

# Farmakogeni u populaciji Roma Hrvatske

---

Špinderk, Sanja

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

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:217:729252>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-27**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Sanja Špinderk

# **Farmakogeni u populaciji Roma Hrvatske**

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Sanja Špinderk

**Pharmacogenes in the Roma population of  
Croatia**

Bachelor thesis

Zagreb, 2023.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa molekularna biologija na Zavodu za molekularnu biologiju, Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom izv.prof. dr. sc. Petre Korać

Zahvaljujem se svojoj mentorici izv.prof. dr. sc.Petri Korać prilici, stručnom vodstvu, uloženom vremenu i trudu za pomoć, podršku i savjete tijekom izrade ovog rada. Ovaj rad posvećujem svojem nedavno preminulom suprugu uz zahvalu za svu pruženu ljubav, strpljenje i veliku podršku tijekom trajanja studija. Hvala mojoj majci za sav trud i trpljenje koje je podnosila tijekom svih godina moga školovanja.

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

---

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Završni rad

## Farmakogeni u populaciji Roma Hrvatske

Sanja Špinderk

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Geni ADME su skupina gena koji nose informaciju za proteine uključene u apsorpciju, distribuciju, metabolizam i ekstrakciju lijekova, toksina i drugih kemijskih tvari iz okoliša. Kod nekih pacijenta isti lijek djeluje brže, drugih djeluje sporije ili može uzrokovati više ili manje nuspojava, pa i smrt. Zbog postojanja većeg broja varijanti farmakogena, varijante proteina mogu imati različitu aktivnost i brzine metaboliziranja, dovodeći do individualnog specifičnog varijabilnog odgovora organizma na određeni lijek. Primjena učinkovitog lijeka u odgovarajućoj dozi postaje izazov farmakološke terapije. Specifična distribucija varijacija ADME gena među ljudima koristi se u istraživanjima odnosa genetičke i geografske udaljenosti populacija, etničke pripadnosti i evolucijske prošlosti populacije. Romi kao izolirana, transnacionalna populacija porijeklom iz Indije, sa izraženim učinkom utemeljitelja, endogamijom i reproduktivnom izoliranosti model su u istraživanju gena čija se varijabilnost mijenja između populacija, poput ADME gena. U Hrvatskoj ova je populacija podijeljena na balkansku (Zagreb), međimursku i baranjsku subpopulaciju. Istraživanjem pozicije hrvatskih Roma s obzirom na svjetsku varijaciju lokusa ADME gena, učestalosti rjeđeg alela, odnosa genetičke varijacije i geografske udaljenosti, te intra- i interpopulacijske analize polimorfizama CYP2B6, CYP2D6, CYP2C19 i SLC22 ADME gena i njihovih fenotipa nastoji se doprinijeti odabiru prikladnog lijeka za učinkovitu terapiju pripadnika ove populacije.

Ključne riječi: geni ADME, izolacija, gen *CYP2B6*, gen *CYP2D6*, gen *CYP2C19*, gen *SLC22A1*, gen *SLC22A*

(34 stranice, 3 slike, 1 tablica, 55 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: izv.prof. dr. sc.Petra Korać

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Bachelor thesis

### Pharmacogenes in the Roma population of Croatia

Sanja Špinderk

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

ADME genes are a group of genes that carry information for proteins involved in the absorption, distribution, metabolism and extraction of drugs, toxins and other chemical substances from the environment. For some patients the same medicine works faster for others it works more slowly or it can cause more or less side effects, even death. Due to the existence of a large number of pharmacogene variants, protein variants can have different activity and metabolizing rates leading to an individual specific variable response of the organism to a certain drug.

