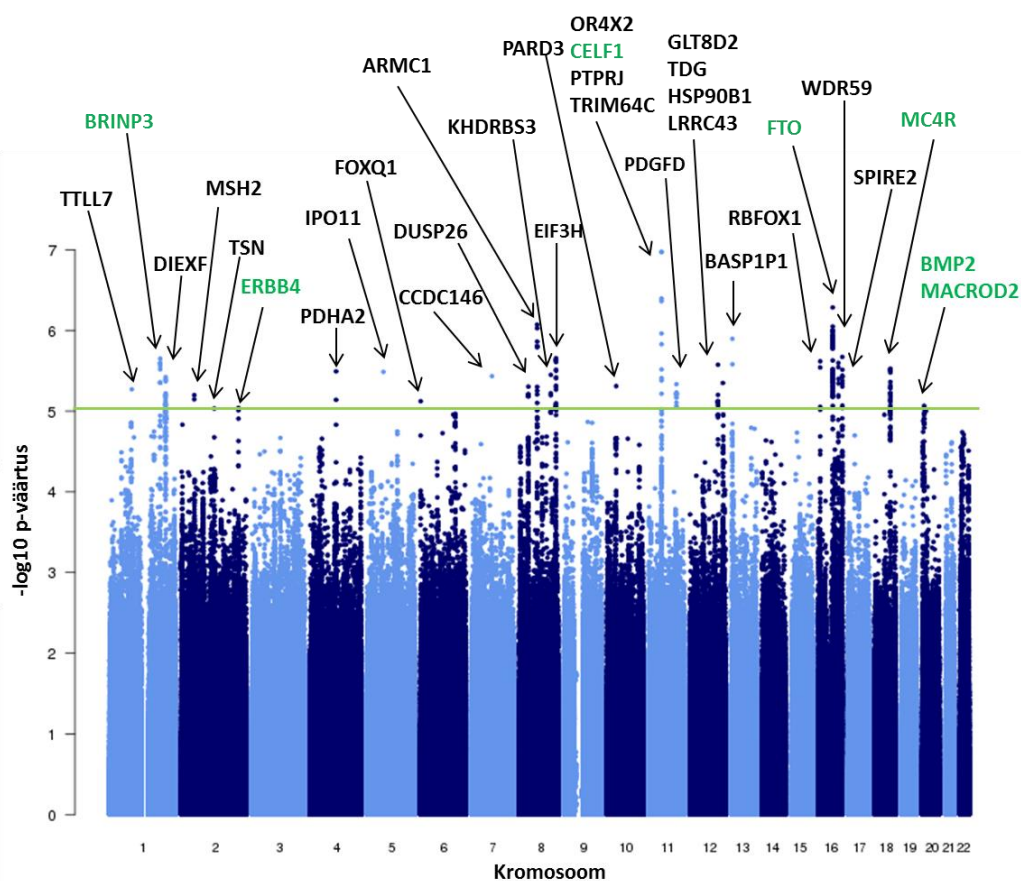
### **2.3 Tulemused**

Käesolevas GWAS-sis identifitseeriti 3550 geenidoonori (521 rasvunud ja 3029 kontrolli) põhjal potentsiaalseid rasvumusega seotud geneetilisi variante. Sagedaste variantide analüüsi raames ei leitud ülegenoomselt statistiliselt olulisi ( $p < 5 \times 10^{-8}$ ) assotsiatsioone ja seetõttu kirjeldatakse tulemustes seoseid, mille p-väärtus jääb alla  $10^{-5}$ . Teostatud GWAS-st leiti 26 lookuses 278 geneetilist varianti p-väärtusega  $< 1 \times 10^{-5}$ . Leitud seosed on toodud välja tabelis 4 ja esitatud graafiliselt Manhattan joonise abil joonisel 6 (GWAS-i eeldatud ja vaadeldud assotsiatsioonide p-väärtuste kvantiilide joonis on lisas 4). Uuringus statistiliselt kõige

---

<sup>5</sup> <http://genome.sph.umich.edu/wiki/EFACTS>

väiksema p-väärtusega tulemused oli lookuses 11p11.2 asuvad geneetilised variandid (p-väärtusega  $1,07 \times 10^{-7}$ ), mis asusid haistmisretseptor, perekond 4, alaperekond X, liige 2 (*OR4X2*) geeni allavoolujärjestuses (3' otsas) (rs144868270, rs117641082). Antud geneetiliste variantidega samas lookuses (11p11.2) asusid veel *OR4X2* geeniga ühisesse perekonda kuuluvad *OR4X1*, *OR4B1*, *OR4S1* geenid ja lisaks kaks tuvastatud SNP-d rs78730126 ja rs112030310 (p-väärtustega  $4,04 \times 10^{-7}$  ja  $4,35 \times 10^{-7}$ ), mis asusid vastavalt *PTPRJ* geeni intronis ja regulatoorses järjestuses. Lisaks eelnevatele leiti neli geneetilist varianti p-väärtusega  $< 1 \times 10^{-6}$ : rs17373721 ja rs4327888 *ARMC1* geeni lähedal ning rs8047587 ja rs9941349 *FTO* geeni introni regioonis. Kromosoomides 1, 2, 11, 16, 18 ja 20 leiti geneetilised variandid varasemates ülekaalulisuse ja rasvumusega seotud GWAS-dest identifitseeritud geenides *FAM5C/BRINP3* (1p31.1), *ERBB4* (2q34), *CELF1* (11p11.2), *FTO* (16q12.2), *MC4R* (18q21.32), *BMP2* (20p12.3) ja *MACROD2* (20p12.1).



**Joonis 6.** Ülegenoomse assotsiatsioonianalüüsi tulemused visualiseeritud Manhattan joonisena, kus X-teljel on assotsieerunud markerite genoomsed positsioonid ning Y-teljel nende p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm. Varasemates ülekaalulisuse ja rasvumusega seotud GWAS-dest identifitseeritud geenid on märgitud rohelisega. Roheline joon märgib p-väärtust  $1 \times 10^{-5}$ .

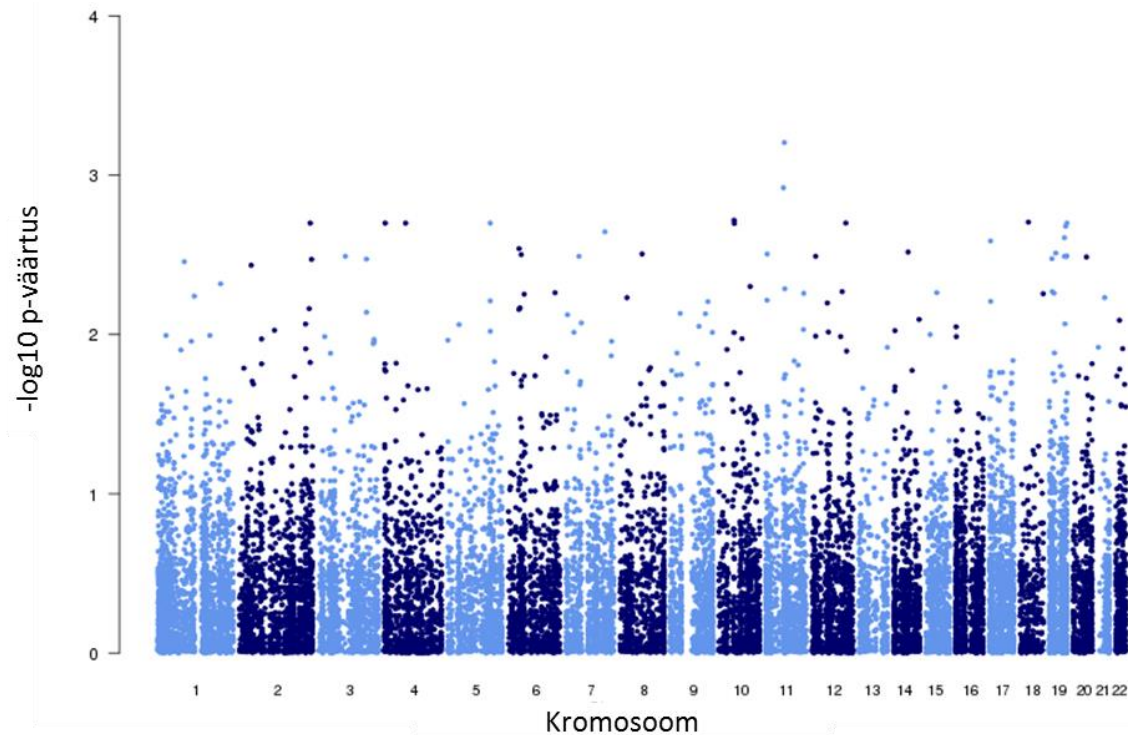
**Tabel 4.** GWAS uuringus tuvastatud genoomsed regioonid, kus leidus markereid p-väärtusega  $< 10^{-5}$ . Igast lookusest on valitud kõige madalama p-väärtusega marker. Lähim geen määrati kaugusega markerist  $< 500$  kb.

Lookus	Geneetiline variant	Lähim geen	Efektalleel/ teine alleel	Efektialleeli sagedus	P-väärtus
1q31.1	rs142615019	FAM5C/BRINP3	A/ATTAT	0,1572	2,79x10 <sup>-6</sup>
1q32.2	rs74485632	DIEXF	G/A	0,0123	6,35x10 <sup>-6</sup>
2p16.3	rs17036811	MSH2	C/T	0,0499	6,32x10 <sup>-6</sup>
2q14.3	rs56711464	TSN	GACAC/G	0,5615	9,29x10 <sup>-6</sup>
2q34	rs17344783	ERBB4	T/C	0,2907	9,12x10 <sup>-6</sup>
4q22.3	rs141413809	PDHA2	C/G	0,0176	7,24x10 <sup>-6</sup>
5q12.1	rs10213997	IPO11	G/T	0,3417	3,26x10 <sup>-6</sup>
6p25.3	rs7746700	FOXQ1	G/A	0,3242	7,53x10 <sup>-6</sup>
7q11.23	rs62474243	CCDC146	G/A	0,4063	3,69x10 <sup>-6</sup>
8p12	rs4733457	DUSP26	A/G	0,2841	6,56x10 <sup>-6</sup>
8q13.1	rs17373721	ARMC1	A/G	0,1498	8,49x10 <sup>-7</sup>
8q23.3	rs76368504	EIF3H	A/G	0,0107	3,56x10 <sup>-6</sup>
8q24.23	rs13281262	KHDRBS3	G/A	0,4059	2,21x10 <sup>-6</sup>
10p11.22	rs16935024	PARD3	C/T	0,0167	4,90x10 <sup>-6</sup>
11p11.2	rs144868270 rs117641082	OR4X2	T/TC A/C	0,0803 0,0803	1,07x10 <sup>-7</sup>
11p11.12	rs17801371	TRIM64C	C/T	0,0982	9,59x10 <sup>-6</sup>
11q22.3	rs77601005	PDGFD	A/G	0,1258	4,64x10 <sup>-6</sup>
12q23.3	12:104391473	GLT8D2	T/G	0,1792	2,66x10 <sup>-6</sup>
13q12.12	rs71719556	BASP1P1	GA/G	0,207	1,27x10 <sup>-6</sup>
16p13.3	rs7194315	RBFOX1	C/T	0,3446	2,42x10 <sup>-6</sup>
16q12.2	rs8047587	FTO	T/G	0,4843	5,19x10 <sup>-7</sup>
16q23.1	rs9937423	WDR59	C/G	0,2682	2,53x10 <sup>-6</sup>
16q24.3	rs7200842	SPIRE2	A/G	0,4059	2,13x10 <sup>-6</sup>
18q21.32	rs11366970	MC4R	C/CT	0,3119	2,98x10 <sup>-6</sup>
20p12.3	rs7274003	BMP2	A/G	0,1033	8,60x10 <sup>-6</sup>
20p12.1	rs56256263	MACROD2	A/T	0,1911	9,98x10 <sup>-6</sup>

Harvade variantide ühe-markeri põhises analüüsis pole tulemusi, mis jääks peale mitmese testimise korrektsiooni oluliseks ( $p < 5 \times 10^{-7}$ ). Kõige madalama p-väärtusega geneetiline variant oli lookuses 2q12.3 olev chr2:110107362 (p-väärtusega  $3,3 \times 10^{-5}$ ), mis asus *SH3RF3* geeni eksonis. Markeripõhise analüüsi tulemused on visualiseeritud Manhattan joonise abil joonisel 7 (harvade variantide ühe-markeri põhise analüüsi eeldatud ja vaadeldud assotsiatsioonide p-väärtuste kvantiilide joonis on lisas 5).

