

# Polimorfne varijante u genima kandidatima za pretilost (LEPR i GHRL) u trima populacijama Roma Hrvatske

---

Vidović, Anamaria

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:186416>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-25**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Anamaria Vidović

**Polimorfne varijante u genima kandidatima  
za pretilost (*LEPR* i *GHRL*) u trima  
populacijama Roma Hrvatske**

Diplomski rad

Zagreb, 2021

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Anamaria Vidović

**Polymorphic variants in candidate genes for  
obesity (*LEPR* i *GHRL*) in three Croatian  
Roma populations**

Master thesis

Zagreb, 2021

Ovaj rad izrađen je u Centru za primijenjenu bioantropologiju Instituta za antropologiju pod voditeljstvom dr.sc. Matee Zajc Petranović i suvoditeljstvom izv. prof. dr. sc. Ane Galov s Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Rad je predan na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistre edukacije biologije i kemije.

Zahvaljujem se mentorici dr. sc. Matei Zajc Petranović na iskazanom povjerenju, stručnom vodstvu, ogromnom strpljenju, nesebičnoj pomoći, uloženom vremenu i stručnim savjetima te diskusijama tijekom pisanja ovog rada. Zahvaljujem izv. prof. dr. sc. Ani Galov za stručne savjete, te uloženi trud i podršku. Zahvaljujem se svojim roditeljima, bratu, sestri, šogoru, nećakinji Maji i baki koji su me uvijek poticali i strpljivo bodrili na putu do stjecanja ovog predivnog zvanja. Ovaj rad posvećujem svome zaručniku Tomislavu koji je uvijek, strpljivo i uz mnogo ljubavi, bio uz mene na ovom, nimalo laganom putu, vjerovao u mene i moj uspjeh, čak i kada sam sama u to sumnjala.

Posebno se zahvaljujem svojoj najdražoj kolegici Martini Poslon na bezuslovnoj potpori i pomoći.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Diplomski rad

## Polimorfne varijante u genima kandidatima za pretilost (*LEPR* i *GHRL*) u trima populacijama Roma Hrvatske

Anamaria Vidović

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Pretilost je jedan od glavnih javnozdravstvenih problema današnjice jer pretile osobe imaju povećani rizik od razvoja brojnih teških kroničnih bolesti. Poznato je nekoliko monogenских mutacija povezanih s pretilosti, no kod najvećeg broja osoba pretilost ima kompleksnu podlogu. Leptinski receptor, kojeg kodira gen *LEPR*, veže na sebe hormon leptin koji signalizira osjećaj sitosti, a grelin je hormon koji potiče osjećaj gladi. U ovom radu analizirane su učestalosti alela i genotipova varijanti rs1805094 gena *LEPR* i rs35683 gena *GHRL* u trima populacijama Roma Hrvatske (n=440) te je ispitana njihova povezanost s antropometrijskim pokazateljima prekomjerne težine i pretilosti. Rome karakterizira visoka prevalencija pretilosti, a njihovu evolucijsku prošlost brojni učinci utemeljitelja i visok stupanj endogamije. Učestalosti genotipova i alela polimorfizma rs1805094 ne razlikuju se između triju romskih populacija, dok se učestalosti genotipova polimorfizma rs35683 značajno razlikuju; u odnosu na populacije Baranje i Zagreba, u Međimurju ima značajno više heterozigota. Pretilih osoba bilo je 28,08%; podjednako žena i muškaraca, dok je pothranjenih žena bilo 3x više nego pothranjenih muškaraca (6,6% vs. 1,9%). U odnosu na ostale regije i osobe istog spola, Romi iz Zagreba su češće pretili i imaju povećan opseg trbuha, a najmanje pretilih Romkinja ima u Međimurju. Nositelji genotipa CC polimorfizma rs35683 imaju najviše srednje vrijednosti indeksa tjelesne mase i nekih drugih antropometrijskih pokazatelja prekomjerne tjelesne težine. Polimorfizam rs1805094 nije pokazao povezanost s antropometrijskim obilježjima populacije Roma Hrvatske.

(54 stranice, 0 slika, 18 tablica, 105 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski )

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Ključne riječi: pretilost, antropometrija, gen za leptinski receptor, gen za grelin, polimorfizmi, populacija Roma

Voditelj: Dr. sc. Matea Zajc Petranović

Suvoditelj: Izv. prof. dr. sc. Ana Galov

Ocjenitelji:

Izv. prof. dr. sc. Ana Galov

Prof. dr. sc. Ines Radanović

Prof. dr. sc. Željka Soldin

Rad prihvaćen: 15. rujna 2021.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Master Thesis

### Polymorphic variants in candidate genes for obesity (*LEPR* i *GHRL*) in three Croatian Roma populations

Anamaria Vidović

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Obesity is one of the biggest public health problems today because obese people have an increased risk of developing a number of severe chronic diseases. Several monogenic mutations associated with obesity are known, but in most individuals obesity has a complex background. The leptin receptor, encoded by the *LEPR* gene, binds to the hormone leptin, which signals a feeling of satiety, and ghrelin is a hormone that stimulates the feeling of hunger. In this paper, the frequencies of alleles and genotypes of rs1805094 variants of the *LEPR* gene and rs35683 of the *GHRL* gene in three Roma populations in Croatia (n = 440) were analyzed and their association with anthropometric indicators of overweight and obesity was examined. The Roma population is characterized by a high prevalence of obesity, and their evolutionary past by several founding effects and a high degree of endogamy. The frequencies of genotypes and alleles of the rs1805094 polymorphism did not differ between the three Roma populations, while the frequencies of genotypes of the rs35683 polymorphism differed significantly; compared to the population of Baranja and Zagreb, there were significantly more heterozygotes in Međimurje. 28.08% of population was obese; women and men alike, while there were 3x more malnourished women than men (6.6% vs. 1.9%). Compared to other regions and people of the same sex, Roma from Zagreb were more often obese and more often had an increased abdominal circumference, and the least obese Roma women were in Međimurje. Carriers of the rs35683 CC genotype had the highest mean values of body mass index and some other anthropometric indicators of excess weight. The rs1805094 polymorphism did not show an association with anthropometric characteristics of the Croatian Roma population.

(54 pages, 0 figures, 18 tables, 105 references, original in: Croatian)

Thesis is deposited in the Central Biological Library.

Keywords: obesity, anthropometry, leptin receptor gene, ghrelin gene, polymorphisms, Roma population

Supervisor: Matea Zajc Petranović, PhD

Co-supervisor: Associate Professor Ana Galov

Reviewers:

Assoc. Prof. Ana Galov

Prof. Ines Radanović, PhD

Prof. Željka Soldin, PhD

Thesis accepted: 15<sup>th</sup> September 2021.

## Popis kratica

AMA – Američko medicinsko udruženje (engl. *American Medical Association*)

BD – gustoća tijela (engl. *Body density*)

BF – tjelesna masnoća (engl. *Body fat*)

*GHRL*- gen za grelin-obestatin prepropeptid (engl. *Ghrelin/Obestatin Prepropeptide gene*)

GWAS - asocijacijska studija širine genoma (engl. *Genome-wide association study*)

*IL6R* – gen za receptor interleukin 6 (engl. *Interleukin-6 receptor*)

ITM- indeks tjelesne mase (engl. *Body mass index, BMI*)

*LEPR*–gen za leptinski receptor (engl. *Leptin receptor gene*)

ns – oznaka da razlika nije statistički značajna (engl. *non-significant*)

p-vrijednost - statistička mjera u postupku provjeravanja hipoteze

SD – standardna devijacija

SDS – natrijev dodecil sulfat

SPSS- softverski paket za statističku analizu (akronim od engl. *Statistical Package for Social Sciences*)

SŽS – središnji živčani sustav

TSR- omjer kožnog nabora tricepsa i subskapularnog kožnog nabora, (engl. *Triceps/subscapular ratio*)

WC – opseg trbuha (engl. *Waist circumference*)

WHO – Svjetska zdravstvena organizacija (engl. *World Health Organization*)

WHR - omjer opsega struka i bokova, (engl. *Waist/hip ratio*)

WHtR – omjer opsega trbuha i visine (engl. *Waist-to-height ratio*)



# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1. Pretilost</b> .....	<b>1</b>
1.1.1. Štetne posljedice pretilosti .....	1
1.1.2. Hipoteza štedljivog genotipa.....	2
1.1.3. Genska podloga pretilosti .....	4
1.1.3.1. Leptinski mehanizam .....	6
1.1.3.2. Grelinski mehanizam.....	7
<b>1.2. Romi</b> .....	<b>8</b>
1.2.1. Obilježja populacije Roma.....	8
1.2.2. Migracije Roma.....	8
1.2.3. Romi u Hrvatskoj.....	9
1.2.4. Genetička istraživanja romske populacije u RH i svijetu.....	10
<b>2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA</b> .....	<b>12</b>
<b>3. MATERIJALI I METODE</b> .....	<b>13</b>
<b>3.1. Uzorak</b> .....	<b>13</b>
<b>3.2. Indeksi izračunati iz antropometrijskih mjerenja</b> .....	<b>14</b>
<b>3.3. Statistička obrada podataka</b> .....	<b>17</b>
<b>4. REZULTATI</b> .....	<b>18</b>
<b>4.1. Demografski opis ispitanika u istraživanju</b> .....	<b>18</b>
<b>4.2. Učestalosti alela i genotipova</b> .....	<b>19</b>
<b>4.3. Kvantitativna antropometrijska obilježja – originalna i izvedena</b> .....	<b>22</b>
<b>4.4. Kvalitativna antropometrijska obilježja – indeksi uhranjenosti</b> .....	<b>26</b>
<b>4.5. Analiza povezanosti polimorfizama gena <i>LEPR</i> i <i>GHRL</i> s antropometrijskim obilježjima</b> .....	<b>28</b>
<b>4.6. Z-vrijednosti originalnih antropometrijskih mjerenja</b> .....	<b>34</b>

<b>5. RASPRAVA.....</b>	<b>36</b>
<b>6. ZAKLJUČAK.....</b>	<b>39</b>
<b>7. LITERATURA.....</b>	<b>41</b>
<b>8. PRILOZI.....</b>	<b>49</b>
<b>8.1. Izolacija DNA iz pune krvi metodom isoljavanja (engl. salting-out).....</b>	<b>49</b>
8.1.1. Biološki materijal.....	49
8.1.2. Reagensi korišteni za isoljavanje DNA iz pune krvi.....	49
8.1.3. Pribor.....	51
8.1.4. Postupak izolacije DNA pomoću metode isoljavanja.....	51
<b>8.2. Genotipizacija uzoraka.....</b>	<b>52</b>
<b>8.3. Antropometrijska mjerenja.....</b>	<b>53</b>
<b>9. ŽIVOTOPIS.....</b>	<b>54</b>

# 1. UVOD

## 1.1. Pretilost

Pretilost ili gojaznost je prekomjerno nakupljanje masnog tkiva u tijelu živih bića, uzrokovano povećanjem volumena masnih stanica ili njihova ukupnog broja. Pretilost je postala jednom od glavnih javno zdravstvenih prijetnji u industrijski razvijenom svijetu; kako među odraslima, tako i među adolescentima i djecom. Uzroci prekomjernoj tjelesnoj masi mogu biti razni, a obično do pretilosti dolazi međudjelovanjem više različitih čimbenika: gena, prehrane, okoliša, psihičkog stanja pojedinca i socioekonomskog statusa. U razdoblju od 1980. do 2008. godine, prema podacima Svjetske zdravstvene organizacije, prevalencija pretilosti se udvostručila, a promatrajući od 1975. godine, prevalencija pretilosti se gotovo utrostručila (WHO, 2020.). Naime, 2008. godine, prema istraživanju WHO-a, bilo je više od pola milijarde pretilih osoba, dok je čak 1,4 milijarde odraslih osoba imalo prekomjernu tjelesnu masu. Nažalost, sve je veći broj i djece i mladih s prekomjernom tjelesnom masom, a glavnim se uzrocima smatraju ubrzan način života i suvremena prehrana (česta konzumacija nutritivno bezvrijednih, a energetske bogatih namirnica) te povećan broj sati provedenih pred računalima, mobitelima i videoigricama. Najnovije projekcije WHO-a procjenjuju da najmanje jedna od tri odrasle osobe u svijetu ima prekomjernu tjelesnu masu, a da je gotovo svaka deseta osoba pretiła.

### 1.1.1. Štetne posljedice pretilosti

Prekomjerna težina ili pretilost može štetno utjecati na zdravlje čovjeka. Prekomjerna količina masnog tkiva u organizmu može dovesti do pobola od ateroskleroze, kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa tipa 2, dislipidemije, mišićno-koštanih poremećaja poput osteoartritisa, a i nekih vrsta zloćudnih tumora kao što su rak endometrija, dojke i debelog crijeva (Bogers i sur., 2007., Guh i sur., 2009., Strazzulo i sur., 2010.). Navedena patološka stanja često postaju kronične bolesti koje mogu dovesti do invalidnosti ili čak do prerane smrti oboljelih, uzrokuju dugotrajnu patnju oboljelima kao i njihovim obiteljima. Osim toga, troškovi zdravstvenog sustava mogu biti izuzetno visoki. Američko medicinsko udruženje (AMA, akronim od American Medical Association) 2013. godine klasificiralo je pretilost kao bolest.

Dobra vijest je da se prekomjerna težina i pretilost uvelike mogu prevenirati (Blackburn, Walker, 2005.). Ključ uspjeha je u postizanju energetske ravnoteže između unesenih kalorija, s jedne strane, i potrošenih kalorija, s druge strane. Potrebno je povećati unos voća i povrća, žitarica, mahunarki, a smanjiti unos masti i šećera. Naravno, kako bi povećali potrošnju unesenih kalorija, ljudi trebaju povećati svoju razinu tjelesne aktivnosti. Preporuča se najmanje 30 minuta tjelesne aktivnosti dnevno, a za one koji vole šetnju, Svjetska zdravstvena organizacija preporučuje dnevno napraviti barem 10.000 koraka.

### **1.1.2. Hipoteza štedljivog genotipa**

Hipoteza štedljivog genotipa teorija je koju je James Neel predložio kako bi pokušao objasniti zašto su se patološka stanja poput dijabetesa tipa 2, kao i pretilosti, zadržala u populaciji iako su štetna te im se čak povećava prevalencija. Prema njegovoj teoriji, periodi gladi koji su se izmjenjivali s periodima obilja glavni su uzrok pozitivne selekcije danas nepoželjnih gena kroz evolucijsku prošlost. U razdoblju paleolitika ljudi su živjeli kao lovci-sakupljači. O njihovoj spretnosti i izradi oruđa (a često i o samoj sreći) ovisilo je hoće li pronaći i uhvatiti objed za taj dan (Cordain i sur., 1998.). Pretpostavlja se kako su osobe s većim zalihama glikogena ili masnog tkiva pohranjenog u tijelu tijekom razdoblja obilja imale i veću stopu preživljavanja u razdoblju gladi, kada je njihov organizam lakše preživjavao koristeći svoje zalihe. Neel je pretpostavio kako je za navedeno obilježje zaslužan gen kojeg je nazvao štedljivi gen (engl. thrifty gene) (Neel, 1962.).

Selektivna prednost poželjnog štedljivog gena u prošlosti smatra se glavnim uzročnikom visoke prevalencije pretilosti danas. Naime, danas ljudi, pogotovo u zapadnjačkim društvima, žive sjedilačkim načinom života, imaju dostupno obilje energetske bogate hrane (koja često nije hranjiva), a istovremeno smanjuju tjelesnu aktivnost, što sve zajedno dovodi do porasta broja pretilih osoba. Novija istraživanja pokazala su da je do pretilosti morao dovesti selektivan pritisak, no i kako je u razvoj pretilosti uključen veći broj gena, zbog čega je Neel preoblikovao svoju hipotezu 1989. godine.

Chakravarthy i Booth su nadopunili Neelovu hipotezu. U svojoj teoriji povezali su cikluse gladi i obilja s ciklusima odmora i tjelesne aktivnosti jer su smatrali kako štedljivi genotip ne obuhvaća samo genske varijante za učinkovito skladištenje i upotrebu energije, već i genske varijante povezane s tjelesnom spremnošću. Našim je precima u kasnom paleolitu (jer nema dokaza da je unazad zadnjih 10.000 godina bilo velikih promjena ljudskog genoma) bila

potrebna visoka razina tjelesne spremnosti, kao i dobro oruđe kako bi ulovili što više hrane te osigurali što više ciklusa obilja. Razdoblja obilja izmjenjivala su s razdobljima gladi zbog raznih čimbenika: razine tjelesne spremnosti, vremenskih uvjeta, kvalitete oruđa, sreće i uspješnosti u lovu. Fizički spremnije osobe imale su veću šansu za uspješnijim lovom, a samim time i veću šansu da prežive (Booth i Chakravarthy, 2004.).

Nijedna od navedenih hipoteza nije definitivno potvrđena te se o njima debatira i danas. Neki autori čak tvrde kako nemamo prave dokaze da su u prošlosti ljudi živjeli izmjenjujući periode gladi i obilja (Diamond, 1993.). S druge strane, postoje dokazi o tome kako su se ljudi počeli baviti poljoprivredom i pripitomljivati stoku baš zbog dugačkih perioda gladi i značajnog umiranja stanovništva zbog neuhranjenosti. Razvojem poljoprivrede došlo je do znatnog porasta broja stanovništva, ali su se i dalje povremeno javljali ciklusi gladi jer poljoprivreda nije bila uznapredovala; ljudi su poznavali svega nekoliko biljnih vrsta te kada bi njihov urod napali nametnici ili uništile vremenske nepravilnosti, oni bi ostali gladni (McCance, Fagan, 2000.). Međutim, navedeni periodi gladi bili su puno rjeđi u društvima koja su se bavila poljoprivredom nego li u dominantno lovačko-sakupljačkim zajednicama koje su prethodile poljoprivrednim društvima, pa je i smrtnost ipak bila manja (Speakman, 2008.).

Ono što je nedvojbeno je da je do porasta prevalencije pretilosti došlo tek unazad zadnjih 60-ak godina, kada način života i prehrane više nisu odgovarali štedljivim genskim varijantama koje su se raširile kroz evolucijsku povijest ljudske populacije. Neke od suvremenih populacija u kojima su pronađene genske varijante snažno povezane s pretilošću, što ide u prilog hipotezi o ulozi štedljivog genotipa u pretilosti ljudi, su otočne populacije Samoe i Američke Samoe te populacije Maora i Polinežana na Novom Zelandu (Minster i sur., 2016; Krishnan i sur., 2018.).

