

# Polimorfizmi gena CYP1A2 u populacijama Roma Hrvatske

---

**Slemenšek, Sunčica**

**Master's thesis / Diplomski rad**

**2022**

*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:217:586461>

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

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-23**



*Repository / Repozitorij:*

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



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Sunčica Slemenšek

**Polimorfizmi gena *CYP1A2* u populacijama  
Roma Hrvatske**

Diplomski rad

Zagreb, 2022.

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Sunčica Slemenšek

**Polymorphisms of *CYP1A2* gene in  
Croatian Roma population**

Master thesis

Zagreb, 2022.

Ovaj rad je izrađen na Institutu za antropologiju pod mentorstvom prof. dr.sc. Marijane Peričić Salihović u sklopu projekta HRZZ IP-2014-09-4454 „Utjecaj podrijetla i izolacije na ADME gene – primjer romske populacije”.. Rad je predan na ocjenu Biološkom odsjeku Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu radi stjecanja zvanja magistre edukacije biologije i kemije.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Diplomski rad

Polimorfizmi gena *CYP1A2* u populacijama Roma Hrvatske

Sunčica Slemenšek

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Gen *CYP1A2* kodira enzim koji sudjeluje u metabolizmu lijekova i odgovoran je za 95 % primarnog metabolizma kofeina. Varijacije gena *CYP1A2* posebno su slabo istraživane u manjinskim i/ili izoliranim populacijama kao što su Romi, transnacionalna populacija indijskog podrijetla koja živi kao manjina u gotovo svim zemljama Europe. Glavni cilj istraživanja bio je utvrditi na koji način demografska povijest i evolucijski mehanizmi utječu na distribuciju alela i haplotipova tri farmakogenetički relevantna polimorfizama gena *CYP1A2* u tri skupine Roma Hrvatske (Baranja, Međimurje i Balkan). Uzorci su genotipizirani metodom KASP (eng. Kompetitive Allele Specific PCR). Genotipizacijski podaci uspoređeni su učestalostima istraživanih SNP-ova u europskim i azijskim populacijama. U romskih skupinama Hrvatske od 3 analizirana SNP-a, rs2069514 bio je monomorfan. Rekonstruirana su 4 haplotipa koja su translatairana u zvjezdaste alela od kojih je najučestaliji \*1A i\*1F. Usporedbom istraživanih populacija temeljenoj na učestalosti haplotipova utvrđeno je kako populacije pokazuju homogeno grupiranje prema geografskoj pripadnosti, dok su Romi najheterogenija skupina. Balkanski Romi su najbližnja Europskim populacijama, Romi iz Baranje su smješteni između Europljana i populacija južne Azije dok je populacija Roma iz Međimurja u potpunosti odvojena.

(46 stranica, 10 slika, 23 tablice, 44 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Ključne riječi: ADME geni, haplotipovi, varijacije gena

Mentor: Marijana Peričić Salihović

Ocjenitelji:

prof. dr. sc. Marijana Peričić Salihović

prof. dr. sc. Ines Radanović

izv. prof. dr. sc. Draginja Mrvoš-Sermek

prof. dr. sc. Željka Soldin (zamjena)

Rad prihvaćen: 5.7.2022.

# BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Master thesis

## Polymorphisms of *CYP1A2* gene in Croatian Roma population

Sunčica Slemenšek

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

The *CYP1A2* gene encodes an enzyme involved in drug metabolism and is responsible for 95% of primary caffeine metabolism. Variations in the *CYP1A2* gene have been particularly poorly studied in minority and/or isolated populations such as the Roma, a transnational population of Indian descent living as a minority in almost all European countries. The main goal of the study was to determine how demographic history and evolutionary mechanisms affect the distribution of alleles and haplotypes of three pharmacogenetically relevant *CYP1A2* gene polymorphisms in three groups of Croatian Roma (Baranja, Međimurje and the Balkans). Samples were genotyped by KASP (Competitive Allele Specific PCR). Genotyping data were compared with the frequencies of the studied SNPs in European and Asian populations. In the Croatian Roma groups of the 3 analyzed SNPs, rs2069514 was monomorphic. 4 haplotypes were reconstructed and translated into stellar alleles, of which \*1A and \*1F are the most common. A comparison of the studied populations based on the frequency of haplotypes showed that the populations show a homogeneous grouping according to geographical affiliation, while Roma are the most heterogeneous group. Balkan Roma are most similar to European populations, Roma from Baranja are located between Europeans and South Asian populations, while Roma population from Međimurje is completely separated.

Key words: ADME gene, haplotypes, gene variations

Mentor: Marijana Peričić Salihović

Thesis is deposited in Central Biological Library.

(46 pages, 10 figures, 23 tables, 44 references, original in: Croatian)

Mentor:

Reviewers: prof. dr. sc. Marijana Peričić Salihović

prof. dr. sc. Marijana Peričić Salihović

prof. dr. sc. Ines Radanović

assoc. prof. dr. sc. Draginja Mrvoš-Sermek

prof. dr. sc. Željka Soldin (substitute)

Thesis accepted: 5.7.2022.

# Sadržaj

|  |    |
|--|----|
| 1. UVOD.....   | 1  |
| 1.1. Romi. ....  | 1  |
| 1.1.1. Povijest Roma.....  | 1  |
| 1.1.2. Socio-kulturološka obilježja.....                         | 2  |
| 1.1.3. Romi danas.....   | 3  |
| 1.1.4. Romi u Hrvatskoj.....                                     | 4  |
| 1.1.5. Genetička istraživanja romske populacije.....             | 5  |
| 1.1.6. Genetička istraživanja romske populacije u Hrvatskoj..... | 6  |
| 1.2. CYP1A2.....   | 7  |
| 1.2.1. Citokrom P450.....  | 7  |
| 1.2.2. ADME geni.....  | 8  |
| 1.2.3. CYP1A2.....   | 8  |
| 2. CILJ.....   | 10 |
| 3. MATERIJALI I METODE.....                                      | 11 |
| 3.1. Osnovne kemikalije i uređaji.....                           | 11 |
| 3.2. Uzorak .....  | 11 |
| 3.3. Genotipizacija uzoraka .....                                | 12 |
| 3.4. Statistička analize podataka.....                           | 16 |
| 4. REZULTATI.....  | 18 |
| 4.1. Genotipizacija .....  | 18 |
| 4.2. Analiza podataka.....                                       | 21 |
| 4.2.1. Intra-populacijske analize.....                           | 21 |
| 4.2.1.1. Romske populacije Hrvatske.....                         | 21 |
| 4.2.1.2. Europske populacije.....                                | 25 |

|  |    |
|--|----|
| 4.2.1.3. Populacije južne Azije.....   | 27 |
| 4.2.1.4. Populacije istočne Azije..... | 28 |
| 4.2.2. Inter-populacijske analize..... | 31 |
| 5. RASPRAVA .....                      | 35 |
| 6. ZAKLJUČAK.....                      | 41 |
| 7. LITERATURA .....                    | 42 |



## **KRATICE**

ADME – geni uključeni u apsorpciju, distribuciju, metabolizam i ekskreciju lijekova (eng. *Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion*)

AhR – (eng. *Aryl hydrocarbon receptor*)

DNA – deoksiribunukleinska kiselina

KASP – kompetitivni PCR specifičan za alele (eng. *Kompetitive Allele Specific PCR*)

PCR – lančana reakcija polimeraze (eng. *Polymerase Chain Reaction*)

SNP – jednonukleotidni polimorfizam (eng. *Single Nucleotide Polymorph*)

Zahvaljujem mentorici prof. dr. sc. Marijani Peričić Salihović na njenom stručnom vodstvu, srdačnosti i svakoj pomoći koju mi je pružila prilikom izrade ovog diplomskog rada. Zahvaljujem i ostalim zaposlenicima Instituta za antropologiju na pomoći i susretljivosti. Najveće hvala mojim roditeljima što su od mene napravili osobu kakva sam danas, što su mi omogućili da budem danas ovdje i što su prolazili sa mnom kroz svaki ispit kao da je njihov. Zahvaljujem baki, bratu i cijeloj obitelji na neupitnoj podršci tijekom studiranja, no posebno se zahvaljujem svom zaručniku Filipu i Holly na ljubavi, strpljenju i utjesi te što su bili moj vjetar u leđa svaki put kada sam mislila da nemam snage za dalje. Ovo je za sve vas.

Mama, uspjela sam!

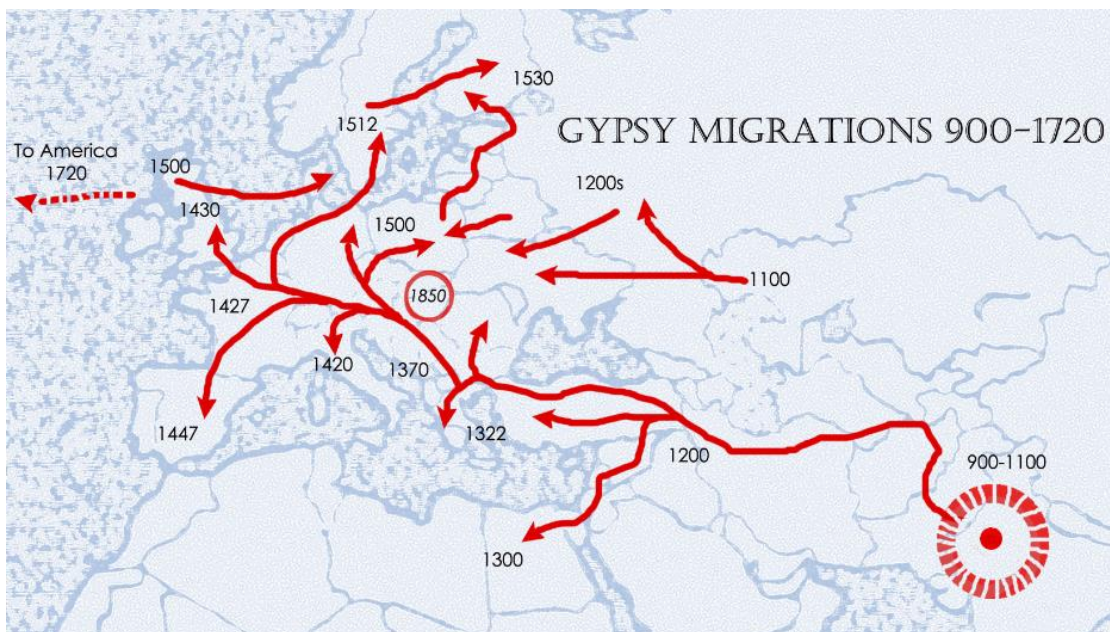
# 1. Uvod

## 1.1 Romi

### 1.1.1 Povijest Roma

Romi (romski řom ili rrom, muřkarac) su transnacionalna manjina koja řivi u Europi, te u Sjevernoj i Južnoj Americi. Podrijetlo vuku iz Azije, toćnije indijskog podkontinenta. Smatra se da su njihovi preci napustili područje danařnje sjeverozapadne Indije i danařnjeg Pakistana, prije oko 1500 godina. Romi su potom stigli u Perziju tijekom 9. stoljeća sudjelujući u migracijama stanovništva s istoka, no postoje i teorije da su bili inkorporirani u vojne postrojbe tijekom perzijske vojne agresije na Indiju. S obzirom da su lingvisti uočili veliki broj posuđenica iz perzijskog i armenskog jezika, Romi su zasigurno ne samo prošli kroz Perziju već se i stanovito vrijeme zadržali prvo u Perziji, a potom i Armeniji (Martinović Klarić 2009) te prije 900 do 1100 godina stigli u Bizantsko carstvo (Fraser 1992, Mendizabal i sur. 2012). Sve do 15. stoljeća trajale su postepene migracije Roma, gdje su se s Balkanskog područja proširili po cijeloj Europi te su na taj naćin nastale danas postojeće populacije Roma (Slika1.)

Migracije Roma po Europi mogu se pratiti kao tri glavna vala migracija: prvi nakon ukidanja ropstva u Rumunjskoj krajem 19. stoljeća, drugi iz Jugoslavije u 1960-ima i 1970-ima te trećim



Slika 1. Migracije Roma (preuzeto i prilagođeno prema <https://dnaconsultants.com>)

u 1990-ima iz istočne Europe zbog političko ekonomske situacije (Hancock 1987, Fraser 1992, Liégeois 1994, Reyniers 1995). Dio Roma je iz Europe migrirao u Južnu te Sjevernu Ameriku. Vrlo je teško donositi zaključke o podrijetlu i migracijama Roma jer ne postoji pisana povijest romske populacije, no mnoga lingvistička istraživanja ukazuju na to da romski jezici svoje korijene imaju u jezicima koji se govore na prostoru Indije, a posuđenice iz drugih jezika dokaz su migracija Roma kroz povijest.

### 1.1.2 Socio-kulturna obilježja

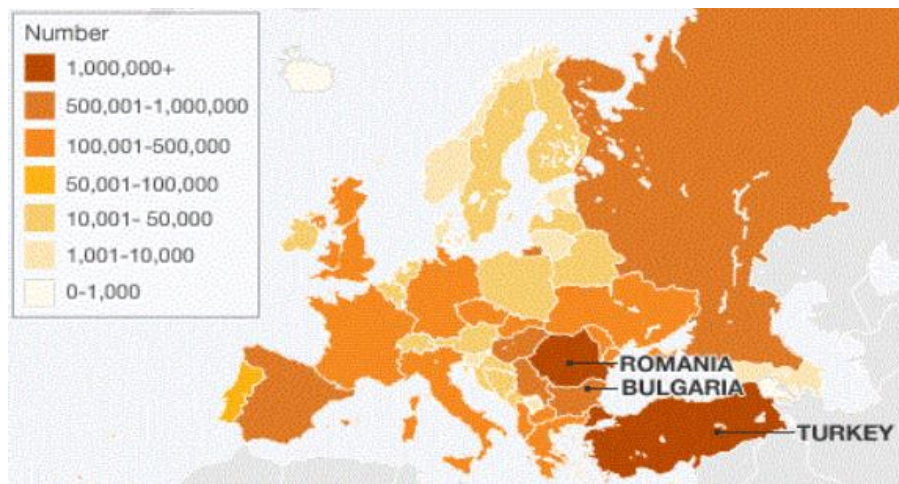
Romsko društvo se slijedom raznih povijesnih, kulturoloških i socijalnih čimbenika dijeli u grupe, a grupe mogu biti određene vlastitim dijalektom, religijom, zanimanjima i tradicijom. Antropolozi i etnolozi su uočili povezanost organizacije društva Roma s jatima u Indiji (Fraser 1992). Život u odvojenim grupama doveo je do endogamije tj. pronalaženje spolnog partnera isključivo unutar vlastite grupe pa samim time i smanjenu gensku raznolikost. Najviše Roma živi na predjelu jugoistočne Europe, a samo Bugarska broji preko pedesetak grupa Roma (Marushiakova i Popov 1997). Pojedinačne grupe mogu se svrstati u veće metagrupe – npr. Sinti u Njemačkoj, Kaló u Španjolskoj, Ciganos u Portugalu, Manouches u Francuskoj, Romanichals u Velikoj Britaniji (Kalaydjieva i sur. 2001b). Spoznaja da Romi vuku indijsko podrijetlo i rekonstrukcija glavnih puteva njihovih seoba nastale su zahvaljujući lingvističkim istraživanjima koja su prepoznala da postoji veza između sanskrta i romskog jezika. Nadalje, različiti dijalekti romskog jezika koji se govore u različitim romskih skupinama diljem Europe, s riječima i gramatičkim strukturama koje ne potječu iz Indije, rezultat su susreta s brojnim populacijama s kojima su Romi dolazili u kontakt na svom višestoljetnom putu od Indije prema Europi (Martinović Klarić 2009). Lingvisti su pomoću romskog govora potvrdili znanstvenu hipotezu o indijskom podrijetlu Roma i rekonstruirali migracijske puteve, koji su naknadno potvrđeni i od strane povjesničara te na posljetku i genetičara (Fraser 1992). Kroz povijest bilo je nekoliko pokušaja prisile Roma da žive sjedilačkim načinom života (npr. u Habsburškoj Monarhiji pod vladavinom Marije Terezije i Josipa II. i Španjolskoj pod vladavinom kralja Karla III.), ali takvi pokušaji nisu bili posve uspješni te se nomadski način života uspio održati sve do današnjih dana. Ipak, u zadnjih pola stoljeća Romi sve više prelaze na sjedilački način života (Martinović Klarić 2009).