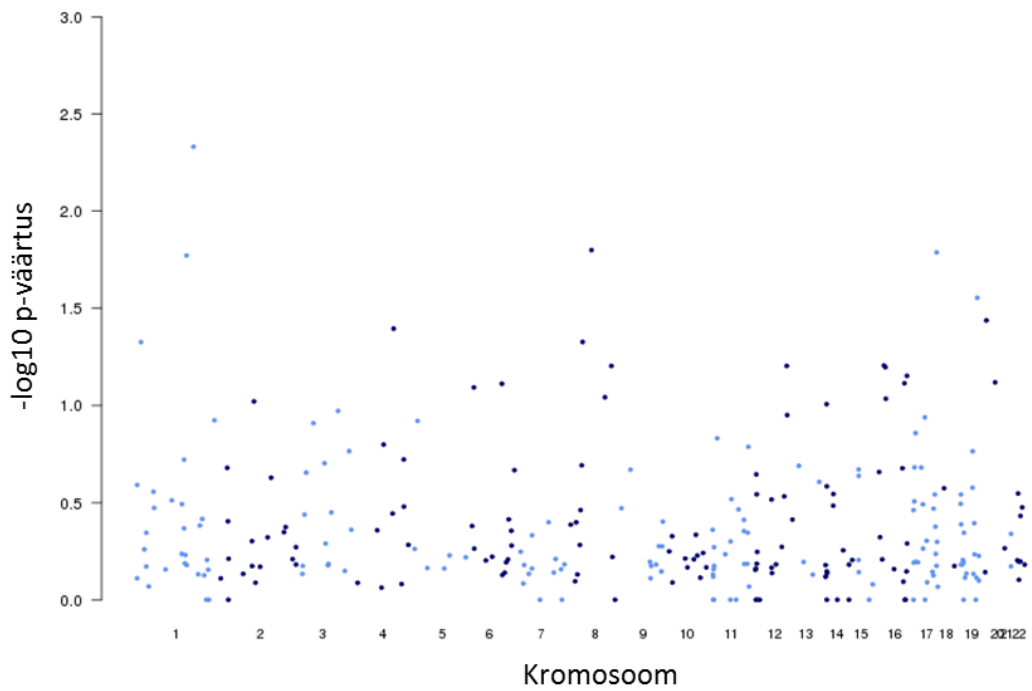
Mittesünonüümsete ja funktsioonikaoga harvade markeritega geenipõhises analüüsis ei leitud genee, mille p-väärtused oleksid väiksemad pärast mitmese testimise korrektsiooni leitud statistilise olulisuse piirist – vastavalt funktsioonikaoga variantide puhul  $p < 1,8 \times 10^{-4}$  ja mittesünonüümsete variantide puhul  $p < 1 \times 10^{-5}$ . Funktsioonikaoga harvade mutatsioonide

analüüsis oli madalaima p-väärtusega *ZNF648* geen (p-väärtusega  $4,7 \times 10^{-3}$ ). Analüüsis mitesünonüümsete harvade variantidega oli tähtis *ACLY* geen (ATP tsitaadi lüaas), mille p-väärtus  $1,1 \times 10^{-5}$  oli üleüldise statistilise olulisuse piiri lähedal. Nendes analüüsides kasutati kovariaadina sugu, vanust ja peakomponente. Tulemused on esitatud joonistel 8 ja 9.

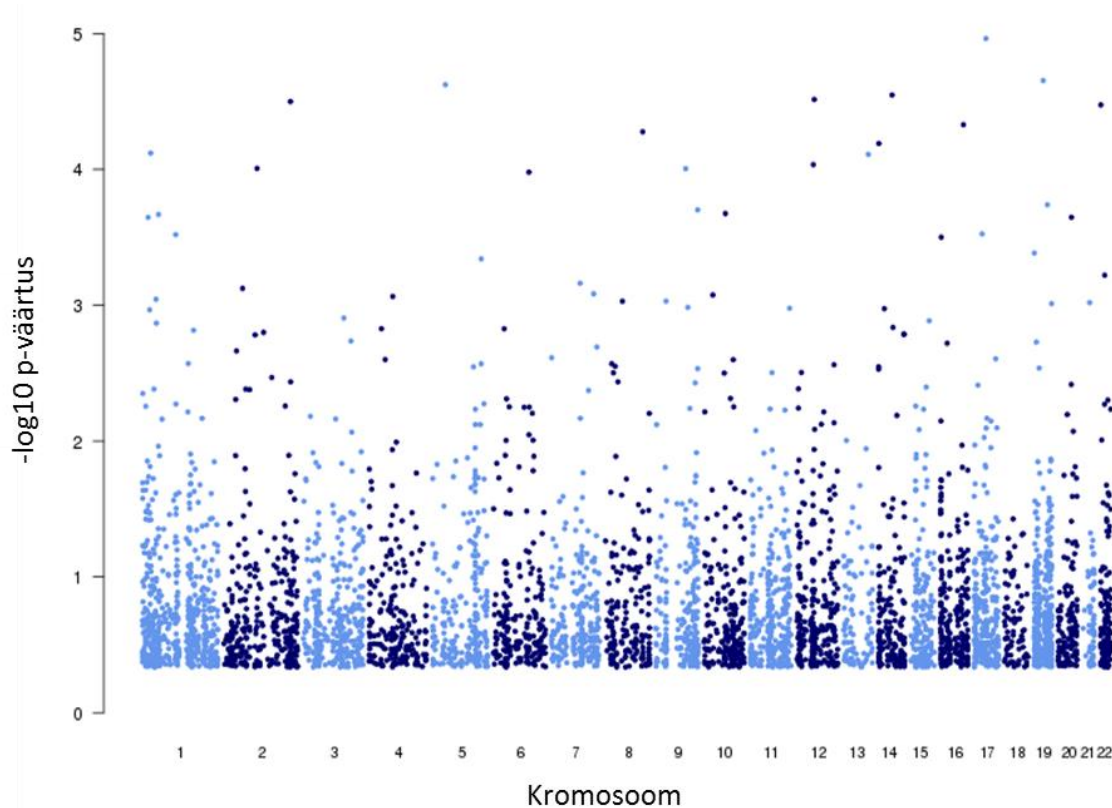


**Joonis 7.** Markeripõhise harvade geneetiliste variantide analüüsi tulemused visualiseeritud Manhattan joonisena. Üleüldiselt statistilise olulisuse piiriks leiti  $p < 5 \times 10^{-7}$ . X-teljel on assotsieerunud markerite genoomsed positsioonid ning Y-teljel nende p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm.





**Joonis 8.** Manhattan joonis harvade variantide analüüsist, läbi viidud geeni kaupa ja kasutades funktsioonikaoga geneetilisi variante. Pärast mitmese testimise korrektsiooni leiti statistilise olulisuse piiriks  $1,8 \times 10^{-4}$ . X-teljel on analüüsitud geenide genoomsed positsioonid ning Y-teljel nende geenide p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm.



**Joonis 9.** Manhattan joonis harvade variantide analüüsist, läbi viidud geeni kaupa ja kasutades mittesünonüümseid geneetilisi variante. Pärast mitmese testimise korrektsiooni leiti statistilise olulisuse piiriks  $1 \times 10^{-5}$ . X-teljel on analüüsitud geenide genoomsed positsioonid ning Y-teljel nende geenide p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm.

## 2.4 Arutelu

Viimase 20 aasta jooksul on ülekaalulisuse ja rasvumuse esinemine maailmas järjest tõusnud. Sellest lähtudes on teostatud mitmeid ülekaalulisuse ja rasvumuse põhjustele ning tagajärgedele keskendunud uuringuid. Varasemalt on mitmed uuringud kinnitanud, et rasvumusel on tugev geneetiline komponent (Stunkard jt., 1986; Maes jt., 1997; Barsh jt., 2000). Üheks võimaluseks rasvumuse geneetika täpsemaks uurimiseks on läbi viia ülegenoomseid assotsiatsiooniuringuid. Käesoleva töö raames viidi läbi assotsiatsiooniuringud Eesti populatsioonis rasvumuse tekkimist mõjutavate potentsiaalsete sagedaste ja harvade geneetiliste variantide leidmiseks. Valim koosnes 521 rasvumuse juhust ning 3029 normaalkaalus kontrollist. Antud töös läbiviidud GWAS-i tulemused näitavad mutatsioone geenides, mida on leitud ka varasemates ülekaalulisusega ja rasvumusega läbiviidud GWAS-des. Nendeks on geneetilised variandid *FTO*, *MC4R*, *BRINP3*, *PRKACB*, *BMP* ja *MACRDO2* geenides. Rasvumust on varasemates GWAS-des kõige tugevamini seostatud geneetiliste variantidega *FTO* ja *MC4R* geenides. Neid leide on toetanud ka mitmed replikatsiooniuringud (Loos ja Yeo, 2014). See näitab, et antud töös sagedaste variantidega



teostatud GWAS on õigesti teostatud ning leitud on õiged assotsiatsioonid. Tänapäeval jätkuvad nende geenide bioloogiliste funktsioonide uuringud ja potentsiaalsete terapeutiliste sihtmärkide otsimine. Mida rohkem viiakse läbi assotsiatsiooniuuringuid rasvumust põhjustavate geneetiliste variantide identifitseerimiseks, seda enam leitakse potentsiaalseid rasvumuse riski suurendavaid või vähendavaid lookusi. Põhjalikum uurimine võimaldab anda paremat ülevaadet erinevate geneetiliste variantide, bioloogiliste radade ja geenide seosest rasvumusega ja sellega kaasnevate haigustega.

Antud GWAS-i statistiliselt kõige tähtsamad tulemused olid geneetilised variandid *OR4X2* geeni lähedal. Mainitud geen kodeerib haistmisretseptorit, mis kuulub suurde G-valguga seotud retseptorite perekonda (GPCR). Sellesse perekonda kuuluvad haistmisretseptorid jagavad sarnast, seitse korda membraani läbivat struktuuri paljude neurotransmitterite ja hormonaalsete retseptoritega ning on vajalikud lõhnamolekulide äratundmiseks ja G-valguga seotud transpordis (Malnic jt., 2004). Lõhnamolekulidega seondumise järgselt algatab *OR4X2* retseptor neuraalse vastuse, mis käivitab lõhnatundlikkuse. Varasemalt on *OR4X2* geeniga samas regioonis ja perekonnas olevat *OR4S1* geeni seostatud KMI-le kohandatud diabeedi GWAS-is paastuseisundi glükoosi tasemega (Manning jt., 2012). Käesoleva uuringu tulemused näitavad, et rasvumus võib olla seotud haistmismeelega. Haistmisretseptoritel on lõhnatajus oluline roll ja mutatsioonid, mis mõjutavad neid kodeerivaid geene, võivad kas suurendada või vähendada retseptorite tundlikkust. Selle tagajärjel jõuavad ajusse valed signaalid, mis võivad omakorda mõjutada indiviidide söömiskäitumisega seotud ajupiirkondasid. Lõhna- ja maitsesignaalid kogunevad orbifrontaalsesse korteksisse (seotud söömisjärgse täiskõhutundega ning premeerimis- või karistustundega), mis on omakorda seotud söögiisu regulatsioonis kesket rolli omava hüpotaalamusega. Seega peaks lõhnataju mõjutama indiviidil nii füsioloogilisi kui ka käitumuslikke söömisharjumusi. Ühe 2015. aastal avaldatud uurimuse tulemused tõestasid, et ülekaalulistel ja rasvunudel on normaalkaalus indiviididega võrreldes tundlikum taju toidulõhnadele, mis võib neil olla ülesöömise põhjuseks (Stafford ja Whittle, 2015).