### 1.1.3. Genska podloga pretilosti

Učinci međudjelovanja čimbenika okoliša, genetske predispozicije i individualnog ponašanja na povećanje prekomjerne tjelesne mase posljednjih su desetljeća interes brojnih istraživanja. Interakcija gen-okoliš odnosi se na situaciju u kojoj je odgovor ili prilagodba na okolišni čimbenik, ponašanje ili promjena ponašanja, uvjetovana genotipom pojedinca (Bouchard, 2009.). Istraživanja su pokazala kako je osjetljivost na pretilost uvelike određena genetskim čimbenicima, ali da okolina potiče ekspresiju fenotipa. Primjerice, studija iz Japana pokazala je kako je varijanta u genu receptora za interleukin 6 (*IL6R*) kod mladih zdravih muškaraca značajno utjecala na povećanje rizika pojave abdominalne pretilosti, ali samo kod osoba koje su konzumirale energetski bogatiju hranu (Song i sur., 2007). Na temelju brojnih opažanja kako među ljudima postoji različita predispozicija za pojavu pretilosti, zaključeno je kako je pretilost kompleksno svojstvo na koje utječu genetički i okolišni čimbenici.

Prevalencija pretilosti dvostruko je veća u obiteljima pretilih pojedinaca nego li u općoj populaciji (Lee i sur., 1997). Promatrajući u jednoj studiji obiteljski rizik za pretilost između srodnika (roditelji-djeca, braća-sestre) i supružnika ispitanika, utvrđeno je kako su i jedni i drugi izloženi većem riziku za razvoj pretilosti (Katzmrzyk i sur., 1999), što je otežalo određivanje doprinosa zajedničkog okoliša od doprinosa genetičke predispozicije jer obitelji dijele oba čimbenika.

Istraživanja provedena na jednojajčanim blizancima koji su bili podvrgnuti strogo kontroliranim uvjetima prejedanja, kalorijske restrikcije i/ili intenzivnoj tjelesnoj aktivnosti pokazala su kako je promjena u tjelesnoj masi ispitanika bila veća između parova blizanaca, nego li unutar samog monozigotnog blizanačkog para, što je dovelo do zaključka kako je ipak značajnija nasljedna komponenta u reakciji na okolišne promjene jer jednojajčani, tj. monozigotni blizanci imaju 100% istih gena (Bouchard i sur., 1990., Bouchard i sur., 1994., Hainer i sur., 2000.).

Monogenska pretilost je poremećaj koji nastaje kao posljedica mutacije jednog gena. Prvi genski defekt koji uzrokuje monogensku pretilost opisan je 1997. godine. Danas poznajemo dvadesetak genskih defekata koje rezultiraju autosomalnim oblikom pretilosti (O'Rahilly, 2009.). Mutacije koje uzrokuju monogensku pretilost nalaze se u genima leptinsko-melanokortinskog puta koji ima ključnu ulogu u energetske homeostazi u tijelu čovjeka. Tu ubrajamo sljedeće gene: *LEP*, *LEPR*, *POMC*, *MC4R*, *PC1*, *NPY* i *SIMI* (Rankinen i sur., 2005., Bell i sur., 2005.). Najčešća monogenska pretilost vezana je uz mutacije u genu *MC4R*

koje se nasljeđuju dominantno (Mutch i Clement, 2006.). Pacijenti kod kojih je utvrđen potpuni nedostatak propiomelanokortina, homozigoti i heterozigoti za mutacije u genu *POMC*, podvrgnuti su tromjesečnoj terapiji MC4R (melanokortin receptor 4) agonistom s ciljem poticanja fiziološke aktivnosti receptora, ali navedena studija nije bila uspješna u smanjenju unosa hrane i tjelesne mase ispitanika (Lee i sur., 2006., Biebermann i sur., 2006.).

Prva istraživanja genske podloge složene pretilosti bile su asocijacijske studije u kojima su se uspoređivale učestalosti alela između pojedinaca koji nose određeno svojstvo i kontrolne skupine, ali su ovakve studije često imale malen broj ispitanika što je bio velik nedostatak (Rankinen i sur., 2005., Ioannidis i sur., 2001., Herrera i Lindgren, 2010.). Napredak tehnologije omogućio je povećanje broja ispitanika i otkrivanje novih lokusa pomoću mikrosatelitnih biljega (Oksanen i sur., 1997.). Asocijacijskim studijama kandidatskih gena i studijama vezanosti gena otkriveni su mnogi uzroci monogenih ili sindromskih oblika pretilosti (Rakinen i sur., 2005.).

Daljnijim razvojem tehnologije omogućeno je genotipiziranje humanog genoma. GWAS (engl. *Genome-Wide Association Studies*) studije obuhvaćaju istovremene analize velikog broja polimorfizama jedne baze zahvaljujući činjenici da se genetički biljezi nasljeđuju u blokovima, stoga više nije bilo potrebno genotipizirati svaki biljeg zasebno, već je biljeg nosio informaciju i o biljezima koji se nalaze u blizini (International HapMap Consortium, 2005.). GWAS studija u kojoj je otkriven prvi lokus vezan uz pretilost bila je studija koja je za cilj imala otkriti gensku podlogu dijabetesa tipa 2, pri čemu su uspoređene genske varijacije 1924 ispitanika s dijabetesom tipa 2 s genskim varijacijama 2938 kontrolnih ispitanika (Frayling i sur., 2007.). Prvotno je polimorfizam u *FTO* genu (engl. *fat mass and obesity-associated*) pokazao snažnu povezanost s dijabetesom tipa 2, ali poravnanjem fenotipa s indeksom tjelesne mase povezanost je nestala, što je dovelo do zaključka kako je dijabetes tipa 2 s polimorfizmom povezan preko pretilosti, a to je potvrđeno s drugim replikacijskim studijama. Studijama koje su slijedile otkriveni su mnogi lokusi povezani s pretilošću u raznim genima: *FTO*, *MCR4*, *TMEM18*, *GNPDA2*, *SH2B1*, *MTCH2*, *KCTD15*, *NEGR1*, *ETV5*, *BDNF* i *SEC16B* (Willer i sur., 2009., Thorleifsson i sur., 2009.). No nisu sve studije pokazale povezanost; meta-analiza 37 studija koja je obuhvatila 31.000 ispitanika iz više od 10.000 obitelji nije pronašla nijedan lokus koji bi bio snažno povezan s indeksom tjelesne mase ili pretilošću (Saunders i sur., 2007.).

### 1.1.3.1. Leptinski mehanizam

Leptin je hormon sitosti kojeg luče adipocitne stanice, a koji regulira razinu masti pohranjene u organizmu. Što je veći unos masti, adipocitne stanice luče više leptina. Stanje sitosti postiže se kada razina pohranjenih masti dosegne kritične vrijednosti, nakon čega dolazi do inhibicije osjećaja gladi.

Leptin kontrolira osjećaj gladi i usklađuje ga s trenutnom energetsom potrošnjom. Postizanjem stanja sitosti, leptin ulazi u cirkulaciju i krvlju putuje do receptora u stanicama hipotalamusa te ih aktivira slanjem signala čime započinje rast potrošnje energije. Također, leptin može izravno doći do receptora u perifernim tkivima gdje uzrokuje porast utroška energije (Kelesidis i sur., 2010.). Osim adipocitnih, leptin proizvode i mnoge druge stanice (smeđeg masnog tkiva, jajnika, jetre, hipofize, mišića, koštane srži, želuca).

Leptin se veže na specifične proteine leptinskog receptora – *LEPR* te eksprimira u mozgu na neuronima hipotalamusa i u perifernim tkivima. Alternativnim prekrajanjem *LEPR* gena nastaje šest izoformi proteina *LEPR*. Kratki oblik *LEPR* proteina, *LEPRa*, zaslužan je za transport leptina preko krvno moždane barijere, a dugački oblik *LEPR* proteina, *LEPRb*, je posrednik u provođenju signala. Spajanjem leptina na *LEPRb* protein aktiviraju se različiti putevi prijenosa signala. Nadalje, otpornost na djelovanje leptina predložena je kao patofiziološki mehanizam pretilosti (Myers i sur., 2008.). Kod pretilih osoba smanjena je ekspresija kratkog oblika *LEPR* proteina, *LEPRa*, te je moguće da su pretile osobe zbog toga „otporne“ na leptinske signale.

*LEPR* ili *ObR* je gen s kojeg se prepisuje uputa za sintezu leptinskog receptora. Gen koji kodira za leptinski receptor (*LEPR*) nalazi se na kraćem kraku kromosoma 1 (1p31.3), dugačak je 220.908 baza, a kodira protein od 1.165 aminokiselina. Leptinski receptori nalaze se na površini mnogih organa i tkiva, primjerice na hipotalamusu gdje aktivno vežu leptin i uzrokuju niz kemijskih signala čime inhibiraju osjećaj gladi, a ekspimiraju osjećaj sitosti. Postoji čak sedam mutacija gena *LEPR* koji uzrokuju deficijenciju leptinskog receptora što uzrokuje izražen osjećaj gladi, a samim time i pretilost, kao što je npr. *LEPR* polimorfizam rs1805094 (Yang, 2018.). Takvi receptori mogu vezati leptin na sebe, ali pritom ne odašilju potrebne signale mozgu (Farooqi i sur., 2007.).

*LEP* ili *OB* (engl. *obese*) gen daje uputu za sintezu hormona leptina, proteina mase 16 kDa. Nalazi se na dužem kraku kromosoma 7 (7q31.33) (prema *100.000 Genomes Project*, 2012.). Friedman Jeffrey otkrio je i izolirao leptin iz jedinke miša 1994. godine. Homozigotna



mutacija kod ob/ob miševa uzrokuje deficijenciju leptina, a time i tešku pretilost i dijabetes tipa 2, što bi odgovaralo morbidnoj pretilosti kod ljudi. Isto istraživanje je pokazalo kako ob gen ne postoji u ljudskom genomu (Zhang i sur., 1994.). No, ako kod ljudi postoji npr. homozigotna varijanta CC SNP polimorfizma rs1805094\*G/C gena *LEP* (Saad i sur., 2020), pojavit će se problem u primitku signala i slanju informacije o energetske zalihama u mozak zbog nemogućnosti povezivanja s receptorom za leptin ili smanjenja transporta leptina preko krvno -moždane barijere (Gruzdeva i sur., 2019). Tada mozak samostalno procjenjuje i stalno stvara osjećaj gladi što za posljedicu stvara pretilost. Izostankom sinteze leptina ili prijenosa leptinskog signala do hipotalamusa tijekom hranjenja uvijek ćemo osjećati stanje gladi. Otpornost na leptin nije detaljno istražena.

Tijekom dana mijenjaju se razine koncentracije leptina (Licinio i sur., 1997.), zbog toga što njegova razina ovisi o količini pohranjene energije u mastima te unosu kalorija. Često ga upravo iz tog razloga nazivaju cirkulirajućim leptinom. Naime, slobodno ili vezan na proteine, leptin cirkulira eksponencijalno s količinom masti pa ga je noću općenito više jer noću ne jedemo, odnosno, ne unosimo nove količine energije već oslobađamo leptin koji povećava potrošnju energije te izaziva osjećaj gladi.

#### **1.1.3.1. Grelinski mehanizam**

Gen koji kodira za grelin (*GHRL*) nalazi se na kraćem kraku kromosoma 3 (3p25.3), dugačak je 7.282 baze, a kodira preproprotein grelin od 117 aminokiselina; 23 aminokiseline koje čine signalni peptid i segment od 94 aminokiseline koje čine progrelin. Progrelin se sastoji od peptidnog dijela koji čini 28 aminokiselina i 66-aminokiselinskog karboksi terminalnog peptida nazvanog C-grelin iz kojeg kasnije nastaje obestatin (Delporte, 2013.). Protein grelin djeluje antagonistički u odnosu na leptin. Grelin se izlučuje u brojnim tkivima, ali glavni izvor cirkulirajućeg grelina je sluznica želuca (Garcia i sur., 2009.). Neuropeptid je koji djeluje u središnjem živčanom sustavu (SŽS). Regulira osjećaj gladi i energetske potrošnju pomoću receptora na hipotalamusu. Ukoliko je koncentracija hranjivih tvari, odnosno, nutrijenata niska i volumen želuca je smanjen, počinje pojačano lučenje grelina i obrnuto. Osim poticanja osjećaja gladi, grelin potiče i lučenje želučane kiseline te ubrzava probavni trakt kako bi organizam što prije bio spreman za unos nove hrane. Grelin, uz druge hormone, sudjeluje u kompleksnom procesu održavanja energetske homeostaze organizma (Bouret i sur., 2004.).

Postoji čak sedam mutacija gena *GHRL* koje uzrokuju pojačano lučenje grelina te samim time posljedično pojačavaju osjećaj gladi. Ako postoji homozigotna varijanta CC SNP polimorfizma rs35683\*A/C gena *GHRL*, pojavit će se problem u primitku signala i prijenosa informacija o energetskim zalihama u SŽS, što će dovesti do nekontroliranog prejedanja, odnosno dugoročno do pretilosti (Campa i sur., 2010.).

## **1.2. Romi**

### **1.2.1. Obilježja populacije Roma**

Romi su transnacionalna, manjinska populacija indijskog porijekla koja je rasprostranjena po cijelome svijetu. Broje oko 15 milijuna članova, a najveći broj, čak 12 milijuna, živi na području Europe. Zajedničko porijeklo ono je što povezuje sve članove romske populacije, kao i poseban jezik, te vrlo rijetko miješanje s većinskim stanovništvom na području koje su naselili, tj. visok stupanj endogamije. Specifični su i poznati po sakupljanju metala i raznih drugih stvari koje potom obnavljaju i preprodaju na sajmovima koje sami organiziraju (Dragun, 2000.).

### **1.2.2. Migracije Roma**

Preci Roma živjeli su u Indiji oko rijeke Ganges te su negdje u razdoblju između 500. i 1000. godine, najvjerojatnije zbog stalnih sukoba i ratovanja s Tatarima, Mongolima i Hunima, u više migracijskih valova krenuli u potragu za boljim životom (Mendizabal i sur., 2012.). Pretpostavlja se da su preko planinskog masiva Hindukuš (danas se proteže kroz sjeveroistočni Afganistan i sjeverozapadni Pakistan) i južnog Kavkaza došli do Bizantskog Carstva, a potom, nastavljajući bježanje pred tada brojnim turskim osvajanjima, stigli u Europu. Postoje bilješke da su u 11. stoljeću stigli na Balkan, a u 14. i 15. stoljeću u Istočnu i Zapadnu Europu. Romi u Europi baš i nisu bili prihvaćeni; susreli su se s nizom ponižavajućih zakona, brojnim diskriminacijama te zabranama. Štoviše, u tadašnjoj Wallachiji, sjeverno od rijeke Dunav (prostor današnje Rumunjske), neki od njih su bili zarobljeni i više stoljeća prisiljavani da kao robovi rade u rudnicima. Vrhunac višestoljetne netrpeljivosti prema populaciji Roma odvio se tijekom Drugog svjetskog rata kada je nad njima izvršen genocid (romski *Porajmos*, što znači proždiranje). Ipak, posljednjih nekoliko

desetljeća na području Europske unije se aktivno radi na njihovoj integraciji u društvo, ali ona slabo napreduje. Višestoljetna netrpeljivost romskog i većinskog stanovništva, kao i otpor Roma da se integriraju prema standardima većinske populacije, doveli su do toga da su i danas Romi isključeni iz društva; siromašni i neobrazovani pa ne mogu pronaći posao, a njihova djeca često ne završavaju ni osnovnu školu jer roditelji nisu u mogućnosti priuštiti im školovanje ili pomoći pri učenju kad ni oni sami nisu obrazovani (Roma Health and Early Childhood Development Study, 2018.).

Romi su idealna etnička skupina za molekularno antropološka istraživanja jer se kod njih vjenčanja većinom odvijaju samo između pripadnika romske populacije, čime ne dolazi do miješanja gena s drugim narodima (visok stupanj endogamije), što povećava šansu uspješne detekcije genetičke podloge raznih ciljanih fenotipova. Donekle se prilagođavaju sredini koju su naselili prihvaćanjem elemenata kulture starosjedioca, ali i dalje iznimno cijene svoju tradiciju, običaje te usmenu književnost i tradicionalnu glazbu (Zajc i sur., 2006.).

### **1.2.3. Romi u Hrvatskoj**

Pretpostavlja se kako su se Romi u Hrvatskoj pojavili na prijelazu između 14. i 15. stoljeća. Prvi spisi o Romima u Hrvatskoj datiraju iz 1362. godine iz Dubrovnika, te iz 1373. godine iz Zagreba, a u kojima se hvale njihove vještine (Hrvatić, Ivančić, 2000.). Romi su u Hrvatskoj jedna od dvadeset i dvije nacionalne manjine. Popis stanovništva iz 2011. godine navodi kako u Hrvatskoj živi 16.975 Roma, najviše u Međimurju. Međutim, velik broj Roma živi i na području Zagreba i Baranje. Prema vjeroispovijesti većinom su katolici.

Ured za ljudska prava i prava nacionalnih manjina Vlade Republike Hrvatske (<https://ljudskaprava.gov.hr/ostvarivanje-prava-romske-nacionalne-manjine/584>) smatra kako je Roma u Hrvatskoj barem trostruko više nego li navode službeni podaci. Razlog zašto se prilikom popisivanja stanovništva ne deklariraju kao Romi mogao bi biti njihov strah od stigmatizacije, progona i općenito nepovjerenje prema državnim službama, a takva je etnomimikrija Roma uočena i u drugim državama (Prieto-Flores, 2009.).

Dio potomaka Roma koji su stigli u 11. stoljeću u istočnu Europu, na područje Balkana i ondje se zadržali i danas, smjestio se na području današnjeg Zagreba; oni govore jezikom Romani Chib i nazivamo ih Balkanskim Romima ili Čibašima. Drugi dio migracijske skupine krenuo je s Balkana u 14. stoljeću putem sjevera prema tadašnjoj Vlaškoj i Moldaviji,

današnjoj Rumunjskoj, gdje su bili zarobljeni i prisiljeni da rade u rudnicima. Njihovo ropstvo trajalo je sve do sredine 19. stoljeća, do ukidanja robovlasništva u Rumunjskoj, nakon čega su krenuli dalje. Višestoljetno sužanjstvo dovelo je do toga da potomci zarobljenih Roma govore starorumunjskim jezikom, l'jimb d'bjaš, te su prozvani Vlaškim Romima ili Romima Bajašima. U Republici Hrvatskoj nalazimo ih na području Baranje i Međimurja.