## Romi danas

Romi nemaju vlastitu državu, govore različitim jezicima i ispovijedaju različite vjere. U Europi Romi predstavljaju najsiromašniju manjinu te su se često susretali s raznim negativnim interakcijama od strane većinskog stanovništva. Spomenute interakcije najčešće su se manifestirale u obliku etničke stigmatizacije, progona, diskriminacije, ekonomske, političke i kulturalne marginalizacije ili kompletnog socijalnog isključivanja Roma. Upravo zbog navedenih razloga te socijalnih i ekonomskih pritisaka unutar europskih država, Romi su postupno fragmentirani u razne grupe s vlastitim obilježjima (Martinović Klarić 2009).

Romi su oduvijek bili poznati po nomadskom načinu života, no u zadnjih pola stoljeća sve više prelaze na sjedilački način. Prema istraživanju Državnog zavoda za zaštitu obitelji, materinstva i mladeži iz 2002. godine, 51% Roma u Hrvatskoj je „starosjedilačko“ stanovništvo, 17% romskog stanovništva selilo se unutar Hrvatske, a ostali su doseljenici. Podatak koji potvrđuje navedeno je taj da je čak 88,8% ispitanih Roma rođeno u mjestu u kojem i danas živi, kao i 69,4% njihovih roditelja. Premda je većina prešla na sjedilački način života, i dalje možemo naići na Rome koji su nastavili sa seobama, ali razlika je u tome što danas, za razliku od prijašnjih vremena, koriste automobile ili kombi-vozila kako bi prevezli sebe i svoju imovinu na željenu destinaciju.

Veličina romske populacije u svijetu procjenjuje se na oko 15 milijuna od čega ih je najviše na području jugoistočne Europe, čak 12 milijuna. Rumunjska je država s najvećim apsolutnim brojem Roma negdje između 1 i 2 milijuna. Zatim slijede Mađarska, Bugarska, Slovačka, Turska, te Srbija u kojoj živi između 400 000 i milijun Roma. U zapadnoj Europi, najveći broj Roma živi u Španjolskoj (oko 750.000), a potom u Francuskoj (oko 310.000), Njemačkoj (oko 120.000) i Italiji (oko 100.000) (Martinović Klarić 2009).



Slika 2. Populacija Roma u Europi ( Council of Europe 2012.)

#### 1.1.4 Romi u Hrvatskoj

Prvi pisani dokument u kojem se Romi spominju na području Hrvatske, trgovački je spis iz Dubrovnika iz 1362. Samo desetak godina kasnije, 1373. godine, Romi se spominju i u Zagrebu, no nakon 1783. nema više podataka o prisustvu Roma na našem području. Međutim, u Hrvatsku tijekom 19. stoljeća dolaze nove velike romske skupine iz Rumunjske, u jednom od tri najveća vala. Pripadaju romskoj skupini Koritara, a naseljavaju područje Međimurja i Podravine, gdje su danas brojniji nego u drugim dijelovima Republike Hrvatske (Hrvatić 2004). Romske grupe Hrvatske možemo podijeliti u dvije skupine: vlaški Romi (Čurari, Bajaši, Lovari, Kalderaši i dr.) i balkanski Romi (Kaloperi, Čergaši i dr.). U Hrvatskoj najzastupljeniji su Bajaši kojima je tijekom ropstva u Rumunjskoj zabranjena uporaba vlastitog jezika pa danas govore arhaičnim staro-rumunjskim jezikom koji se naziva ljimba d'bjaš. Postoje tri različita dijalekta ovog jezika na našem području: erdeljski (Međimurje), baranjski mutenski (Baranja) i ludarski mutenski (Kutina, Sisak i Slavonski Brod) (Radosavljević 2010).

Prema posljednjim dostupnim podacima, dobivenim mapiranjem romskih lokaliteta u 15 županija Republike Hrvatske 2017. godine, procjenjuje se da u Republici Hrvatskoj živi ukupno 24.524 pripadnika romske nacionalne manjine. Najveći dio Roma u Republici Hrvatskoj (91,1%) rođen je na teritoriju Republike Hrvatske, tek manji dio stanovništva rođen je u Bosni i Hercegovini (3,1%), Kosovu (2,2%) i Srbiji (1,5%) .Hrvatsko državljanstvo ima preko 98%

romske populacije, dok je 1,8% Roma u Hrvatskoj bez hrvatskog državljanstva, od čega su identificirane 23 osobe bez državljanstva i jedne države. (Rašić i sur. 2020. )

### 1.1.5 Genetička istraživanja romske populacije

Genetička istraživanja romske populacije započela su iznimno kasno, a glavni cilj je bio potvrditi ili opovrgnuti hipotezu o indijskom podrijetlu Roma te istražiti odnose između romskih skupina iz različitih europskih zemalja (Kalaydjieva i sur. 2001a; Kalaydjieva i sur. 2001b) i većinskih europskih populacija na romsku zalihu gena. Gresham i suradnici su 2001. uspjeli su istraživanjima uniparentalnih polimorfizama: nerekombinirajuće regije kromosoma Y (NRY) i mitohondrijske DNA (mtDNA) potvrditi hipotezu o indijskom podrijetlu suvremenih Roma. U istraživanju je sudjelovalo 14 različitih romskih skupina u Europi, a rezultati su pokazali da je kod gotovo polovice muške populacije Roma prisutna azijska NRY haplogrupa H1a-M82, dok je mitohondrijska haplogrupa M, koja je također azijskog podrijetla, pronađena kod čak četvrtine ukupne populacije Roma. Ograničena genetička varijabilnost očinske i majčinske linije dovela je do zaključka da su suvremeni europski Romi potekli od utemeljitelja koji su se odvojili od etničke skupine koja je živjela na području Indije (Gresham i sur, 2001).

Morar je 2004. analizirao 14 romskih skupina podijeljenih u tri migracijske kategorije; balkansku, vlašku i zapadnoeuropsku (Morar i sur. 2004). Njihov cilj bio je istražiti učestalost mutacija i haplotipova odgovornih za nastanak pet autosomno-recesivnih bolesti, a to su; sindrom kongenitalne mijastenije, nasljedna senzomotorna neuropatija, deficit galaktokinaze, mišićna distrofija zdjeličnog pojasa te sindrom kongenitalnog katarakta, facijalnog dismorfizma i neuropatije. Rezultati istraživanja ukazali su na visoku učestalost nositelja mutacija unutar skupina, u rasponu od 5 do 16%, što je pokazatelj velikog utjecaja učinka utemeljitelja na genetsku strukturu romske populacije. Također, jedna od osam osoba iz opće romske populacije nositelj je jedne od pet analiziranih mutacija. Mutacija 81267delG odgovorna je za nastanak kongenitalne mijastenije, a pronađena je kod indijske, pakistanske i romske populacije. Navedena mutacija nije prisutna kod svih romskih populacija u Europi. Razlog takve neujednačene zastupljenosti ancestralne mutacije ukazuje na vrlo ranu diferencijaciju Roma u Europi koja je nastala kao posljedica različitih migracijskih puteva te pojave učinaka uskog grla unutar malih i odvojenih romskih skupina (Morar i sur. 2004).

Romske skupine u Europi pokazuju mnogo viši stupanj heterogenosti nego druge autohtone europske populacije. Veličina populacije osnivača, jači utjecaj genskog pomaka i trajne podjele među skupinama uvjetovane društvenim, socijalnim i kulturološkim običajima razlog su izrazito visokog stupanja različitosti između romskih skupina (Kalaydjieva i sur. 2001b).

#### 1.1.6. Genetička istraživanja romske populacije u Hrvatskoj

U posljednjih desetak godina provedeno je niz populacijsko-genetičkih analiza triju romskih populacija Hrvatske koje pripadaju različitim socio-kulturnim kategorijama s obzirom na migracije i jezik. To su populacije blakanskih Roma s područja Zagreba te populacije Roma Bajaša iz Međimurja i Baranje. U istraživanju Pokupčić iz 2012. analizirano je 15 autosomnih mikrosatelitnih lokusa i 16 mikrosatelitnih lokusa kromosoma Y populacija Roma nastanjenih u Baranji, Međimurju te Zagrebu i okolici. Istraživanje je utvrdilo da je genska raznolikost triju romskih populacija iz Hrvatske puno veća u odnosu na ostale romske populacije i na europske većinske populacije, te da je u odnosu na ukupnu indijsku populaciju gensku raznolikost manja (Pokupčić i sur. 2012.). Istraživanjem očinskih linija dviju bajških romskih populacija, iz Baranje i Međimurja, utvrđeno je da je H1a najzastupljenija haplogrupa, a ona potiče iz ancestralne indijske zalihe gena i njezina zastupljenost je rezultat dugotrajne izolacije romskih skupina (Martinović Klarić i sur. 2008). Druga najzastupljenija haplogrupa jest E3b1-M78, koja se pojavila u romskoj populaciji nakon njihovih dolaska u Europu. Neposredno nakon dolaska na Balkan i ropstva u Rumunjskoj u manjoj su mjeri usvojene ostale prisutne europske haplogrupe J2, R1a, I1, R1b1b2, G i I2a. Kod Bajaša iz Hrvatske također je analizirano majčino nasljeđe te je utvrđena zastupljenost mitohondrijskih haplogrupa X2 i U3 koje su dokaz bliskoistočnih migracijskih puteva Roma, dok prisustvo haplogrupe M ukazuje na indijske korijene (Peričić Salihović i sur. 2011). 2013. u istraživanju Barešić analizirano je 7 mikrosatelitnih lokusa kromosoma X na 189 ispitanika, pripadnika triju romskih populacija. U populaciju Roma iz Međimurja uočena je najveća homogenost, a najmanja kod Balkanskih Roma iz Zagreba. Također je utvrđeno da je unutar populacije Roma iz Međimurja učinak utemeljitelja bio najsnažniji. Prilikom analize vezanosti gena rezultati su pokazali da je stupanj neravnoteže vezanosti gena također najsnažniji u međimurskoj populaciji Roma, a najmanji je u populaciji Roma iz Zagreba. Također je utvrđeno da populacija Roma u Međimurju po stupnju izoliranosti



iskazanom putem neravnoteže vezanosti gena spada u skupinu izrazito izoliranih populacija, dok su populacije Roma iz Baranje i Zagreba manje izolirane.

## 1.2 CYP1A2

### 1.2.1 Citokrom P450

Enzimi citokroma P450 od iznimne su važnosti za organizam zbog metabolizma lijekova, kancerogenih spojeva i steroida te su ujedno i vrlo često predmet istraživanja. Citokromi P450 čine veliku i raznoliku superobitelj koja je sastavnih dio svih domena živog svijeta (Lamb i sur. 2009). Ime je dobila zbog toga što se nalazi u stanici, sadrži pigment hema, te apsorbira svjetlost na valnoj duljini od 450nm. Citokromi P450 po svom su djelovanju tipične monooksidaze te je ujedno i reakcija koju kataliziraju monooksidazna reakcija, primjerice, insercija jednog atoma kisika u alifatsko mjesto organskog supstrata (RH), dok se drugi reduciraju u oksidacijski stupanj vode. Osim što djeluju kao monooksidaze, mogu djelovati i kao oksidaze, peroksidaze, ali i katalizirati neke reduktivne reakcije (Rendić i Medić-Šarić, 2013).

CYP enzimi su hemproteini s između 400 do 500 aminokiselinskih ostataka i jednom hemprotetskom skupinom u aktivnom mjestu. Ljudski proteini CYP su prvenstveno membranski proteini te nalaze na unutarnjoj membrani mitohindrija ili na endoplazmatskom retikulumu. Metaboliziraju velik broj endogenih i egzogenih tvari. Neki enzimi su vrlo specifični te za njih postoji samo jedan supstrat, dok drugi mogu katalizirati mnoštvo reakcija. Prisutni su u većini tkiva, kao što su jetrene stanice, tanko crijevo, pluća, placenta i bubrezi (Slaughter i Edwards, 1995) te imaju važne uloge u metabolizmu i sintezi hormona, sintezi kolesterola, metabolizmu vitamina D te sintezi droga, lijekova te toksičnih tvari.

### 1.2.2. ADME geni

ADME geni su, kao što im i samo ime kaže, uključeni u adsorpciju, distribuciju, metabolizam i izlučivanje lijekova u organizmu (eng. **A**bsorption, **D**istribution, **M**etabolism, **E**xcretion). Razlog različitog odgovora na liječenje je njihova polimorfna priroda te niz drugih čimbenika kao što su dob, spol, težina, zdravstveno stanje, itd (Ravindra Kumar, Adithan 2007). ADME geni kodiraju za velik broj enzima poput citokroma P450, glutation S-transferaza, aldehid dehidrogenaza, alkohol dehidrogenaza, te velik broj različitih receptora. Vrste i učestalosti genskih varijacija u ADME genima razlikuju se unutar i između populacija, te imaju važan utjecaj na farmakokinetiku lijekova (Wilson i sur. 2001).

### 1.2.3. CYP1A2

CYP1A2 dio je citokroma P450. CYP1A2 čini približno 13% svih CYP proteina i iznimno je važan enzim u metabolizmu lijekova u jetri (Simon i sur, 2001). Za ovaj enzim postoji više od 100 supstrata uključujući i mnoge klinički važne lijekove. U usporedbi s drugim CYP proteinima uočava se znatno manja farmakogenomička aktivnost te se to smatra razlogom za postojanje manjeg broj lijekova za koje je CYP1A2 metabolizirajući enzim. Procjenjuje se da je za 75% varijacije u njegovoj aktivnosti odgovorna genska komponenta, dok su za preostali dio odgovorni okolišni čimbenici poput pušenja, prehrane i onečišćenja okoliša. Istraživanja su pokazala da pušenje, poliaminski ugljikovodici, omeprazol (pripada skupini lijekova koji se nazivaju "inhibitori protonske pumpe") te ostale inhibitorske pumpe znatno potiču aktivnost CYP1A2. S druge strane, oralni kontraceptivi, fluvoksamin (antidepresiv), fluorokinoloni, smanjuju njegovu aktivnost. Također, zabilježene su mnoge varijante gena *CYP1A2*, a neke od njih utječu na metabolizam lijekova.

CYP1A2 je odgovoran za više od 95% primarnog metabolizma kofeina. Neke studije su ispitivale kofein kao modulator etiologije bolesti, promatrajući unos hrane i pića koja sadrže kofein s obzirom na rizik od bolesti. Dvije nedavne i nezavisne studije o povezanosti genoma proučavale su utjecaj polimorfizama na unos kofeina. Obje su pronašle povezane varijante u regulatornoj regiji *CYP1A2* gena (rs2472304 i rs2472297) i u njegovom regulatoru AhR (aryl hydrocarbon receptor) (Sulem i sur. 2011) .