Lisaks *OR4X2* geeni lähedal asuvatele geneetilistele variantidele, leiti antud töös märkimisväärseid geneetilisi variante p-väärtusega  $< 1 \times 10^{-6}$ , mis asuvad *PTPRJ*, *FTO*, *ARMCI* geenide sees ja lähedal. *PRPRJ* geen, mis on *OR4X2* geeniga samas lookuses, paiknevaid geneetilisi variante, on sarnaselt *OR4S1* geenis olevate mutatsioonidega seostatud paastuseisundi glükoosi tasemega ning diabeedi riskiga (Manning jt., 2012). *PTPRJ* kodeerib valku türosiin fosfataas retseptor tüüpi J. Fosforüülimist takistades inhibeerib see valk ka T-rakkude retseptorite signaali (Honda jt., 1994). Mutatsioone *PTPRJ* geenis on seostatud

soolevähiga ning arvatavalt mõjutavad need signaaliülekanne protsesse (Ruivenkamp jt., 2002).

Kuigi viimase 9 aasta jooksul on GWAS-dest leitud mitmeid komplekssete haiguste ja tunnustega seostatud geneetilisi variante, on suur osa nende geneetikast endiselt seletamata. Lisaks sagedastele geneetilistele variantidele võib haiguse väljakujunemises suurt mõju omada ka harvad geneetilised variandid, millega teostatakse järjest enam ka assotsiatsioonianalüüse. On võimalik, et üks või mitu haruldast varianti, millel on suur efekti mõju, võivad suurendada indiviidi riski rasvumusele. Hetkel on harvade variantide uuringute puuduseks asjaolu, et puuduvad suuremahulised andmekogud, mille järgi disainida spetsiifilisemaid kiipe ja läbi viia täpsemaid analüüse (Lee jt., 2014). Käesolevas töös teostatud harvade variantide analüüsis ei leitud statistilise olulisuse piiri ületavaid markereid. See võib tuleneda spetsiifilisest valimist – eemaldati geenidoonorid, kellel leidis KMI-d mõjutavaid väliseid faktoreid. Sellest tulenevalt oli ka valimi suurust piiratud. Sagedaste variantidega läbiviidud GWAS-i tulemustest võib aga järeldada, et võrreldes suuremahuliste uuringutega, kus on kasutatud kogu populatsiooni KMI analüüsi, võib täpsem fenotüübi piiritlemine ja mitmete KMI-d mõjutavate väliste faktorite eemaldamine anda meile konkreetsema fenotüübiga valimi ja võimaldada seeläbi leida uusi assotsiatsioone.

Harvade variantide analüüs eeldab suurt valimit, sest nende analüüside võimsus on väiksem. Samas, kui haigust põhjustavad harvad variandid, peaksid need omama suuremat efekti kui sagedased geneetilised variandid. Seega peaksid need ka väiksema valimiga analüüsi tulemustes avalduma. Hiljuti arendati statistilised meetodid spetsiifiliselt selleks, et suurendada harvade variantide assotsiatsioonianalüüside võimsust. Need meetodid põhinevad mitme geneetilise variandi assotsiatsiooni hindamisel teatud piirkonnas (geenis) (Lee jt., 2014).

Käesolevas uuringus viidi läbi ühe-markeri põhised ning geenipõhised uuringud funktsioonikaoga ja mittesünonüümsete harvade variantidega, kuid ülegenoomselt statistiliselt olulisi piirkondi ei leitud. Markeripõhise analüüsi kõige madalama p-väärtusega geneetiline variant oli lookuses 2q12.3 olev chr2:110107362 (p-väärtusega  $3.3 \times 10^{-5}$ ) ning see asus *SH3RF3* geenis, mille täpsem toime on teadmata. Funktsioonikaoga geneetiliste variantide puhul oli madalaima p-väärtusega *ZNF648* geen (p-väärtusega  $4,7 \times 10^{-3}$ ), mis ei ületanud statistilise olulisuse piiri ( $p < 1,8 \times 10^{-4}$ ). Selle geeni funktsioon võib olla seotud transkriptsiooni reguleerimisega.

Analüüsis mittesünonüümsete harvade variantidega oli tähtis *ACLY* geen, mille p-väärtus ( $1,1 \times 10^{-5}$ ) oli ülegenoomse statistilise olulisuse piiri lähedal. ATP tsitraadi lüaasi (*ACLY*) on

mitmes koes vajalik ensüüm atsetüül-CoA ja oksoloatsetaadi sünteesiks tsitraadist ja CoA-st, millega kõrvuti toimub ka ATP hüdroolüüs ADP-ks ja fosfaadiks (Sun jt., 2010). Seega on ACLY-l energia metabolismis keskne roll. ACLY vahendab omavahel ka kasvufaktori indutseeritud toitainete metabolismi histoonide atsüülimise ja geeni ekspressiooniga. Atsetüül-CoA-l on oluline roll mitmes biosünteesilises rajas, sealhulgas lipogeneesis ja kolesterooli moodustumises. Närvirakkudes võib ACLY olla seotud neuromediaatori atsetüülkoliini (etaanhappe ja koliini ester) biosünteesiga, kuna vahendab läbi atsetüül-CoA atsetüülkoliini sünteesi (Wellen jt., 2009). Tulevastes harvade geneetiliste variantide uuringutes tuleks kasutada suuremat valimit ning arendada täpsemate kiipide arenguks harvade geneetiliste markerite katalooge, et suurendada analüüside usaldusväärsust ja võimalusi seoste leidmiseks haigustega.

Antud töö raames leitud geneetilised variandid ja geenid täiendavad teadmisi rasvumuse geneetilise tausta kohta. Teostatud GWAS-st leidsime geneetilisi variante varasemalt rasvumusega seotud *FTO* ja *MC4R* geenides ning samuti uusi huvitavaid tulemusi – geneetilised variandid lõhnatajuga seotud *OR4X2* geenis. Harvade variantidega läbiviidud analüüsides tuvastasime kasutades mittesünonüümseid harvu variante geenides organismi energiatarbimisega seotud geeni *ACLY*. Edaspidi tuleb läbi viia järeluuringuid, et kinnitada töö tulemusi sõltumatus kohordis ja leida tuvastatud geenide täpsem seos rasvumusega.

## Kokkuvõte

Rasvumus on globaalne epideemia, mis on muutunud viimase 20-30 aastaga väga tõsiseks probleemiks. Erinevad uuringud on tõestanud, et rasvumusel on tugev geneetiline komponent, mis seletab ka suure osa indiviididevahelistest erinevustest rasvumust soodustavale keskkonnale.

Käesoleva töö raames teostati 3550 indiviidi seas (521 rasvunud ja 3029 kontrolli EGCUT andmestikust) logistilise regressiooni aditiivset mudelit kasutades GWAS sagedaste geneetiliste variantidega, mille eesmärk oli leida rasvumuse riski mõjutavaid geneetilisi variante. Puuduolevate markerite genotüüpide leidmiseks kasutati referentsina 1000 Genoomi Projekti imputeeritud andmestikku. Lisaks teostati markeri kaupa harvade variantide analüüs markeritega, mille MAF oli alla 1% ning geeni kaupa analüüsid valitud geenipiirkondades mittesünonüümsete ja funktsioonikaoga geneetiliste variantidega MAF-ga alla 1%.

Käesolevas töös leiti GWAS-ga 26 lookuses 278 geneetilist varianti p-väärtusega  $< 1 \times 10^{-5}$ , milledest ükski ei ületanud ülegenoomset statistilise olulisuse piiri  $p < 5 \times 10^{-8}$ . Uuringus statistiliselt kõige olulisemad tulemused olid lookuses 11p11.2 asuvad geneetilised variandid rs144868270 ja rs117641082 p-väärtusega  $1.07 \times 10^{-7}$  haistmisretseptorit kodeerivas *OR4X2* geenis.

Harvade geneetiliste variantide markeripõhises ning geenipõhises analüüsis mittesünonüümsete ja funktsioonikaoga harvade geneetiliste variantide ei leitud tulemusi, mille p-väärtused oleksid madalamad mitmese testimise korrektsiooni leitud ülegenoomse statistilise olulisuse piirist. Markeripõhises analüüsis oli kõige madalama p-väärtusega geneetiline variant chr2:110107362 (p-väärtusega  $3.3 \times 10^{-5}$ ) ning see asus *SH3RF3* geenis. Funktsioonikaoga geneetiliste variantide puhul oli madalaima p-väärtusega *ZNF648* geen (p-väärtusega  $4,7 \times 10^{-3}$ ), mis ei ületanud statistilise olulisuse piiri ( $p < 1,8 \times 10^{-4}$ ). Analüüsis mittesünonüümsete harvade variantidega geenides oli tähtis *ACLY* geen mille p-väärtus  $1,1 \times 10^{-5}$  oli ülegenoomse statistilise olulisuse piiri lähedal.

Rasvumuse aluseks olevate geenide bioloogiliste funktsioonide uurimine võib aidata tulevikus kaasa uute ravimeetodite väljaarendamisele ja rakendamisele ning rasvumuse epideemia kontrolli alla saamisele.

## Resümee/Summary

### Genome-Wide Association Study in order to find common and rare genetic variants for obesity.

#### Kadi Rosenthal

Obesity has reached epidemic proportions globally and has within the last 20-30 years become a serious problem. Obesity has been proven to have a strong genetic component, which explains why some people are more susceptible to obesogenic environment than others.

The aim of this study was to identify genetic variants that are associated with increased risk of becoming obese using logistic regression and additive method. In the current study, 521 cases and 3029 controls from EGCUT with Estonian descent were tested for the genome-wide association with common genetic variants. The 1000 Genome Project imputed data was used as a reference to find genotypes for missing genetic markers. Additionally, analysis with rare variants with  $MAF < 1\%$  were conducted. Firstly a marker-based analysis and secondly a gene based analysis by using genetic regions with non-synonymous and loss-of-function genetic variants was carried out by using markers with  $MAF$  under 1%.

As a result of Genome-Wide Association Study 278 genetic variants in 26 different loci with p-values less than  $1 \times 10^{-5}$  were found, out of which no genetic variant exceeded the genome-wide significance threshold  $p < 5 \times 10^{-8}$ . Statistically, most important genetic variants (rs144868270, rs117641082) were located in chromosome 11p11.2 and had p-value of  $1,07 \times 10^{-7}$ . These were located near gene *OR4X2*, which encodes olfactory receptors. This means that the genetic variants may influence the sense of smell in individuals and therefore change the probability of becoming overweight.