Vlaški su Romi zbog višestoljetnog ropstva bili još isključeniji, odnosno, izoliraniji od okolnog stanovništva od Balkanskih Roma. Naime, Romi Bajaši zbog ropstva su se ženili samo međusobno što nam sugerira da su kod njih rjeđe rekombinacije, a da je češće srođivanje (engl. *inbreeding*) i veći genetički drift. Kod Čibaša pak očekujemo veću učestalost rekombinacije i veće međusobne razlike s obzirom da su bili slobodniji i imali prilike sklapati brakove i s neromskim stanovništvom (Škarić-Jurić i sur., 2007.).

#### **1.2.4. Genetička istraživanja romske populacije u RH i svijetu**

Romska je populacija interesantna za istraživanja zbog svojih karakteristika, odnosno, izoliranosti od okolnih naroda čime čuvaju svoju tradiciju i zalihu gena. Inicijalna su molekularno antropološka istraživanja, kako u svijetu, tako i u Hrvatskoj, išla u smjeru otkrivanja porijekla Roma temeljem uniparentalnih markera (mtDNA i Y kromosom), a kasnije s ciljem detekcije genetske podloge rijetkih bolesti prisutnih kod Roma, kao i kompleksnih svojstava i bolesti.

Romske populacije na Balkanu imaju indijske korijene; istraživanja provedena nad 14 endogamnih romskih skupina potvrdila su prisutnost haplogrupe H1a-M82 kromosoma Y karakteristične za područje južne Azije, koja se u ukupnom uzorku javlja s učestalošću 44,8%, kao i prisutnost haplogrupe M mitohondrijske DNA, koja se javlja s učestalošću 26,5% (Gresham i sur., 2001.). Kod Roma u Hrvatskoj su također potvrđeni indijski korijeni, na uzorku Roma Bajaša iz Baranje i Međimurja, na temelju visoke zastupljenosti haplogrupa X2 i U3 mitohondrijske DNA (Peričić Salihović i sur., 2011.). Nadalje, uspoređujući dvije očinske linije Roma Bajaša uočeno je kako je najzastupljeniji bio haplotip H1a kromosoma Y, za kojeg je utvrđeno da ga romske populacije dijele s „neromskim“ indijskim populacijama. Osim ovog haplotipa, idući najzastupljeniji je bio haplotip E1b1b1a-M78 koji potječe iz Roga Afrike (Martinović Klarić i sur., 2009.).

Istraživanja su pokazala i da visok stupanj srođivanja, osim prednosti očuvanja tradicije i homogenosti zajednice, nosi i negativne posljedice poput mutacija koje uzrokuju rijetke monogenske bolesti. Među najčešće monogenske bolesti kod Roma spadaju nasljedna senzorno-motorna neuropatija – tip Lom (HMSNL), specifična samo za Rome, GM1 gangliozidoza češća kod izoliranih Roma Rudara i mišićna distrofija zdjelice – tip 2C (LGMD2C). U uzorku Roma iz Hrvatske nađeni su nosioci za nasljednu senzorno-motornu neuropatiju – tip Lom (konkretno Romi s područja Baranje), dok nosioci za preostale dvije navedene bolesti nisu pronađeni (Barešić i sur., 2014.).

U Republici Hrvatskoj kod romske su populacije istraživani i sljedeći farmakogeni; gen *CYP2B6* (Tomas i sur., 2017.), gen *CYP2C19* (Zajc Petranović i sur., 2018.) i gen *ABCB1* (Zajc Petranović i sur., 2019.). Rezultati su pokazali razlike u učestalosti nekih od istraživanih alela između romske populacije Hrvatske i ostalih populacija s kojima su uspoređivani (1000 Genomes populacije i populacija Republike Hrvatske). Također, analiza 95 klinički relevantnih farmakogenomičkih markera odgovornih za metabolizam lijekova i štetne reakcije, napravljena usporedbom hrvatskih Roma i 20 populacija s popisa 1000 Genomes, pokazala je da su Romi genetički različiti od ostalih populacija s kojima su bili uspoređeni (Škarić-Jurić i sur., 2018.).

## 2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA

Cilj ovog istraživanja je utvrditi učestalosti alela i genotipova SNP varijante rs1805094 gena za leptinski receptor (*LEPR*) i SNP varijante rs35683 gena za grelin (*GHRL*) u trima populacijama Roma Hrvatske (s područja Baranje, Zagreba i Međimurja), nakon čega će se ispitati njihova povezanost s antropometrijskim pokazateljima prekomjerne težine i pretilosti.

Glavni cilj će se postići kroz sljedeće manje ciljeve:

- utvrditi učestalosti genotipova i alela varijante rs1805094 gena za leptinski receptor (*LEPR*) i varijante rs35683 gena za grelin (*GHRL*) u trima populacijama Roma Hrvatske;
- izračunati indeks tjelesne mase (ITM) ispitanika te podijeliti ispitanike u kategorije prema stupnju uhranjenosti; pothranjeni ( $ITM < 18,5 \text{ kg/m}^2$ ), normalno uhranjeni ( $ITM 18,5-25 \text{ kg/m}^2$ ), prekomjerno teški ( $ITM \geq 25 \text{ kg/m}^2$ ) i pretili ( $ITM \geq 30 \text{ kg/m}^2$ ). Podijeliti ispitanike u spolno specifične kategorije opsega struka prema graničnim vrijednostima za abnormalni metabolizam.
- utvrditi jesu li analizirane polimorfne varijante gena *LEPR* i *GHRL* povezane s pokazateljima prekomjerne tjelesne težine i pretilošću u populaciji Roma Hrvatske.

### 3. MATERIJALI I METODE

#### 3.1. Uzorak

Istraživanje je provedeno nad dobrovoljnom skupinom koja je obuhvaćala 472 ispitanika oba spola, pripadnika populacije Roma s područja Baranje, Međimurja i Zagreba. U sklopu projekata „Kompleksna obilježja i zdravlje stanovništva od djetinjstva do duboke starosti“ (MZOS br. 196-1962766-2747, voditeljica prof.dr.sc. Nina Smolej Narančić) i „Molekularno-genetička obilježja populacija utemeljitelja – Romi kao model“ (MZOS br. 196-1962766-2763, voditeljica prof.dr.sc. Branka Jančićević) provedena su terenska istraživanja 2005. i 2006. godine na području Baranje i Međimurja. Nekoliko godina kasnije, 2012. godine provedeno je istraživanje u Zagrebu projektom dobrotvorne zaklade *Nutricia Research Foundation* pod nazivom „Debljina kod hrvatskih Roma: interakcija gena leptinskog sustava i biomarkera prehrambenog statusa u različitom okružju“ (voditeljica prof.dr.sc. Tatjana Škarić-Jurić) čime su sakupljeni svi podaci korišteni u ovom radu. Navedena istraživanja obuhvaćala su ispunjavanje upitnika, antropometrijska mjerenja, ultrazvučnu denzitometriju i davanje krvi (bioloških uzoraka) za biokemijske analize i izolaciju DNA za molekularno antropološke analize, a koja su vršili djelatnici Instituta za antropologiju u suradnji s Uredom za nacionalne manjine Vlade Republike Hrvatske, Hrvatskim zavodom za javno zdravstvo te uz pomoć članova udruge „Romi za Rome“. Istraživanja su dobila etičku suglasnost Etičkog povjerenstva Instituta za antropologiju.

Ispitanici iz Zagreba nazivaju se još i Balkanskim Romima. U Rome Bajaše, odnosno Vlaške Rome ubrajamo ispitanike s područja Baranje i Međimurja pa se u radu za njih koristi naziv „Baranja“, odnosno „Međimurje“ ovisno o području na kojem naši ispitanici obitavaju.

### 3.2. Indeksi izračunati iz antropometrijskih mjerenja

Iz izmjerenih antropometrijskih vrijednosti izračunata su četiri indeksa; ITM - indeks tjelesne mase (engl. *body mass index*, BMI), omjer opseg trbuha/bokovi (engl. *waist/hip ratio*, WHR), omjer opseg trbuha/visina (engl. *waist/ height ratio*, WHtR) i omjer kožnog nabora tricepsa i subskapularnog kožnog nabora (engl. *triceps/subscapular ratio*, TSR), koji se koriste pri procjeni stupnja uhranjenosti te procjeni distribucije masnog tkiva u tijelu (centralno ili periferno).

Indeks tjelesne mase (ITM) je kategorija pomoću koje se procjenjuje stanje uhranjenosti. To je varijabla koja se dobije kao rezultat omjera mase u kilogramima i kvadrata visine u metrima.

Formula za izračun indeksa tjelesne mase:

$$\text{indeks tjelesne mase (ITM)} = \frac{\text{masa}}{\text{visina}^2} \left[ \frac{\text{kg}}{\text{m}^2} \right]$$

Tablica 1. Kategorizacija razreda uhranjenosti na temelju vrijednosti indeksa tjelesne mase (ITM) prema preporukama Svjetske Zdravstvene Organizacije (WHO Tech Rep Ser, 1995.).

Razred uhranjenosti	Raspon indeksa ITM (kg/m <sup>2</sup> )
pothranjenost	<18,50
normalna tjelesna masa	18,50-24,99
prekomjerna tjelesna masa	25,00-29,99
pretilost	≥30,00

Omjer opsega trbuha i bokova (WHR) koristi se za procjenu raspodjele masnog tkiva u tijelu. Brojne kardiovaskularne bolesti razvijaju se kao posljedica centralne raspodjele masnog tkiva. Prema Svjetskoj Zdravstvenoj Organizaciji (WHO, 1999.), granična vrijednost za WHR omjer kod žena iznad koje se javlja prekomjerna abdominalna tjelesna masa tj. pretilost je 0,85, a kod muškaraca 0,90.

Omjer opseg trbuha/visina tijela (WHtR) računa se kao omjer opsega trbuha i visine tijela, pri čemu treba voditi računa da obje mjere budu u istoj mjernoj jedinici. Dobiveni omjer koristi se za procjenu rizika za razvoj kardiovaskularnih bolesti (Choi i sur., 2018.), dijabetesa te hipertenzije kod oba spola (Ashwell i sur., 2011.). Prema Svjetskoj Zdravstvenoj Organizaciji (WHO, 1999.), granična vrijednosti za WHtR omjer kod oba spola je 0,50.



Formula za izračun navedenog omjera:

$$\text{WHtR} = \frac{\text{opseg trbuha}}{\text{visina}}$$

Još jedan pokazatelj tjelesne raspodjele masnog tkiva je omjer kožnog nabora tricepsa i subskapularnog kožnog nabora. Za ovaj omjer nema definiranih graničnih vrijednosti, no rezultati brojnih studija upućuju na to da veće vrijednosti ukazuju na perifernu raspodjelu masnog tkiva u tijelu, dok niže vrijednosti ukazuju na centralnu raspodjelu masnog tkiva.

Formula za izračun navedenog omjera:

$$\text{TSR} = \frac{\text{kožni nabor tricepsa}}{\text{subskapularni kožni nabor}}$$

Osim navedenih indeksa, često se kao indikator prekomjerne mase koristi i opseg trbuha, WC (od engl. *waist circumference*), ukoliko mu izmjerena vrijednost kod žena premašuje 88 cm, a kod muškaraca 102 cm (IDF – International Diabetes Federation, 2006.).

Gustoća tijela (engl. *body density*, BD) računa se pomoću antropometrijskih mjera i indeksa, a postoji nekoliko različitih jednadžbi na temelju kojih se može odrediti. Formule koje su korištene za određivanje gustoće tijela u ovom istraživanju uveli su Lean i suradnici (1996.), to su formule BD4 i BD5. Odlučili smo primijeniti obje formule kako bismo provjerili razlikuju li se dobivene vrijednosti ovisno o tome uvrstimo li u njih vrijednost ITM-a ili vrijednost opsega trbuha ispitanika.

BD4 (za muškarce) = 1,1554 - (0,000761 x opseg trbuha) - (0,00170 x kožni nabor tricepsa) – (0,000532 x dob)

BD4 (za žene) = 1,1062 - (0,000482 x opseg trbuha) - (0,00140 x kožni nabor tricepsa) – (0,000453 x dob)

BD5 (za muškarce) = 1,1414 – (0,00160 x ITM) – (0,00213 x kožni nabor tricepsa) – (0,000747 x dob)

$$\text{BD5 (za žene)} = 1,1039 - (0,00148 \times \text{ITM}) - (0,00122 \times \text{kožni nabor tricepsa}) - (0,000505 \times \text{dob})$$

Tjelesna masnoća (engl. *body fat*, BF) preciznija je mjera za određivanje pretilosti u odnosu na indeks tjelesne mase. Određivanje udjela tjelesne masnoće može se izračunati pomoću različitih formula, a većinom ovisi o dobi, opsegu trbuha i kožnim naborima. Izražava se u postotku (%). Formule korištene za izračun udjela tjelesne masnoće u ovom istraživanju su također uveli Lean i suradnici (1996.), a radi se o formulama BF4 i BF5:

$$\text{BF4\% (za muškarce)} = (0,353 \times \text{opseg trbuha}) + (0,756 \times \text{kožni nabor tricepsa}) + (0,235 \times \text{dob}) - 26,4$$

$$\text{BF4\% (za žene)} = (0,232 \times \text{opseg trbuha}) + (0,657 \times \text{kožni nabor tricepsa}) + (0,215 \times \text{dob}) - 5,5$$

$$\text{BF5\% (za muškarce)} = (0,742 \times \text{ITM}) + (0,950 \times \text{kožni nabor tricepsa}) + (0,335 \times \text{dob}) - 20,0$$

$$\text{BF5\% (za žene)} = (0,730 \times \text{ITM}) + (0,548 \times \text{kožni nabor tricepsa}) + (0,270 \times \text{dob}) - 5,9$$

### 3.3. Statistička obrada podataka

U okviru ovog rada provedeno je nekoliko statističkih postupaka; prvo su zasebno analizirani rezultati genotipizacije i zasebno rezultati antropometrijskih mjerenja, nakon čega je ispitana povezanost analiziranih regija i/ili polimorfizama i antropometrijski mjerenih i izračunatih varijabli.

Karakteristike kvantitativnih antropometrijskih varijabli prikazane su deskriptivno-statistički, a razlike između srednjih vrijednosti kod muškaraca i žena testirane su Studentovim t-testom (razina značajnosti  $<0,05$ ). Povezanost genotipova s kategorijskim varijablama (ITM, WHR, WHtR i WC) ispitana je Pearsonovim Chi-kvadrat testom, a povezanost s kvantitativnim vrijednostima izmjerenih antropometrijskih varijabli ili izvedenih indeksa, ispitana je analizom varijance (One-way ANOVA) uz PostHoc test, kako bismo razlučili odnose svih uspoređenih parova zasebno.

Da bi se u analizama mogle koristiti informacije ukupnog uzorka, a da se pri tome isključi utjecaj spolnih razlika koje su bile prisutne u gotovo svim analiziranim kvantitativnim varijablama, napravljeno je poravnavanje po spolu. To je napravljeno tako da je vrijednost svake izmjerene kvantitativne varijable transformirana u z-vrijednost unutar svakog spola zasebno, nakon čega su rezultati oba spola združeni i formirana je tzv. „z-varijabla“ koja pozicionira mjerenu varijablu u jedinicama standardne devijacije. Prikazani način omogućio nam je testiranje povezanosti svake antropometrijske varijable s genotipom bez utjecaja spolnih razlika. U istraživanju je korišten statistički program SPSS 25.0.

## 4. REZULTATI

S ciljem analiziranja povezanosti polimorfizma rs1805094 gena *LEPR* i polimorfizma rs35683 gena *GHRL* s antropometrijskim karakteristikama 472 osobe romskog porijekla, od kojih su 253 bile žene (53,6%) i 219 je bilo muškaraca (46,4%), određene su učestalosti analiziranih genotipova i alela, izvršena su antropometrijska mjerenja ispitanika te su antropometrijske i genetičke varijable međusobno analizirane. Antropometrijska mjerenja obuhvatila su originalne kvantitativne varijable poput tjelesne visine, tjelesne mase, opsega nadlaktice, opsega trbuha, opsega bokova, kožnog nabora tricepsa i subskapularnog kožnog nabora, korištenjem kojih su zatim izračunati indeksi poput indeksa tjelesne mase, omjera opsega trbuha i opsega bokova, omjera opsega trbuha i tjelesne visine te omjera kožnog nabora tricepsa i subskapularnog kožnog nabora. U uzorku se nalazilo devet (9) žena trudnica koje smo isključili iz pojedinih analiza antropometrijskih mjerenja (analize tjelesne mase, opsega trbuha, opsega bokova, opsega nadlaktice, kožnog nabora tricepsa i subskapularnog kožnog nabora) te svih indeksa uhranjenosti kako tjelesne promjene povezane s njihovom trudnoćom ne bi utjecale na rezultate istraživanja.

### 4.1. Demografski opis ispitanika u istraživanju

Udio ženskih i muških ispitanika nije se statistički značajno razlikovao između tri analizirane romske skupine ( $\chi^2=3,237$ ,  $p=ns$ ).

Tablica 2.1. Brojnost Roma i Romkinja prema spolu u trima analiziranim skupinama.

Regija	Spol, N (%)		Oba spola ukupno
	muškarci	žene	
Baranja	73 (51,4)	69 (48,6)	142 (100,0)
Međimurje	54 (40,6)	79 (59,4)	133 (100,0)
Zagreb	92 (46,7)	105 (53,3)	197 (100,0)
Sve regije	219 (46,4)	253 (53,6)	472 (100,0)

Najmlađi ispitanik u uzorku imao je 18 godina, a najstariji 72 godine. Srednja vrijednost dobi svih ispitanika iznosila je 39,84 ( $\pm 13,37$ ) godina, a srednja vrijednost dobi s obzirom na regiju iz koje dolaze i odvojeno za svaki spol prikazana je u Tablici 2.2. Analiza je pokazala statistički značajne razlike u srednjoj dobi između muškaraca iz triju romskih skupina ( $p \leq 0,001$ ), kao i između žena iz triju skupina ( $p \leq 0,001$ ). Ispitanici oba spola s područja

Međimurja su značajno mlađi od ispitanika iz druge dvije regije. Prosječno najstariji Romi i Romkinje u uzorku nađeni su u Baranji, a najmlađi u Međimurju. Unutar svake regije srednja dob muškaraca i žena nije se statistički značajno razlikovala ( $p=ns$ ).