Nadalje, studije su pokazale da je CYP1A2 važan za doziranje nekoliko antipsihotika njihove učinkovitost i eventualnih nuspojava. CYP1A2 je najvažnija izoforma CYP uključena u metabolizam klozapina (antipsihotik koji može biti djelotvoran u liječenju shizofrenije). Također, proučavana je veza između pušenja i reakcija na klozapin kod pacijenata oboljelih od shizofrenije. Isto tako, CYP1A2 utječe na antitrombotički lijek klopidogrel. Pušenje povećava inhibiciju trombocita posredovanu klopidogrelom i to je vjerojatno putem indukcije CYP1A2 (Kalow i sur. 1991).

Gen *CYP1A2* nalazi se na kromosomu 15 zajedno s *CYP1A1*. *CYP1A2* veličine je od oko 7,8 kB, sastoji se od 6 introna i 7 eksona, prvi egzon je nekodirajući. Otkriveno je više od 40 polimorfizama pojedinih nukleotida (single nucleotide polymorphisms (SNPs) gena *CYP1A2*. *CYP1A2* visoko je eksprimiran te inducibilan u jetri, mozgu, plućima, probavnom sustavu i gušterači. Dokazano je da se u kombinacijama s drogama ili u kombinaciji s pušenjem mijenja odgovor samog enzima. Istraživanja su pokazala da varijacije polimorfizama *CYP1A2* gena ne utječu na ergogeni učinak (poboljšanje fizičke sposobnosti) prouzročen uzimanjem manje doze kofeina kod sportaša (Wang i sur, 2011). Međutim, istraživanja varijacija *CYP1A2* su u ranim stadijima u usporedbi s drugim CYP enzimima te postoji značajna potreba za daljnjim ispitivanjima kako bi se dokazao učinak varijacija.

## 2. Cilj

Glavni cilj istraživanja je utvrditi na koji način demografska povijest i evolucijski mehanizmi utječu na distribuciju alela i haplotipova tri farmakogenetički relevantna polimorfizama gena *CYP1A2* u trima populacijama Roma Hrvatske. Izrazito dobro metabolizirajući aleli ovog gena kod teških pušača za posljedicu mogu imati neodgovarajući terapijski učinak, stoga će se ovim istraživanjem utvrditi koliki je udio romske populacije na ovaj način ugrožen, jer će se dobiti informacije o učestalosti pojedinih metabolizirajućih fenotipova.

Navedeni cilj biti će ostvaren kroz sljedeće specifične ciljeve:

- 1) odrediti učestalost alela i genotipova za lokuse gena *CYP1A2* (rs2069514, rs2069526 i rs762551)
- 2) utvrditi podvrgavanje genotipova Hardy-Weinbergovoj ravnoteži
- 3) odrediti učestalost haplotipova na temelju genotipova istraživanih lokusa kod tri Romske populacije
- 4) odrediti učestalost haplotipova na temelju genotipova lokusa gena *CYP1A2* (rs2069514, rs2069526 i rs762551) u populacijama Europe i Azije koji su javno dostupni u bazi *1000 Genomes Project*
- 5) translirati haplotipove u farmakogenetički relevantne zvjezdaste alele te odrediti i usporediti njihovu učestalost u istraživanim romskim populacijama i populacijama Europe i Azije
- 6) odrediti genetičke udaljenosti između istraživanih populacija kako bi se pozicionirale romske populacije u odnosu na ostale s obzirom na učestalost haplotipova

### 3. Materijali i metode

#### 3.1. Osnovne kemikalije i uređaji

Osnovne kemikalije i uređaji koji su korišteni tijekom ovog istraživanja navedeni su u Tablicama 1. i 2.

Tablica 1. Osnovne kemikalije za genotipizaciju uzoraka

| Kemikalije                                      | Proizvođač             |
|---|------------------------|
| KASP 1536 V4.0 Master Mix                       | LGC Genomics           |
| TaqMan® GTXpress™ Master Mix                    | Life Technologies      |
| TaqMan Master Mix (za genotipizaciju)           | Life Technologies      |
| PerfeCTa® qPCR ToughMix®                        | Quanta BioSciences     |
| Komplet SensiFAST™ Lo-ROX (za genotipizaciju)   | Bioline                |
| Univerzalne probe Bioline SsoAdvanced™ Supermix | Bio-Rad Laboratories   |
| Neobilježene početnice i probe BHQplus          | Biosearch Technologies |

Tablica 2. Uređaji korišteni u izvedbi istraživanja

| Uređaji Douglas Scientific          |
|-------------------------------------|
| NEXAR (uređaj za toplinske cikluse) |
| SOELLEX (vodena kupelj PCR)         |
| ARAYA (skener za fluorescenciju)    |

### 3.2. Uzorak

Za istraživanje će se uzorci DNA izolirane metodom isoljavanja (Miller i sur, 1988) iz krvi pripadnika romskih populacija sa područja Baranje, Međimurja i Balkana. Uzorci su prikupljeni tijekom antropoloških i epidemioloških istraživanja Instituta za antropologiju.

Tablica 3. Veličine uzoraka na kojima su izvršene DNA analize

| Populacija    | Broj       |
|---------------|------------|
| Baranja       | 111        |
| Međimurje     | 102        |
| Balkan        | 92         |
| <b>Ukupno</b> | <b>305</b> |

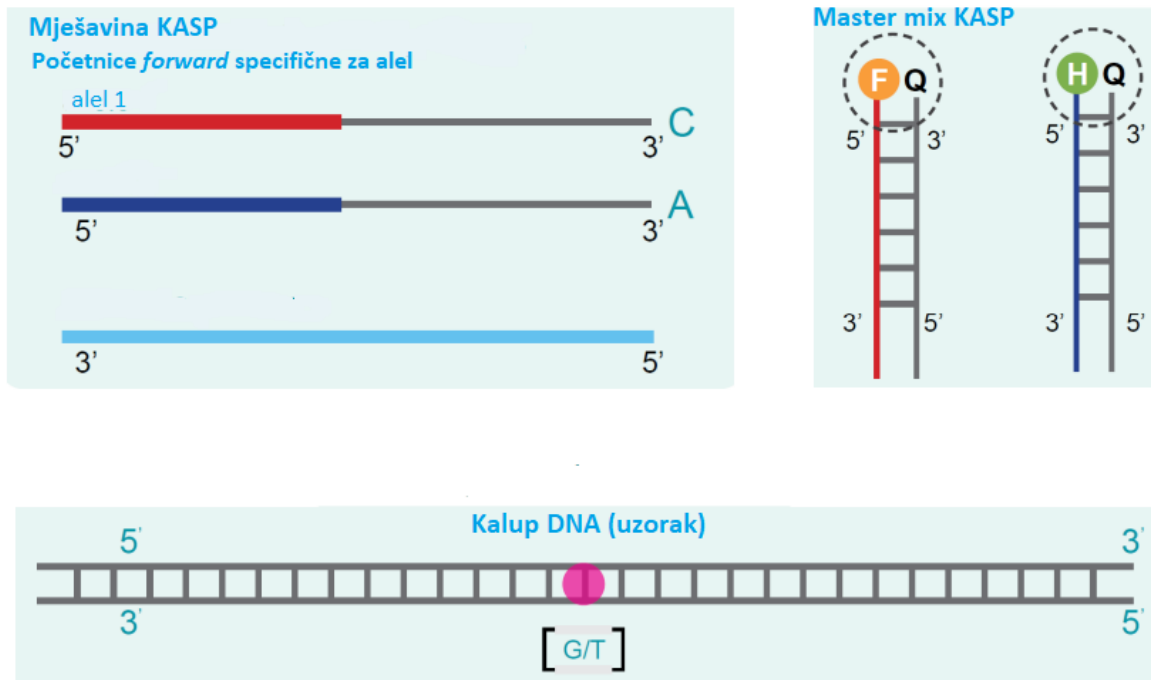
### 3.3 Genotipizacija uzoraka

Tablica 4. Polimorfizmi gena CYP1A2 važni za ovo istraživanje ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov))

| Lokus     | Lokacija/kromosom 15 | Aleli | Varijacija |
|-----------|----------------------|-------|------------|
| rs2069514 | 74745879             | G>A   | SNP        |
| rs2069526 | 74749000             | T>G   | SNP        |
| rs762551  | 74749576             | C>A/G | SNP        |

Uzorci su genotipizirani u komercijalnom laboratoriju metodom KASP (eng. Kompetitive Allele Specific PCR). To je metoda bazirana na kompetitivnoj lančanoj reakciji polimeraze (PCR) i omogućuje bialelno određivanje polimorfizma jednog nukleotida (SNP, eng. single nucleotide polymorphism) te insercije i delecije na istraživanom lokusu (He i sur. 2014). Metoda KASP zbiva se kroz tri komponente (Slika 3.). Prvu komponentu čini DNA koja će se umnožiti, drugu KASP mješavina koja se sastoji od dvije početnice specifične za SNP od interesa i jedne

početnice reverse te KASP master mixa koji sadrži kazetu FRET (eng. fluorescence resonant energy transfer) i polimerazu Taq u puferskoj otopini.



Slika 3. Komponentne metode KASP (slika je prilagođena i preuzeta s [www.lgcgroup.com](http://www.lgcgroup.com) )

U prvom ciklusu PCR-a, jedna od početnica specifičnih za alel veže se za kalup DNA i zajedno s odgovarajućom početnicom reverse umnožava početnu DNA. U drugom ciklusu reverzna početnica veže se, elongira i stvara komplementarnu kopiju alela 1 te nastaje komplement sekvencije 3' kraja specifične za alel (Slika 4.). U trećem ciklusu dolazi do vezanja oligonukleotida za komplementarni rep sekvence te tada on više nije utišan (Slika 2.). U daljnjim ciklusima lančane reakcije polimeraze povećava se razina sekvencije 3' kraja specifične za alel.

### Denaturirani kalup i komponentne prijanjanja - 1. ciklus PCR-a



U prvom ciklusu PCR-a jedna od početnica specifična za alel sparuje se s ciljanim SNP-om te s odgovarajućom reverznom početnicom amplificira ciljanu regiju

### Nastali komplement repne sekvence specifične za alel - 2. ciklus PCR-a



Veže se reverzna početnica, elongira i stvara komplementarnu kopiju repa alela 1

### Detekcija signala - 3. ciklus PCR-a



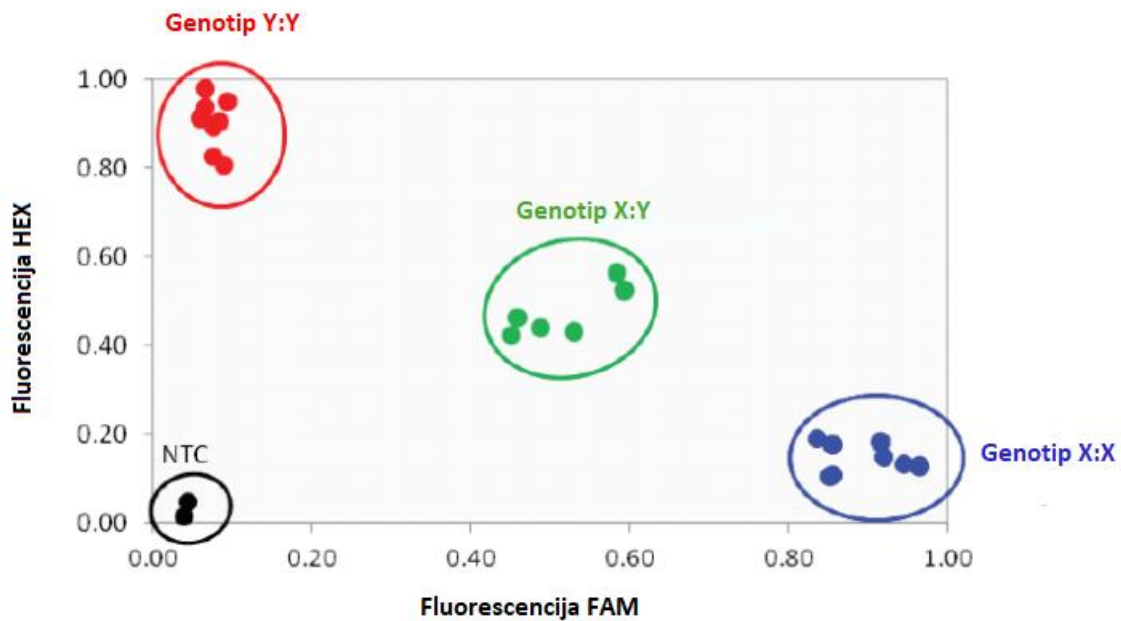
Obilježen FAM-om oligonukleotid veže se za komplementarni rep sekvence te više nije utišan

Slika 4. Grafički prikaz reakcije KASP (prilagođeno i preuzeto prema [malariajournal.biomedcentral.com](http://malariajournal.biomedcentral.com))

Kako bi se odredio broj homozigota i heterozigota, moraju se interpretirati fluorescentni signali koji su dobiveni nakon lančane reakcije polimerazom. Fluorescentni signali prenose se



na grafički prikaz gdje os x označava fluorescencijsku vrijednost boje FAM, a os y fluorescencijsku vrijednost boje HEX. FAM i HEX su zaštićena imena boja korištenih u metodi KASP. U slučaju da je genotip ispitivanog uzoraka homozigotan dolazi do emitiranja samo jednog fluorescentnog signala FAM ili HEX, a u slučaju heterozigota emitiraju se oba signala. Uzorak koji je homozigotan za alel koji detektira boja FAM emitirat će samo fluorescenciju FAM. Točka na grafičkom prikazu nalazit će se bliže osi x, označavajući signal FAM te pritom neće biti signala druge boje (što označavaju plave točke na Slici 5.). Ukoliko je uzorak homozigotan za alel koji detektira boja HEX, emitirat će se samo HEX fluorescencija te će se točke nalaziti bliže osi y, te označava signal HEX i izostanak signala druge boje (što označavaju crvene točke na Slici 3.). Heterozigotni uzorak emitirat će oba signala, te će signali biti upola manji u odnosu na homozigotne uzorke. Točke na grafičkom prikazu nalaze se u centru, otprilike jednako udaljeni i od osi x i od osi y (što označavaju zelene točke na Slici 5.).



Slika 5. Grafički prikaz klastera genotipova detektiranih metodom KASP (preuzeto i prilagođeno prema [LGC Group - LGC Group](#))

### 3.4. Statistička analiza podataka

Za usporedbu romskih populacija s populacijama Europe i Azije korišteni su podaci iz javno dostupne baze podataka *1000 Genomes Project* ([www.1000genomes.org](http://www.1000genomes.org)) (Tablica 5.). Učestalost alela i genotipova za tri istraživana lokusa (Tablica 4.) dostupna je na mrežnim stranicama navedene baze podataka.

**Tablica 5.** Populacije uključene u analizu

| Kratica | Skupina       | Populacija                  | Veličina uzorka |
|---------|---------------|-----------------------------|-----------------|
| CEU     | Europa        | Populacija središnje Europe | 99              |
| FIN     | Europa        | Finci                       | 99              |
| GBR     | Europa        | Britanci                    | 91              |
| IBS     | Europa        | Španjolci                   | 107             |
| TSI     | Europa        | Talijani                    | 107             |
| BEB     | Južna Azija   | Bengalci                    | 86              |
| GIH     | Južna Azija   | Indijci                     | 103             |
| ITU     | Južna Azija   | Indijci iz Velike Britanije | 102             |
| PJL     | Južna Azija   | Pakistanci                  | 96              |
| STU     | Južna Azija   | Tamili (Šri Lnaka)          | 102             |
| JPT     | Istočna Azija | Japanci                     | 104             |
| CHS     | Istočna Azija | Han Kinezi iz južne Kine    | 105             |
| CDX     | Istočna Azija | Dai Kinezi                  | 93              |
| CHB     | Istočna Azija | Han Kinezi iz Pekinga       | 103             |
| KHV     | Istočna Azija | Vijetnamci                  | 99              |

Učestalost alela i genotipova utvrđena je metodom prebrojavanja. Podvrgavanje Hardy-Weinbergovoj ravnoteži utvrđeno je pomoću programa Arlequin ver 3.5.2.2 (Excoffier i sur. 2005).