Marker-based and gene-based analysis with rare non-synonymous and loss-of-function variants yielded no significant results – all the found variants had p-values higher than the genome-wide significance threshold. The genetic variant with lowest p-value in marker-based analysis was chr2:110107362 (p-value  $3,3 \times 10^{-5}$ ) located in *SH3RF3* gene. In the gene-based analysis with rare loss-of-function variants, the gene with lowest p-value was *ZNF648* (p-value  $4,6 \times 10^{-3}$ ) and with rare nonsynonymous variants, the gene with lowest p-value was *ACLY* (p-value  $1,1 \times 10^{-5}$ ), which has a central role in energy metabolism.

Current lifestyle interventions are largely ineffective in addressing the challenges of growing obesity. Therefore new insights into the biology of obesity are critically needed to guide the development and application of future therapies and interventions.

## **Tänuõnad**

Sooviksin tänada kõiki inimesi, kes aitasid ja toetasid mind magistritöö kirjutamisel. Tahaksin tänada oma juhendajat Reedik Mägi innustava ja asjatundliku juhendamise eest. Samuti sooviksin tänada suure abi eest Viljo Sood, Evelin Mihailovi ja Liina Pappat. Lisaks tänan ka TÜ Eesti Geenivaramu direktorit, professor Andres Metspalu, uurimistöö läbiviimise võimaluse eest ning laborikaaslaste toetuse ja abi eest.

## Kasutatud kirjandus

- Abbott, C.R., Rossi, M., Wren, A.M., Murphy, K.G. jt. (2001) Evidence of an orexigenic role for cocaine- and amphetamine-regulated transcript after administration into discrete hypothalamic nuclei. *Endocrinology*. 142 (8): 3457–3463.
- Abecasis, G.R., Auton, A., Brooks, L.D., DePristo, M.A. jt. (2012) An integrated map of genetic variation from 1,092 human genomes. *Nature*. 491 (7422): 56–65.
- Adrian, T.E., Ferri, G.L., Bacarese-Hamilton, A.J., Fuessl, H.S. jt. (1985) Human distribution and release of a putative new gut hormone, peptide YY. *Gastroenterology*. 89 (5): 1070–1077.
- Agnew, A.J., Robinson, E., McVicar, C.M., Harvey, A.P. jt. (2012) The gastrointestinal peptide obestatin induces vascular relaxation via specific activation of endothelium-dependent NO signalling. *Br. J. Pharmacol.* 166 (1): 327–338.
- Air, E.L., Benoit, S.C., Blake Smith, K.A., Clegg, D.J. jt. (2002) Acute third ventricular administration of insulin decreases food intake in two paradigms. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 72 (1-2): 423–429.
- Alberti, K.G.M.M., Zimmet, P. ja Shaw, J. (2005) The metabolic syndrome—a new worldwide definition. *Lancet*. 366 (9491): 1059–1062.
- Allison, D.B. ja Faith, M.S. (2000) Genetic and environmental influences on human body weight. *Nutr. Today*. 35 (1): 18–21.
- Asakawa, A., Inui, A., Yuzuriha, H., Ueno, N. jt. (2003) Characterization of the effects of pancreatic polypeptide in the regulation of energy balance. *Gastroenterology*. 124 (5): 1325–1336.
- Ashby, D. ja Bloom, S.R. (2007) Recent progress in PYY research - an update report for 8th NPY meeting. *Peptides*. 28 (2): 198–202.
- Baessler, A., Hasinoff, M.J., Fischer, M., Reinhard, W. jt. (2005) Genetic linkage and association of the growth hormone secretagogue receptor (ghrelin receptor) gene in human obesity. *Diabetes*. 54 (1): 259–267.
- Baggio, L.L. ja Drucker, D.J. (2007) Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*. 132 (6): 2131–2157.
- Bailey, E.F. (2008) A tasty morsel: the role of the dorsal vagal complex in the regulation of food intake and swallowing. Focus on „BDNF/TrkB signaling interacts with GABAergic system to inhibit rhythmic swallowing in the rat,“ by Bariohay jt. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 295 (4): 1048–1049.
- Barker, D.J., Winter, P.D., Osmond, C., Margetts, B. jt. (1989) Weight in infancy and death from ischaemic heart disease. *Lancet*. 2 (8663): 577–580.
- Barsh, G.S., Farooqi, I.S. ja O’Rahilly, S. (2000) Genetics of body-weight regulation. *Nature*. 404 (6778): 644–651.



- Basu, A., Charkoudian, N., Schrage, W., Rizza, R.A. jt. (2007) Beneficial effects of GLP-1 on endothelial function in humans: dampening by glyburide but not by glimepiride. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 293 (5): 1289–1295.
- Batterham, R.L., Cowley, M.A., Small, C.J., Herzog, H. jt. (2002) Gut hormone PYY(3-36) physiologically inhibits food intake. *Nature.* 418 (6898): 650–654.
- Batterham, R.L., Le Roux, C.W., Cohen, M.A., Park, A.J. jt. (2003) Pancreatic polypeptide reduces appetite and food intake in humans. *T J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88 (8): 3989–3992.
- Berndt, S.I., Gustafsson, S., Magi, R., Ganna, A. jt. (2013) Genome-wide meta-analysis identifies 11 new loci for anthropometric traits and provides insights into genetic architecture. *Nat. Genet.* 45 (5): 501–512.
- Berthoud, H.-R. ja Morrison, C. (2008) The brain, appetite, and obesity. *Annu. Rev. Psychol.* 59: 55–92.
- Blackburn, G.L., Hutter, M.M., Harvey, A.M., Apovian, C.M. jt. (2009) Expert panel on weight loss surgery: executive report update. *Obesity.* 17 (5): 842–862.
- Boissel, S., Reish, O., Proulx, K., Kawagoe-Takaki, H. jt. (2009) Loss-of-function mutation in the dioxygenase-encoding FTO gene causes severe growth retardation and multiple malformations. *A Am. J. Hum. Genet.* 85 (1): 106–111.
- Boodhna, G. (2013) Health Survey for England 2013, ptk 11: Children’s body mass index, overweight and obesity. The Health and Social Care Information Centre National Statistics. Saadaval: <http://www.hscic.gov.uk/catalogue/PUB16076/HSE2013-Ch11-Child-BMI.pdf>
- Bouchard, C., Tremblay, A., Despres, J.P., Nadeau, A. jt. (1990) The response to long-term overfeeding in identical twins. *N. Engl. J. Med.* 322 (21): 1477–1482.
- Boutin, P., Dina, C., Vasseur, F., Dubois, S. jt. (2003) GAD2 on chromosome 10p12 is a candidate gene for human obesity. *PLoS biology.* 1 (3): 68.
- Butler, M.G. (2011) Prader-Willi Syndrome: Obesity due to Genomic Imprinting. *Curr. Genomics.* 12 (3): 204–215.
- Caballero, B. (2005) A nutrition paradox—underweight and obesity in developing countries. *N. Engl. J. Med.* 352 (15): 1514–1516.
- Carmelli, D., Cardon, L.R. ja Fabsitz, R. (1994) Clustering of hypertension, diabetes, and obesity in adult male twins: same genes or same environments? *Am. J. Hum. Genet.* 55 (3): 566–573.
- Chatzigeorgiou, A., Kandaraki, E., Papavassiliou, A.G. ja Koutsilieris, M. (2014) Peripheral targets in obesity treatment: a comprehensive update. *Obes. Rev.* 15 (6): 487–503.
- Chen, H.Y., Trumbauer, M.E., Chen, A.S., Weingarth, D.T. jt. (2004) Orexigenic action of peripheral ghrelin is mediated by neuropeptide Y and agouti-related protein. *Endocrinology.* 145 (6): 2607–2612.

- Chen, J., Smaoui, N., Hammer, M.B.H., Jiao, X. jt. (2011) Molecular analysis of Bardet-Biedl syndrome families: report of 21 novel mutations in 10 genes. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 52 (8): 5317–5324.
- Cheung, C.Y.Y., Tso, A.W.K., Cheung, B.M.Y., Xu, A. jt. (2010) Obesity susceptibility genetic variants identified from recent genome-wide association studies: implications in a chinese population. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 95 (3): 1395–1403.
- Chua, S.C.J., Chung, W.K., Wu-Peng, X.S., Zhang, Y. jt. (1996) Phenotypes of mouse diabetes and rat fatty due to mutations in the OB (leptin) receptor. *Science.* 271 (5251): 994–996.
- Church, C., Moir, L., McMurray, F., Girard, C. jt. (2010) Overexpression of Fto leads to increased food intake and results in obesity. *Nat. Genet.* 42 (12): 1086–1092.
- Clark, J.T., Kalra, P.S., Crowley, W.R. ja Kalra, S.P. (1984) Neuropeptide Y and human pancreatic polypeptide stimulate feeding behavior in rats. *Endocrinology.* 115 (1): 427–429.
- Clément, K. ja Basdevant, A. (2010) Current Issues Pathophysiological Aspects of Human Obesity – What We Know in 2010. *Eur. Endocrinol.* 10–16.
- Clément, K. ja Ferré, P. (2003) Genetics and the pathophysiology of obesity. *Pediatr. Res.* 53 (5): 721–725.
- Clément, K., Vaisse, C., Lahlou, N., Cabrol, S. jt. (1998) A mutation in the human leptin receptor gene causes obesity and pituitary dysfunction. *Nature.* 392 (6674): 398–401.
- Cole, T.J., Bellizzi, M.C., Flegal, K.M. ja Dietz, W.H. (2000) Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey. *Br. Med. J.* 320: 1–6.
- Coll, A.P., Farooqi, I.S. ja O’Rahilly, S. (2007) The hormonal control of food intake. *Cell.* 129 (2): 251–262.
- Considine, R. V, Sinha, M.K., Heiman, M.L., Kriauciunas, A. jt. (1996) Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *N. Engl. J. Med.* 334 (5): 292–295.
- Cummings, D.E., Purnell, J.Q., Frayo, R.S., Schmidova, K. jt. (2001) A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes.* 50 (8): 1714–1719.
- Cummings, D.E., Weigle, D.S., Frayo, R.S., Breen, P.A. jt. (2002) Plasma ghrelin levels after diet-induced weight loss or gastric bypass surgery. *N. Engl. J. Med.* 346 (21): 1623–1630.
- Dankel, S.N., Fadnes, D.J., Stavrum, A.-K., Stansberg, C. jt. (2010) Switch from stress response to homeobox transcription factors in adipose tissue after profound fat loss. *PLoS one.* 5 (6): e11033.