Tablica 2.2. Srednja vrijednost dobi Roma i Romkinja izražena u godinama s odstupanjima (srednja dob $\pm$ SD), prikazana odvojeno za svaki spol i svaku romsku skupinu.

srednja vrijednost $\pm$ SD	DOB (godine)		
	muškarci	žene	t-test muškarci vs. žene, p vrijednost
Baranja	44,71 $\pm$ 14,40	43,54 $\pm$ 13,86	p=ns
Međimurje	34,04 $\pm$ 10,11	34,13 $\pm$ 10,75	p=ns
Zagreb	40,61 $\pm$ 13,22	40,62 $\pm$ 13,38	p=ns
One-way ANOVA, p vrijednost	$p \leq 0,001$	$p \leq 0,001$	

SD: standardna devijacija

## 4.2. Učestalosti alela i genotipova

Učestalosti alela i genotipova polimorfizma rs1805094 gena *LEPR* prikazane su u Tablici 3.1., a učestalosti alela i genotipova polimorfizma rs35683 gena *GHRL* prikazane su u Tablici 3.2.

Kod triju analiziranih populacija nisu pronađeni otkloni od Hardy-Weinberga ni za rs1805094, niti za rs35683 ( $p = ns$ ).

Statistički značajne razlike u učestalosti genotipova i alela polimorfizma rs1805094 gena *LEPR* u populaciji Roma nisu utvrđene između spolova u nijednoj od tri analizirane regije, niti u ukupnom uzorku (Tablica 3.1.). Razlike u učestalosti genotipova i alela između regija nisu utvrđene niti kada se gledalo za oba spola zajedno ( $\chi^2 = 5,595$ ,  $p = ns$ ). Najučestaliji genotip polimorfizma rs1805094 u uzorku je genotip GG, a najučestaliji alel je G alel.

Nisu pronađene razlike u učestalostima genotipova i alela polimorfizma rs35683 gena *GHRL* između spolova u populacijama Baranje i Zagreba ( $p = ns$ ), ali jesu u populaciji Roma Međimurja ( $p \leq 0,05$ ) (Tablica 3.2.). Genotip CC kao i C alel češći su u Međimurju kod muškaraca, nego li kod žena. Najučestaliji genotipovi polimorfizma rs35683 u populacijama Baranje i Međimurja su heterozigotni genotipovi CA, dok je u populaciji Zagreba najučestaliji genotip CC ( $p \leq 0,05$ ).

Tablica 3.1. Učestalosti genotipova i alela polimorfizma rs1805094 gena *LEPR* u populaciji Roma, testirane između spolova zasebno za sve tri analizirane geografske regije te u ukupnom uzorku. Razlike između spolova i regija testirane su Chi-kvadrat testom ( $p \leq 0,05$ ), N označava veličinu uzorka, a  $p = ns$  znači da nisu utvrđene statistički značajne razlike.

	Baranja		Međimurje		Zagreb		ukupan uzorak		svi Baranja	svi Međimurje	svi Zagreb
	N (%)		N (%)		N (%)		muškarci	žene			
<b>LEPR rs1805094</b>	<b>muškarci</b>	<b>žene</b>	<b>muškarci</b>	<b>žene</b>	<b>muškarci</b>	<b>žene</b>	<b>muškarci</b>	<b>žene</b>			
<b>GG</b>	48 (70,6)	48 (75,0)	39 (75,0)	54 (72,0)	53 (64,6)	57 (60,6)	140 (69,3)	159 (68,2)	96 (72,7)	93 (73,2)	110 (62,5)
<b>GC</b>	17 (25,0)	16 (25,0)	12 (23,1)	18 (24,0)	26 (31,7)	34 (36,2)	55 (27,2)	68 (29,2)	33 (25,0)	30 (23,6)	60 (34,1)
<b>CC</b>	3 (4,4)	0 (0,0)	1 (1,9)	3 (4,0)	3 (3,7)	3 (3,2)	7 (3,5)	6 (2,6)	3 (2,3)	4 (3,1)	6 (3,4)
<b>ukupno</b>	68 (100,0)	64 (100,0)	52 (100,0)	75 (100,0)	82 (100,0)	94 (100,0)	202 (100,0)	233 (100,0)	132 (100,0)	127 (100,0)	176 (100,0)
<b>Chi-kvadrat test</b>	$\chi^2 = 2,912, p = ns$		$\chi^2 = 0,469, p = ns$		$\chi^2 = 0,396, p = ns$		$\chi^2 = 0,451, p = ns$		$\chi^2 = 5,595, p = ns$		
<b>G alel</b>	113 (83,1)	112 (87,5)	90 (86,5)	126 (84,0)	132 (80,5)	148 (78,7)	335 (82,9)	386 (82,8)	225 (85,2)	216 (85,0)	280 (79,5)
<b>C alel</b>	23 (16,9)	16 (12,5)	14 (13,5)	24 (16,0)	32 (19,5)	40 (21,3)	69 (17,1)	80 (17,2)	39 (14,8)	38 (15,0)	72 (20,5)
<b>Chi-kvadrat test</b>	$\chi^2 = 1,019, p = ns$		$\chi^2 = 0,311, p = ns$		$\chi^2 = 0,168, p = ns$		$\chi^2 = 0,001, p = ns$		$\chi^2 = 4,617, p = ns$		

Tablica 3.2. Učestalosti genotipova i alela polimorfizma rs35683 gena *GHRL* u populaciji Roma, testirane između spolova zasebno za sve tri analizirane geografske regije te u ukupnom uzorku. Razlike između spolova i regija testirane su Chi-kvadrat testom ( $p \leq 0,05$ ), N označava veličinu uzorka, a  $p = ns$  znači da nisu utvrđene statistički značajne razlike.

	Baranja		Međimurje		Zagreb		ukupan uzorak		svi Baranja	svi Međimurje	svi Zagreb
	N (%)		N (%)		N (%)		N (%)				
GHRL rs35683	muškarci	žene	muškarci	žene	muškarci	žene	muškarci	žene			
CC	26 (38,2)	23 (36,5)	23 (43,4)	17 (22,4)	37 (45,1)	47 (50,0)	86 (42,4)	87 (37,3)	49 (37,4)	40 (31,0)	84 (47,7)
CA	38 (55,9)	33 (52,4)	26 (49,1)	46 (60,5)	29 (35,4)	40 (42,6)	93 (45,8)	119 (51,1)	71 (54,2)	72 (55,8)	69 (39,2)
AA	4 (5,9)	7 (11,1)	4 (7,5)	13 (17,1)	16 (19,5)	7 (7,4)	24 (11,8)	27 (11,6)	11 (8,4)	17 (13,2)	23 (13,1)
ukupno	68 (100,0)	63 (100,0)	53 (100,0)	76 (100,0)	82 (100,0)	94 (100,0)	203 (100,0)	233 (100,0)	131 (100,0)	129 (100,0)	176 (100,0)
Chi-kvadrat test	$\chi^2 = 1,165, p = ns$		$\chi^2 = 7,353, p \leq 0,05$		$\chi^2 = 5,674, p = ns$		$\chi^2 = 1,313, p = ns$		$\chi^2 = 12,653, p \leq 0,05$		
C alel	90 (66,2)	79 (62,7)	72 (67,9)	80 (53,6)	103 (62,8)	134 (71,3)	265 (65,3)	293 (62,9)	169 (64,5)	152 (58,9)	237 (67,3)
A alel	46 (33,8)	47 (37,3)	34 (32,1)	72 (46,4)	61 (37,2)	54 (28,7)	141 (34,7)	173 (37,1)	93 (35,5)	106 (41,1)	115 (32,7)
Chi-kvadrat test	$\chi^2 = 0,346, p = ns$		$\chi^2 = 6,034, p \leq 0,05$		$\chi^2 = 2,858, p = ns$		$\chi^2 = 540, p = ns$		$\chi^2 = 4,618, p = ns$		

### 4.3. Kvantitativna antropometrijska obilježja – originalna i izvedena

Normalna distribucija antropometrijskih varijabli utvrđena je Kolmogorov-Smirnovljevim testom (Tablica 4). Normalnost je testirana odvojeno za muškarce i žene. Otklon od normalne distribucije utvrđen je kod kožnih nabora tricepsa i subskapularnih kožnih nabora kod oba spola, no kako se asimetrija (skewness) i kurtosis čije su vrijednosti između -2 i +2 smatraju prihvatljivima za prihvaćanje normalne univarijatne distribucije varijable (George i Mallery, 2010.), sve originalne antropometrijske varijable testirane su parametrijskim testovima.

Tablica 4. Distribucija antropometrijskih varijabli testirana Kolmogorov-Smirnovljevim testom između spolova.

varijable	muškarci					
	N	skewness	SE skewness	kurtosis	SE kurtosis	Kolmogorov-Smirnovljev p
tjelesna masa (kg)	216	0,71	0,166	0,666	0,33	ns
tjelesna visina (mm)	216	0,06	0,166	-0,012	0,33	ns
opseg trbuha (cm)	214	0,351	0,166	0,013	0,331	ns
opseg bokova (cm)	213	0,453	0,167	0,433	0,332	ns
opseg nadlaktice (cm)	215	0,212	0,166	-0,167	0,33	ns
kn tricepsa (1/10 mm)	210	1	0,169	0,839	0,337	<0,001
kn subskapularno (1/10 mm)	214	0,886	0,166	0,326	0,331	<0,001

varijable	žene					
	N	skewness	SE skewness	kurtosis	SE kurtosis	Kolmogorov-Smirnovljev p
tjelesna masa (kg)	253	0,708	0,153	1,132	0,305	ns
tjelesna visina (mm)	253	0,104	0,153	0,632	0,305	ns
opseg trbuha (cm)	245	0,53	0,156	0,089	0,31	ns
opseg bokova (cm)	249	0,625	0,154	0,758	0,307	ns
opseg nadlaktice (cm)	248	0,509	0,155	0,429	0,308	ns
kn tricepsa (1/10 mm)	239	0,757	0,157	0,28	0,314	<0,001
kn subskapularno (1/10 mm)	247	0,551	0,155	-0,631	0,309	<0,001



U Tablici 5.1 prikazane su srednje vrijednosti izmjerenih antropometrijskih varijabli, odvojeno prema spolu i regiji. Antropometrijske varijable će se i u analizama koje slijede promatrati zasebno za žene i zasebno za muškarce s obzirom na fenotipske razlike između muškaraca i žena, odnosno, spolni dimorfizam.

Tablica 5.1. Srednje vrijednosti (srednja vrijednost  $\pm$  SD) antropometrijskih varijabli izmjerenih u populaciji Roma, prikazane zasebno za svaki spol prema trima regijama iz kojih dolaze ispitanici. Razlike između regija testirane su One-way ANOVA testom ( $p \leq 0,05$ ), N označava veličinu uzorka, a  $p=ns$  znači da nisu utvrđene statistički značajne razlike.

srednja vrijednost $\pm$ SD	muškarci			p
	Baranja N=73	Međimurje N=51	Zagreb N=92	
tjelesna masa (kg)	74,38 $\pm$ 16,94	74,54 $\pm$ 16,19	84,07 $\pm$ 17,18	$\leq 0,001$
tjelesna visina (mm)	1677,73 $\pm$ 67,41	1684,82 $\pm$ 59,72	1702,63 $\pm$ 63,10	$\leq 0,05$
opseg trbuha (cm)	95,52 $\pm$ 14,63	90,73 $\pm$ 12,62	99,33 $\pm$ 13,11	$\leq 0,01$
opseg bokova (cm)	100,69 $\pm$ 9,54	96,34 $\pm$ 9,34	102,07 $\pm$ 8,85	$\leq 0,01$
opseg nadlaktice (cm)	30,24 $\pm$ 4,12	30,43 $\pm$ 3,81	31,80 $\pm$ 3,60	$\leq 0,05$
kožni nabori (1/10 mm)				
triceps	92,64 $\pm$ 49,11	120,58 $\pm$ 63,58	125,61 $\pm$ 63,69	$\leq 0,001$
subskapularno	164,71 $\pm$ 74,95	203,90 $\pm$ 123,06	248,90 $\pm$ 117,72	$\leq 0,001$
srednja vrijednost $\pm$ SD	žene			p
	Baranja N=69	Međimurje N=79	Zagreb N=105	
tjelesna masa (kg)	62,49 $\pm$ 13,81	60,60 $\pm$ 13,02	67,55 $\pm$ 16,89	$\leq 0,01$
tjelesna visina (mm)	1530,20 $\pm$ 61,17	1560,87 $\pm$ 52,33	1561,50 $\pm$ 63,89	$\leq 0,001$
opseg trbuha (cm)	89,09 $\pm$ 15,86	87,91 $\pm$ 13,24	89,60 $\pm$ 15,90	ns
opseg bokova (cm)	103,24 $\pm$ 12,32	96,29 $\pm$ 9,60	100,92 $\pm$ 12,10	$\leq 0,001$
opseg nadlaktice (cm)	28,92 $\pm$ 4,72	27,45 $\pm$ 3,75	29,26 $\pm$ 4,65	$\leq 0,05$
kožni nabori (1/10 mm)				
triceps	166,47 $\pm$ 76,17	198,27 $\pm$ 97,34	208,51 $\pm$ 85,26	$\leq 0,01$
subskapularno	220,34 $\pm$ 113,19	202,23 $\pm$ 106,22	254,32 $\pm$ 120,98	$\leq 0,05$

ITM: indeks tjelesne mase

Utvrđene su statistički značajne razlike kod muškaraca za svih sedam antropometrijski izmjerenih varijabli (tjelesna masa, tjelesna visina, opsezi trbuha, bokova i nadlaktice te kožni nabor tricepsa i subskapularni kožni naboru) između triju regija. Kod žena su također pronađene statistički značajne razlike među regijama za sve varijable osim opsega trbuha. Rezultati Post Hoc testa pokazali su kako na statistički značajne razlike kod muškaraca utječu više srednje vrijednosti populacije Balkanskih Roma s područja Zagreba, u odnosu na muškarce iz druge dvije regije, dok se kod žena najčešće razlikuju srednje vrijednosti varijabli Romkinja s područja Međimurja, također u odnosu na preostale dvije regije.

Antropometrijski indeksi uhranjenosti izračunati korištenjem originalnih izmjerenih antropometrijskih vrijednosti također su uspoređeni između regija, zasebno za svaki spol (Tablica 5.2). Pronađene su statistički značajne razlike između triju romskih skupina muškaraca za svih četiri indeksa uhranjenosti (ITM, WHR, WHtR i TSR) te za gustoću tijela i udio masti u tijelu (BD4, BF4, BD5 i BF5). Kod žena su utvrđene statistički značajne razlike između triju skupina za ITM, WHR, TSR, BD5 i BF5. Rezultati Post Hoc testa upućuju na to da najveći broj statistički značajnih razlika kod muških Roma proizlazi iz vrijednosti izračunatih kod Balkanskih Roma, koje se razlikuju u odnosu na vrijednosti izračunate kod Roma iz drugih dviju regija.

Tablica 5.2. Indeksi uhranjenosti populacije Roma u trima regijama Republike Hrvatske, prikazani odvojeno za svaki spol. Razlike između regija testirane su One-way ANOVA testom ( $p \leq 0,05$ ), N označava veličinu uzorka, a  $p=ns$  znači da nisu utvrđene statistički značajne razlike.

<b>Indeksi uhranjenosti</b>	<b>muškarci</b>			<b>P</b>
<b>srednja vrijednost ± SD</b>	Baranja N=73	Međimurje N=51	Zagreb N=92	
ITM ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	26,38±5,55	26,16±5,07	28,93±5,26	≤0,01
omjer trbuh/bokovi (WHR)	0,94±0,08	0,94±0,06	0,97±0,08	≤0,05
omjer trbuh/visina (WHtR)	0,57±0,09	0,54±0,07	0,58±0,08	≤0,01
omjer kn triceps/subskapularno (TSR)	0,59±0,20	0,67±0,29	0,56±0,22	≤0,05
gustoća tijela (BD4)	1,04±0,02	1,04±0,02	1,04±0,02	≤0,01
% tjelesne mase (BF4)	24,83±8,89	22,57±8,53	27,89±10,04	≤0,01
gustoća tijela (BD5)	1,05±0,02	1,05±0,02	1,04±0,02	≤0,01
% tjelesne mase (BF5)	23,35±9,42	22,07±9,38	27,25±11,08	≤0,01
	<b>žene</b>			<b>P</b>
<b>srednja vrijednost ± SD</b>	Baranja N=69	Međimurje N=79	Zagreb N=105	
ITM ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	26,83±6,64	24,77±4,97	27,75±6,91	≤0,01
omjer trbuh/bokovi (WHR)	0,86±0,08	0,91±0,07	0,87±0,08	≤0,001
omjer trbuh/visina (WHtR)	0,58±0,11	0,56±0,08	0,58±0,11	ns
omjer kn triceps/subskapularno (TSR)	0,81±0,30	1,06±0,37	0,91±0,29	≤0,001
gustoća tijela (BD4)	1,02±0,02	1,02±0,02	1,02±0,02	ns
% tjelesne mase (BF4)	35,51±9,79	35,33±9,74	37,88±9,83	ns
gustoća tijela (BD5)	1,02±0,02	1,03±0,02	1,02±0,02	≤0,05
% tjelesne mase (BF5)	34,63±10,58	32,19±9,32	36,85±10,80	≤0,05

ITM: indeks tjelesne mase

Statistički značajne razlike u indeksima uhranjenosti kod žena proizlaze iz razlika Romkinja s području Međimurja naspram Romkinja iz drugih dviju regija (Baranje i Zagreba).

S obzirom na statistički značajne razlike između triju romskih skupina u vrijednostima antropometrijskih varijabli (originalnih i izvedenih), koje su pronađene kod oba spola, zaključujemo da u daljnjim analizama ne smijemo sve naše romske ispitanike istog spola promatrati kao jednu romsku populaciju, već kao tri odvojene subpopulacije.