Haplotipovi iz populacijskih podataka rekonstruirani su pomoću računalnog programa Phase ver. 2.1. (Stephens i sur. 2001).

Haplotovi su translantirani u farmakogenetički relevantnu nomenklaturu (zvjezdasta nomenklatura engl. *star allele nomenclature*) pomoću translacijske tablice dostupne na mrežnoj stranici <https://www.pharmgkb.org>. Ukoliko je bilo moguće prema podacima s iste stranice utvrđeni su i metabolizirajući fenotipovi.

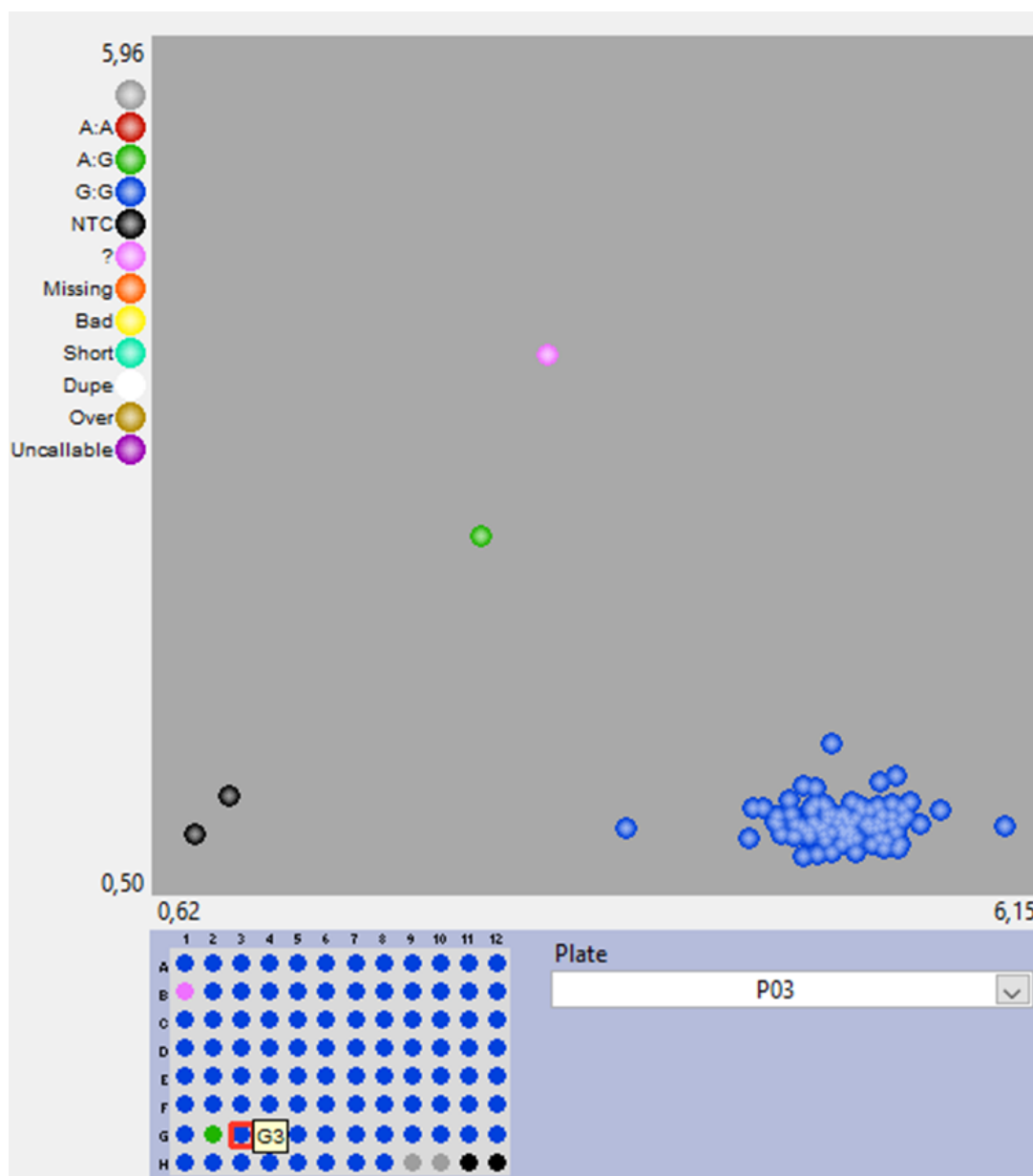
Razlike u učestalosti alela između populacija utvrđene su Fisherovim exact testom koji je online dostupan preko mrežne stranice <https://rdrr.io/snippets/>.

Genetičke udaljenosti između populacija izračunate su na temelju učestalosti haplotipova i prikazane su kao vrijednosti Reynoldsovih koeficijenata (engl. *Reynold's coancestry coefficients*). (Reynolds i sur, 1983) u obliku matrice pomoću programa Arlequin ver 3.5.2.2 (Excoffier i sur, 2005). Vizualizacija genetičkih udaljenosti prikazana je metodom višedimenzionalnog skaliranja (engl. *Multidimensional scaling*) za čiji izračun je korišten program ggplot2 u sklopu statističkog paketa R (Wickham i sur, 2016).

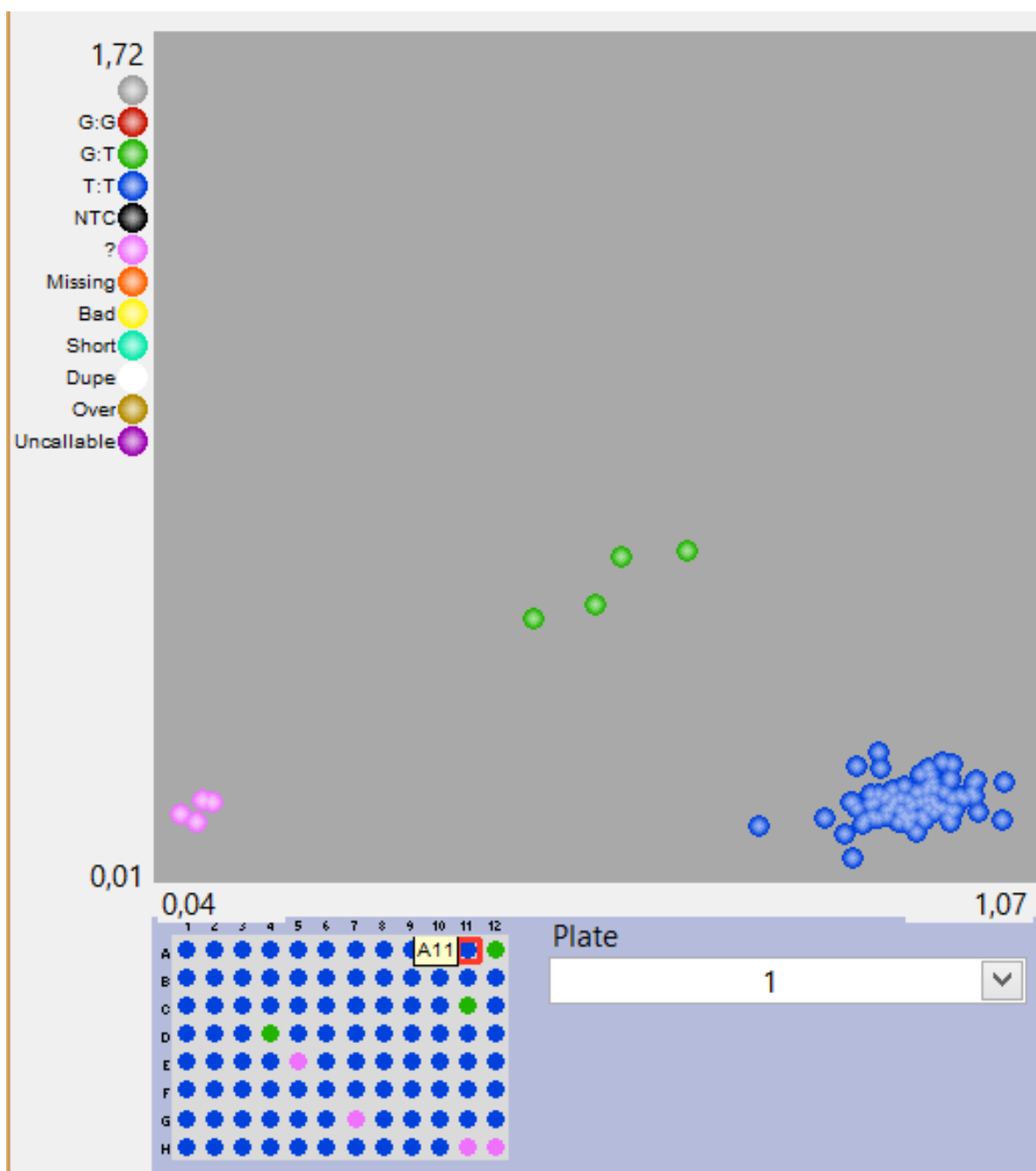
## 4. Rezultati

### 4.1. Genotipizacija

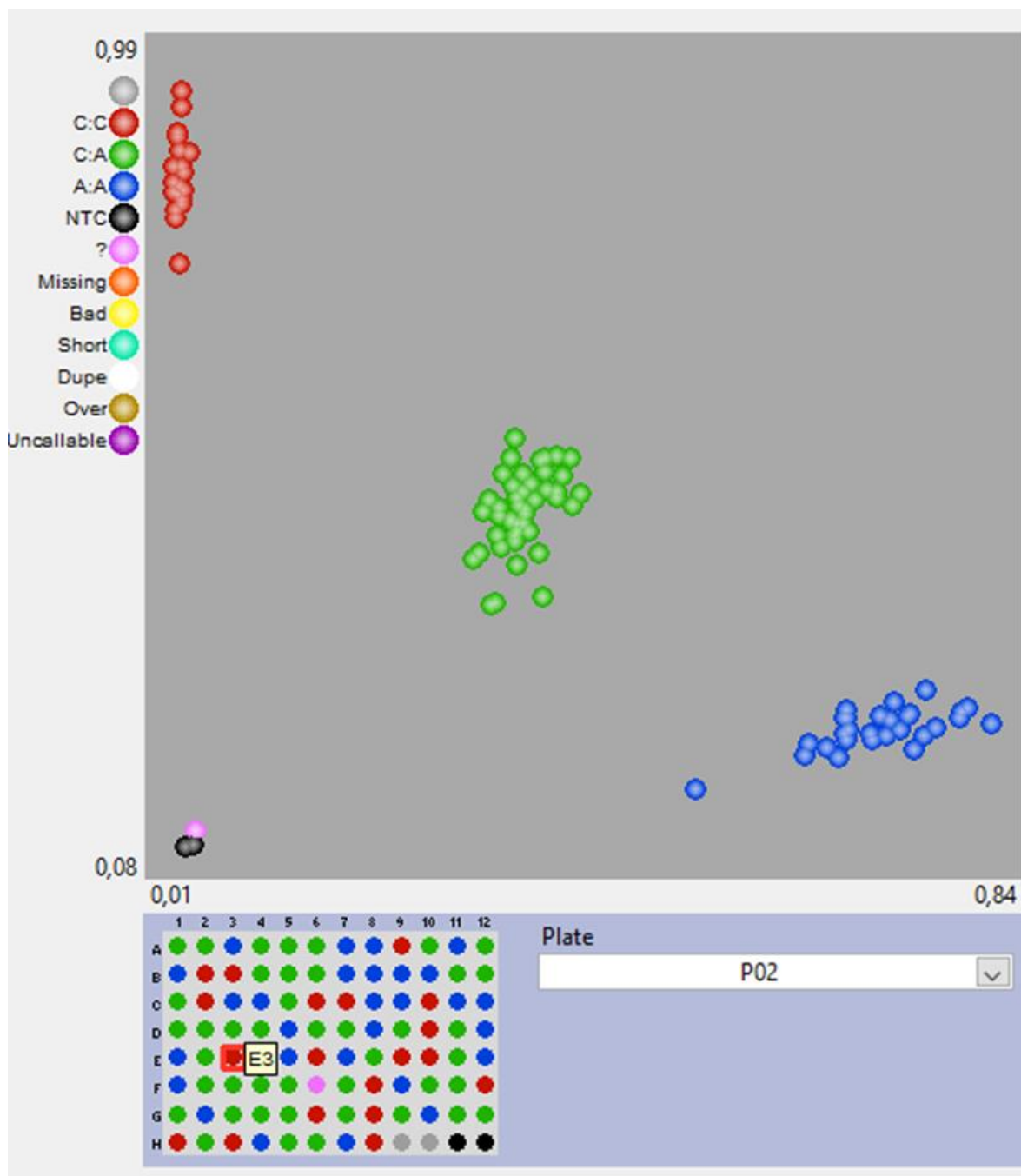
Slike 6., 7. i 8. grafički prikazuju rezultate genotipizacije za istraživane polimorfizme *CYP1A2* gena.



Slika 6. Analiza lokusa rs2069514. Zelena boja označava genotip A:G, plava genotip G:G, crna negativnu kontrolu bez kalupa DNA, a ružičasta genotip koji se ne može očitati.



Slika 7. Analiza lokusa rs2069526. Zelena boja označava genotip G:T, plava genotip T:T, crna negativnu kontrolu bez kalupa DNA, a ružičasta genotip koji se ne može očitati. Ovaj lokus je polimorfan.



Slika 8. Analiza lokusa rs762551. Zelena boja označava genotip C:A, plava genotip A:A, crvena genotip C:C, crna negativnu kontrolu bez kalupa DNA, a ružičasta genotip koji se ne može očitati. Ovaj lokus je polimorfan.

## 4.2. Analiza podataka

### 4.2.1. Intra-populacijska analiza

#### 4.2.1.1. Romske populacije Hrvatske

U tablici 6. prikazane su učestalosti alela i genotipova unutar tri romske populacije. Analizirana su 3 SNP-a, rs2069514, rs2069526 i rs762551 te je utvrđeno kako su rs2069526 i rs762551 polimorfni u sve tri populacije, dok se kod SNP-a rs2069514 samo kod jednog pripadnika Roma s Balkana javlja alel A. Također je vidljivo da je alel T znatno učestaliji od alela G kod SNP-a rs2069526, a da su oba alela podjednako zastupljena kod SNP-a rs762551.