- Dehghan, M., Akhtar-Danesh, N. ja Merchant, A.T. (2005) Childhood obesity, prevalence and prevention. *Nutr. J.* 4: 24.
- De la Garza, A.L., Milagro, F.I., Boque, N., Campion, J. jt. (2011) Natural inhibitors of pancreatic lipase as new players in obesity treatment. *Planta medica.* 77 (8): 773–785.
- Delaneau, O., Zagury, J.-F. ja Marchini, J. (2013) Improved whole-chromosome phasing for disease and population genetic studies. *Nat. Methods.* 10 (1): 5–6.
- Delzenne, N., Blundell, J., Brouns, F., Cunningham, K. jt. (2010) Gastrointestinal targets of appetite regulation in humans. *Obes. Rev.* 11 (3): 234–250.
- De Silva, A. ja Bloom, S.R. (2012) Gut Hormones and Appetite Control: A Focus on PYY and GLP-1 as Therapeutic Targets in Obesity. *Gut and liver.* 6 (1): 10–20.
- Deurenberg, P., Deurenberg-Yap, M. ja Guricci, S. (2002) Asians are different from Caucasians and from each other in their body mass index/body fat per cent relationship. *Obes. Rev.* 3 (3): 141–146.
- Dina, C., Meyre, D., Gallina, S., Durand, E. jt. (2007) Variation in FTO contributes to childhood obesity and severe adult obesity. *Nat. Genet.* 39 (6): 724–726.
- Dixon, J.B. (2010) The effect of obesity on health outcomes. *Mol. Cell. Endocrinol.* 316 (2): 104–108.
- Dixon, J.B., Straznicky, N.E., Lambert, E.A., Schlaich, M.P. jt. (2012) Laparoscopic adjustable gastric banding and other devices for the management of obesity. *Circulation.* 126 (6): 774–785.
- Dixon, J.B., Zimmet, P., Alberti, K.G. ja Rubino, F. (2011) Bariatric surgery: an IDF statement for obese Type 2 diabetes. *Diabet. Med.* 28 (6): 628–642.
- Druce, M.R., Wren, A.M., Park, A.J., Milton, J.E. jt. (2005) Ghrelin increases food intake in obese as well as lean subjects. *Int. J. Obes.* 29 (9): 1130–1136.
- Eberlein, G.A., Eysselein, V.E., Schaeffer, M., Layer, P. jt. (1989) A new molecular form of PYY: structural characterization of human PYY(3-36) and PYY(1-36). *Peptides.* 10 (4): 797–803.
- Ejtahed, H.-S., Asghari, G., Mirmiran, P., Hosseinpour-Niazi, S., jt. (2014) Body mass index as a measure of percentage body fat prediction and excess adiposity diagnosis among Iranian adolescents. *Arch. Iran. Med.* 17 (6), 400–405.
- Fall, T. ja Ingelsson, E. (2014) Genome-wide association studies of obesity and metabolic syndrome. *Mol. Cell. Endocrinol.* 382 (1): 740–757.
- Farooqi, I.S. (2000) Recent advances: Recent advances in the genetics of severe childhood obesity. *Arch. Dis. Child.* 83 (1): 31–34.
- Farooqi, I.S., Bullmore, E., Keogh, J., Gillard, J. jt. (2007) Leptin regulates striatal regions and human eating behavior. *Science.* 317 (5843): 1355.

- Farooqi, I.S., Keogh, J.M., Yeo, G.S.H., Lank, E.J. jt. (2003) Clinical spectrum of obesity and mutations in the melanocortin 4 receptor gene. *N. Engl. J. Med.* 348 (12): 1085–1095.
- Finucane, M.M., Stevens, G.A., Cowan, M.J., Danaei, G. jt. (2011) National, regional, and global trends in body-mass index since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 960 country-years and 9.1 million participants. *Lancet.* 377 (9765): 557–567.
- Fischer, J., Koch, L., Emmerling, C., Vierkotten, J. jt. (2009) Inactivation of the *Fto* gene protects from obesity. *Nature.* 458 (7240): 894–898.
- Frayling, T.M., Timpson, N.J., Weedon, M.N., Zeggini, E. jt. (2007) A common variant in the *FTO* gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science.* 316 (5826): 889–894.
- Frazer, K.A., Ballinger, D.G., Cox, D.R., Hinds, D.A. jt. (2007) A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature.* 449 (7164): 851–861.
- Gerken, T., Girard, C.A., Tung, Y.-C.L., Webby, C.J. jt. (2007) The obesity-associated *FTO* gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. *Science.* 318 (5855): 1469–1472.
- Goldstein, J.I., Crenshaw, A., Carey, J., Grant, G.B. jt. (2012) zCall: a rare variant caller for array-based genotyping: genetics and population analysis. *Bioinformatics.* 28 (19): 2543–2545.
- Grant S. F. A. 2014. *The Genetics of Obesity*, 1<sup>st</sup> ed. p 6-91. Springer-Verlag New York.
- Halperin, E. ja Stephan, D.A. (2009) SNP imputation in association studies. *Nature biotechnology.* 27 (4): 349–351.
- Hardy, J. ja Singleton, A. (2009) Genomewide association studies and human disease. *N. Engl. J. Med.* 360 (17): 1759–1768.
- Hardy, R., Wills, A.K., Wong, A., Elks, C.E. jt. (2010) Life course variations in the associations between *FTO* and *MC4R* gene variants and body size. *Hum. Mol. Genet.* 19 (3): 545–552.
- Harkavyi, A. ja Whitton, P.S. (2010) Glucagon-like peptide 1 receptor stimulation as a means of neuroprotection. *Br. J. Pharmacol.* 159 (3): 495–501.
- Haslam, D.W. ja James, W.P.T. (2005) Obesity. *Lancet.* 366 (9492): 1197–1209.
- Haupt, A., Thamer, C., Staiger, H., Tschritter, O. jt. (2009) Variation in the *FTO* gene influences food intake but not energy expenditure. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes.* 117 (4): 194–197.
- Haworth, C.M.A., Plomin, R., Carnell, S. ja Wardle, J. (2008) Childhood obesity: genetic and environmental overlap with normal-range BMI. *Obesity.* 16 (7): 1585–1590.
- Henao-Mejia, J., Elinav, E., Jin, C., Hao, L. jt. (2012) Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. *Nature.* 482 (7384): 179–185.

- Hill, J.O., Wyatt, H.R., Reed, G.W. ja Peters, J.C. (2000) Obesity and the Environment : Where Do We Go from Here? *Science*. 299 (5608): 853-5.
- Holst, J.J. (2007) The physiology of glucagon-like peptide 1. *Physiol. Rev.* 87 (4): 1409–1439.
- Honda, H., Inazawa, J., Nishida, J., Yazaki, Y. jt. (1994) Molecular cloning, characterization, and chromosomal localization of a novel protein-tyrosine phosphatase, HPTP eta. *Blood*. 84 (12): 4186–4194.
- Hong, J., Shi, J., Qi, L., Cui, B. jt. (2013) Genetic susceptibility, birth weight and obesity risk in young Chinese. *Int J Obes.* 37 (5): 673–677.
- Howie, B.N., Donnelly, P. ja Marchini, J. (2009) A flexible and accurate genotype imputation method for the next generation of genome-wide association studies. *PLoS genetics*. 5 (6): e1000529.
- Huszar, D., Lynch, C.A., Fairchild-Huntress, V., Dunmore, J.H. jt. (1997) Targeted Disruption of the Melanocortin-4 Receptor Results in Obesity in Mice. *Cell*. 88 (1): 131–141.
- Ingalls, A.M., Dickie, M.M. ja Snell, G.D. (1950) Obese, a new mutation in the house mouse. *J. Hered.* 41 (12): 317–318.
- Ionut, V., Burch, M., Youdim, A. ja Bergman, R.N. (2013) Gastrointestinal hormones and bariatric surgery-induced weight loss. *Obesity*. 21 (6): 1093–1103.
- Kelly, T., Yang, W., Chen, C.-S., Reynolds, K. jt. (2008) Global burden of obesity in 2005 and projections to 2030. *Int. J. Obes.* 32 (9): 1431–1437.
- Kenny, P.J. (2011) Common cellular and molecular mechanisms in obesity and drug addiction. *Nat. Rev. Neurosci.* 12 (11): 638–651.
- Kieffer, T.J. ja Habener, J.F. (2000) The adipoinsular axis: effects of leptin on pancreatic beta-cells. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 278 (1): 1–14.
- Kojima, M., Hosoda, H., Date, Y., Nakazato, M. jt. (1999) Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*. 402 (6762): 656–660.
- Korte, A. ja Farlow, A. (2013) The advantages and limitations of trait analysis with GWAS: a review. *Plant methods*. 9 (1): 29.
- Krude, H., Biebermann, H., Luck, W., Horn, R. jt. (1998) Severe early-onset obesity, adrenal insufficiency and red hair pigmentation caused by POMC mutations in humans. *Nat. Genet.* 19 (2): 155–157.
- Kushner, R.F. (2014) Weight loss strategies for treatment of obesity. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 56 (4): 465–472.
- Lazarou, C., Panagiotakos, D.B. ja Matalas, A.-L. (2010) Physical activity mediates the protective effect of the Mediterranean diet on children's obesity status: The CYKIDS study. *Nutrition*. 26 (1): 61–67.

- Lee, S., Abecasis, G.R., Boehnke, M. ja Lin, X. (2014) Rare-Variant Association Analysis: Study Designs and Statistical Tests. *Am. J. Hum. Genet.* 95 (1): 5–23.
- Lee, S., Wu, M.C. ja Lin, X. (2012) Optimal tests for rare variant effects in sequencing association studies. *Biostatistics.* 13 (4): 762–775.
- Lee, S.H., Wray, N.R., Goddard, M.E. ja Visscher, P.M. (2011) Estimating missing heritability for disease from genome-wide association studies. *Am. J. Hum. Genet.* 88 (3): 294–305.
- Leibowitz, S.F., Hammer, N.J. ja Chang, K. (1981) Hypothalamic paraventricular nucleus lesions produce overeating and obesity in the rat. *Physiol. Behav.* 27 (6): 1031–1040.
- Leite-Moreira, A.F. ja Soares, J.-B. (2007) Physiological, pathological and potential therapeutic roles of ghrelin. *Drug Discov. Today.* 12 (7-8): 276–288.
- Leitsalu, L., Haller, T., Esko, T., Tammesoo, M.-L. jt. (2014) Cohort Profile: Estonian Biobank of the Estonian Genome Center, University of Tartu. *Int. J. Epidemiol.*
- Lewis, C.M. (2002) Genetic association studies: Design, analysis and interpretation. *Brief. Bioinform.* 3 (2): 146–153.
- Li, Q. ja Yu, K. (2008) Improved correction for population stratification in genome-wide association studies by identifying hidden population structures. *Genet. Epidemiol.* 32 (3): 215–226.
- Li, T.Y., Rana, J.S., Manson, J.E., Willett, W.C. jt. (2006) Obesity as compared with physical activity in predicting risk of coronary heart disease in women. *Circulation.* 113 (4): 499–506.
- Liem, E.T., Vonk, J.M., Sauer, P.J.J., van der Steege, G. jt. (2010) Influence of common variants near *INSIG2*, in *FTO*, and near *MC4R* genes on overweight and the metabolic profile in adolescence: the TRAILS (TRacking Adolescents' Individual Lives Survey) Study. *Am. J. Clin. Nutr.* 91 (2): 321–328.
- Liu, Y., Liu, Z., Song, Y., Zhou, D. jt. (2010) Meta-analysis added power to identify variants in *FTO* associated with type 2 diabetes and obesity in the Asian population. *Obesity.* 18 (8): 1619–1624.
- Lobstein, T., Baur, L. ja Uauy, R. (2004) Obesity in children and young people: a crisis in public health. *Obes. Rev.* 5: 14–104.
- Locke, A.E., Kahali, B., Berndt, S.I., Justice, A.E. jt. (2015) Genetic studies of body mass index yield new insights for obesity biology. *Nature.* 518 (7538): 197–206.
- Loos, R.J.F. ja Bouchard, C. (2008) *FTO*: the first gene contributing to common forms of human obesity. *Obes. Rev.* 9 (3): 246–250.
- Loos, R.J.F., Lindgren, C.M., Li, S., Wheeler, E. jt. (2008) Common variants near *MC4R* are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat. Genet.* 40 (6): 768–775.