Administration of an effective drug in an appropriate dose becomes a challenge of pharmacological therapy. The specific distribution of ADME genes variations among people is used in research on the relationship between genetic and geographical distance of populations, ethnicity and the evolutionary past of the population. Roma as an isolated transnational population originating from India with a pronounced founder effect, endogamy and reproductive isolation are a model in the study of genes whose variability changes between populations such as the ADME genes. In Croatia, this population is divided into the Balkan (Zagreb), Međimurje and Baranja subpopulations. By researching the position of Croatian Roma with regard to the worldwide variation of the ADME gene locus, the frequency of the rarer allele, the relationship between genetic variation and geographic distance, and the intra- and interpopulation analysis of *CYP2B6*, *CYP2D6*, *CYP2C19* and *SLC22* ADME gene polymorphisms and their phenotypes an effort is made to contribute to the selection of a suitable drug for effective therapy for members of this population.

Keywords: ADME genes, isolation, *CYP2B6* gene, *CYP2D6* gene, *CYP2C19* gene, *SLC22A1* gene, *SLC22A* gene

(34 pages, 3 figures, 1 tables, 55 references, original in: Croatian)

Thesis is deposited in Central Biological Library.

Mentor: izv.prof. dr. sc. Petra Korać

# SADRŽAJ

<b>1. UVOD</b> .....	<b>1</b>
<b>2. FARMAKOGENI</b> .....	<b>2</b>
<b>3. IZOLIRANE POPULACIJE NA PRIMJERU ROMA</b> .....	<b>5</b>
3.1. ROMI U HRVATSKOJ.....	7
3.2. ANTROPOLOŠKA I EPIDEMIOLOŠKA ISTRAŽIVANJA ROMA.....	8
<b>4. ISTRAŽIVANJA FARMAKOGENA U ROMSKOJ POPULACIJI HRVATSKE</b> .....	<b>10</b>
4.1. CITOKROM P450 (CYP).....	14
4.1.1. <i>CYP2B6</i> kao farmakogen.....	16
4.1.1.1. Polimorfizmi gena <i>CYP2B6</i> u populaciji Roma Hrvatske.....	17
4.1.2. <i>CYP2D6</i> kao farmakogen .....	19
4.1.2.1. Polimorfizmi gena <i>CYP2D6</i> u populaciji Roma Hrvatske.....	20
4.1.3. <i>CYP2C19</i> kao farmakogen.....	22
4.1.3.1. Polimorfizmi gena <i>CYP2C19</i> u populaciji Roma Hrvatske .....	22
4.2. PRENOSIOCI SLC22 .....	24
4.2.1. <i>SLC22A1</i> i <i>SLC22A2</i> kao farmakogeni.....	24
4.2.1.1. Polimorfizmi gena <i>SLC22A1</i> i <i>SLC22A2</i> u populaciji Roma Hrvatske .....	25
<b>5. ZAKLJUČAK</b> .....	<b>28</b>
<b>6. LITERATURA</b> .....	<b>29</b>
<b>7. ŽIVOTOPIS</b> .....	<b>34</b>



# 1. Uvod

U ljudskoj populaciji radi nekih okolnosti ili vlastitim izborom manje skupine ljudi budu u privremenoj ili trajnoj izolaciji u odnosu na druge ljude. Izolacija kroz mnogo generacija, rezultira genomom s različitim karakteristikama u odnosu na okolnu populaciju. Romi su jedan primjer populacije sa stoljetnom reproduktivnom (endogamija) i društveno-kulturnom izolacijom koja se javlja i u krajevima Hrvatske. Najveća su i najraširenija etnička, transnacionalna manjina veličine oko 15 milijuna ljudi diljem svijeta, većinom u Europi, podrijetlom sa indijskog potkontinenta od prije oko 1500 godina. Rascijepkana u mnogo manjih grupa, kao aglomerat subpopulacija, zadržavajući svoju zatvorenost prema većinskim populacijama u zemljama u kojima se javlja. Romska populacija karakterizirana je izraženim učinkom utemeljitelja. Romska populacija Hrvatske podjeljena je na tri subpopulacije: balkansku (obuhvaća zagrebačko područje), međimursku i baranjsku (Stojanović Marković, 2022).