**Tablica 6.** Učestalosti alela i genotipa u populacijama Roma u Hrvatskoj.

|           |         |     | Baranja | Međ | Balkan | Baranja    | Međ    | Balkan | Ukupno |
|-----------|---------|-----|---------|-----|--------|------------|--------|--------|--------|
|           |         |     | broj    |     |        | učestalost |        |        |        |
| rs2069514 | genotip | G:G | 111     | 102 | 91     | 1,0000     | 1,000  | 0,9891 | 0,9964 |
|           |         | A:G | 0       | 0   | 1      | 0          | 0      | 0,0109 | 0,0036 |
|           | alel    | G   | 222     | 204 | 182    | 1,0000     | 1,000  | 0,9945 | 0,9980 |
|           |         | A   | 0       | 0   | 1      | 0          | 0      | 0,0055 | 0,0018 |
| rs2069526 | genotip | G:T | 7       | 6   | 6      | 0,0630     | 0,0588 | 0,0652 | 0,0623 |
|           |         | T:T | 104     | 96  | 86     | 0,9369     | 0,9412 | 0,9347 | 0,9376 |
|           | alel    | G   | 7       | 6   | 6      | 0,0315     | 0,0294 | 0,0326 | 0,0312 |
|           |         | T   | 215     | 198 | 178    | 0,9684     | 0,9706 | 0,9674 | 0,9688 |
| rs762551  | genotip | A:A | 23      | 11  | 39     | 0,2072     | 0,1078 | 0,4239 | 0,2463 |
|           |         | C:A | 66      | 56  | 39     | 0,5956     | 0,5490 | 0,4239 | 0,5228 |
|           |         | C:C | 22      | 35  | 14     | 0,1981     | 0,3431 | 0,1522 | 0,2311 |
|           | alel    | A   | 112     | 78  | 117    | 0,5045     | 0,3824 | 0,6358 | 0,5076 |
|           |         | C   | 110     | 126 | 67     | 0,4955     | 0,6176 | 0,3641 | 0,4924 |

Tablice 7., 8 i 9. prikazuju rezultate utvrđivanja Hardy-Weinbergove ravnoteže. Vrijedost p predstavlja statističku značajnost u razlikama između očekivanog i opaženog broja heterozigota. Analizom je utvrđeno da svi polimorfni SNP-ovi, (rs2069526 i rs762551) slijede Hardy-Weinbergovu ravnotežu. SNP rs2069514 je monomorfna kod Roma iz Baranje i Međimurja, a kod balkanskih roma se javlja samo jedan heterozigot.

**Tablica 7.** Hardy-Weinbergova ravnoteža za polimorfizme gena *CYP1A2* u romskoj populaciji Baranje

| Baranja          | Broj genotipova     | H <sub>o</sub> | H <sub>e</sub> | Vrijednost p |
|------------------|---------------------|----------------|----------------|--------------|
| <b>rs2069514</b> | Lokus je monomorfna |                |                |              |
| <b>rs2069526</b> | 111                 | 0,0630         | 0,0678         | 0,9429       |
| <b>rs762551</b>  | 111                 | 0,5956         | 0,5550         | 0,1369       |

Ho – uočena heterozigotnost; He – očekivana heterozigotnost

**Tablica 8.** Hardy-Weinbergova ravnoteža za polimorfizme gena *CYP1A2* u romskoj populaciji Međimurja

| Međimurje        | Broj genotipova     | H <sub>o</sub> | H <sub>e</sub> | Vrijednost p |
|------------------|---------------------|----------------|----------------|--------------|
| <b>rs2069514</b> | Lokus je monomorfna |                |                |              |
| <b>rs2069526</b> | 102                 | 0,0588         | 0,0582         | 0,9543       |
| <b>rs762551</b>  | 102                 | 0,5490         | 0,4818         | 0,2606       |

Ho - uočena heterozigotnost; He - očekivana heterozigotnost

**Tablica 9.** Hardy-Weinbergova ravnoteža za polimorfizme gena *CYP1A2* u romskoj populaciji Balkana

| Balkan           | Broj genotipova | H <sub>o</sub> | H <sub>e</sub> | Vrijednost p |
|------------------|-----------------|----------------|----------------|--------------|
| <b>rs2069514</b> | 92              | 0,0109*        | –              | –            |
| <b>rs2069526</b> | 92              | 0,0652         | 0,99           | 0,9986       |
| <b>rs762551</b>  | 92              | 0,4239         | 0,4260         | 0,7916       |

Ho - uočena heterozigotnost; He - očekivana heterozigotnost

\*zbog izrazito niske učestalosti heterozigota HWE nije računat

U Tablici 10. prikazane su učestalosti haplotipova u trima romskim populacijama (Baranja, Međimurje i Balkan). Haplotip GTA je među najbrojnijima u svim populacijama tj. 47,29 % u Baranji, 35,29% u Baranji i 59,78% na Balkanu. GTA haplotip ima najveću učestalost na



Balkanu, dok u Baranji (49,55%) i Međimurju (61,76%) najveću učestalost ima haplotip GTC. Na Balkanu je pronađen i jedan uzorak s haplotipom ATA.

**Tablica 10.** Učestalost haplotipova gena *CYP1A2* u romskim populacijama Hrvatske

| Populacija | Haplotip | Broj haplotipova | Učestalost |
|------------|----------|------------------|------------|
| Baranja    | GTA      | 105              | 0,4729     |
|            | GTC      | 110              | 0,4955     |
|            | GGA      | 7                | 0,0315     |
| Međimurje  | GTA      | 72               | 0,3529     |
|            | GTC      | 126              | 0,6176     |
|            | GGA      | 6                | 0,0294     |
| Balkan     | GTA      | 110              | 0,5978     |
|            | GTC      | 67               | 0,3641     |
|            | GGA      | 6                | 0,0326     |
|            | ATA      | 1                | 0,0054     |

Haplotipovi su translirani u zvjezdastu nomenklaturu te je učestalost zvjezdastih alela prikazana u Tablici 11., dok je učestalost zvjezdastih diplotipova prikazana u Tablici 12. U romskim populacijama se uočava razlika u učestalosti zvjezdastih alela, u populaciji Roma iz Baranje i Međimurja je najučestaliji \*1A dok je kod balkanskih Roma najučestaliji alel \*1F. Kod sve tri romske populacije najučestaliji je diplotip \*1A,\*1F.

**Tablica 11.** Učestalost zvjezdastih alela u populacijama Roma Hrvatske

| Zvjezdasti alel |            | Balkan | Baranja | Međimurje |
|-----------------|------------|--------|---------|-----------|
| <b>*1A</b>      | broj       | 67     | 110     | 126       |
|                 | učestalost | 0,3641 | 0,4955  | 0,6176    |
| <b>*1F</b>      | broj       | 110    | 105     | 72        |
|                 | učestalost | 0,5978 | 0,4730  | 0,3529    |
| <b>*1JKW</b>    | broj       | 6      | 7       | 6         |
|                 | učestalost | 0,0326 | 0,0315  | 0,0294    |
| <b>*1L</b>      | broj       | 1      | 0       | 0         |
|                 | učestalost | 0,0054 | 0,0000  | 0,0000    |

**Tablica 12.** Učestalost zvjezdastih diplotipova u populacijama Roma Hrvatske

| Zvjezdasti diplotip |            | Balkan | Baranja | Međimurje |
|---------------------|------------|--------|---------|-----------|
| <b>*1A,*1A</b>      | broj       | 14     | 22      | 35        |
|                     | učestalost | 0,1522 | 0,1982  | 0,3431    |
| <b>*1A,*1F</b>      | broj       | 38     | 59      | 51        |
|                     | učestalost | 0,4130 | 0,5315  | 0,5       |
| <b>*1A,*1JKW</b>    | broj       | 1      | 7       | 5         |
|                     | učestalost | 0,0109 | 0,0631  | 0,0490    |
| <b>*1F,*1F</b>      | broj       | 33     | 23      | 10        |
|                     | učestalost | 0,3587 | 0,2072  | 0,0980    |
| <b>*1F,*JKW</b>     | broj       | 5      | 0       | 1         |
|                     | učestalost | 0,0543 | 0,0000  | 0,0098    |
| <b>*1F,*1L</b>      | broj       | 1      | 0       | 0         |
|                     | učestalost | 0,0109 | 0,0000  | 0,0000    |

#### 4.2.1.2. Europske populacije

U Tablici 13. prikazane su učestalosti haplotipova u populacijama europskog podrijetla. Utvrđeno da je u svim istraživanim populacijama najučestaliji haplotip GTA, čija se učestalost kreće u rasponu od 70,2 do 56,4%. GTC je drugi po redu po učestalosti u ovim populacijama.

**Tablica 13.** Učestalost haplotipova gena *CYP1A2* u populacijama zemalja Europe

| Populacija | Haplotip | Broj haplotipova | Učestalost |
|------------|----------|------------------|------------|
| <b>CEU</b> | GTA      | 139              | 0,7020     |
|            | GTC      | 54               | 0,3232     |
|            | GGA      | 1                | 0,0051     |
|            | ATA      | 4                | 0,0202     |
| <b>FIN</b> | GTA      | 119              | 0,6010     |
|            | GTC      | 61               | 0,3081     |
|            | GGA      | 11               | 0,0556     |
|            | ATA      | 7                | 0,0353     |
| <b>GBR</b> | GTA      | 126              | 0,6923     |
|            | GTC      | 49               | 0,2692     |
|            | GGA      | 5                | 0,0274     |
|            | ATA      | 2                | 0,0110     |
| <b>TSI</b> | GTA      | 121              | 0,5654     |
|            | GTC      | 81               | 0,3785     |
|            | GGA      | 7                | 0,0327     |
|            | ATA      | 5                | 0,0234     |
| <b>IBS</b> | GTA      | 135              | 0,6310     |
|            | GTC      | 77               | 0,3598     |
|            | GGA      | 0                | 0,0000     |
|            | ATA      | 2                | 0,0103     |

U populacijama Europe (Tablici 14.) uočava se sličnost u učestalosti zvjezdastih alela, u svim populacijama najučestaliji je zvjezdasti alel \*1F. U svih populacija najučestaliji diplotip je \*1F,\*1F, dok je u Španjolaca (IBS) najučestaliji \*1A,\*1F. (Tablica 10.)

**Tablica 14.** Učestalost zvjezdastih alela u populacijama Europe

| Zvjezdasti alel |            | CEU     | GBR    | FIN    | IBS    | TSI    |
|-----------------|------------|---------|--------|--------|--------|--------|
| <b>*1A</b>      | Broj       | 54      | 49     | 61     | 77     | 49     |
|                 | Učestalost | 0,2727  | 0,2692 | 0,3081 | 0,3598 | 0,2692 |
| <b>*1F</b>      | Broj       | 139     | 126    | 119    | 135    | 126    |
|                 | Učestalost | 0,7020  | 0,6923 | 0,6010 | 0,6308 | 0,6923 |
| <b>*1JKW</b>    | Broj       | 1       | 5      | 11     | 0      | 5      |
|                 | Učestalost | 0,00501 | 0,0275 | 0,0556 | 0      | 0,0275 |
| <b>*1L</b>      | Broj       | 4       | 2      | 7      | 2      | 2      |
|                 | Učestalost | 0,0202  | 0,0110 | 0,0354 | 0,0093 | 0,0110 |

**Tablica 15.** Učestalost zvjezdastih diplotipova u populacijama Europe

| Zvjezdasti diplotip |            | CEU    | GBR    | FIN    | IBS    | TSI    |
|---------------------|------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| <b>*1A,*1A</b>      | broj       | 8      | 8      | 11     | 15     | 8      |
|                     | učestalost | 0,0808 | 0,0879 | 0,1111 | 0,1402 | 0,0879 |
| <b>*1A,*1F</b>      | broj       | 38     | 30     | 32     | 46     | 30     |
|                     | učestalost | 0,3838 | 0,3297 | 0,3232 | 0,4299 | 0,3297 |
| <b>*1A,*1JKW</b>    | broj       | 0      | 2      | 3      | 0      | 2      |
|                     | učestalost | 0,0000 | 0,0220 | 0,0303 | 0,0000 | 0,0220 |
| <b>*1A,*1L</b>      | broj       | 0      | 1      | 4      | 1      | 1      |
|                     | učestalost | 0,0000 | 0,0110 | 0,0404 | 0,0093 | 0,0110 |
| <b>*1F,*1F</b>      | broj       | 48     | 46     | 39     | 44     | 46     |
|                     | učestalost | 0,4848 | 0,5055 | 0,3939 | 0,4112 | 0,5055 |
| <b>*1F,*JKW</b>     | broj       | 1      | 3      | 7      | 0      | 3      |
|                     | učestalost | 0,0101 | 0,0330 | 0,0707 | 0,0000 | 0,0330 |
| <b>*1F,*1L</b>      | broj       | 4      | 1      | 2      | 1      | 1      |
|                     | učestalost | 0,0404 | 0,0110 | 0,0202 | 0,0093 | 0,0110 |
| <b>*1JKW,*1L</b>    | broj       | 0      | 0      | 1      | 0      | 0      |
|                     | učestalost | 0,0000 | 0,0000 | 0,0101 | 0,0000 | 0,0000 |

#### 4.2.1.3. Populacije južne Azije

U Tablici 16. prikazane su učestalosti haplotipova u populacijama Južne Azije. Analizom je utvrđeno da je u svim zemljama Južne Azije također najučestaliji haplotip GTC, jedino kod populacije Bengalaca u Bangladešu (BEB) učestalost haplotipa GTC jednaka je učestalosti haplotipa GTA i iznosi 42,44%.

**Tablica 16.** Učestalost haplotipova gena CYP1A2 u populacijama Južne Azije.

| Populacija | Haplotip | Broj haplotipova | Učestalost |
|------------|----------|------------------|------------|
| <b>BEB</b> | GTA      | 73               | 0,4244     |
|            | GTC      | 73               | 0,4244     |
|            | GGA      | 9                | 0,0523     |
|            | ATA      | 17               | 0,0988     |
| <b>GIH</b> | GTA      | 81               | 0,3932     |
|            | GTC      | 98               | 0,4757     |
|            | GGA      | 15               | 0,0728     |
|            | ATA      | 12               | 0,0582     |
| <b>ITU</b> | GTA      | 78               | 0,3824     |
|            | GTC      | 93               | 0,4559     |
|            | GGA      | 22               | 0,1078     |
|            | ATA      | 11               | 0,0539     |
| <b>PJL</b> | GTA      | 78               | 0,4063     |
|            | GTC      | 88               | 0,4583     |
|            | GGA      | 11               | 0,0573     |
|            | ATA      | 15               | 0,0781     |
| <b>STU</b> | GTA      | 68               | 0,3333     |
|            | GTC      | 103              | 0,5049     |
|            | GGA      | 10               | 0,0490     |
|            | ATA      | 23               | 0,1127     |

U populacijama Južne Azije najučestaliji zvjezdasti alel je \*1A. (Tablica 17.), dok je najučestaliji diplotip \*1A,\*1F (Tablica 18.)