- Loos, R.J.F. ja Yeo, G.S.H. (2014) The bigger picture of FTO: the first GWAS-identified obesity gene. *Nat. Rev. Endocrinol.* 10 (1): 51–61.
- Lu, Y. ja Loos, R.J. (2013) Obesity genomics: assessing the transferability of susceptibility loci across diverse populations. *Genome Med.* 5 (6): 55.
- Lucantoni, R., Ponti, E., Berselli, M.E., Savia, G. jt. (2000) The A19G polymorphism in the 5' untranslated region of the human obese gene does not affect leptin levels in severely obese patients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85 (10): 3589–3591.
- Madsbad, S. (2014) The role of glucagon-like peptide-1 impairment in obesity and potential therapeutic implications. *Diabetes. Obes. Metab.* 16 (1): 9–21.
- Maes, H.H.M., Neale, M.C. ja Eaves, L.J. (1997) Genetic and environmental factors in relative body weight and human adiposity. *Behav. Genet.* 27 (4): 325–351.
- Malik, S., McGlone, F., Bedrossian, D. ja Dagher, A. (2008) Ghrelin modulates brain activity in areas that control appetitive behavior. *Cell Metab.* 7 (5): 400–409.
- Malnic, B., Godfrey, P.A. ja Buck, L.B. (2004) The human olfactory receptor gene family. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 101 (8): 2584–2589.
- Manning, A.K., Hivert, M.-F., Scott, R.A., Grimsby, J.L. jt. (2012) A genome-wide approach accounting for body mass index identifies genetic variants influencing fasting glycemic traits and insulin resistance. *Nat. Genet.* 44 (6): 659–669.
- Marchini, J., Howie, B., Myers, S., McVean, G. jt. (2007) A new multipoint method for genome-wide association studies by imputation of genotypes. *Nat. Genet.* 39 (7): 906–913.
- Martínez, J.A., Milagro, F.I., Claycombe, K.J. ja Schalinske, K.L. (2014) Epigenetics in adipose tissue, obesity, weight loss, and diabetes. *Adv. Nutr.* 5 (1): 71–81.
- McCarthy, H.D., Cole, T.J., Fry, T., Jebb, S.A. jt. (2006) Body fat reference curves for children. *Int. J. Obes.* (2005). 30 (4): 598–602.
- McPherson, K., Marsh, T. ja Brown, M. (2007) *Foresight: Tackling Obesities: Future Choices – Modelling Future Trends in Obesity and the Impact on Health 2<sup>nd</sup> ed.* Government Office for Science. Saadaval: <https://www.gov.uk/government/publications/reducing-obesity-modelling-future-trends>
- Meeuwssen, S., Horgan, G.W. ja Elia, M. (2010) The relationship between BMI and percent body fat, measured by bioelectrical impedance, in a large adult sample is curvilinear and influenced by age and sex. *Clin. Nutr.* 29 (5): 560–566.
- Meyre, D., Bouatia-Naji, N., Tounian, A., Samson, C. jt. (2005) Variants of ENPP1 are associated with childhood and adult obesity and increase the risk of glucose intolerance and type 2 diabetes. *Nat. Genet.* 37 (8): 863–867.
- Meyre, D., Delplanque, J., Chevre, J.-C., Lecoœur, C. jt. (2009) Genome-wide association study for early-onset and morbid adult obesity identifies three new risk loci in European populations. *Nat. Genet.* 41 (2): 157–159.



- Miras, A.D. ja le Roux, C.W. (2013) Mechanisms underlying weight loss after bariatric surgery. *Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol.* 10 (10): 575–584.
- Montague, C.T., Farooqi, I.S., Whitehead, J.P., Soos, M. a jt. (1997) Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature.* 387 (6636): 903–908.
- Morton, G.J., Cummings, D.E., Baskin, D.G., Barsh, G.S. jt. (2006) Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature.* 443 (7109): 289–295.
- Ng, M., Fleming, T., Robinson, M., Thomson, B. jt. (2014) Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet.* 384 (9945): 766–781.
- NHLBI (1998). *Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults: The Evidence Report. Obesity Education Initiative Expert Panel on the Identification, Evaluation, and Treatment of Obesity in Adults (US).* Bethesda (MD): National Heart, Lung, and Blood Institute. *Obes Res.* 2:51–209.
- Nordborg, M. ja Tavaré, S. (2002) Linkage disequilibrium: what history has to tell us. *Trends Genet.* 18 (2): 83–90.
- O’Rahilly, S. ja Farooqi, I.S. (2006) Genetics of obesity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 361 (1471): 1095–1105.
- Olney, J.W. (1969) Brain lesions, obesity, and other disturbances in mice treated with monosodium glutamate. *Science.* 164 (3880): 719–721.
- Otto, B., Cuntz, U., Fruehauf, E., Wawarta, R. jt. (2001) Weight gain decreases elevated plasma ghrelin concentrations of patients with anorexia nervosa. *Eur. J. Endocrinol.* 145 (5): 669–673.
- Pe’er, I., Yelensky, R., Altshuler, D. ja Daly, M.J. (2008) Estimation of the multiple testing burden for genomewide association studies of nearly all common variants. *Genet. Epidemiol.* 32 (4): 381–385.
- Pelleymounter, M.A., Cullen, M.J., Baker, M.B., Hecht, R. jt. (1995) Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice. *Science.* 269 (5223): 540–543.
- Perry, B. ja Wang, Y. (2012) Appetite regulation and weight control: the role of gut hormones. *Nutr. Diabete.* 2e26.
- Peters, U., North, K.E., Sethupathy, P., Buyske, S. jt. (2013) A systematic mapping approach of 16q12.2/FTO and BMI in more than 20,000 African Americans narrows in on the underlying functional variation: results from the Population Architecture using Genomics and Epidemiology study. *PLoS genetics.* 9 (1): e1003171.
- Pietrobelli, A., Andreoli, A., Cervelli, V., Carbonelli, M.G. jt. (2003) Predicting fat-free mass in children using bioimpedance analysis. *Acta Diabetol.* 40 (1): 212–215.

- Polonsky, K.S., Polonsky, K.S., Given, B.D., Given, B.D. jt. (1988) Twenty-four-hour profiles and pulsatile patterns of insulin secretion in normal and obese subjects. Quantitative study of insulin secretion and clearance in normal and obese subjects. *J Clin Invest.* 81 (2): 442–448.
- Prentice, A.M. ja Jebb, S.A. (2001) Beyond body mass index. *Obes. Rev.* 2 (3): 141–147.
- Price, A.L., Patterson, N.J., Plenge, R.M., Weinblatt, M.E. jt. (2006) Principal components analysis corrects for stratification in genome-wide association studies. *Nat. Genet.* 38 (8): 904–909.
- Purcell, S., Neale, B., Todd-Brown, K., Thomas, L. jt. (2007) PLINK: a tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am. J. Hum. Genet.* 81 (3): 559–575.
- R Core Team (2013) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Saadaval: <http://www.R-project.org/>.
- Razquin, C., Marti, A. ja Martinez, J.A. (2011) Evidences on three relevant obesogenes: MC4R, FTO and PPARgamma. Approaches for personalized nutrition. *Mol. Nutr. Food Res.* 55 (1): 136–149.
- Reilly, J.J., Armstrong, J., Dorosty, A.R., Emmett, P.M. jt. (2005) Early life risk factors for obesity in childhood: cohort study. *Br. Med. J.* 330 (7504): 1357.
- Rosmond, R., Chagnon, Y.C., Holm, G., Chagnon, M. jt. (2000) Hypertension in obesity and the leptin receptor gene locus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 85 (9): 3126–3131.
- Ruivenkamp, C.A.L., van Wezel, T., Zanon, C., Stassen, A.P.M. jt. (2002) Ptpmj is a candidate for the mouse colon-cancer susceptibility locus Scc1 and is frequently deleted in human cancers. *Nat. Genet.* 31 (3): 295–300.
- Saad, M.F., Riad-Gabriel, M.G., Khan, A., Sharma, A. jt. (1998) Diurnal and ultradian rhythmicity of plasma leptin: effects of gender and adiposity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83 (2): 453–459.
- Sanchez-Pulido, L. ja Andrade-Navarro, M.A. (2007) The FTO (fat mass and obesity associated) gene codes for a novel member of the non-heme dioxygenase superfamily. *BMC biochemistry.* 8:23.
- Schauer, P.R., Bhatt, D.L., Kirwan, J.P., Wolski, K. jt. (2014) Bariatric surgery versus intensive medical therapy for diabetes—3-year outcomes. *N. Engl. J. Med.* 370 (21): 2002–2013.
- Schousboe, K., Willemsen, G., Kyvik, K.O., Mortensen, J. jt. (2003) Sex differences in heritability of BMI: a comparative study of results from twin studies in eight countries. *Twin Res.* 6 (5): 409–421.
- Schwartz, G.J. (2000) The role of gastrointestinal vagal afferents in the control of food intake: current prospects. *Nutrition.* 16 (10): 866–873.

- Schwartz, M.W., Woods, S.C., Porte, D.J., Seeley, R.J. jt. (2000) Central nervous system control of food intake. *Nature*. 404 (6778): 661–671.
- Shen, Y., Fu, W.-Y., Cheng, E.Y.L., Fu, A.K.Y. jt. (2013) Melanocortin-4 receptor regulates hippocampal synaptic plasticity through a protein kinase A-dependent mechanism. *J. Neurosci.* 33 (2): 464–472.
- Shungin, D., Winkler, T.W., Croteau-Chonka, D.C., Ferreira, T. jt. (2015) New genetic loci link adipose and insulin biology to body fat distribution. *Nature*. 518 (7538): 187–196.
- Sierra-Johnson, J., Johnson, B.D., Bailey, K.R. ja Turner, S.T. (2004) Relationships between insulin sensitivity and measures of body fat in asymptomatic men and women. *Obes. Res.* 12 (12): 2070–2077.
- SIGN - Scottish Intercollegiate Guidelines Network (2010) Management of Obesity: a national clinical guideline. Edinburgh (Scotland): Scottish Intercollegiate Guidelines Network (SIGN). 2010. (SIGN publication; no. 115).
- Smemo, S., Tena, J.J., Kim, K.-H., Gamazon, E.R. jt. (2014) Obesity-associated variants within FTO form long-range functional connections with IRX3. *Nature*. 507 (7492): 371–375.
- Song, Y., Park, M.J., Paik, H.-Y. ja Joung, H. (2010) Secular trends in dietary patterns and obesity-related risk factors in Korean adolescents aged 10-19 years. *Int. J. Obes.* 34 (1): 48–56.
- Soukas, A., Cohen, P., Socci, N.D. ja Friedman, J.M. (2000) Leptin-specific patterns of gene expression in white adipose tissue. *Genes Dev.* 14 (8): 963–980.
- Speakman, J.R. (2004) Obesity: The Integrated Roles of Environment and Genetics. *J. Nutr.* 134 (8): 2090S – 2105.
- Speakman, J.R., Rance, K.A. ja Johnstone, A.M. (2008) Polymorphisms of the FTO gene are associated with variation in energy intake, but not energy expenditure. *Obesity*. 16 (8): 1961–1965.
- Speliotes, E.K., Willer, C.J., Berndt, S.I., Monda, K.L. jt. (2010) Association analyses of 249,796 individuals reveal 18 new loci associated with body mass index. *Nat. Genet.* 42 (11): 937–948.
- Spencer, C.C.A., Su, Z., Donnelly, P. ja Marchini, J. (2009) Designing genome-wide association studies: sample size, power, imputation, and the choice of genotyping chip. *PLoS genetics*. 5 (5): e1000477.
- Stafford, L.D. ja Whittle, A. (2015) Obese Individuals Have Higher Preference and Sensitivity to Odor of Chocolate. *Chem. Senses*. 40 (4): 279-84.
- Stranger, B.E., Stahl, E.A. ja Raj, T. (2011) Progress and promise of genome-wide association studies for human complex trait genetics. *Genetics*. 187 (2): 367–383.
- Stunkard, A.J., Foch, T.T. ja Hrubec, Z. (1986) A twin study of human obesity. *JAMA*. 256 (1): 51–54.