## 4.4. Kvalitativna antropometrijska obilježja – indeksi uhranjenosti

Izračunati antropometrijski indeksi uhranjenosti (indeks tjelesne mase, omjer opseg trbuha i bokova, omjer opsega trbuha i visine) i jedna originalno izmjerena varijabla (opseg trbuha) razvrstani su u kategorije prema međunarodno prihvaćenim smjernicama za procjenu stanja uhranjenosti opisanima u poglavlju Materijali i metode. Prevalencije pothranjenih (ITM < 18,50 kg/m<sup>2</sup>), prekomjerno teških (BMI ≥ 25,00 kg/m<sup>2</sup>) i pretilih (BMI ≥ 30,00 kg/m<sup>2</sup>) Roma i Romkinja, prikazane odvojeno prema spolu i regiji iz koje dolaze, nalaze se u Tablici 6. U istoj je tablici prikazana i prevalencija prekomjerno teških osoba s obzirom na granične vrijednosti opsega trbuha, omjera opsega trbuha i visine te omjera opsega trbuha i opsega bokova s obzirom na spol i regiju iz koje dolaze.

Tablica 6. Prevalencija antropometrijskih indeksa uhranjenosti Roma i Romkinja u ovisnosti o području na kojem obitavaju (Baranja, Međimurje, Zagreb). Razlike u učestalostima testirane su Chi-kvadrat testom ( $p \leq 0,05$ ),  $p = ns$  označava da razlike nisu statistički značajne.

<b>Prevalencija</b>	<b>muškarci</b>			$\chi^2$	<b>p</b>
<b>N (%)</b>	Baranja	Međimurje	Zagreb		
ITM<18,50 kg/m <sup>2</sup>	2 (2,7)	0 (0,0)	2 (2,2)	1,331	ns*
ITM≥25,00 kg/m <sup>2</sup>	44 (60,3)	26 (51,0)	70 (76,1)	10,066	≤0,01
ITM≥30,00 kg/m <sup>2</sup>	14 (19,2)	11 (21,6)	36 (39,1)	9,462	≤0,01
WC>102 cm	23 (31,5)	10 (20,0)	40 (44,0)	8,574	≤0,05
WHR>0,90	47 (65,3)	36 (72,0)	74 (81,3)	5,436	ns
WHtR>0,50	55 (75,3)	30 (60,0)	81 (89,0)	15,926	≤0,001
<b>Prevalencija</b>	<b>žene</b>			$\chi^2$	<b>p</b>
<b>N (%)</b>	Baranja	Međimurje	Zagreb		
ITM<18,50 kg/m <sup>2</sup>	7 (10,4)	4 (5,4)	5 (4,9)	2,303	ns*
ITM≥25,00 kg/m <sup>2</sup>	39 (58,2)	32 (43,2)	62 (60,2)	5,5	ns
ITM≥30,00 kg/m <sup>2</sup>	21 (31,3)	12 (16,2)	36 (35,0)	7,88	≤0,05
WC>88 cm	34 (50,7)	31 (44,3)	53 (51,5)	0,95	ns
WHR>0,85	28 (41,8)	57 (81,4)	56 (54,4)	23,623	≤0,001
WHtR>0,50	49 (73,1)	54 (77,1)	75 (72,8)	0,459	ns

ITM: indeks tjelesne mase, WHR: omjer trbuh/bokovi, WHtR: opseg trbuha/tjelesna visina, WC: opseg trbuha (engl. *waist circumference*),  $\chi^2$ - Chi-square

\*kod ćelija u kojima je prevalencija manja od pet (5), Chi-kvadrat test nije pouzdan.

Najviše prekomjerno teških muškaraca (76,1%), kao i pretilih (39,1%), ima među Balkanskim Romima (Tablica 6). Dapače, prevalencija pretilosti kod Balkanskih Roma čak je dvostruko veća nego li kod Baranjskih Roma (19,2%) ili kod Međimurskih Roma (21,6%). Balkanski Romi također značajno češće imaju opseg trbuha (WC) i omjer opseg trbuha/visina (WHtR) veće od graničnih vrijednosti u odnosu na muškarce iz ostalih dviju romskih skupina.

Kod ženske populacije uočene su statistički značajne razlike u broju Romkinja koje su pretile – najmanje ih je u Međimurju (16,2%), dok ih je u Baranji (31,30%) i Zagrebu (35,0%) praktički dvostruko više ( $p \leq 0,05$ ). S druge strane, preko 81% žena iz Međimurja ima omjer opsega trbuha i bokova (WHR) iznad granične vrijednosti, dok  $WHR > 0,85$  u Baranji ima 41,8% žena, a u Zagrebu 54,4% ( $p \leq 0,001$ ).

Tablica 7. Usporedba prevalencije kvalitativnih antropometrijskih indeksa uhranjenosti između žena i muškaraca. Razlike u učestalostima testirane su Chi-kvadrat testom ( $p \leq 0,05$ ),  $p = ns$  označava da razlike nisu statistički značajne.

<b>Prevalencija</b>				
<b>N (%)</b>	<b>svi muškarci</b>	<b>sve žene</b>	<b><math>\chi^2</math></b>	<b>p</b>
ITM < 18,50 kg/m <sup>2</sup>	4 (1,9)	16 (6,6)	6,100	$\leq 0,05^*$
ITM $\geq 25,00$ kg/m <sup>2</sup>	140 (64,8)	133 (54,5)	5,045	$\leq 0,05$
ITM $\geq 30,00$ kg/m <sup>2</sup>	61 (28,2)	69 (28,3)	0,000	ns
WC > 88 cm za žene, > 102 cm za muškarce	73 (34,1)	118 (49,2)	10,520	$\leq 0,001$
WHR > 0,85 za žene, > 0,90 za muškarce	157 (73,7)	141 (58,8)	11,219	$\leq 0,001$
WHtR > 0,50	166 (77,6)	178 (74,2)	0,714	ns

ITM: indeks tjelesne mase, WHR: omjer trbuh/bokovi, WHtR: opseg trbuha/tjelesna visina, WC: opseg trbuha (engl. *waist circumference*),  $\chi^2$ - Chi-square

\*kod ćelija u kojima je prevalencija manja od pet (5), Chi-kvadrat test nije pouzdan.

U Tablici 7 prikazana je usporedba prevalencije kvalitativnih antropometrijskih indeksa uhranjenosti između muškaraca i žena. Romske žene su gotovo četiri puta više neuhranjene u odnosu na muškarce (6,6% žena, naspram 1,9% muškaraca), no kako je muškaraca nešto ispod donje granice Chi-kvadrat testa, ovu razliku bi trebalo potvrditi na većem uzorku. Muškarci Romi su češće prekomjerno teški (64,8% muškaraca naspram 54,5% žena,  $p \leq 0,05$ ). Razlike su uočene i kod omjera WHR te opsega trbuha; žene češće imaju opseg trbuha iznad granične vrijednosti ( $p \leq 0,0001$ ), dok muškarci češće imaju WHR iznad granične vrijednosti ( $p \leq 0,001$ ) (Tablica 7).

#### **4.5. Analiza povezanosti polimorfizama gena *LEPR* i *GHRL* s antropometrijskim obilježjima**

Usporedbom učestalosti genotipova GG, GC i CC polimorfizma rs1805094 gena *LEPR* uočeno je kako postoji relativno malen broj osoba s genotipom CC (sedam muškaraca i šest žena), a mali uzorci povećavaju vjerojatnost pogreške tipa II (lažno negativnog rezultata analize). Zbog toga je, uz analizu povezanosti triju genotipova ovog polimorfizma s antropometrijskim obilježjima, provedena i dodatna analiza u kojoj su genotipovi bili podijeljeni u dvije skupine; GG i CG+CC. Opisano grupiranje nije pokazalo nove statistički značajne razlike u antropometrijskim mjerenjima u odnosu na analizu s tri odvojena genotipa, zbog čega analiza s grupiranim genotipovima nije prikazana u ovom radu.

U Tablici 8 prikazane su, odvojeno za svaki spol, analize povezanosti triju genotipova polimorfizma rs1805094 s originalno izmjerenim antropometrijskim vrijednostima, a u Tablicama 10.1 i 10.2 analize povezanosti istih genotipova s izračunatim indeksima. Tablica 9 prikazuje, također odvojeno za svaki spol, analize povezanosti triju genotipova polimorfizma rs35683 s originalno izmjerenim antropometrijskim vrijednostima, dok su analize povezanosti istih genotipova s izračunatim indeksima prikazane u Tablicama 11.1 i 11.2.

Grupiranje genotipova polimorfizma rs35683 gena *GHRL* (genotip CC vs. genotipovi CA i AA, te genotipovi CC i CA vs. genotip AA) nije pokazalo statistički značajne rezultate povezanosti A i C alela SNP-a rs35683 i antropometrijskih varijabli, stoga ovdje nisu prikazani rezultati tih analiza.

Tablica 8. Srednje vrijednosti (srednja vrijednost $\pm$ SD) antropometrijskih varijabli izmjerenih u populaciji Roma, prikazne zasebno za svaki spol prema trima genotipovima polimorfizma rs1805094 *LEPR* gena.

Antropometrijske mjere	LEPR rs1805094 (genotipovi)			
	muškarci			p
Originalne mjere (srednja vrijednost $\pm$ SD)	genotip GG N=139	genotip CG N=53	genotip CC N=7	
tjelesna masa (kg)	77,47 $\pm$ 16,72	80,34 $\pm$ 20,1	83,53 $\pm$ 23,80	ns
tjelesna visina (mm)	1685,88 $\pm$ 65,06	1706,06 $\pm$ 62,64	1702,86 $\pm$ 57,01	ns
opseg trbuha (cm)	94,78 $\pm$ 13,33	97,64 $\pm$ 16,11	97,33 $\pm$ 17,49	ns
opseg bokova (cm)	99,89 $\pm$ 9,27	100,60 $\pm$ 10,29	102,87 $\pm$ 12,38	ns
opseg nadlaktice (cm)	30,78 $\pm$ 3,87	30,80 $\pm$ 3,94	33,13 $\pm$ 5,82	ns
kožni nabori (1/10 mm)				
triceps	110,56 $\pm$ 57,49	103,41 $\pm$ 46,76	186,50 $\pm$ 141,52	$\leq$ 0,01
subskapularno	204,07 $\pm$ 110,45	209,72 $\pm$ 119,24	260,57 $\pm$ 162,22	ns
Antropometrijske mjere	LEPR rs1805094 (genotipovi)			
	žene			p
Originalne mjere (srednja vrijednost $\pm$ SD)	genotip GG N=159	genotip CG N=68	genotip CC N=6	
tjelesna masa (kg)	63,89 $\pm$ 14,85	64,70 $\pm$ 16,64	55,05 $\pm$ 12,56	ns
tjelesna visina (mm)	1547,06 $\pm$ 61,75	1560,85 $\pm$ 63,70	1562,00 $\pm$ 43,59	ns
opseg trbuha (cm)	89,27 $\pm$ 15,22	89,61 $\pm$ 15,84	75,88 $\pm$ 10,09	ns
opseg bokova (cm)	100,80 $\pm$ 12,06	101,34 $\pm$ 12,52	92,68 $\pm$ 10,76	ns
opseg nadlaktice (cm)	28,75 $\pm$ 4,57	28,58 $\pm$ 4,61	26,18 $\pm$ 2,69	ns
kožni nabori (1/10 mm)				
triceps	194,91 $\pm$ 87,55	197,64 $\pm$ 95,12	127,33 $\pm$ 29,67	ns
subskapularno	229,99 $\pm$ 120,91	228,98 $\pm$ 116,18	174,25 $\pm$ 62,71	ns

Utvrđene su statistički značajne razlike kod muškaraca u srednjim vrijednostima kožnog nabora tricepsa - najviše srednje vrijednosti uočene su kod genotipa CC ( $p \leq 0,01$ ), dok kod žena nisu pronađene značajne razlike ( $p = ns$ ).

Tablica 9. Srednje vrijednosti (srednja vrijednost $\pm$ SD) antropometrijskih varijabli izmjerenih u populaciji Roma, prikazne zasebno za svaki spol prema trima genotipovima polimorfizma rs35683 gena *GHRL*.

Antropometrijske mjere	<i>GHRL</i> rs35683 (genotipovi)			
	muškarci			p
Originalne mjere (srednja vrijednost $\pm$ SD)	genotip CC N=84	genotip CA N=92	genotip AA N=24	
tjelesna masa (kg)	81,71 $\pm$ 18,73	75,45 $\pm$ 16,39	77,87 $\pm$ 19,45	ns
tjelesna visina (mm)	1695,81 $\pm$ 65,09	1687,21 $\pm$ 61,82	1696,79 $\pm$ 72,67	ns
opseg trbuha (cm)	97,63 $\pm$ 14,70	94,12 $\pm$ 13,89	93,91 $\pm$ 13,77	ns
opseg bokova (cm)	101,65 $\pm$ 11,04	98,93 $\pm$ 8,43	99,54 $\pm$ 8,31	ns
opseg nadlaktice (cm)	31,68 $\pm$ 4,15	30,17 $\pm$ 3,69	30,60 $\pm$ 3,93	$\leq$ 0,05
kožni nabori (1/10 mm)				
triceps	124,02 $\pm$ 74,12	101,41 $\pm$ 44,71	100,38 $\pm$ 45,41	$\leq$ 0,05
subskapularno	238,23 $\pm$ 125,95	179,29 $\pm$ 97,89	204,88 $\pm$ 110,48	$\leq$ 0,01
Antropometrijske mjere	<i>GHRL</i> rs35683 (genotipovi)			
	žene			p
Originalne mjere (srednja vrijednost $\pm$ SD)	genotip CC N=87	genotip CA N=119	genotip AA N=27	
tjelesna masa (kg)	66,25 $\pm$ 14,94	63,96 $\pm$ 15,51	57,12 $\pm$ 12,96	$\leq$ 0,05
tjelesna visina (mm)	1556,95 $\pm$ 64,88	1548,79 $\pm$ 64,19	1551,59 $\pm$ 37,49	ns
opseg trbuha (cm)	90,83 $\pm$ 15,33	89,29 $\pm$ 15,58	82,85 $\pm$ 12,78	ns
opseg bokova (cm)	102,62 $\pm$ 11,56	101,02 $\pm$ 12,63	93,13 $\pm$ 8,91	$\leq$ 0,01
opseg nadlaktice (cm)	29,33 $\pm$ 4,42	28,74 $\pm$ 4,51	26,09 $\pm$ 4,05	$\leq$ 0,01
kožni nabori (1/10 mm)				
triceps	198,04 $\pm$ 81,20	200,87 $\pm$ 98,27	156,57 $\pm$ 52,77	ns
subskapularno	246,72 $\pm$ 121,53	226,66 $\pm$ 117,07	174,43 $\pm$ 99,98	$\leq$ 0,05

Kod muškaraca su statistički značajne razlike utvrđene za tri izmjerene antropometrijske varijable (opseg nadlaktice, kožni nabor tricepsa i subskapularni kožni nabor) – najviše srednje vrijednosti svih triju varijabli pronađene su kod nositelja genotipa CC SNP-a rs35683 (Tablica 9). Kod žena su pronađene statistički značajne razlike za četiri izmjerene antropometrijske varijable (tjelesna masa, opseg bokova, opseg nadlaktice, kožni nabor subskapularni). Nositeljice genotipa CC imale su značajno više srednje vrijednosti mase i subskapularnog kožnog nabora u odnosu na nositeljice genotipa AA. Što se opsega bokova i



nadlaktice tiče, nositeljice C alela (osobe s CC i CA genotipom) imale su značajno više srednje vrijednosti od Romkinja koje nemaju C alel (osoba s AA genotipom).

Tablica 10.1. Srednje vrijednosti (srednja vrijednost $\pm$ SD) izračunatih indeksa uhranjenosti u populaciji Roma, prikazane prema trima genotipovima polimorfizma rs1805094 gena *LEPR* i odvojeno za svaki spol. Razlike su testirane One-way ANOVA testom ( $p \leq 0,05$ ), N označava veličinu uzorka, a p = ns znači da nisu utvrđene statistički značajne razlike.

<b>LEPR rs1805094</b>				
	<b>muškarci</b>			
<b>Pokazatelji uhranjenosti (srednja vrijednost <math>\pm</math>SD)</b>	<b>genotip GG N=139</b>	<b>genotip CG N=53</b>	<b>genotip CC N=7</b>	<b>p</b>
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	27,16 $\pm$ 5,17	27,52 $\pm$ 6,39	28,66 $\pm$ 7,58	ns
omjer trbuh/bokovi (WHR)	0,95 $\pm$ 0,07	0,97 $\pm$ 0,09	0,94 $\pm$ 0,06	ns
omjer trbuh/visina (WHtR)	0,56 $\pm$ 0,08	0,57 $\pm$ 0,09	0,57 $\pm$ 0,10	ns
omjer kn triceps/subskapularno (TSR)	0,60 $\pm$ 0,24	0,57 $\pm$ 0,22	0,77 $\pm$ 0,29	ns
<b>LEPR rs1805094</b>				
	<b>žene</b>			
<b>Pokazatelji uhranjenosti (srednja vrijednost <math>\pm</math>sd)</b>	<b>genotip GG N=159</b>	<b>genotip CG N=68</b>	<b>genotip CC N=6</b>	<b>p</b>
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	26,74 $\pm$ 6,31	26,60 $\pm$ 7,06	22,34 $\pm$ 4,59	ns
omjer trbuh/bokovi (WHR)	0,88 $\pm$ 0,08	0,88 $\pm$ 0,08	0,82 $\pm$ 0,04	ns
omjer trbuh/visina (WHtR)	0,58 $\pm$ 0,10	0,58 $\pm$ 0,11	0,48 $\pm$ 0,06	ns
omjer kn triceps/subskapularno (TSR)	0,93 $\pm$ 0,35	0,95 $\pm$ 0,31	0,85 $\pm$ 0,21	ns

ITM: indeks tjelesne mase, WHR: omjer trbuh/bokovi, WHtR: opseg trbuha/tjelesna visina, WC: opseg trbuha (engl. *waist circumference*)

Analize nisu pokazale statistički značajne razlike u srednjim vrijednostima četiriju izračunatih antropometrijskih indeksa između nositelja različitih genotipova polimorfizma rs1805094 gena *LEPR*, ni kod muškaraca, niti kod žena (Tablica 10.1). Promatrano na ukupnom uzorku, također nisu utvrđene razlike u srednjim vrijednostima indeksa uhranjenosti između nositelja različitih genotipova polimorfizma rs1805094 gena *LEPR* (Tablica 10.2).