**Tablica 17.** Učestalost zvjezdastih alela u populacijama Južne Azije

| Zvjezdasti alel |            | BEB    | STU    | GIH    | ITU    | PJL    |
|-----------------|------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| <b>*1A</b>      | broj       | 73     | 103    | 98     | 93     | 88     |
|                 | učestalost | 0,4244 | 0,5049 | 0,4757 | 0,4559 | 0,4583 |
| <b>*1F</b>      | broj       | 73     | 68     | 81     | 78     | 78     |
|                 | učestalost | 0,4244 | 0,3333 | 0,3932 | 0,3824 | 0,4063 |
| <b>*1JKW</b>    | broj       | 9      | 10     | 15     | 22     | 11     |
|                 | učestalost | 0,0523 | 0,0490 | 0,0728 | 0,1078 | 0,0573 |
| <b>*1L</b>      | broj       | 17     | 23     | 12     | 11     | 15     |
|                 | učestalost | 0,0988 | 0,1127 | 0,0583 | 0,0539 | 0,0781 |

**Tablica 18.** Učestalost zvjezdastih diplotipova u populacijama Južne Azije

| <b>Zvjezdasti diplotip</b> |            | <b>BEB</b> | <b>STU</b> | <b>GIH</b> | <b>ITU</b> | <b>PJL</b> |
|----------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>*1A,*1A</b>             | broj       | 16         | 28         | 24         | 23         | 20         |
|                            | učestalost | 0,1860     | 0,2745     | 0,2330     | 0,2255     | 0,2083     |
| <b>*1A,*1F</b>             | broj       | 26         | 29         | 36         | 31         | 32         |
|                            | učestalost | 0,3023     | 0,2843     | 0,3495     | 0,3039     | 0,3333     |
| <b>*1A,*1JKW</b>           | broj       | 5          | 5          | 8          | 11         | 7          |
|                            | učestalost | 0,0581     | 0,0490     | 0,0777     | 0,1078     | 0,0729     |
| <b>*1A,*1L</b>             | broj       | 10         | 13         | 6          | 5          | 9          |
|                            | učestalost | 0,1163     | 0,1275     | 0,0583     | 0,0490     | 0,0938     |
| <b>*1F,*1F</b>             | broj       | 19         | 12         | 19         | 18         | 20         |
|                            | učestalost | 0,2209     | 0,1176     | 0,1845     | 0,1765     | 0,2083     |
| <b>*1F,*JKW</b>            | broj       | 4          | 5          | 3          | 7          | 4          |
|                            | učestalost | 0,0465     | 0,0490     | 0,0291     | 0,0686     | 0,0417     |
| <b>*1F,*1L</b>             | broj       | 5          | 10         | 4          | 4          | 2          |
|                            | učestalost | 0,0581     | 0,0980     | 0,0388     | 0,0392     | 0,0208     |
| <b>*1JKW,*1JKW</b>         | broj       | 0          | 0          | 1          | 1          | 0          |
|                            | učestalost | 0,0000     | 0,0000     | 0,0097     | 0,0098     | 0,0000     |
| <b>*1JKW,*1L</b>           | broj       | 0          | 0          | 2          | 2          | 0          |
|                            | učestalost | 0,0000     | 0,0000     | 0,0194     | 0,0196     | 0,0000     |
| <b>*1L,*1L</b>             | broj       | 1          | 0          | 0          | 0          | 2          |
|                            | učestalost | 0,0116     | 0,0000     | 0,0000     | 0,0000     | 0,0208     |

#### 4.2.1.4. Populacije istočne Azije

U Tablici 19. prikazane su učestalosti haplotipova u populacijama Istočne Azije. Analizom je utvrđeno da se učestalost haplotipovima u Istočnoj Aziji razlikuje od populacije do populacije. U trima populacijama najveću učestalost ima haplotip GTC, a to su Han Kinezi iz Pekinga (CHB), Južni Han Kinezi (CHS) i Japanci (JPT). Haplotipi ATC i GGC ne pojavljuju se u populacijama Dai Kineza (CDX), Japanaca (JPT) i Kinh Vijetnamaca (KHV). U populaciji Han Kineza iz Pekinga (CHB) ne pojavljuje se samo haplotip GGC, a u populaciji Južnih Han Kineza (CHS) pojavljuju se svi haplotipi.

**Tablica 19.** Učestalost haplotipova gena CYP1A2 u populacijama Istočne Azije.

| Populacija | Haplotip | Broj haplotipova | Učestalost |
|------------|----------|------------------|------------|
| <b>CDX</b> | GTA      | 62               | 0,3333     |
|            | GTC      | 45               | 0,2419     |
|            | GGA      | 15               | 0,0806     |
|            | ATA      | 64               | 0,3441     |
| <b>CHB</b> | GTA      | 55               | 0,2670     |
|            | GTC      | 73               | 0,3544     |
|            | GGA      | 21               | 0,1020     |
|            | ATA      | 55               | 0,2670     |
|            | ATC      | 2                | 0,0097     |
| <b>CHS</b> | GTA      | 62               | 0,2952     |
|            | GTC      | 73               | 0,3476     |
|            | GGA      | 17               | 0,0810     |
|            | ATA      | 56               | 0,2667     |
|            | ATC      | 1                | 0,0048     |
|            | GGC      | 1                | 0,0048     |
| <b>JPT</b> | GTA      | 68               | 0,3269     |
|            | GTC      | 83               | 0,3990     |
|            | GGA      | 9                | 0,0433     |
|            | ATA      | 48               | 0,2308     |
| <b>KHV</b> | GTA      | 67               | 0,3383     |
|            | GTC      | 52               | 0,2626     |
|            | GGA      | 22               | 0,1111     |
|            | ATA      | 57               | 0,2879     |

U tablici 20. vidljivo je da najučestaliji zvezdasti alel varira među populacijama Istočne Azije, ali i da je u svim populacijama najmanja učestalost \*1KW alela. Najučestaliji diplotip u svim populacijama je \*1A,\*1F, osim u Dai Kineza (CDX) gdje je najučestaliji \*1F,\*1L te u Kinh Vijetnamaca (KHV) gdje je najučestaliji diplotip \*1A,\*1L (Tablica 21.).

**Tablica 20.** Učestalost zvjezdastih alela u populacijama Istočne Azije

| Zvjezdasti alel |            | CHS    | CDX    | KHV    | JPT    | CHB    |
|-----------------|------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| <b>*1A</b>      | broj       | 73     | 45     | 52     | 83     | 73     |
|                 | učestalost | 0,3510 | 0,2419 | 0,2626 | 0,3990 | 0,3578 |
| <b>*1F</b>      | broj       | 62     | 62     | 67     | 68     | 55     |
|                 | učestalost | 0,2981 | 0,3333 | 0,3384 | 0,3269 | 0,2696 |
| <b>*1JKW</b>    | broj       | 17     | 15     | 22     | 9      | 21     |
|                 | učestalost | 0,0817 | 0,0806 | 0,1111 | 0,0433 | 0,1029 |
| <b>*1L</b>      | broj       | 56     | 64     | 57     | 48     | 55     |
|                 | učestalost | 0,2692 | 0,3441 | 0,2879 | 0,2308 | 0,2696 |

**Tablica 21.** Učestalost zvjezdastih diplotipova u populacijama Istočne Azije

| Zvjezdasti diplotip        |            | CHS    | CDX    | KHV    | JPT    | CHB    |
|----------------------------|------------|--------|--------|--------|--------|--------|
| <b>*1A,*1A</b>             | broj       | 11     | 6      | 5      | 17     | 13     |
|                            | učestalost | 0,1048 | 0,0645 | 0,0505 | 0,1635 | 0,1262 |
| <b>*1A,*1F</b>             | broj       | 26     | 16     | 18     | 27     | 18     |
|                            | učestalost | 0,2476 | 0,1720 | 0,1818 | 0,2596 | 0,1748 |
| <b>*1A,*1JKW</b>           | broj       | 6      | 6      | 5      | 5      | 9      |
|                            | učestalost | 0,0571 | 0,0645 | 0,0505 | 0,0481 | 0,0874 |
| <b>*1A,*1L</b>             | broj       | 18     | 11     | 19     | 17     | 18     |
|                            | učestalost | 0,1714 | 0,1183 | 0,1919 | 0,1635 | 0,1748 |
| <b>*1A,ATC<sup>s</sup></b> | broj       | 0      | 0      | 0      | 0      | 2      |
|                            | učestalost | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0194 |
| <b>*1A,GGC<sup>s</sup></b> | broj       | 1      | 0      | 0      | 0      | 0      |
|                            | učestalost | 0,0095 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 |
| <b>*1F,*1F</b>             | broj       | 6      | 10     | 10     | 9      | 8      |
|                            | učestalost | 0,0571 | 0,1075 | 0,1010 | 0,0865 | 0,0777 |
| <b>*1F,*1JKW</b>           | broj       | 5      | 4      | 12     | 2      | 4      |
|                            | učestalost | 0,0476 | 0,0430 | 0,1212 | 0,0192 | 0,0388 |
| <b>*1F,*1L</b>             | broj       | 19     | 22     | 17     | 21     | 17     |
|                            | učestalost | 0,1810 | 0,2366 | 0,1717 | 0,2019 | 0,1650 |
| <b>*1JKW,*1JKW</b>         | broj       | 1      | 0      | 1      | 0      | 0      |
|                            | učestalost | 0,0095 | 0,0000 | 0,0101 | 0,0000 | 0,0000 |
| <b>*1JKW,*1L</b>           | broj       | 4      | 5      | 3      | 2      | 8      |
|                            | učestalost | 0,0381 | 0,0538 | 0,0303 | 0,0192 | 0,0777 |
| <b>*1L,*1L</b>             | broj       | 7      | 13     | 9      | 4      | 6      |
|                            | učestalost | 0,0667 | 0,1398 | 0,0909 | 0,0385 | 0,0583 |
| <b>*1L,ATC<sup>s</sup></b> | broj       | 1      | 0      | 0      | 0      | 0      |
|                            | učestalost | 0,0095 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 |

<sup>s</sup>haplotipovi koji se nisu mogli translirati



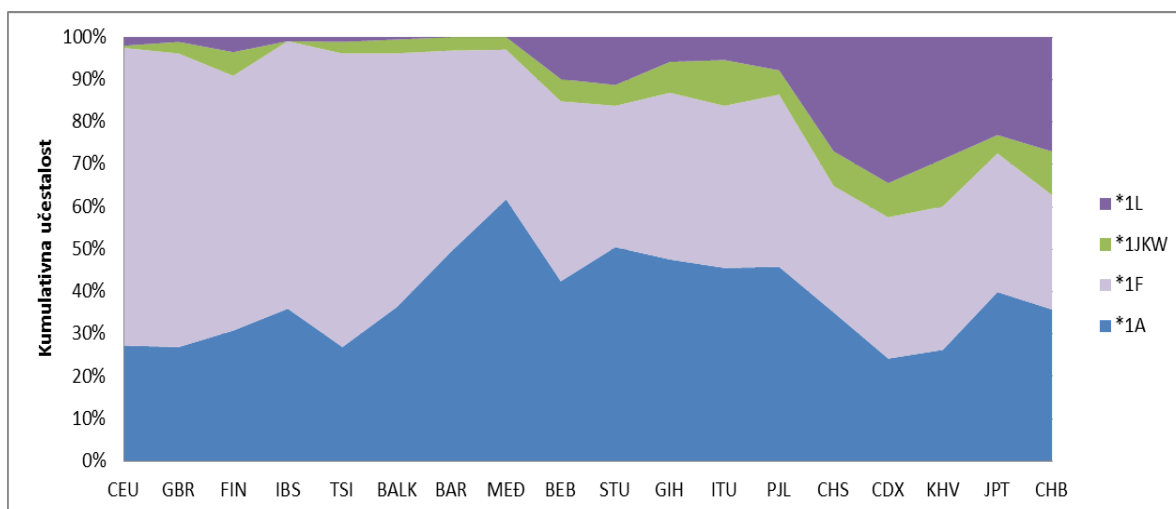
#### 4.2.2. Inter-populacijske analize

Fisherov exact test je korišten za testiranje različitosti između populacija unutar analiziranih populacijskih skupina, ako i za usporedbu skupina međusobno prema učestalosti zvjezdastih alela. Utvrđeno je da se jedino europske populacije statistički značajno razlikuju u učestalosti zvjezdastih alela ( $p = 0.002$ ), dok se romske populacije ( $p = 0.8272$ ) međusobno ne razlikuju, kao ni azijske populacije (južnoazijske populacije  $p = 0.0979$ , istočnoazijske populacije  $p = 0.3506$ ). Usporedbom populacijskih skupina utvrđeno je da se sve međusobno statistički značajno razlikuju (Tablica 22).

**Tablica 22.** Statističke značajnosti Fisherovog exact testa usporedbe populacijskih skupina u učestalosti zvjezdastih alela

| Uspoređivane populacijske skupine                          | p vrijednost |
|--|--------------|
| Romske populacije u Hrvatskoj vs Europske populacije       | 0,0049       |
| Romske populacije u Hrvatskoj vs Južnoazijske populacije   | <0,0001      |
| Romske populacije u Hrvatskoj vs Istočnoazijske populacije | <0,0001      |
| Europske populacije vs Južnoazijske populacije             | <0,0001      |
| Europske populacije vs Istočnoazijske populacije           | <0,0001      |
| Južnoazijske populacije vs Istočnoazijske populacije       | <0,0001      |

Distribucija zvjezdastih alela koja dovodi do ovako velike razlike u učestalostima između populacijskih skupina prikazana je na Slici 9.

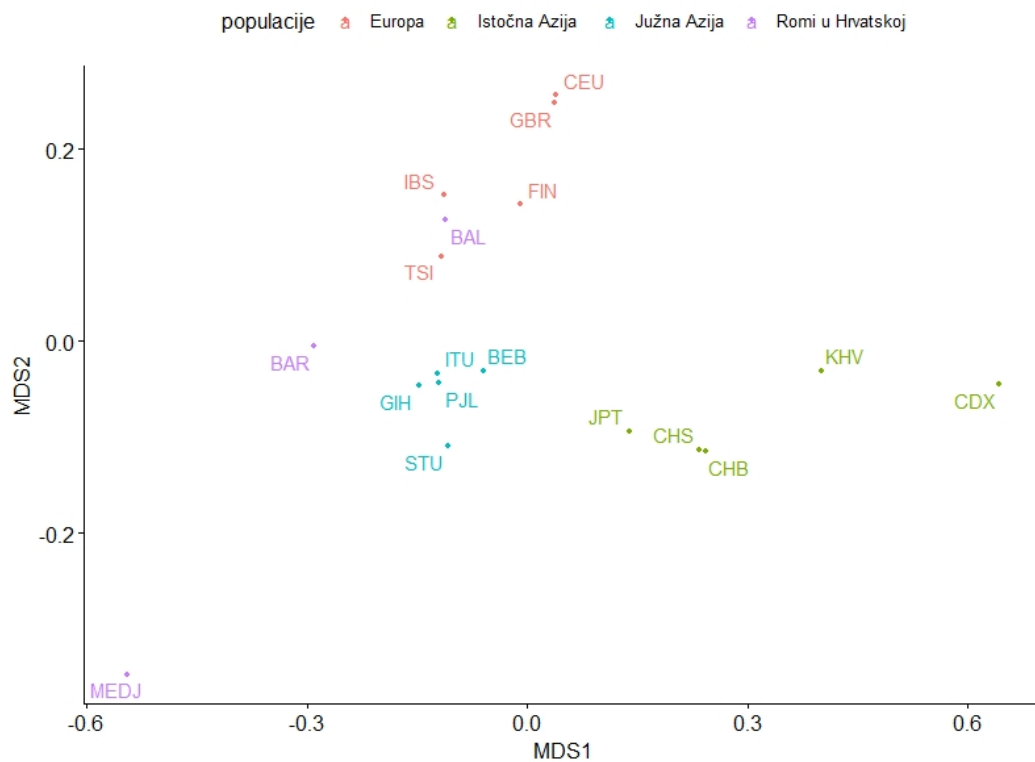


**Slika 9.** Grafički prikaz kumulativne učestalosti zvjezdastih alela u istraživanim populacijama

Populacije su međusobno uspoređene pomoću genetičkih udaljenosti izračunatih na temelju čestalosti haplotipova (Tablica 23). Genetičke udaljenosti su vizualizirane pomoću metode multidimenzijanskog skaliranja (Slika 10.) te se uočava geografska strukturiranost zbog grupiranja pojedinih populacijskih skupina. Romska populacija Hrvatske nisu grupirane već je vidljivo da je skupina Balkanskih Roma najbližija Europskim populacijama, Romi iz Baranje su smješteni između Europljana i populacija južne Azije dok je populacija Roma iz Međimurja u potpunosti odvojena.