- Stunkard, A.J., Harris, J.R., Pedersen, N.L. ja McClearn, G.E. (1990) The body-mass index of twins who have been reared apart. *N. Engl. J. Med.* 322 (21): 1483–1487.
- Sun, T., Hayakawa, K., Bateman, K.S. ja Fraser, M.E. (2010) Identification of the citrate-binding site of human ATP-citrate lyase using X-ray crystallography. *J. Biol. Chem.* 285 (35): 27418–27428.
- Suviolahti, E., Oksanen, L.J., Ohman, M., Cantor, R.M. jt. (2003) The SLC6A14 gene shows evidence of association with obesity. *J. Clin. Invest.* 112 (11): 1762–1772.
- Zaitlen, N., Kraft, P., Patterson, N., Pasaniuc, B. jt. (2013) Using Extended Genealogy to Estimate Components of Heritability for 23 Quantitative and Dichotomous Traits. *PLoS Genetics.* 9 (5): e1003520.
- Zelissen, P.M.J., Stenlof, K., Lean, M.E.J., Fogtelloo, J. jt. (2005) Effect of three treatment schedules of recombinant methionyl human leptin on body weight in obese adults: a randomized, placebo-controlled trial. *Diabetes. Obes. Metab.* 7 (6): 755–761.
- Zhang, J. V, Ren, P.-G., Avsian-Kretchmer, O., Luo, C.-W. jt. (2005) Obestatin, a peptide encoded by the ghrelin gene, opposes ghrelin's effects on food intake. *Science.* 310 (5750): 996–999.
- Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M. jt. (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 372 (6505): 425–432.
- Zheng, H. ja Berthoud, H.-R. (2007) Eating for pleasure or calories. *Curr. Opin. Pharmacol.* 7 (6): 607–612.
- Zuk, O., Schaffner, S.F., Samocha, K., Do, R. jt. (2014) Searching for missing heritability: designing rare variant association studies. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 111 (4): 455–464.
- Taheri, S., Lin, L., Austin, D., Young, T. jt. (2004) Short sleep duration is associated with reduced leptin, elevated ghrelin, and increased body mass index. *PLoS medicine.* 1 (3): e62.
- Tao, Y.-X. (2010) The melanocortin-4 receptor: physiology, pharmacology, and pathophysiology. *Endocr. Rev.* 31 (4): 506–543.
- TECotDaCoD - The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus (2003) Report of the The Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. 26 (1): 5-20.
- Tekkel, M. ja Veideman, T. (2011) Eesti täiskasvanud rahvastiku tervisekäitumise uuring, 2010. Tervise Arengu Instituut. Tallinn 2011.
- Tekkel, M. ja Veideman, T. (2013) E Eesti täiskasvanud rahvastiku tervisekäitumise uuring, 2012. Tervise Arengu Instituut. Tallinn 2013.
- Tekkel, M., Veideman, T. ja Rahu, M. (2009) Eesti täiskasvanud rahvastiku tervisekäitumise uuring, 2008. Tervise Arengu Instituut. Tallinn 2009.

- Ter Horst, G.J., de Boer, P., Luiten, P.G. ja van Willigen, J.D. (1989) Ascending projections from the solitary tract nucleus to the hypothalamus. A Phaseolus vulgaris lectin tracing study in the rat. *Neuroscience*. 31 (3): 785–797.
- Tesauro, M., Schinzari, F., Caramanti, M., Lauro, R. jt. (2010) Cardiovascular and metabolic effects of ghrelin. *Curr. Diabetes Rev.* 6 (4): 228–235.
- The International Hapmap Consortium (2003) The International HapMap Project. *Nature* 426 (6968): 789–796.
- Tschop, M., Smiley, D.L. ja Heiman, M.L. (2000) Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature*. 407 (6806): 908–913.
- Turnbaugh, P.J., Ley, R.E., Mahowald, M. a, Magrini, V. jt. (2006) An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature*. 444 (7122): 1027–1031.
- Ueno, N., Inui, A., Iwamoto, M., Kaga, T. jt. (1999) Decreased food intake and body weight in pancreatic polypeptide-overexpressing mice. *Gastroenterology*. 117 (6): 1427–1432.
- Uhe, A.M., Szmukler, G.I., Collier, G.R., Hansky, J. jt. (1992) Potential regulators of feeding behavior in anorexia nervosa. *Am. J. Clin. Nutr.* 55 (1): 28–32.
- Vahl, T.P., Drazen, D.L., Seeley, R.J., D'Alessio, D.A. jt. (2010) Meal-anticipatory glucagon-like peptide-1 secretion in rats. *Endocrinology*. 151 (2): 569–575.
- Vaisse, C., Clement, K., Guy-Grand, B. ja Froguel, P. (1998) A frameshift mutation in human MC4R is associated with a dominant form of obesity. *Nat. Genet.* 20 (2): 113–114.
- Vest, A.R., Heneghan, H.M., Schauer, P.R. ja Young, J.B. (2013) Surgical management of obesity and the relationship to cardiovascular disease. *Circulation*. 127 (8): 945–959.
- Vijay-Kumar, M., Aitken, J.D., Carvalho, F.A., Cullender, T.C. jt. (2010) Metabolic syndrome and altered gut microbiota in mice lacking Toll-like receptor 5. *Science*. 328 (5975): 228–231.
- Van Vliet-Ostaptchouk, J. V, Hofker, M.H., van der Schouw, Y.T., Wijmenga, C. jt. (2009) Genetic variation in the hypothalamic pathways and its role on obesity. *Obes. Rev.* 10 (6): 593–609.
- Wang, J., Mei, H., Chen, W., Jiang, Y. jt. (2012) Study of eight GWAS-identified common variants for association with obesity-related indices in Chinese children at puberty. *Int J Obes.* 36 (4): 542–547.
- Wardle, J., Carnell, S., Haworth, C.M. ja Plomin, R. (2008) Evidence for a strong genetic influence on childhood adiposity despite the force of the obesogenic environment. *Am. J. Clin. Nutr.* 87 (2): 398–404.
- Waterland, R.A. ja Jirtle, R.L. (2004) Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. *Nutrition*. 20 (1): 63–68.

- Wauters, M., Mertens, I., Rankinen, T., Chagnon, M. jt. (2001) Leptin receptor gene polymorphisms are associated with insulin in obese women with impaired glucose tolerance. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86 (7): 3227–3232.
- Wellen, K.E., Hatzivassiliou, G., Sachdeva, U.M., Bui, T. V jt. (2009) ATP-citrate lyase links cellular metabolism to histone acetylation. *Science.* 324 (5930): 1076–1080.
- WHO - World Health Organization (1995) Physical Status: the Use and Interpretation of Anthropometry. Report of a WHO Expert Committee. Technical Report Series No. 854.
- WHO - World Health Organization (2000) Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. Technical report series. 894. Saadaval: [http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO\\_TRS\\_894/en/](http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/)
- WHO - World Health Organization (2011) Noncommunicable diseases country profiles 2011: WHO global report. Geneva: World Health Organization, 97.
- WHO - World Health Organization (2015) Obesity and overweight (Fact sheet N°311). Saadaval: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/>
- Willer, C.J., Speliotes, E.K., Loos, R.J.F., Li, S. jt. (2009) Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nat. Genet.* 41 (1): 25–34.
- Withrow, D. ja Alter, D.A. (2011) The economic burden of obesity worldwide: a systematic review of the direct costs of obesity. *Obes. Rev.* 12 (2): 131–141.
- Woods, S.C., Lotter, E.C., McKay, L.D. ja Porte, D.J. (1979) Chronic intracerebroventricular infusion of insulin reduces food intake and body weight of baboons. *Nature.* 282 (5738): 503–505.
- Wormser, D., Kaptoge, S., Di Angelantonio, E., Wood, A.M. jt. (2011) Separate and combined associations of body-mass index and abdominal adiposity with cardiovascular disease: collaborative analysis of 58 prospective studies. *Lancet.* 377 (9771): 1085–1095.
- Wren, A.M., Seal, L.J., Cohen, M.A., Brynes, A.E. jt. (2001) Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86 (12): 5992.
- Wu, Q., Clark, M.S. ja Palmiter, R.D. (2012) Deciphering a neuronal circuit that mediates appetite. *Nature.* 483 (7391): 594–597.
- Wyatt, H.R. (2013) Update on treatment strategies for obesity. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 98 (4): 1299–1306.
- Xi, B., Cheng, H., Shen, Y., Chandak, G.R. jt. (2013) Study of 11 BMI-associated loci identified in GWAS for associations with central obesity in the Chinese children. *PloS one.* 8 (2): e56472.
- Yach, D., Stuckler, D. ja Brownell, K.D. (2006) Epidemiologic and economic consequences of the global epidemics of obesity and diabetes. *Nat. Med.* 12 (1): 62–66.

- Yako, Y.Y., Echouffo-Tcheugui, J.B., Balti, E. V, Matsha, T.E. jt. (2015) Genetic association studies of obesity in Africa: a systematic review. *Obes. Rev.* 16 (3): 259–272.
- Yanovski, S.Z. ja Yanovski, J.A. (2014) Long-term drug treatment for obesity: a systematic and clinical review. *JAMA.* 311 (1): 74–86.
- Yiannakouris, N., Yannakoulia, M., Melistas, L., Chan, J.L. jt. (2001) The Q223R polymorphism of the leptin receptor gene is significantly associated with obesity and predicts a small percentage of body weight and body composition variability. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 86 (9): 4434–4439.

## **Kasutatud veebiaadressid**

<http://genome.sph.umich.edu/wiki/EFACTS>

<http://www.1000genomes.org>

<http://www.illumina.com>

<http://www.illumina.com/applications/microarrays/microarray-software/genomestudio.html>

<http://www.who.int/classifications/icd/en/>

[http://www.whocc.no/atc\\_ddd\\_index/](http://www.whocc.no/atc_ddd_index/)

# Lisad

## Lisa 1. Uuringu valimi koostamisel välistatud haigused (tabelis ICD-10 koodid ja haiguste inglise keelsed nimed).<sup>6</sup>

CODE	DESCRIPTION
C	Malignant neoplasms
D55-D59	Haemolytic anaemias
D60-D64	Aplastic and other anaemias
D65-D69	Coagulation defects, purpura and other haemorrhagic conditions
D70-D77	Other diseases of blood and blood-forming organs
D80-D89	Certain disorders involving the immune mechanism
E10-E14	Diabetes mellitus
E15-E16	Other disorders of glucose regulation and pancreatic internal secretion
E40-E46	Malnutrition
E65-E68	Obesity and other hyperalimentation
E70-E90	Metabolic disorders
F00-F09	Organic, including symptomatic, mental disorders
F10-F19	Mental and behavioural disorders due to psychoactive substance use
F20-F29	Schizophrenia, schizotypal and delusional disorders
F50-F59	Behavioural syndromes associated with physiological disturbances and physical factors
F60-F69	Disorders of adult personality and behaviour
F70-F79	Mental retardation
F80-F89	Disorders of psychological development
F90-F98	Behavioural and emotional disorders with onset usually occurring in childhood and adolescence
F99-F99	Unspecified mental disorder
G10-G14	Systemic atrophies primarily affecting the central nervous system
G35-G37	Demyelinating diseases of the central nervous system
G40	Epilepsy
G41	Status epilepticus
G70-G73	Diseases of myoneural junction and muscle
G80-G83	Cerebral palsy and other paralytic syndromes
G90-G99	Other disorders of the nervous system
I60-I69	Cerebrovascular diseases
I70-I79	Diseases of arteries, arterioles and capillaries
J43	Emphysema
J44	Other chronic obstructive pulmonary disease
J45	Asthma
J46	Status asthmaticus
J47	Bronchiectasis
K30	Dyspepsia
K31.1	Adult hypertrophic pyloric stenosis
K31.2	Hourglass stricture and stenosis of stomach
K31.3	Pylorospasm, not elsewhere classified
K31.5	Obstruction of duodenum