Tablica 10.2. Srednje vrijednosti (srednja vrijednost $\pm$ SD) izračunatih indeksa uhranjenosti u populaciji Roma, prikazane prema trima genotipovima polimorfizma rs1805094 gena *LEPR* i za sve ispitanike zajedno. Razlike su testirane One-way ANOVA testom ( $p \leq 0,05$ ), N označava veličinu uzorka, a p=ns znači da nisu utvrđene statistički značajne razlike.

<b>LEPR rs1805094</b>				
<b>Pokazatelji uhranjenosti (srednja vrijednost <math>\pm</math>sd)</b>	<b>svi ispitanici oba spola</b>			<b>p</b>
	<b>genotip GG N=298</b>	<b>genotip CG N=121</b>	<b>genotip CC N=13</b>	
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	26,94 $\pm$ 5,79	27,01 $\pm$ 6,76	26,36 $\pm$ 7,14	ns
omjer trbuh/bokovi (WHR)	0,91 $\pm$ 0,08	0,92 $\pm$ 0,09	0,90 $\pm$ 0,08	ns
omjer trbuh/visina (WHtR)	0,57 $\pm$ 0,09	0,57 $\pm$ 0,10	0,54 $\pm$ 0,09	ns
omjer kn triceps/subskapularno (TSR)	0,77 $\pm$ 0,34	0,78 $\pm$ 0,33	0,80 $\pm$ 0,25	ns

ITM: indeks tjelesne mase, WHR: omjer trbuh/bokovi, WHtR: opseg trbuha/tjelesna visina, WC: opseg trbuha (engl. *waist circumference*)

Tablica 11.1. Srednje vrijednosti (srednja vrijednost $\pm$ SD) izračunatih indeksa uhranjenosti u populaciji Roma, prikazane prema trima genotipovima polimorfizma rs35683 gena *GHRL* i odvojeno za svaki spol. Razlike između genotipova testirane su One-way ANOVA testom ( $p \leq 0,05$ ), N označava veličinu uzorka, a p=ns znači da nisu utvrđene statistički značajne razlike.

<b>GHRL rs35683</b>				
<b>Pokazatelji uhranjenosti (srednja vrijednost <math>\pm</math>sd)</b>	<b>muškarci</b>			<b>p</b>
	<b>genotip CC N=84</b>	<b>genotip CA N=92</b>	<b>genotip AA N=24</b>	
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	28,34 $\pm$ 5,98	26,43 $\pm$ 5,16	26,85 $\pm$ 5,32	ns
omjer trbuh/bokovi (WHR)	0,96 $\pm$ 0,07	0,95 $\pm$ 0,08	0,94 $\pm$ 0,07	ns
omjer trbuh/visina (WHtR)	0,58 $\pm$ 0,09	0,56 $\pm$ 0,08	0,55 $\pm$ 0,07	ns
omjer kn triceps/subskapularno (TSR)	0,57 $\pm$ 0,23	0,64 $\pm$ 0,26	0,55 $\pm$ 0,14	ns
<b>GHRL rs35683</b>				
<b>Pokazatelji uhranjenosti (srednja vrijednost <math>\pm</math>sd)</b>	<b>žene</b>			<b>p</b>
	<b>genotip CC N=87</b>	<b>genotip CA N=119</b>	<b>genotip AA N=27</b>	
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	27,36 $\pm$ 6,06	26,76 $\pm$ 6,87	23,64 $\pm$ 5,16	$\leq 0,05$
omjer trbuh/bokovi (WHR)	0,88 $\pm$ 0,08	0,88 $\pm$ 0,08	0,88 $\pm$ 0,08	ns
omjer trbuh/visina (WHtR)	0,59 $\pm$ 0,10	0,58 $\pm$ 0,11	0,53 $\pm$ 0,08	ns
omjer kn triceps/subskapularno (TSR)	0,89 $\pm$ 0,28	0,96 $\pm$ 0,33	1,05 $\pm$ 0,47	ns

ITM: indeks tjelesne mase, WHR: omjer trbuh/bokovi, WHtR: opseg trbuha/tjelesna visina, WC: opseg trbuha (engl. *waist circumference*)

Analizama nisu utvrđene statistički značajne razlike u srednjim vrijednostima izračunatih antropometrijskih indeksa između triju različitih genotipova polimorfizma rs35683 kod muškaraca, dok je kod žena utvrđena statistički značajna razlika u srednjim vrijednostima indeksa tjelesne mase između nositeljica genotipa CC i nositeljica genotipa AA (Tablica 11.1). Nositeljice genotipa CC imale su više srednje vrijednosti ITM-a od nositeljica genotipa AA.

Tablica 11.2. Srednje vrijednosti (srednja vrijednost±SD) izračunatih indeksa uhranjenosti u populaciji Roma, prikazane prema trima genotipovima polimorfizma rs35683 gena *GHRL* i za sve ispitanike zajedno. Razlike između genotipova testirane su One-way ANOVA testom ( $p \leq 0,05$ ), N označava veličinu uzorka, a p=ns znači da nisu utvrđene statistički značajne razlike.

<b>GHRL rs35683</b>				
	<b>svi ispitanici oba spola</b>			<b>p</b>
<b>Pokazatelji uhranjenosti (srednja vrijednost ±sd)</b>	<b>genotip CC N=171</b>	<b>genotip CA N=211</b>	<b>genotip AA N=51</b>	
ITM (kg/m <sup>2</sup> )	27,85±6,02	26,62±6,17	25,25±5,43	≤0,05
omjer trbuh/bokovi (WHR)	0,92±0,09	0,91±0,08	0,91±0,08	ns
omjer trbuh/visina (WHtR)	0,58±0,09	0,57±0,10	0,54±0,08	ns
omjer kn triceps/subskapularno (TSR)	0,72±0,30	0,81±0,34	0,81±0,43	≤0,05

ITM: indeks tjelesne mase, WHR: omjer trbuh/bokovi, WHtR: opseg trbuha/tjelesna visina, WC: opseg trbuha (engl. *waist circumference*)

Analize su pokazale statistički značajne razlike u srednjim vrijednostima indeksa tjelesne mase i omjera kožnih nabora tricepsa/subskapularno; osobe oba spola s genotipom CC imale su višu srednju vrijednost ITM-a od osoba s genotipom AA, dok je omjer TSR kod nositelja genotipa CC bio značajno niži u odnosu na osobe s genotipom CA, i u odnosu na osobe s genotipom AA (Tablica 11.2).

#### 4.6. Z-vrijednosti originalnih antropometrijskih mjerenja

Antropometrijske varijable su standardizirane u z-vrijednosti koje su uspoređene između genotipova oba analizirana polimorfizama (rs1805094 i rs35683), a rezultati tih analiza su prikazani u Tablici 12.

Tablica 12. Z-vrijednosti antropometrijskih varijabli uspoređene između triju genotipova polimorfizma rs1805094 gena *LEPR* i između triju genotipova polimorfizma rs35683 gena *GHRL*. Razlike između genotipovima testirane su One-way ANOVA testom ( $p \leq 0,05$ ), N označava veličinu uzorka, a p=ns znači da nisu utvrđene statistički značajne razlike.

Z-vrijednosti originalnih kvantitativnih varijabli (srednja vrijednost $\pm$ SD)	<i>LEPR</i> rs1805094 genotipovi			p
	genotip GG N=294	genotip CG N=120	genotip CC N=11	
z-tjelesna masa	-0,011 $\pm$ 0,992	0,028 $\pm$ 1,069	-0,057 $\pm$ 1,281	ns
z-tjelesna visina	-0,065 $\pm$ 1,004	0,162 $\pm$ 1,008	0,113 $\pm$ 0,731	ns
z-opseg trbuha	-0,028 $\pm$ 0,989	0,047 $\pm$ 1,060	-0,257 $\pm$ 1,298	ns
z-opseg bokova	-0,009 $\pm$ 0,994	0,005 $\pm$ 1,026	-0,110 $\pm$ 1,337	ns
z-opseg nadlaktice	0,011 $\pm$ 1,016	-0,038 $\pm$ 1,009	0,144 $\pm$ 1,350	ns
kožni nabori				
z-triceps	0,006 $\pm$ 0,983	-0,058 $\pm$ 0,936	0,538 $\pm$ 1,968	ns
z-subskapularno	-0,002 $\pm$ 1,019	-0,028 $\pm$ 1,023	0,020 $\pm$ 1,126	ns
Z-vrijednosti originalnih kvantitativnih varijabli (srednja vrijednost $\pm$ SD)	<i>GHRL</i> rs35683 genotipovi			p
	genotip CC N=171	genotip CA N=211	genotip AA N=51	
z-tjelesna masa	0,143 $\pm$ 1,029	-0,043 $\pm$ 0,9867	-0,302 $\pm$ 1,012	$\leq 0,05$
z-tjelesna visina	0,078 $\pm$ 1,001	-0,041 $\pm$ 1,019	-0,006 $\pm$ 0,913	ns
z-opseg trbuha	0,111 $\pm$ 1,033	-0,039 $\pm$ 1,002	-0,331 $\pm$ 0,947	$\leq 0,05$
z-opseg bokova	1,119 $\pm$ 1,071	-0,027 $\pm$ 0,960	-0,346 $\pm$ 0,896	$\leq 0,05$
z-opseg nadlaktice	0,156 $\pm$ 1,030	-0,035 $\pm$ 0,984	-0,366 $\pm$ 1,009	$\leq 0,01$
kožni nabori				
z-triceps	0,112 $\pm$ 1,087	-0,011 $\pm$ 0,969	-0,355 $\pm$ 0,651	$\leq 0,05$
z-subskapularno	0,173 $\pm$ 1,063	-0,0863 $\pm$ 0,985	-0,326 $\pm$ 0,917	$\leq 0,01$

Nisu pronađene statistički značajne razlike u srednjim z-vrijednostima originalnih mjerenja između triju genotipova polimorfizma rs1805094 gena *LEPR*. S druge strane, između triju genotipova polimorfizma rs35683 gena *GHRL* pronađene su statistički značajne razlike kod gotovo svih srednjih z-vrijednosti originalnih mjerenja (osim z-visine) (Tablica 12). Konkretno, uz iznimku z-visine, sve ostale srednje z-vrijednosti nositelja genotipa CC su bile značajno veće od srednjih z-vrijednosti nositelja genotipova CA i AA.

Prema rezultatima ANOVA testa uočava se kako su srednje z-vrijednosti genotipa CC polimorfizma rs35683 gena *GHRL* pozitivne, odnosno veće od prosjeka.

Prema rezultatima Post Hoc testa utvrđeno je da su statistički značajne razlike srednjih vrijednosti originalnih varijabli između genotipova CC i CA polimorfizma rs35683 gena *GHRL*.

## 5. RASPRAVA

Pretilost ili gojaznost je prekomjerno nakupljanje masnog tkiva u tijelu živih bića, uzrokovano povećanjem volumena masnih stanica ili njihova ukupnog broja. S obzirom na to da je prepoznata kao čimbenik rizika za razvoj brojnih kompleksnih kroničnih bolesti (kardiovaskularne bolesti, dijabetes, osteoartritis itd.), pretilost je postala jednom od glavnih javnozdravstvenih prijetnji u industrijski razvijenom svijetu pa ne čudi veliki interes za istraživanjem ovog fenotipa. Na romskoj su populaciji provedena brojna istraživanja genetičke podloge pretilosti (Zeljko i sur., 2011.; Poveda i sur., 2014.; Mačekova i sur., 2012.; Nagy i sur., 2017.), no nijedna od tih studija nije pronašla povezanost ni polimorfizma rs1805094 niti polimorfizma rs35683, koje smo mi istraživali, s pretilošću. U tim romskim studijama najčešće se pretilost povezivala s varijantama gena *FTO*. Kod populacije hrvatskih Roma pronađena je povezanost alela E2 gena *APOE* s opsegom struka i indeksom tjelesne mase (Zeljko i sur., 2011.).

Naše je istraživanje pokazalo kako su Romi oba spola iz svih triju regija Hrvatske, koji imaju genotip CC polimorfizma rs35683 gena *GHRL*, skloniji pretilosti u odnosu na Rome koji nisu imali taj genotip, a i da žene imaju veće šanse biti pretile od muškaraca. Također, oni ispitanici koji su homozigoti za C alel imaju veće šanse za centralno nakupljanje masnog tkiva od onih ispitanika koji imaju jedan ili dva A alela. Osobe genotipa CC polimorfizma rs35683 gena *GHRL* ubrajaju se u rizičnu skupinu za razvoj kardiovaskularnih bolesti, dijabetesa tipa 2, pretilosti i tumora prema uočenim povećanim vrijednostima antropometrijskih mjerenja i izračunatih indeksa u odnosu na druga dva genotipa istog polimorfizma (CA i AA), jer se kod njih pojavljuje problem u primitku signala i informacija u središnjem živčanom sustavu o energetske zalihama što će dovesti do nekontroliranog prejedanja, odnosno pretilosti (Campa i sur., 2010). Povezanost navedenog polimorfizma s prekomjernom tjelesnom masom i pretilošću analizirana je u brojnim studijama. U nekima je potvrđena njihova povezanost (Peng i sur., 2013.), dok je u drugima njihova povezanost opovrgnuta (Gueorguiev i sur., 2012.). U našem istraživanju potvrđena je poveznica između polimorfizma rs35683 i pokazatelja pretilosti te prekomjerne tjelesne mase.

Prema procjenama Svjetske zdravstvene organizacije (SZO), u 2014. godini otprilike 39% svjetske populacije bilo je prekomjerne tjelesne mase, a pretilih je bilo 13%. S obzirom na navedene podatke SZO-a, romska populacija u Hrvatskoj, s udjelom osoba koje imaju prekomjernu tjelesnu masu od 58,96% i udjelom pretilih od 28,08%, daleko premašuje

navedene svjetske prosjeke, što sugerira da je riječ o populaciji koja pripada skupini s posebno visokim dugoročnim zdravstvenim rizicima.

Osim visokog udjela prekomjerno teških i pretilih, u romskoj smo populaciji otkrili i pothranjene, odnosno, nedovoljno uhranjene osobe oba spola. Međutim, udio pothranjenih (ITM < 18,50 kg/m<sup>2</sup>) žena u našem uzorku je bio čak četverostruko veći od udjela pothranjenih muškaraca. I neke druge studije o stanju uhranjenosti Roma u svijetu javljaju o relativno većem udjelu neuhranjenih Romkinja nego Roma (Poveda i sur., 2014.), ali i o visokom udjelu neuhranjenih Roma u odnosu na većinsku populaciju (Enache i sur., 2018., Macejova i sur., 2020., Llanaj i sur., 2020.). Ovi autori pothranjenost pripisuju lošim socioekonomskim uvjetima života Roma (siromaštvu, lošoj prehrani, lošim uvjetima stanovanja itd.), a kako je pothranjenost povezana s češćim pobolom i većom smrtnošću (Zheng i sur., 2011.), predlažu uvođenje intervencijskih programa u ovu visoko rizičnu populaciju. Također, studije poput nedavno objavljene u kojoj je pronađena varijanta u genu *GPR75* povezana s nižim ITM-om kod osoba meksičkog porijekla, zatim potvrđena knock-outom tog gena u miševima koji su pokazali rezistenciju na dobivanje težine unatoč prehrani bogatoj mastima (Akbari i sur., 2021.), mogle bi inicirati potragu za rijetkom genskom varijantom koja neke članove romske populacije potencijalno štiti od pretilosti.

U ovom istraživanju promatrali smo Rome iz tri regije Republike Hrvatske; Baranje, Međimurja i Zagreba, koje su odvojene geografski, ali Romi koji tamo žive imaju zajedničke indijske pretke. Ipak, preci današnjih hrvatskih Roma su prije dolaska u Hrvatsku proživjeli različite migracijske prošlosti. Romi Zagreba, odnosno, Balkanski Romi bili su slobodniji od Vlaških Roma, Roma Baranje i Međimurja, koji su dio svoje prošlosti prije dolaska u Hrvatsku proveli u ropstvu u Rumunjskoj (Škarić-Jurić i sur., 2007.). S obzirom da smo u istraživanju promatrali povijesno različite skupine Roma, njihova povijesna, geografska i reproduktivna razdvojenost potencijalno objašnjava razlike pronađene u srednjim vrijednostima gotovo svih mjerenih i izvedenih antropometrijskih varijabli. U populaciji Roma iz Zagreba veći broj ispitanika ima indeks tjelesne mase koji prelazi granične vrijednosti za prekomjernu masu i pretilost, što upućuje na zaključak da je ovoj urbanoj populaciji dostupna obilnija i kalorijski bogatija hrana za razliku od ruralnih populacija Vlaških/Bajaških Roma (Baranja i Međimurje) istraživanih u ovom radu.

Gen za leptinski receptor i njegovi polimorfizmi, kao i gen za leptin, zanimljivo su područje istraživanja genetičke podloge pretilosti. Početna istraživanja leptina, nakon njegova otkrića i potvrđene pretpostavke o njegovoj povezanosti s pretilošću, potvrdila su rezistentnost pretilih osoba na razine cirkulirajućeg leptina u tijelu, zbog čega su kasnija istraživanja usmjerena na istraživanja leptinskog receptora koji sudjeluje u metaboličko-signalnom putu leptina, ali dobiveni rezultati nisu bili konzistentni. Tako, npr., istraživanje provedeno u Brazilu (Mattevi i sur., 2002.) u kojem su proučavani polimorfizmi *LEP* A19G, *LEPR* Gln223Arg, *LEPR* Pro1019Pro i *NPY* Leu7Pro te njihov utjecaj na indeks tjelesne mase, pokazali su pozitivnu korelaciju samo između polimorfizma *LEPR* Gln223Arg i indeksa tjelesne mase. Autori su pretpostavili kako je kod polimorfizma Gln223Arg došlo do zamjene aminokiselina u blizini citokinina nužnog za vezanje leptina zbog čega je narušen prijenos signala o razini leptina do mozga, što dovodi do nepojavljivanja osjećaja sitosti, stalnog prejedanja, a samim time i pretilosti (Mattevi i sur., 2002.). Brojne studije istraživale su povezanost pretilosti i polimorfizma rs1805094 (Lys656Asn) *LEPR* gena, koji je istraživan i u ovoj studiji. Neke od studija otkrile su povezanost navedenog polimorfizma sa z-vrijednostima indeksa tjelesne mase (Almandil i sur., 2018.). S druge strane, neke studije nisu otkrile povezanost navedenog polimorfizma s indeksom tjelesne mase (Bander i sur., 2011.; Rojano-Rodriguez i sur., 2016.; Paracchini, 2005.). U ovom istraživanju romske populacije nije pronađena povezanost ovog polimorfizma s pokazateljima prekomjerne mase i pretilosti.