**Tablica 23.** Matrica genetičkih udaljenosti temeljenih na učestalosti haplotipova

|           | Balkan | Baranja | Međimurje | BEB    | GIH    | ITU    | PJL    | STU    | CHB    | CDX    | CHS    | JPT    | KHV    | CEU    | FIN    | GBR    | IBS    | TSI    |
|-----------|--------|---------|-----------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Balkan    | 0,0000 |         |           |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
| Baranja   | 0,0260 | 0,0000  |           |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
| Međimurje | 0,1087 | 0,0223  | 0,0000    |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
| BEB       | 0,0139 | 0,0180  | 0,0667    | 0,0000 |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
| GIH       | 0,0206 | 0,0037  | 0,0342    | 0,0009 | 0,0000 |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
| ITU       | 0,0190 | 0,0105  | 0,0471    | 0,0024 | 0,0000 | 0,0000 |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
| PJL       | 0,0173 | 0,0076  | 0,0444    | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
| STU       | 0,0408 | 0,0146  | 0,0334    | 0,0032 | 0,0008 | 0,0068 | 0,0000 | 0,0000 |        |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
| CHB       | 0,1560 | 0,2167  | 0,2989    | 0,0972 | 0,1438 | 0,1342 | 0,1240 | 0,1269 | 0,0000 |        |        |        |        |        |        |        |        |        |
| CDX       | 0,0877 | 0,1125  | 0,1650    | 0,0349 | 0,0611 | 0,0564 | 0,0492 | 0,0475 | 0,0144 | 0,0000 |        |        |        |        |        |        |        |        |
| CHS       | 0,0840 | 0,1112  | 0,1666    | 0,0333 | 0,0609 | 0,0570 | 0,0482 | 0,0473 | 0,0135 | 0,0000 | 0,0000 |        |        |        |        |        |        |        |
| JPT       | 0,0630 | 0,0774  | 0,1258    | 0,0158 | 0,0382 | 0,0394 | 0,0268 | 0,0241 | 0,0354 | 0,0020 | 0,0006 | 0,0000 |        |        |        |        |        |        |
| KHV       | 0,1119 | 0,1670  | 0,2451    | 0,0656 | 0,1038 | 0,0934 | 0,0879 | 0,0944 | 0,0000 | 0,0053 | 0,0049 | 0,0224 | 0,0000 |        |        |        |        |        |
| CEU       | 0,0136 | 0,0906  | 0,2146    | 0,0460 | 0,0711 | 0,0653 | 0,0608 | 0,0935 | 0,1430 | 0,1003 | 0,0941 | 0,0811 | 0,1040 | 0,0000 |        |        |        |        |
| FIN       | 0,0027 | 0,0571  | 0,1549    | 0,0202 | 0,0371 | 0,0302 | 0,0305 | 0,0572 | 0,1162 | 0,0690 | 0,0653 | 0,0544 | 0,0779 | 0,0026 | 0,0000 |        |        |        |
| GBR       | 0,0124 | 0,0892  | 0,2121    | 0,0459 | 0,0684 | 0,0601 | 0,0597 | 0,0934 | 0,1421 | 0,0990 | 0,0938 | 0,0832 | 0,1015 | 0,0000 | 0,0001 | 0,0000 |        |        |
| IBS       | 0,0000 | 0,0321  | 0,1208    | 0,0190 | 0,0293 | 0,0308 | 0,0238 | 0,0478 | 0,1670 | 0,0979 | 0,0927 | 0,0680 | 0,1232 | 0,0117 | 0,0071 | 0,0136 | 0,0000 |        |
| TSI       | 0,0000 | 0,0201  | 0,0942    | 0,0070 | 0,0137 | 0,0135 | 0,0101 | 0,0300 | 0,1460 | 0,0773 | 0,0738 | 0,0520 | 0,1039 | 0,0181 | 0,0046 | 0,0176 | 0,0000 | 0,0000 |



**Slika 10.** Vizualizacija genetičkih udaljenosti metodom multidimenzijskog skaliranja

## 5. Rasprava

Romi su transnacionalna manjina koja živi u Europi, te u Sjevernoj i Južnoj Americi. Romsko društvo se slijedom raznih povijesnih, kulturoloških i socijalnih čimbenika dijeli u grupe, a grupe mogu biti određene vlastitim dijalektom, religijom, zanimanjima i tradicijom (Kalaydjieva i sur. 2001a, Kalaydjieva i sur. 2001b). Antropolozi i etnolozi su uočili povezanost organizacije društva Roma s jatima u Indiji. Život u odvojenim grupama doveo je do endogamije tj. pronalaženje spolnog partnera isključivo unutar vlastite grupe pa samim time i do smanjene genske raznolikost. Cjelogenomska analiza SNP –ova kod europskih Roma potvrđuje njihovu izrazitu populacijsku substrukturiranost s visokom razinom homozigotnosti, to je posljedica učestalog srođivanja Roma (Mendizabal i sur. 2013).

Učinkovitost lijekova i nuspojave na lijekove povezane su sa specifičnim varijantama gena koji utječu na apsorpciju, distribuciju, metabolizam i eliminaciju lijekova (ADME). Njihova polimorfna priroda je osnova za individualni odgovor na liječenje lijekovima, zajedno s nizom čimbenika kao što su spol, dob, tjelesna težina, istodobni lijekovi, zdravstveno stanje, razina komorbiditeta (Škarić-Jurić i sur. 2018.) Objavljene su brojne studije o polimorfizmima ADME povezanih gena. Genske varijacije u ADME genima razlikuju se unutar i između populacija te imaju važan utjecaj na farmakokinetiku lijekova (Wilson i sur. 2001). ADME geni su vrlo opsežno proučavani zbog svoje kliničke važnosti, ali u manjim, posebice izoliranim, populacijama, takvi podaci su prilično oskudni.

Istraživanja izoliranih populacija, posebno Roma, Baska i stanovnika otočja Orkney ukazala su na njihovu značajnu genetsku različitost u učestalostima alela SNP-ova koji se nalaze u CYP2C i CYP2D genskim skupinama u odnosu na opću europsku populaciju (Pimenoff i sur. 2012). Istraživanja ADME polimorfizama u romskoj populaciji – 3 SNP lokusa u CYP2C9 genu (Sipeky i sur. 2013) i 4 SNP lokusa u MDR1 genu (Sipeky i sur. 2013) - potvrđuju da se romska populacija značajno razlikuje od geografski bliske većinske populacije, ali i od indijskih populacija. Smanjena genska raznolikost može imati različite posljedice koje uključuju i odgovor na lijekove.

Provedeno je već nekoliko istraživanja ADME gena u romskim populacijama Hrvatske. Analiziran je farmakogenetički profil *CYP2C19* u tri skupine hrvatskih Roma te je u 40% Roma

(čak 53,1% u baranjskoj skupini). očekivan je brži metabolizam (u odnosu na divlji tip) lijekova koje metabolizira CYP2C19. Rezultati su pokazali da genetski profil *CYP2C19* treba uzeti u obzir u modulirajućoj farmakoterapiji u romskoj populaciji (Zajc Petranović i sur., 2018.). Također, provedena su i istraživanja gena *CYP2D6* kojima je *pokazano kako se* Hrvatski Romi razlikuju od europske i azijske populacije u akumulaciji globalno rijetkih SNP-ova te da demografska povijest utječe na varijacije SNP-a u romskoj populaciji (Stojanović Marković i sur., 2022). Provedeno je i istraživanje gena *NAT1* i *NAT2* te je utvrđena značajno različita distribucija haplotipova gena *NAT2* i posljedičnih fenotipova između tri istraživane romske skupine što je vjerojatno rezultat genetskog odstupanja zbog različite demografske povijesti i sociokulturne izolacije. Najveća učestalost sporih acetilatora u balkanskim Romima u usporedbi sa svjetskom populacijom čini ih sklonijima razvoju nuspojave na lijekove povezane s *NAT* genom, nego što je slučaj u drugim populacijama (Stojanović Marković i sur., 2022). Analizirani su i polimorfizmi gena *ABCB1* koji na globalnoj razini, rezultati ukazuju na izolaciju prostornom udaljenosti, zanimljivo je da i rezultati ovog istraživanja također pokazuju geografsku strukturiranost. Analizirani polimorfizmi *ABCB1* svakako ukazuju i na genetsku posebnost romske populacije (Zajc Petranović i sur., 2019). Tomas i suradnici proučavali su varijabilnost gena *CYP2B6* unutar genetski specifične hrvatske romske populacije i usporedili su rezultate sa svjetskim populacijama. Ova studija pruža podatke o nekoliko polimorfizama *CYP2B6* u romskoj populaciji i ukazuje na potrebu sustavnog istraživanja najvažnijih varijanti farmakogena u ovoj velikoj, transnacionalno izoliranoj populaciji diljem svijeta.

Istraživanje romske populacije u Hrvatskoj od velike važnosti jer varijacija u frekvencijama alela polimorfnih farmakogena među različitim etničkim skupinama može biti odgovorna za ozbiljne neželjene reakcije na lijekove ili promijenjene djelotvornosti velikog broja lijekova. Zbog navedenog u ovom radu su istraživani polimorfizmi gena *CYP1A2* čiji je enzim odgovoran je za 95% primarnog metabolizma kofeina (Kalow i sur., 1993), a cjelogenomske asocijacijske studije i meta analize su potvrdile vezu između polimorfizama gena *CYP1A2* i konzumacije kave (Cornelis i sur., 2011, Sulem i sur., 2011, Amin i sur., 2012, Guessou i sur., 2012). Također je utvrđeno da pušenje potiče aktivnost *CYP1A2* enzima te da pušenje modificira metabolizam kofeina koji je određen varijantama *CYP1A2* gena. Poznato je da u romskoj populaciji postoji dugogodišnja tradicija ispijanja kave i pušenja. U dosadašnjim istraživanjima je utvrđeno da je među Romima u Hrvatskoj 70% pušača koji su s tom navikom započeli u ranoj mladosti (Škarić-

Jurić i sur., 2007) što ukazuje na važnost istraživanja *CYP1A2* gena u romskoj populaciji. Izrazito dobro metabolizirajući aleli ovog gena kod teških pušača mogu imati za posljedicu neodgovarajući terapijski učinak lijeka što potvrđuje potrebu utvrđivanja genskog profila *CYP1A2* kod Roma.

*CYP1A2* iznimno je polimorfan gen čije varijacije utječu na aktivnost enzima. *CYP1A2* dio je citokroma P450, te čini približno 13% svih CYP proteina. Gen *CYP1A2* nalazi se na kromosomu 15 zajedno s *CYP1A1* i veličine je 7,8 kb te sastoji od 7 eksona i 6 introna. Eksoni od 2 do 6 u potpunosti su sačuvani u genima ortolognih osoba, miševa, štakora i zečeva, što bi moglo značiti da upravo ti eksoni imaju ključnu ulogu u katalitičkoj aktivnosti spomenutih enzima. Otkriveno je više od 40 polimorfizama gena *CYP1A2*. *CYP1A2* visoko je eksprimiran te inducibilan u jetri, mozgu, plućima, probavnom sustavu i gušterači. Dokazano je da se u kombinacijama s drogama ili u kombinaciji s pušenjem mijenja odgovor samog enzima (Ghotbi, 2008).

Polimorfnost *CYP1A2* gena je najizraženija u intronskim varijantama na koje otpada 47,26% od ukupnih polimorfničkih mjesta. Zatim slijedi 3' UTR varijanta koja se pojavljuje u puno manjoj mjeri, 16,30%. Odmah nakon njih slijede *missense* varijanta s učestalošću od 16,01%. Ostale varijante su puno rjeđe varijante kodirajućih slijedova (8,43%), sinonimne varijante (7,05%), pomaci u okviru čitanja (1,14%), intronske varijante u području izrezivanja (1,00%) ([www.ensembl.org](http://www.ensembl.org))

Većina polimorfizama unutar ovog gena je vrlo rijetka, ali za neke je utvrđeno da mijenjaju aktivnost enzima te su zbog toga predmet farmakogenetičkih istraživanja. U službenoj farmakogenetičkoj nomenklaturi postoji 41 zvjezdasti alel koji su zapravo haplotipovi nastali kombinacijom 39 SNP-a ([www.pharmvar.org](http://www.pharmvar.org)). U ovom radu su analizirana tri polimorfizma koja su uključena u farmakogenetičku nomenklaturu. Genotipizirana su tri lokusa gena *CYP1A2*; rs2069514, rs2069526 i rs762551. Analizom 3 populacija Roma Hrvatske utvrđeno da su sva 3 lokusa polimorfna. Također je vidljivo da su rs2069526 i rs762551 polimorfni u sve tri populacije.

Lokus rs2069514, za razliku od romskih populacija Hrvatske, polimorfan je u svim svjetskim populacijama. U populacijama Roma Hrvatske lokus je monomorfan u Roma Baranje i Međimurja, dok se kod samo jednog pripadnika Roma Balkana javlja alel A.

Lokus rs2069526, isto kao i u populacijama Roma Hrvatske, polimorfan je i u svim svjetskim populacijama. Alel T znatno je učestaliji od alela G kod SNP-a rs2069526. Najveću učestalost alela G uočavamo kod pripadnika Afrike te ona iznosi 12%.

Lokus rs762551 polimorfan je u svim populacijama Roma Hrvatske i svim populacijama svijeta. Oba alela su pojednako zastupljena u romskim populacijama Hrvatske i većini svjetskim populacija, dok u Amerikanaca je alel A (76%), znatno učestaliji od alela C (24%).

Sva tri lokusa slijede Hardy-Weinbergovu ravnotežu. Ispitivanjem učestalosti haplotipova utvrđeno je da GTA (59,78%) haplotip ima najveću učestalost na Balkanu, dok u Baranji (49,55%) i Međimurju (61,76%) najveću učestalost ima haplotip GTC. Na Balkanu je pronađen i jedan uzorak s haplotipom ATA, što ukazuje na veliku različitost od populacija Istočne Azije gdje se haplotip ATA pojavljuje s prosječnom učestalošću od 29,14%. Populacija Balkanskih Roma najveću sličnost pokazuje s populacijama Europe čija je učestalost GTA alela u prosjeku 63,83%, a populacije Roma iz Baranje i Međimurja sa populacijama Južne Azije gdje je najučestaliji haplotip GTC (46,38%). Haplotipovi su translaterani u zvjezdastu nomenklaturu te je moguće razlikovati 4 zvjezdasta alela, \*1A, \*1F, \*1L, te kombinaciju alela \*JKW. Raspodjelom ova četiri alela uočene su razlike u učestalosti između populacija Roma iz Baranje i Međimurja je najučestaliji \*1A dok je kod balkanskih Roma najučestaliji alel \*1F. Kod sve tri romske populacije najučestaliji je diplotip \*1A,\*1F. U Europskim populacijama najučestaliji je zvjezdasti alel \*1F. U svim populacija najučestaliji diplotip je \*1F,\*1F, dok je u Španjolaca (IBS) najučestaliji \*1A,\*1F. Može se uočiti sličnost između između balkanskih Roma i Španjolaca. U populacijama Južne Azije najučestaliji zvjezdasti alel je \*1A. Dok je najučestaliji diplotip \*1A,\*1F, što također pokazuje sličnost sa balkanskim Romima. najučestaliji zvjezdasti alel u populacijama Istočne Azije varira, ali je u svim populacijama najmanja učestalost \*1JKW alela. Najučestaliji diplotip je \*1A,\*1F, osim u Dai Kineza (CDX) gdje je najučestaliji \*1F,\*1L te u Kinh Vijetnamaca (KHV) gdje je najučestaliji diplotip \*1A,\*1L, te iz tog razloga pokazuju najmanje sličnosti s populacijama Roma u Hrvatskoj.