<sup>6</sup> [http://www.whooc.no/atc\\_ddd\\_index/](http://www.whooc.no/atc_ddd_index/)



K31.6	Fistula of stomach and duodenum
K31.8	Other specified diseases of stomach and duodenum
K31.9	Disease of stomach and duodenum, unspecified
K41	Femoral hernia
K44	Diaphragmatic hernia
K45	Other abdominal hernia
K46	Unspecified abdominal hernia
K50-K52	Noninfective enteritis and colitis
K62.4	Stenosis of anus and rectum
K62.7	Radiation proctitis
K62.8	Other specified diseases of anus and rectum
K62.9	Disease of anus and rectum, unspecified
K66	Other disorders of peritoneum
K70-K77	Diseases of liver
K82	Other diseases of gallbladder
K83	Other diseases of biliary tract
K85	Acute pancreatitis
K86	Other diseases of pancreas
K87	Disorders of gallbladder, biliary tract and pancreas in diseases classified elsewhere
K90-K93	Other diseases of the digestive system
M05-M14	Inflammatory polyarthropathies
Q00-Q07	Congenital malformations of the nervous system
Q10-Q18	Congenital malformations of eye, ear, face and neck
Q20-Q28	Congenital malformations of the circulatory system
Q30-Q34	Congenital malformations of the respiratory system
Q38-Q45	Other congenital malformations of the digestive system
Q50-Q56	Congenital malformations of genital organs
Q62-Q64	Congenital malformations of kidney and urinary system
Q67	Congenital musculoskeletal deformities of head, face, spine and chest
Q68	Other congenital musculoskeletal deformities
Q71-Q79	Congenital malformations of limb(s)
Q80-Q89	Other congenital malformations
Q90-Q99	Chromosomal abnormalities, not elsewhere classified
S28-S28	Crushing injury of thorax and traumatic amputation of part of thorax
S38-S38	Crushing injury and traumatic amputation of part of abdomen, lower back and pelvis
S48-S48	Traumatic amputation of shoulder and upper arm
S58-S58	Traumatic amputation of forearm
S68-S68	Traumatic amputation of wrist and hand
S78-S78	Traumatic amputation of hip and thigh
S88-S88	Traumatic amputation of lower leg
S98-S98	Traumatic amputation of ankle and foot
T05-T05	Traumatic amputations involving multiple body regions

**Lisa 2. Uuringu valimi koostamisel välistatud haigused, mida geenidoonor põdes Eesti Geenivaramu kohordiga liitumise hetkel, mil mõõdeti ta KMI-d (tabelis ICD-10 koodid ja haiguste inglise keelsed nimed).<sup>7</sup>**

CODE	DESCRIPTION
A15-A19	Tuberculosis
A50-A64	Infections with a predominantly sexual mode of transmission
D00-D09	In situ neoplasms
D06	Carcinoma in situ of cervix uteri
D07	Carcinoma in situ of other and unspecified genital organs
D10-D36	Benign neoplasms
D13	Benign neoplasm of other and ill-defined parts of digestive system
D37-D48	Neoplasms of uncertain or unknown behaviour
D48	Neoplasm of uncertain or unknown behaviour of other and unspecified sites
D50-D53	Nutritional anaemias
E00-E07	Disorders of thyroid gland
E20-E35	Disorders of other endocrine gland
E50-E64	Other nutritional deficiencies
F30-F39	Mood [affective] disorders
F31	Bipolar affective disorder
F32	Depressive episode
F33	Recurrent depressive disorder
F34	Persistent mood [affective] disorders
F40-F48	Neurotic, stress-related and somatoform disorders
G00	Bacterial meningitis, not elsewhere classified
G03	Meningitis due to other and unspecified causes
G25	Other extrapyramidal and movement disorders (chorea, drug inducedtics etc)
I05.1	Rheumatic mitral insufficiency
I09	Other rheumatic heart diseases
I11	Hypertensive heart disease
I26	Pulmonary embolism
I30-I52	Other forms of heart disease
I60-I69	Cerebrovascular diseases
I70-I79	Diseases of arteries, arterioles and capillaries
I88	Nonspecific lymphadenitis
J09-J18	Influenza and pneumonia
J42	Unspecified chronic bronchitis
J93	Pneumothorax
J98.4	Other disorders of lung (Calcification, aquired Cystic lung disease, Lung disease NOS, Pulmolithiasis)
K00-K14	Diseases of oral cavity, salivary glands and jaws
K20-K31	Diseases of oesophagus, stomach and duodenum
K35-K38	Diseases of appendix
K40	Inguinal hernia
K40-K46	Hernia
K55-K63	Other diseases of intestines

<sup>7</sup> [http://www.whocc.no/atc\\_ddd\\_index/](http://www.whocc.no/atc_ddd_index/)

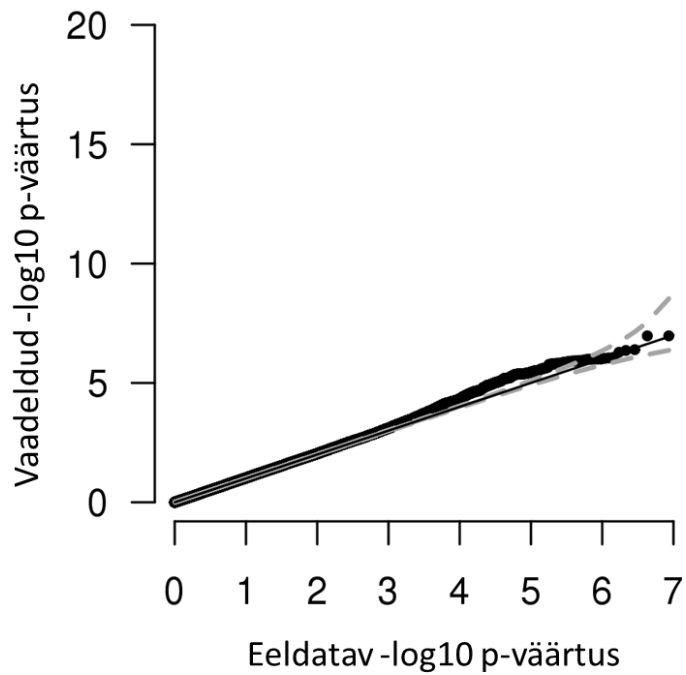
K80-K87	Disorders of gallbladder, biliary tract and pancreas
L55-L59	Radiation-related disorders of the skin and subcutaneous tissue
M02.8	Other reactive arthropathies
M45	Ankylosing spondylitis (long-term type of arthritis)
M79	Other soft tissue disorders, not elsewhere classified
M80-M85	Disorders of bone density and structure
N10	Acute tubulo-interstitial nephritis
N11	Chronic tubulo-interstitial nephritis
N17	Acute renal failure
N18	Chronic kidney disease
N23	Unspecified renal colic
N99	Postprocedural disorders of genitourinary system, not elsewhere classified
Q35-Q37	Cleft lip and cleft palate
R25.8	Abnormal head movements
Z03	Medical observation and evaluation for suspected diseases and conditions
Z21	Asymptomatic human immunodeficiency virus [HIV] infection status

**Lisa 3. Ravimigrupid, mida tarbisid geenidoonorid Eesti Geenivaramuga liitumise hetkel vastavalt anatoomilis-terapeutilise keemilise klassifikatsiooni süsteemile (tabelis ATC koodid ja ravimite inglise keelsed nimed).<sup>8</sup>**

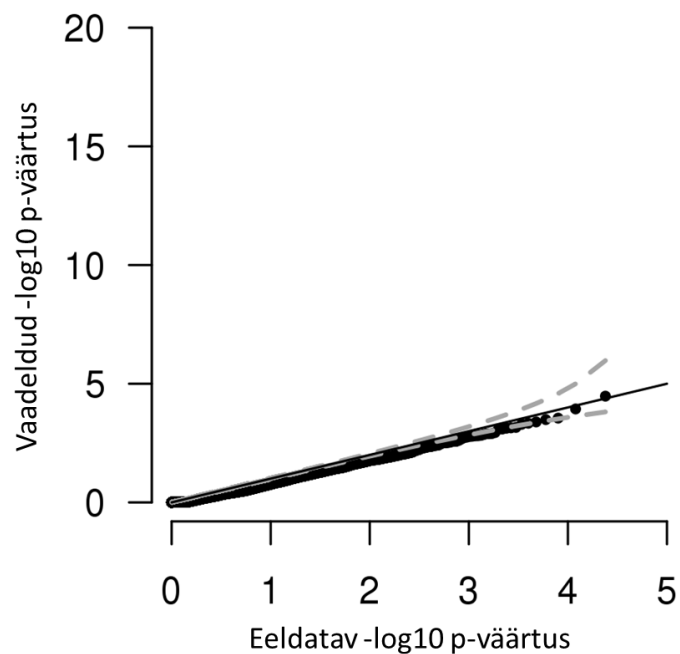
CODE	EXCLUDE
C01	Cardiac therapy
C03	Diuretics
D01	Antifungals for dermatological use
H02	Corticosteroids for systemic use
H03	Thyroid therapy
J01	Antibacterials for systemic use
J02A	Antimycotics for systemic use
L01	Antineoplastic agents
L02	Endocrine therapy
L03	Immunostimulants
L04	Immunosuppressants
M01	Antiinflammatory and antirheumatic products
N02A	Opioids
N03	Antiepileptics
N04	Anti-Parkinson drugs
N05	Psycholeptics
N06	Psychoanaleptics
N07	Other nervous system drugs
P01B	Antimalarials
R03	Drugs for obstructive airway diseases

<sup>8</sup> [http://www.whocc.no/atc\\_ddd\\_index/](http://www.whocc.no/atc_ddd_index/)

**Lisa 4.** GWAS-i eeldatud ja vaadeldud assotsiatsioonide p-väärtuste kvantiilide joonis. X-teljel on toodud eeldatav p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm ning Y-teljel vaadeldud p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm



**Lisa 5.** Harvade geneetiliste variantide (MAF < 1%) ühe-markeri põhise analüüsi eeldatud ja vaadeldud assotsiatsioonide p-väärtuste kvantiilide joonis. X-teljel on toodud eeldatav p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm ning Y-teljel vaadeldud p-väärtuste negatiivne kümnendlogaritm



## Lihlitsents lõputöö reprodutseerimiseks ja lõputöö üldsusele kättesaadavaks tegemiseks

Mina, Kadi Rosenthal

*(autori nimi)*

(sünnikuupäev: 08.11.1990)

1. annan Tartu Ülikoolile tasuta loa (lihlitsentsi) enda loodud teose

Ülegenoomne assotsiatsiooniuuring rasvumusega seotud sagedaste ja harvade geneetiliste variantide leidmiseks Eesti populatsioonis,

*(lõputöö pealkiri)*

mille juhendaja on Reedik Mägi,

*(juhendaja nimi)*

1.1.reprodutseerimiseks säilitamise ja üldsusele kättesaadavaks tegemise eesmärgil, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace-is lisamise eesmärgil kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;

1.2.üldsusele kättesaadavaks tegemiseks Tartu Ülikooli veebikeskkonna kaudu, sealhulgas digitaalarhiivi DSpace'i kaudu alates **26.05.2016** kuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni.

2. olen teadlik, et nimetatud õigused jäävad alles ka autorile.

3. kinnitan, et lihlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Tartus, 26.05.2015 *(kuupäev)*