Glavnim uzrocima pretilosti smatraju se prekomjerman unos hranjivih tvari i nedovoljna fizička aktivnost. Novija istraživanja otkrila su i neke druge moguće uzročnike prekomjerne mase i pretilosti kao što su primjerice nedostatak sna, kemijski zagađivači, povećana stopa pušenja, farmakogeni, ali i prirodna selekcija za viši indeks tjelesne mase. Osim što stvara zdravstvene rizike za razvoj brojnih bolesti, pretilost stvara i sve veće probleme za zajednicu. Naime, najčešće ozljede pretilih i prekomjerno teških ljudi događaju se tijekom padova ili podizanja predmeta prilikom čega nastaju brojne povrede različitih dijelova tijela što povećava troškove liječenja povezane s pretilošću. Istraživanja provedena nad zaposlenicima Sveučilišta Duke u Sjedinjenim Američkim Državama pokazala su kako su pretili ljudi ( $ITM \geq 30,00 \text{ kg/m}^2$ ) imali dva puta više plaćenih bolovanja te izbivanja s radnog mjesta u odnosu na osobe čiji je ITM bio manji od  $30,00 \text{ kg/m}^2$  (Cawley, 2005.).



## 6. ZAKLJUČAK

U ovom istraživanju određena je učestalost alela i genotipova SNP varijante rs1805094 gena za leptinski receptor (*LEPR*) i SNP varijante rs35683 gena za grelin (*GHRL*) u trima populacijama Roma Hrvatske (s područja Baranje, Zagreba i Međimurja), nakon čega je ispitana povezanost polimorfničkih varijanti s antropometrijskim pokazateljima prekomjerne mase i pretilosti te su doneseni sljedeći zaključci:

- Učestalosti genotipova i alela polimorfizma rs1805094 gena *LEPR* ne razlikuju se između triju romskih populacija Hrvatske. U svima trima romskim skupinama najčešći je genotip GG; utvrđen kod 72,7% Roma iz Baranje, 73,2% Roma iz Međimurja i 62,5% Roma iz Zagreba, dok je najrjeđi bio genotip CC; utvrđen kod 2,3% Roma iz Baranje, 3,1% Roma iz Međimurja i 3,4% Roma iz Zagreba. Učestalost G alela iznosi 85% u populaciji Roma Baranje i Međimurja, a u Zagrebu 79,5%.
- Učestalosti genotipova polimorfizma rs35683 gena *GHRL* značajno se razlikuju između triju romskih populacija Hrvatske, dok se učestalosti alela ne razlikuju. U svima trima romskim skupinama najčešći je genotip CC; utvrđen kod 37,4% Roma iz Baranje, 31,0% Roma iz Međimurja i 47,7% Roma iz Zagreba, dok je najrjeđi bio genotip AA; utvrđen kod 8,4% Roma iz Baranje, 13,2% Roma iz Međimurja i 13,1% Roma iz Zagreba. S obzirom na najveći broj homozigota CC i AA, u Zagrebu je najmanja učestalost heterozigota – 39,2%, naspram 54,2% u Baranji i 55,8% u Međimurju. Učestalost C alela iznosi 64,5% u populaciji Roma Baranje, 58,9% u populaciji Roma Međimurja, a 67,3% u populaciji Roma Zagreba.
- Između genotipova oba analizirana polimorfizma nema otklona od Hardy-Weinberg-a ( $p = ns$ ).
- U istraživanom uzorku populacije Roma Hrvatske udio pretilih osoba ( $ITM \geq 30,00 \text{ kg/m}^2$ ) bio je 28,08%, podjednako muškaraca i žena, a osoba koje imaju prekomjernu tjelesnu masu ( $ITM \geq 25,00 \text{ kg/m}^2$ ) je bilo 58,96%, značajno više muškaraca nego žena. Pothranjenih ( $ITM < 18,50 \text{ kg/m}^2$ ) žena je bilo 3x više nego pothranjenih muškaraca (6,6% vs. 1,9%).
- Gledano samo za muškarce, značajno više pretilih Roma bilo je u populaciji Zagreba (39,1%), u odnosu na populaciju Roma Baranje (19,2%) i populaciju Roma Međimurja (21,6%). Unutar ženske populacije, pretilih Romkinja je bilo značajno

manje u Međimurju (16,2%), u odnosu na udjele pretilih Romkinja u Baranji (31,3%) i u Zagrebu (35,0%).

- S obzirom na granične vrijednosti definirane smjernicama IDF-a (2006.), povećani opseg trbuha javlja se značajno češće kod Romkinja (49,2%), nego kod Roma (34,1%). Nisu pronađene razlike u učestalostima između Romkinja iz triju geografskih regija, ali je Roma s opsegom trbuha iznad graničnih vrijednosti bilo značajno više u populaciji Zagreba (44,0%), u odnosu na populaciju Roma Baranje (31,5%) i populaciju Roma Međimurja (20,0%).
- Osobe oba spola iz svih triju regija koje nose genotip CC polimorfizma rs35683 gena *GHRL* imaju više srednje vrijednosti ITM-a od nositelja ostalih genotipova, a gledano odvojeno prema spolu, razlike su signifikantne samo kod žena. Također, u ukupnom uzorku, z-vrijednosti svih originalnih antropometrijskih varijabli su kod ispitanika koji su CC homozigoti bile značajno veće u odnosu na ispitanike koji imaju jedan ili dva A alela.
- Analizirana polimorfna varijanta rs1805094 gena *LEPR* nije pokazala povezanost, dok je analizirana polimorfna varijanta rs35683 gena *GHRL* pokazala povezanost s nekim pokazateljima prekomjerne tjelesne težine i pretilošću u populaciji Roma Hrvatske.

## 7. LITERATURA

### Radovi u časopisima

Akbari P., Gilani A., Sosina O., Kosmicki JA., Khrimian L., Fang YY., Persaud T., Garcia V., Sun D., Li A., Mbatchou J., Locke AE., Benner C., Verweij N., Lin N., Hossain S., Agostinucci K., Pascale JV., Dirice E., Dunn M., Regeneron Genetics Center; DiscovEHR Collaboration, Kraus WE., Shah SH., Chen YI., Rotter JI., Rader DJ., Melander O., Still CD., Mirshahi T., Carey DJ., Berumen-Campos J., Kuri-Morales P., Alegre-Díaz J., Torres JM., Emberson JR., Collins R., Balasubramanian S., Hawes A., Jones M., Zambrowicz B., Murphy AJ., Paulding C., Coppola G., Overton JD., Reid JG., Shuldiner AR., Cantor M., Kang HM., Abecasis GR., Karalis K., Economides AN., Marchini J., Yancopoulos GD., Sleeman MW., Altarejos J., Della Gatta G., Tapia-Conyer R., Schwartzman ML., Baras A., Ferreira MAR., Lotta LA. (2021): Sequencing of 640,000 exomes identifies GPR75 variants associated with protection from obesity. *Science* **373**(6550): eabf8683.

Almandil N B., Lodhi R J., Ren H., Besag F., Rossolatos D., Ohlsen R., Slomo C., Lapetina D L., Plazzotta G., Murray M L., Al-Sulaiman A A., Gringras P., Wong I C.K., Aitchison K J. (2018): Associations between the LEP -2548G/A Promoter and Baseline Weight and between LEPR Gln223Arg and Lys656Asn Variants and Change in BMI z Scores in Arab Children and Adolescents Treated with Risperidone. *Mol Neuropsychiatry* **4**:111-117.

Ashwell M., Gunn P., Gibson S. (2011): Waist-to-height ratio is a better screening tool than waist circumference and BMI for adult cardiometabolic risk factors: systematic review and meta-analysis. *Obesity Reviews* **13**: 275–286.

Bittner Fagan H., Diamond J., Myers R., & Gill J. M. (2008): Perception, Intention, and Action in Adolescent Obesity. *The Journal of the American Board of Family Medicine* **21**(6): 555–561.

Blackburn G. L., Walker W. A. (2005): Science-based solutions to obesity: what are the roles of academia, government, industry, and health care?. *The American Journal of Clinical Nutrition* **82**(1): 207-210.

Bogers R. P., (2007): Association of Overweight With Increased Risk of Coronary Heart Disease Partly Independent of Blood Pressure and Cholesterol Levels A Meta-analysis of 21 Cohort Studies Including More Than 300 000 Persons. *Archives of Internal Medicine* **167**(16): 1720.

Bouchard C. (2009): Childhood obesity: are genetic differences involved?. *Amer. J. Clin. Nutr.* **89**:1494–1501.

Bouret S. G. (2004): Trophic Action of Leptin on Hypothalamic Neurons That Regulate Feeding. *Science* **304**(5667): 108–110.

Campa D., Pardini B., Naccarati A., Vodickova L., Novotny J., Steinke V., Rahner N., Holsinki-Feder E., Morak M., Schackert H. K., Görgens H., Kötting J., Betz B., Kloor M., Engel C., Büttner R., Propping P., Försti A., Hwmminki K., Barale R., Vodicka P., Canzian F. (2010): Polymorphisms of genes coding for ghrelin and its receptor in relation to colorectal cancer risk: a two-step gene-wide case-control study. *Gastroenterology* **10**: 112.

Cawley J., Danziger S. (2005): Morbid obesity and the transition from welfare to work. *Journal of Policy Analysis and Management* **24**(4): 727–743.

Chacon-Cortes D., Griffiths L. (2014): Methods for extracting genomic DNA from whole blood samples: current perspectives. *Journal of Biorepository Science for Applied Medicine* **2**: 1–9.

Chakravarthy M. V., Booth F. W. (2004): Eating, exercise, and “thrifty” genotypes: connecting the dots toward an evolutionary understanding of modern chronic diseases. *Journal of Applied Physiology* **96**(1): 3–10.

Choi J.R., Koh S.B., Choi E. (2018): Waist-to-height ratio index for predicting incidences of hypertension: the ARIRANG study. *BMC Public Health* **18**: 4–9.

Cordain L., Gotshall R., Eaton S., Eaton S. (1998): Physical Activity, Energy Expenditure and Fitness: An Evolutionary Perspective. *International Journal of Sports Medicine* **19**(05): 328–335.

Delporte C. (2013): Structure and physiological actions of ghrelin. *Scientifica (Cairo)* 2013: 518909.

Diamond D. (1993): Seniority and maturity of debt contracts. *Journal of Financial Economics* **33**: 341-368.

Dragun M. (2000): Podrijetlo, mitologija i vjeronanja Roma. *Društvena istraživanja: časopis za opća društvena pitanja* **9**: 317–333.

Farooqi I. S., O'Rahilly, S. (2007): Genetic factors in human obesity. *Obesity Reviews* **8**(s1): 37–40.

Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, Perry JR, Elliott KS, Lango H, Rayner NW, Shields B, Harries LW, Barrett JC, Ellard S, Groves CJ, Knight B, Patch AM, Ness AR, Ebrahim S, Lawlor DA, Ring SM, Ben-Shlomo Y, Jarvelin MR, Sovio U, Bennett AJ, Melzer D, Ferrucci L, Loos RJ, Barroso I, Wareham NJ, Karpe F, Owen KR, Cardon LR, Walker M, Hitman GA, Palmer CN, Doney AS, Morris AD, Smith GD, Hattersley AT, McCarthy MI. (2007): A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* **316**(5826): 889-94.

García O. P., Long K. Z., Rosado J. L. (2009): Impact of micronutrient deficiencies on obesity. *Nutrition Reviews* **67**(10): 559–572.

George D., Mallery M. (2010); *SPSS for Windows Step by Step: A Simple Guide and Reference*, 17.0 update (10a ed.) Boston: Pearson.

Gresham D., Morar B., Underhill P. A., Passarino G., Lin A. A., Wise C., Kalaydjieva L. (2001): Origins and Divergence of the Roma (Gypsies). *The American Journal of Human Genetics* **69**(6): 1314–1331.

Gueorguiev M., Lecoecur C., Meyre D., Benzinou M., Mein C A., Hinney A., Vatin V., Weill J., Heude B., Hebebrand J., Grossman A B., Korbonits M., Frougel P. (2009): Association Studies on Ghrelin and Ghrelin Receptor Gene Polymorphisms With Obesity. *Obesity* **17**: 745-754.

Guh D. P., Zhang W., Bansback N., Amarsi Z., Birmingham C. L., Anis A. H. (2009): The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: A systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health* **9**(1): 88-108

Gruzdeva O., Borodkina D., Uchasova E., Dyleva Y., Barbarash O. (2019): Leptin resistance: underlying mechanisms and diagnosis. *Diabetes teab Syndr Obes* **12**: 191-198.

Haliti N., Čarapina M., Mašić M., Strinović D., Klarić I. M., Kubat M. (2009): Evaluation of population variation at 17 autosomal STR and 16 Y-STR haplotype loci in Croatians. *Forensic Science International: Genetics* **3**(4): 137–138.

Hrvatić N., Ivančić S. (2000): Povijesno-socijalna obilježja Roma u Hrvatskoj. Društvena istraživanja: časopis za opća društvena pitanja **9**: 251–266.

Kelesidis T. (2010): Narrative Review: The Role of Leptin in Human Physiology: Emerging Clinical Applications. *Annals of Internal Medicine* **152**(2): 93.

Klok MD., Jakobsdottir S., Drent ML. (2007): The role of leptin and ghrelin in the regulation of food intake and body weight in humans: a review. *Obes Rev* **8**(1): 21-34.

Krishnan M., Major TJ., Topless RK., Dewes O., Yu L., Thompson JMD., McCowan L., de Zoysa J., Stamp LK., Dalbeth N., Harré Hindmarsh J., Rapana N., Deka R., Eng WWH., Weeks DE., Minster RL., McGarvey ST., Viali S., Naseri T., Sefuiva Reupena M., Wilcox P., Grattan D., Shepherd PR., Shelling AN., Murphy R., Merriman TR. (2018): Discordant association of the CREBRF rs373863828 A allele with increased BMI and protection from type 2 diabetes in Māori and Pacific (Polynesian) people living in Aotearoa/New Zealand. *Diabetologia* **61**(7):1603-1613.

Lauc L., Miličić J., Barabalić M., Zajc M., Janićijević B. (2007): Trapped between tradition and transition- anthropological and epidemiological cross-sectional study of Bayash Roma in Croatia. *Croatian Medical Journal* **48**: 708–719.

Lean M., Han T. S., Deurenberg P. (1996): Predicting body composition by densitometry from simple anthropometric measurements. *American Journal of Clinical Nutrition* **63**: 4-14.

Li P., Tiwari H. K., Lin W-Y., Allison D., Chung W. K., Leibel R. L., Yi N., Liu N. (2014): Genetic Association Analysis of 30 Genes Related to Obesity in a European American Population. *International Journalist of Obesity* **38**: 724-729.

Licinio J., Mantzoros C., Negrão A. B., Cizza G., Wong M.-L., Bongiorno P. B., Gold P. W. (1997): Human leptin levels are pulsatile and inversely related to pituitary–adrenal function. *Nature Medicine* **3**(5): 575–579.

Llanaj E., Pikó P., Nagy K., Rácz G., János S., Kósa Z., Fialat S., Ádány R. (2020): Applicability of Obesity-Related SNPs and Their Effect Size Measures Defined on Populations with European Ancestry for Genetic Risk Estimation among Roma. *Genese* **11**:516.

Llanaj E., Vincze F., Kósa Z., Sándor, J., Diószegi J., Ádány R. (2020): Dietary Profile and Nutritional Status of the Roma Population Living in Segregated Colonies in Northeast Hungary. *Nutrients* 2020, **12**: 2836.

Macejova Z., Kristian P., Janicko M., Halanova M., Drazilova S., Antolova D., Marekova M., Pella D., Madarasova-Geckova A., Jarcuska P., Team H. (2020): The Roma Population Living in Segregated Settlements in Eastern Slovakia Has a Higher Prevalence of Metabolic Syndrome, Kidney Disease, Viral Hepatitis B and E, and Some Parasitic Diseases Compared to the Majority Population. *International journal of environmental research and public health* **17**(9): 3112.

Mačeková S., Bernasovský I., Gabriková D., Bôžiková A., Bernasovská J., Boroňová I., Behulová R., Švičková P., Petrejčíková E., Soták M., Sovičová A., Čarnogurská J. (2012): Association of the FTO rs9939609 Polymorphism With Obesity in Roma/Gypsy Population. *American Journal of Physical Anthropology* **147**: 30-34.

Mattevi V., Zembruski V., Hutz M. (2002): Association analysis of genes involved in the leptin-signaling pathway with obesity in Brazil. *International Journalist of Obesity* **26**: 1179-1185.

McCance RA (1975): Famines of history and of today. *Proc Nutr Soc.* **34**(3):161-6.

Mendizabal I., Lao O., Marigorta U. M., Wollstein A., Gusmão L., Ferak V., Kayser M. (2012): Reconstructing the Population History of European Romani from Genome-wide Data. *Current Biology* **22**(24): 2342–2349.

Minster R., Hawley N., Su CT. et al. (2016): A thrifty variant in CREBRF strongly influences body mass index in Samoans. *Nat Genet* **48**: 1049–1054.

Nagy K., Fiala S., Sánador J., Ádány R. (2017): Distinct Penetrance of Obesity-Associated Susceptibility Alleles in the Hungarian General and Roma Populations. *Obesity Facts* **10**: 444-457.

Neel J. (1962): Diabetes Mellitus: A 'Thrifty' Genotype Rendered Detrimental by 'Progress'? *Am J Hum Genet* **14**(4): 353-362.

Paracchini V, Pedotti P, Taioli E. (2005): Genetics of Leptin and Obesity: A HuGE Review. *Am J Epidemiol* **162**(2): 101–114.