Istraživanja varianti *CYP1A2* gena nisu česta, te se uglavnom provode istovremeno s određivanjem utjecaja polimorfizama na aktivnost enzima radi eventualne promjene u metabolizmu lijekova. Mutacija koja je do danas najviše istražena je mutacija u intronu 1 (C>A) na poziciji 734 nizvodno od mjesta inicijacije transkripcije (rs762551) prema zvjezdastoj nomenklaturi označena kao *CYP1A2\*1F* (<http://www.imm.ki.se/CYPalleles/>). Navedena



mutacija je pokazala utjecaj na inducibilnost aktivnosti *CYP1A2* kod pušača (Sachse i sur, 1999). Nadalje, 36% veći metabolički omjer kafeina uočen je kod \*1F/\*1F genotipa u usporedbi s \*1F/\*1A genotipom. Istraživanja pokazuju da *CYP1A2\*1F* predstavlja visoko inducibilni haplotip povezan s povećanom aktivnošću *CYP1A2* nakon izlaganja određenim inducirajućim agensima (Nordmark i sur., 2002).

Nordmark i suradnici (2002) također su utvrdili da učestalost haplotipova uvelike varira ovisno o populacijskoj pripadnosti. Na primjer, učestalost *CYP1A2\*1C* kreće se od 0,4% do 1% kod Europljana, do 7% u Afričkim populacijama ili kod Afroamerikanaca, 6–25% u Azijata. Ovaj haplotip nije detektiran u Romskoj populaciji. U usporedbi s *CYP1A2\*1A*, *CYP1A2\*1C* i *CYP1A2\*1K* povezani su sa smanjenom aktivnošću *CYP1A2* in vivo. *CYP1A2\*1F* povezuje se s povećanom aktivnošću zbog povećane inducibilnosti ili "hiperinducibilnosti". Na primjer, pušenje i velike konzumacije kofeina ( $\geq 3$  šalice/dan) povezuju se s višom aktivnosti *CYP1A2* (za 30-70%) u *CYP1A2\*1F\*1F* nositeljima u odnosu na *CYP1A2\*1A\*1F* i *CYP1A2\*1A\*1A* nositelje (Tian i sur, 2019). Populacija Švedske i Koreje genotipizirane su za šest SNP-ova u *CYP1A2* genu. Odabir alela se temeljio na prijašnjim saznanjima o ekspresiji gena *CYP1A2* ili aktivnosti gena. Većina genotipiziranih SNP-ova ima nisku polimorfnost, što otežava povezivanje genotipa s fenotipskim obilježjima (Ghotbi, 2008). Također je poznato da su određeni SNP-ovi prisutni samo u nekim etničkim skupinama gdje postoji specifična genotip/fenotip korelacija, ali je ih je teško potvrditi i usporediti zbog odsustva ili niske učestalosti unutar drugih etničkih skupina. Jedan od primjera je *CYP1A2 -3113G>A* koji utječe na aktivnost *CYP1A2* u zdravih Kineza nepušača gdje homozigoti za *-3113A/A* imaju smanjenu aktivnost enzima usporedbi s osobama sa *-3113G/A* i *-3113G/G* genotipovima. Ova tvrdnja nije potvrđena u istraživanjima provedenim na Šveđanima i Koreancima, ali ni Etiopljanima i Europljanima. Sveukupna učestalost šest SNP-ova u Šveđanima i Koreanaca nije pokazala nikakvu značajnu razliku među populacijama, osim za \*1D alel i *-3680G>A*, s većom učestalošću u Koreanaca. Ovisno o učestalosti raspodjele raznih SNP-ova, podjela haplotipova razlikuje se među populacijama (Ghotbi, 2008).

Svi navedeni rezultati upućuju na potrebu za detaljnom analizom ovog gena u što više svjetskih populacija kako bi se utvrdila detaljna distribucija alela te korelacija genotipa i fenotipa.

Usporedbe haplotipova odnosno zvjezdastih alela u ovom radu ukazuju na veću učestalost alela \*1F u europskim populacijama i opadanja učestalosti u Azijskim populacijama, dok je u

Azijskim, prvenstveno istočnoazijskim primjećena povećana učestalost alela \*1L čija poveznost s fenotipom još nije istražena. Genetičke udaljenosti temeljene na učestalosti haplotipova pokazuju geografsku strukturiranost zbog grupiranja pojedinih populacijskih skupina prema geografskom području. Romska populacija Hrvatske nisu grupirane već su heterogena skupina što je u skladu s svim dosadašnjim istraživanjima gdje je uočen utjecaj genskog pomaka koji se u romskim populacijama održao zbog endogamije.

## 6. Zaključci

- Od 3 analizirana SNP-a u romskim populacijama rs2069514 je monomorfan u populaciji Roma iz Međimurja i Baranje, u ostalim istraživanim populacijama ovaj lokus ima nisku učestalost.
- svi istraživani SNP-ovi su u skladu s Hardy-Weinbergovom ravnotežom.
- U romskim skupinama rekonstruirana su 4 haplotipa s različitom zastupljenošću između romskih skupina.
- Haplotipovi su translansirani u 4 zvjezdasta alela, \*1A je najzastupljeniji u skupinama Roma iz Baranje i Međimurja, dok je \*1F najzastupljeniji kod Balkanskih Roma; najučestaliji zvjezdasti diplotip u svim romskim skupinama je \*1A, \*1F.
- U europskim populacijama također su rekonstruirana 4 haplotipa koja su prevedena u 4 zvjezdasta alela od kojih je najučestaliji \*1F, a najučestaliji zvjezdasti diplotip je \*1F, \*1F.
- U populacijama južne Azije su također su rekonstruirana 4 haplotipa, a najučestaliji alel je \*1A, a diplotip \*1A, \*1F.
- U populacijama istočne Azije rekonstruirano je 6 haplotipova, a zvjezdasti aleli \*1A, \*1F i \*1L su zastupljeni sa sličnim učestalostima, diplotip \*1A, \*1F je najučestaliji.
- Sve populacijske skupine se međusobno statistički značajno razlikuju prema učestalosti zvjezdastih alela.
- Rezultati izračuna genetičkih udaljenosti između svih istraživanih populacija pokazuju grupiranje populacija prema geografskim karakteristikama dok Romske skupine Hrvatske pokazuju najveću heterogenost, skupina Balkanskih Roma najbližnja Europskim populacijama, Romi iz Baranje su smješteni između Europljana i populacija južne Azije dok je populacija Roma iz Međimurja u potpunosti odvojena.

## 7. Literatura

Excoffier L., Lischer H. E. (2010): Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Mol. Ecol. Resour.* 10: 564-567.

Fraser A. (1992): *The Gypsies*. Blackwell Publishers, Oxford.

Gresham D., Morar B., Underhill P. A., Passarino G., Lin A. A., Wise C., Angelicheva D., Calafell F., Oefner P. J., Shen P., Tournev I., de Pablo, R., Kucinskas, V., Perez Lezaun, A., Marushiakova, E., Popov, V., Kalaydjieva, L. (2001) *Origins and divergence of the Roma (gypsies)*, Perth, WA, Australia: Centre for Human Genetics, Edith Cowan University

Ghotbi Roza (2008) *Genetic, epigenetic and environmental factors of importance for CYP1A2 catalyzed drug metabolism*, From the Department of Laboratory Medicine Division of Clinical Pharmacology, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

Hancock I. (1987): *The Pariah syndrome*. Karoma Publishers, Ann Arbor.

He C., Holme J., Anthony J. (2014) SNP genotyping: The KASP assay. *Methods in Molecular Biology*, 1145: 75-86.

Kalaydjieva L., Calafell F., Jobling M. A., Angelicheva D., de Knijff P., Rosser Z. H., Hurles M. E., Underhill P., Tournev I., Marushiakova E., Popov V. (2001a) Patterns of inter- and intragroup genetic diversity in the Vlax Roma as revealed by Y chromosome and mitochondrial DNA lineages. *Eur J Hum Genet* 9: 97-104

Kalaydjieva L., Gresham D., Calafell F. (2001b) Genetic studies of the Roma (Gypsies): a review *BMC Med Genet* 2: 5

Lamb D. C., Lei L., Warrilow A. G., Lepesheva G. I., Mullins J. G., Waterman M. R., Kelly S. L. (2009): The first virally encoded cytochrome p450. *Journal of Virology* 83: 8266- 8269.

Liégeois J. P. (1994): *Roma, Gypsies, Travellers*. Council of Europe, Strasbourg.

Marushiakova E., Popov V. (1997) *Gypsies (Roma) in Bulgaria*, Frankfurt am Main: Studien zur Tsiganologie und Folkloristik.

Martinović Klarić I. (2009): Kromosom Y i potraga za novom domovinom. Sveučilišna knjižara, Zagreb.

Martinović Klarić I., Peričić Salihović M., Barać Lauc L., Zhivotovsky L. A., Rootsi S., Jančićević B. (2008) Dissecting the molecular architecture and origin of Bayash Romani patrilineages: genetic influence from South Asia and the Balkans. *Am J Phys Anthropol* 138: 333-342

Medić-Šarić, M. & Rendić, S. (2013) Metabolizam lijekova i odabranih kesnobotika. Zagreb. Medicinska naklada.

Mendizabal I., Lao O., Marigorta U. M., Wollstein A., Gusmão L., Ferak V., Ioana M., Jordanova A., Kaneva R., Kouvatsi A., Kučinskas V. (2012): Reconstructing the population history of European Romani from genome-wide data. *Current Biology* 22: 2342- 2349

Miller L. K., Guat B. (1988) Regulation of Host RNA Levels during Baculovirus Infection, Georgia 30602, USA: Departments of Entomology and Genetics, University of Georgia, Athens

Morar B, Gresham D, Angelicheva D, Tournev I, Gooding R, Guerguelcheva V, Schmidt C, Abicht A, Lochmuller H, Tordai A, Kalmar L, Nagy M, Karcagi V, Jeanpierre M, Herczegfalvi A, Beeson D, Venkataraman V, Warwick Carter K, Reeve J, de Pablo R, Kucinskas V, Kalaydjieva L (2004) Mutation history of the Roma/Gypsies. *Am J Hum Genet* 75(4): 596-609.

Pimenoff VN, Laval G, Comas D, Palo JU, Gut I, Cann H, Excoffier L, Sajantila A (2012) Similarity in recombination rate and linkage disequilibrium at CYP2C and CYP2D cytochrome P450 gene regions among Europeans indicates signs of selection and no advantage of using tagSNPs in population isolates. *Pharmaco-genet Genomics* 22:846–857.

Peričić Salihović M., Barešić A., Martinović Klarić I., Cukrov S., Barać Lauc L., Jančićević B. (2011) The Role of the Vlax Roma in Shaping the European Romani Maternal Genetic History. *Am J Phys Anthropol* 146: 262-270.

Pokupčić K. (2012): Učinak utemeljitelja u populacijskoj strukturi Roma Hrvatske: analiza mikrosatelitnih polimorfizama kromosoma Y i autosoma. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu.

Radosavljević P. (2010) Jezik Roma Bajaša na teritoriju Republike Hrvatske, doktorska disertacija, Filozofski fakultet, Zagreb

Rašić, N., et al. (2020) Uključivanje Roma u hrvatsko društvo: identitet, socijalna distanca i iskustvo diskriminacije. Zagreb: Ured za ljudska prava i prava nacionalnih manjina Vlade Republike Hrvatske. Preuzeto s: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:131:530570> (Datum pristupa: 26.05.2022.)

Ravindra Kumar M., Adithan C. (2007) Pharmacogenomics in the Indian population, SuarezKurtz G, editor, Pharmacogenomics in Admixed Populations: La

Reyniers A. (1995): Gypsy populations and their movements within central and eastern Europe and towards some OECD countries. In: International migration and labour market policies: occasional papers, No 1. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris.

Reynolds J., Weir B. S., Cockerham, C. C. (1983) Estimation for the coancestry coefficient: basis for a short-term genetic distance. *Genetics* 105: 767-779.

Sachse C., Brockmoller J., Hildebrand M., Muller K., Roots I. (1998): Correctness of prediction of the CYP2D6 phenotype confirmed by genotyping 47 intermediate and poor metabolizers of debrisoquine. *Pharmacogenetics* 8: 181–185.

Sipeky C, Weber A, Szabo M, Melegh BI, Janicsek I, Tarlos G, Szabo I, Sumegi K, Melegh B (2013) High prevalence of CYP2C19\*2 allele in Roma samples: study on Roma and Hungarian population samples with review of the literature. *Mol Biol Rep* 40:4727–4735.

Slaughter, R. L. and Edwards, D. J. (1995) 'Recent Advances: the Cytochrome P450 Enzymes', *Annals of Pharmacotherapy*, 29(6), pp. 619–624

Stephens M., Smith N., Donnelly P. (2001). A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *Am. J. Hum. Genet.* 68: 978-989.

Stojanović Marković, Anita; Zajc Petranović, Matea; Tomas, Željka; Puljko, Borna; Šetinc, Maja; Škarić-Jurić, Tatjana; Peričić Salihović, Marijana Untangling SNP Variations within CYP2D6 Gene in Croatian Roma // *Journal of personalized medicine*, 12 (2022), 3; 374, 23 doi:10.3390/jpm12030374 (međunarodna recenzija, članak, znanstveni)

Sulem, P., Gudbjartsson, D. F., Walters, G. B., Helgadóttir, H. T., Helgason, A., Gudjonsson, S. A., Zanon, C., Besenbacher, S., Bjornsdóttir, G., Magnusson, O. T., Magnusson, G., Hjartarson, E., Saemundsdóttir, J., Gylfason, A., Jonasdóttir, A., Holm, H., Karason, A., Rafnar, T.,

Stefansson, H., Andreassen, O. A., ... Stefansson, K. (2011). Identification of low-frequency variants associated with gout and serum uric acid levels. *Nature genetics*, 43(11), 1127–1130

Tomas Ž., Kuhanec A., Škarić-Jurić T., Petranović M. Z., Narančić N. S., Janićijević B. et al. (2017) Distinctiveness of the Roma population within CYP2B6 worldwide variation. *Pharmacogenomics*. 18(17): 1575-87. <https://doi.org/10.2217/pgs-2017-0105> PMID: 29095103.

Wang D., Jiang Z., Shen Z., Wang H., Wang B., Shou W., Zheng H., Chu X., Shu J., Huang W. (2011): Functional evaluation of genetic and environmental regulators of p450 mRNA levels. *PLoS One* 6: e24900.

Wickham H (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag New York. ISBN 978-3-319-24277-4

Wilson J. F., Weale M.E., Smith A.C., Gratrix F., Fletcher B., Thomas M. G., Bradman N., Goldstein D. B. (2001): Population genetic structure of variable drug response. *Nat. Genet.* 29: 265–269.

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 (2018), 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 (2019), 1; 10-1

<https://www.pharmgkb.org> (pristupljeno 1.6.2022.)

<https://www.ensembl.org> (pristupljeno 1.6.2022.)

<https://malariajournal.biomedcentral.com> (pristupljeno 30.5.2022.)

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov> (pristupljeno 10.6.2022.)

<https://www.internationalgenome.org> (pristupljeno 31.5.2022.)

## Životopis

Sunčica Slemenšek rođena je 1.11.1997. godine u Zagrebu. Osnovnu školu, kao i osnovnu glazbenu školu završila je u Kutini. U osnovnoj i srednjoj školi sudjelovala je na državnim natjecanjima iz biologije, geografije i matematike. Nakon završene opće gimnazije Tina Ujevića u Kutini upisala je integrirani studij biologije i kemije; nastavnički smjer na Biološkom odsjeku Prirodoslovno matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu. Tijekom studija sudjelovala je na Noći biologije i Danima otvorenih vrata kemijskog odsjeka. Svoje prvo radno iskustvo stekla je 2020. godine u Laboratoriju zabave, a u travnju 2022. radila je kao zamjena nastavnice biologije u Gimnaziji Velika Gorica.