- Poveda A., Ibáñez M E., Rebato E. (2014): Obesity and body size perceptions in a Spanish Roma population. *Annals of Human Biology* **41**(5): 428-435.
- Poveda A., Ibáñez M E., Rebato E. (2014): Common Variants in BDNF, FAIM2, FTO, MC4R, NEGR1, and SH2B1 Show Association With Obesity-Related Variables in Spanish Roma Population. *American Journal of Human Biology* **26**: 660-669.
- Prieto-Flores O. (2009): Does the canonical theory of assimilation explain the Roma case? Some evidence from Central and Eastern Europe. *Ethnic and Racial Studies* **32**: 1387–1405.
- Rojano-Rodriguez M E., Beristain-Hernandez J L., Zavaleta-Villa B., Maravilla P., Romero-Valdovinos M., Olivo-Diaz A. (2016): Leptin receptor gene polymorphisms and morbid obesity in Mexican patients. *Hereditas* **153**:2.
- Saad A., Adam I., Elzaki S E G., Awooda H A., Hamdan H Z. (2020): Leptin receptor gene polymorphisms c.668A>G and c.1968G>C in Sudanese women with preeclampsia: a case-control study. *BMC Med Genet.* **21**(1):162.
- Salihović M. P., Barešić A., Klarić I. M., Cukrov S., Lauc L. B., Janićijević B. (2011): The role of the Vlax Roma in shaping the European Romani maternal genetic history. *American Journal of Physical Anthropology* **146**(2): 262–270.
- Semagn K., Babu R., Hearne S., Olsen M.S. (2013): Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): Overview of the technology and its application in crop improvement. *Molecular Breeding* **33**: 1–14.
- Song Y, Miyaki K, Araki J, Zhang L, Omae K, Muramatsu M. (2007): The interaction between the interleukin 6 receptor gene genotype and dietary energy intake on abdominal obesity in Japanese men. *Metab. Clin. Exp.* **56**:925–930.
- Speakman J. R. (2008): Thrifty genes for obesity, an attractive but flawed idea and an alternative perspective: the “drifty gene” hypothesis. *International Journal of Obesity* **32**(11): 1611–1617.
- Strazzullo P., D’Elia L., Cairella G., Garbagnati F., Cappuccio F. P., & Scalfi, L. (2010): Excess Body Weight and Incidence of Stroke: Meta-Analysis of Prospective Studies With 2 Million Participants. *Stroke* **41**(5): 418–426.



Škarić-Jurić T, Martinović Klarić I, Smolej Narančić N, et al. (2007): Trapped between Tradition and Transition – Anthropological and Epidemiological Cross-sectional Study of Bayash Roma in Croatia. *Croat Med J* **48**(5): 708 – 719.

Škarić-Jurić T., Tomas Ž., Zajc Petranović M., Božina N., Smolej Narančić N., Janićijević B., Salihović M.P. (2018): Characterization of ADME genes variation in Roma and 20 populations worldwide. *PLoS One* **13**: e0207671.

Tomas Ž., Kuhanec A., Škarić-Jurić T., Petranović M.Z., Narančić N.S., Janićijević B., Salihović M.P. (2017): Distinctiveness of the Roma population within CYP2B6 worldwide variation. *Pharmacogenomics* **18**: 1575–1587.

Tomas Ž., Zajc Petranović M., Škarić-Jurić T, Barešić A., Peričić Salihović M., Smolej Narančić N. (2014): Novel locus for fibrinogen in 3' region of LEPR gene in island population of Vis (Croatia), *Journal of Human Genetics* **59**: 623–629

Várkonyi T., Lázár L., Molvarec A., Gábor Than N., Rigó Jr J., Nagy B. (2010): Leptin receptor (*LEPR*) SNP polymorphisms in HELLP syndrome patients determined by quantitative real-time PCR and melting curve analysis. *Medical Genetics* **11**: 25.

Yang Y., Shields G. S., Guo C., Liu Y. (2018): Executive function performance in obesity and overweight individuals: A meta-analysis and review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **84**: 225–244.

Zajc M., Smolej Narančić N., Martinović Klarić I., Miličić J., Barbalić M., Meljanac Salopek K., Martinović Klarić I., Janićijević B. (2006): Body Mass Index and Nutritional Status of the Bayash Roma from Eastern Croatia. *Coll. Antropol.* **30. 4**: 783–787.

Zajc Petranović M., Tomas Ž., Škarić-Jurić T., Smolej Narančić N., Janićijević B., Peričić Salihović M. (2018): The variation of CYP2C19 gene in the Roma population from Croatia. *Molecular and experimental biology in medicine* **1** (2): 32–37.

Zajc Petranović M., Tomas Ž., Škarić-Jurić T., Smolej Narančić N., Janićijević B., Stojanović A., Peričić Salihović M. (2019): The variability of multi-drug resistance ABCB1 gene in the Roma population from Croatia. *Molecular and experimental biology in medicine* **2**(1): 10-18.

Zeljko H M., Škarić-Jurić T., Smolej Narančić N., Tomas Ž., Barešić A., Peričić Salihović M., Starčević B., Janićijević B. (2011): E2 allele of the Apolipoprotein E gene polymorphism

is predictive for obesity status in Roma minority population of Croatia. *Lipids in Health and Disease* **10**:9.

Zhang Y., Proenca R., Maffei M., Barone M., Leopold L., Friedman J. M. (1994): Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* volume **372**: 425–432.

Zheng W., McLerran D. F., Rolland B., Zhang X., Inoue M., Matsuo K., He J., Gupta P. C., Ramadas K., Tsugane S., Irie F., Tamakoshi A., Gao Y. T., Wang R., Shu X. O., Tsuji I., Kuriyama S., Tanaka H., Satoh H., Chen C. J., Potter J. D. (2011): Association between body-mass index and risk of death in more than 1 million Asians. *The New England journal of medicine* **364**(8): 719–729.

#### Knjige i poglavlja u knjigama:

Barešić A., Peričić Salihović M., Jančićević B. (2014): *Rijetke bolesti u romskim populacijama Hrvatske*. CROSBİ

Jurić I. (2020): *Povezanost snage dišne muskulature s kardiovaskularnim i metaboličkim ishodima kardiopulmonalnog testa opterećenja*. Disertacija Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Medicinski fakultet u Osijeku.

Kumpatla S., Buyyarapu R., Abdurakhmonov I.Y., Mammadov J.A. (2012): *Genomics-assisted plant breeding in the 21st century: technological advances and progress*. Abdurakhmonov I. (ur.) In *Plant Breeding*. London, Intechopen, str. 131–184.

Weiner J.S., Lourie J.A. (1981): *Practical human biology*. Academic Press, London

#### Internetski izvori:

[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1805094?vertical\\_tab=true](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs1805094?vertical_tab=true) (pristupljeno: 11. kolovoza 2021.)

<https://ljudskaprava.gov.hr/ostvarivanje-prava-romske-nacionalne-manjine/584> (pristupljeno: 17. kolovoza 2021.)

<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (pristupljeno 19. ožujka 2021.)

<https://epha.org/wp-content/uploads/2019/02/closing-the-life-expectancy-gap-of-roma-in-europe-study.pdf> (pristupljeno 21. kolovoza. 2021.)

## 8. PRILOZI

### 8.1. Izolacija DNA iz pune krvi metodom isoljavanja (engl. *salting-out*)

#### 8.1.1. Biološki materijal

Krv je vađena venopunkcijom u sterilnu Vacutainer epruvetu s antikoagulansom K<sub>3</sub>EDTA (etildiamintetraoctena kiselina). Puna krv za izolaciju DNA bila je pohranjena u zamrzivaču na temperaturi -20°C prije vršenja izolacije DNA.

#### 8.1.2. Reagensi korišteni za isoljavanje DNA iz pune krvi

Za izolaciju DNA iz pune krvi metodom isoljavanja potrebni su sljedeći reagensi: pufer za hemolizu 10x, SE-liza pufer 10x, zasićena otopina NaCl-a, vodena otopina pronaze, TE pufer te 10%-tni SDS. Navedeni reagensi pripremaju se prema sljedećim uputama.

a) Pufer za hemolizu 10x:

- 82,9 g NH<sub>4</sub>Cl (155 mM)
- 10,0 g KHCO<sub>3</sub> (10 mM)
- 3,72 g Na<sub>2</sub>EDTA (1 mM) → KOMPLEKSAL III, C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>8</sub> · 2H<sub>2</sub>O

Otopina pufera za hemolizu 10x priprema se otapanjem navedenih sastojaka i omjera u 1 L destilirane vode. Korištenjem vodene otopine klorovodične kiseline pH-vrijednost otopine pufera namjesti se na 7,4, a zatim se tako dobivena otopina čuva na +4°C u hladnjaku. Prije upotrebe otopina se pufera razrjeđuje destiliranom vodom u omjeru 1:10.

b) SE-LIZA pufer 10x:

- 12,1 g TRIS-HCl (10 mM)
- 43,83 g NaCl (75mM)
- 89,33 g Na<sub>2</sub>EDTA (24mM)

Otopina SE-LIZA pufera 10x priprema se otapanjem navedenih sastojaka i omjera u 1 L destilirane vode. Nakon toga se vrijednost pH dobivene otopine dodatkom krutog natrijeva

hidroksida namjesti se na 8,0, otopina se sterilizira u autoklavu i čuva na sobnoj temperaturi do trenutka upotrebe, kada se pak otopina razrjeđuje destiliranom vodom u omjeru 1:10.

c) Zasićena otopina NaCl-a:

- 35 g NaCl

Zasićena otopina NaCl-a priprema se otapanjem 35 grama natrijeva klorida u 100 mL destilirane vode barem dan prije nego što se započne s izolacijom DNA.

d) Pronaza:

- 1 g pronaze

Otopina se priprema otapanjem jednog grama pronaze u 50 mL destilirane vode. Tako dobivena otopina se autodigestira u trajanju od dva sata na 37°C te razdijeli u koleksijske mikropruvete i čuva u zamrzivaču na -20°C do uporabe.

e) 10%-tni SDS:

- 50 g SDS

Otopina se priprema otapanjem 50 grama SDS-a u 500 mL destilirane vode i čuva na sobnoj temperaturi do uporabe. Prilikom vaganja SDS-a korištena je zaštitna maska radi zaštite od udisanja praškastih čestica SDS-a.

f) TE pufer:

- 1,21 g TRIS (10 mM)
- 0,37 g EDTA(1 mM)

Otopina TE pufera priprema se otapanjem navedenih sastojaka i omjera u 1 L destilirane vode. Uz pomoć vodene otopine klorovodične kiseline pH-vrijednost otopine namjesti se na 7,4, a zatim se otopina pufera sterilizira u autoklavu i čuva na sobnoj temperaturi do uporabe.

### 8.1.3. Pribor

Pribor potreban za izolaciju DNA metodom isoljavanja je:

- plastična epruveta (Falcon) od 50 ml, PP 30 x 115 mm
- plastična epruveta (Falcon) od 14 ml, PP 17 x 120 mm
- plastična sterilna kapaljka
- automatske pipete različitih volumena
- nastavci za automatske pipete („tipsevi”) različitih volumena
- kolekcijske mikroeprove s poklopcem od 1,5 ml
- velika centrifuga (Heraeus Multifuge 3L)
- mala centrifuga (Heraeus Biofuge Pico)
- termostat (Heraeus)
- vrtložna mješalica za epruvete („vortex”)

Izolacija DNA iz pune krvi izvršena je metodom isoljavanja (prema Miller, Dykes, i Polesky, 1988.). Metoda isoljavanja bazira se na djelovanju osmotskog tlaka čime dolazi do razaranja crvenih krvnih stanica (eritrocita) te odvajanja bijelih krvnih stanica (leukocita). DNA se izolira iz bijelih krvnih zrnaca liziranjem uz pomoć natrijeva dodecil-sulfata koji uklanja proteine, lipide, RNA molekule i druge. Enzim proteinaza razgrađuje nukleaze, što omogućava izolaciju molekule DNA bez oštećenja. Vodene otopine soli visokih koncentracija, kao što je vodena otopina natrijeva klorida, odvajaju DNA od proteina te ona zaostaje u supernatantu iz kojeg se pročišćava te izdvaja pomoću apsolutnog alkohola (etanola), resuspendira u TE puferu i čuva u hladnjaku na temperaturi od +4°C (Chacon-Cortes, Griffiths, 2014.).

### 8.1.4. Postupak izolacije DNA pomoću metode isoljavanja

Postupak izolacije DNA korištenjem metode isoljavanja traje dva do pet dana te je podijeljen u dvije faze. U prvoj fazi na 7 mL uzorkovane pune krvi dodaje se tri volumena pufera za hemolizu (1x) te se pažljivo promiješa. Potom se epruveta inkubira na ledu u trajanju od 20 minuta, nakon čega se centrifugira 10 minuta na 4000 rpm. Odlije se supernatant, a preostalom talogu doda 10 mL pufera za hemolizu. Talog se usitni snažnim lupanjem po epruveti. Postupak centrifugiranja ponovi se još jednom, nakon čega se preostalom talogu, kojeg dobijemo odlievanjem supernatanta, dodaje 3 mL SE-LIZA pufera (1x) i snažno miješa

nekoliko sekundi. Doda se 200  $\mu\text{L}$  enzima pronaze te se pažljivo promiješa. Nakon toga doda se 400  $\mu\text{L}$  10%-tnog natrijeva dodecil-sulfata (SDS-a) uz lagano miješanje, nakon čega se uzorak stavi na inkubaciju 2-5 dana u termostat na temperaturi od 37°C.

Druga faza započinje dodatkom 1 mL zasićene otopine natrijeva klorida (NaCl-a) uz snažno miješanje u trajanju 15-30 sekundi na vrtlogu (engl. *vortex*). Nakon centrifugiranja u trajanju od 10 minuta na brzini od 3000 rpm, supernatant se prenese u novu epruvetu te se dodaju dva volumena apsolutnog alkohola (96%-tnog etanola). Nakon 5 minuta DNA „ispliva“ na površinu te se prenese u novu epruvetu kojoj se doda 50  $\mu\text{L}$  70%-tnog alkohola etanola te se centrifugira minutu na 13.000 rpm. Potom se etanol odlije, a epruveta se ostavi otvorenom kako bi ishlapio preostali etanol. Na osušenu DNA doda se 250  $\mu\text{L}$  vode te se ostavi na 37°C preko noći, nakon koje slijedi miješanje na mješalici (engl. *shaker*) (najviše 2-3 dana) i zatim pohranjivanje DNA na -20°C u zamrzivač do korištenja. Koncentracija DNA određena je fluorometrom.

## 8.2. Genotipizacija uzoraka

U komercijalnom laboratoriju izvršena je genotipizacija polimorfizma rs1805094 gena *LEPR* i polimorfizma rs35683 gena *GHRL* na 440 uzoraka Roma iz triju regija Hrvatske (Tablica 1). Taj laboratorij koristi metodu KASP (engl. *competitive allele-specific PCR*) za određivanje genotipova (Semagn i sur., 2013.). Navedena metoda temelji se na fluorescenciji, a tehnologija se bazira na alel-specifičnom produženju oligonukleotidne sekvence i prijenosa energije fluorescentne rezonancije kako bi se generirao signal (Kumpatla i sur., 2012.).

Tablica 13. Broj genotipiziranih uzoraka prikazan odvojeno za svaku regionalnu subpopulaciju.

SNP	Ukupno	Baranja	Međimurje	Zagreb	Neuspjela genotipizacija
rs1805094	435	132	127	176	5
rs35683	436	131	129	176	4

### 8.3. Antropometrijska mjerenja

Antropometrijska mjerenja provedena su prema standardnom IBP protokolu (engl. *International Biological Programme*; Weiner i Lourie, 1981.), a uključivala su mjerenje visine i mase tijela, opsega nadlaktice, trbuha i bokova, te subskapularnog kožnog nabora i kožnog nabora tricepsa. Visina tijela ispitanika mjerena je uz pomoć stadiometra s najvećom mjernom vrijednosti 200 cm, pri čemu je ispitanik bio bosonog i uspravno stajao na vodoravnoj podlozi skupljenih stopala. Digitalnom vagom s preciznošću od 0,1 kg, smještenom na vodoravnoj podlozi za vrijeme mjerenja, izmjerena je masa ispitanika. Opseg nadlaktice mjereno je na polovištu duljine koju čine vrh ramena i lakat ruke, pri čemu je ispružena ruka opušteno visila uz tijelo. Opseg struka izmjereno je na polovici udaljenosti između posljednjeg rebra i vrha zdjelične kosti. Opseg bokova mjereno je preko najšireg dijela bokova i stražnjice. Svi opsezi izmjereni su nerastezljivom mjernom trakom s preciznošću od 1 mm. Opseg struka i bokova mjereno je u stojećem položaju ispitanika skupljenih nogu, s time da je mjerna traka bila paralelna s podom. Veličina kožnog nabora tricepsa izmjerena je na polovici duljine stražnje strane nadlaktice. Veličina subskapularnog kožnog nabora izmjerena je na polovici donjeg dijela lopatične kosti, gdje je nabor bio pri kutu od 45°. Vrijednosti oba kožna nabora određene su kaliperom s preciznošću od 0,1 mm. Prema IBP protokolu, sva su mjerenja vršena na nedominantnoj strani tijela (kod većine ispitanika radilo se o lijevoj strani tijela).

## 9. ŽIVOTOPIS

Svoj životni put započela sam u Zagrebu, 4. srpnja 1997. godine. Završila sam Osnovnu školu Miroslava Mrkše koja je u međuvremenu promijenila svoj naziv u Osnovna škola Sveta Klara. Po završetku osnovne škole upisala sam opći smjer X. gimnazije „Ivan Supek“ u Zagrebu. Tijekom srednjoškolskog obrazovanja uočila sam svoju zaljubljenost u kemiju koja je bila potaknuta dobrim predznanjem zahvaljujući učiteljici kemije iz osnovne škole. Svoju zaljubljenost u kemiju, ali i druge prirodoslovne predmete odlučila sam produbiti upisavši integrirani preddiplomski i diplomski studij biologije i kemije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija radila sam brojne poslove, kao što su animatorica u dječjoj rođendaonici, rad na blagajni u trgovačkom centru te rad u trima školama kao učitelj prirode, biologije i kemije (Privatna gimnazija Marul, Prva katolička osnovna škola u Gradu Zagrebu te Osnovna škola Otok). Od svega navedenog istaknula bi rad s djecom koji me uistinu ispunjava i zbog čega nimalo ne sumnjam u svoj izbor zanimanja. Izrazito se veselim budućim naraštajima prenositi svoje stečeno znanje.