Učinkovitost, doziranje i pojava nuspojava pri terapiji određenim lijekom povezana je s varijantama specifičnih gena vezanih uz apsorpciju, distribuciju, metabolizam i eliminaciju lijekova ADME gena. (od eng. *Absorption*, *Distribution*, *Metabolism* and *Excretion*). Jedan od temelja individualnog odgovora na neki lijek je u polimorfizmu ovih gena koje svrstavamo u skupinu farmakgena, a opsežno su proučavani većinom na populaciji europskog podrijetla u cilju doprinosa kliničkoj praksi radi sigurnosti lijeka i primjene u učinkovitoj dozi.

U Hrvatskoj su, najviše u sklopu nekoliko projekata u kojima je sudjelovao Institut za antropologiju u Zagrebu, rađena su terenska istraživanja i prikupljeni uzorci krvi od pripadnika populacije Roma s područja Zagreba (Balkanski Romi) te Baranje i Međimurja (Vlaški Romi ili Romi Bajaši). Provedena su brojna istraživanja o polimorfizmima ADME- gena sa aspekta njihovog značaja u kliničkoj praksi vezano uz osjetljivosti na određene bolesti, predispoziciju i za određeni metabolizam nekog lijeka i time terapiju prikladnom vrstom i dozom lijeka, ali i sa gledišta izrazite povezanosti s etničkom pripadnosti i geografske rasprostranjenosti, čime se objašnjava položaj izolirane populacije ili one sastavljene od različitih skupina predaka u odnosu na okolno većinsko stanovništvo (Škarić-Jurić i sur. 2018). Otkrivanje novih varijanti nekog farmakogena koji mijenja djelovanje farmakoproteina korisno je u farmakoterapiji pri odabiru prikladnog lijeka u učinkovitoj dozi.

## 2. Farmakogeni

Tijekom primjene farmakoterapije u pojedinih pacijenata zamijećen je različiti odgovor na istu vrstu i dozu lijeka. Neki lijekovi kod jednih djeluju brže, kod drugih sporije ili uzrokuju više ili manje nuspojava, nekada i smrt. Postavlja se pitanje da li je neki lijek učinkovit za određenu osobu i u kojoj dozi daje najbolji rezultat bez ozbiljnih nuspojava. Individualni specifični varijabilni odgovor organizma na lijek, promjena učinkovitosti, optimalna doza i toksičnosti lijeka postaju izazovi u farmakološkoj terapiji (Katara, Yadav, 2019).

Farmakokinetika lijeka određuje kako će se on apsorbirati, distribuirati, metabolizirati i izlučiti iz biološkog sustava. Provodi se specifičnim proteinima ili grupom proteina kodiranim od strane gena nazvanih farmakogeni (PGx geni) (Katara, Yadav, 2019). Farmakogenetika obuhvaća i štetna djelovanja lijekova, otrova i drugih kemijskih tvari i faktora okoliša, uz interes za genetički polimorfizam i fenotip osobe određen enzimima uključenim u metabolizam lijekova. Razvoj tehnologije omogućio je pristupanje genomu i farmakogenomici dajući pozornost utjecaju varijabilnosti gena i njihovih proteina na farmakologiju lijekova, individualnom odgovoru na neki lijek i izboru najdjelotvornijeg lijeka u učinkovitoj dozi bez uzrokovanja ozbiljnih nuspojava za pojedinca (Katara, Yadav, 2019). Farmakogenomika time postaje značajna sastavnica personalizirane medicine.

Farmakogeni ili ADME- geni povezuju se sa osjetljivošću na neke bolesti i odgovoru na lijekove, te specifičnom distribucijom među ljudskom populacijom (Tomas i sur., 2017). Ovi geni kodiraju proteine (enzime, prenosioce i receptore) uključene u metaboličke puteve i tako utječu na farmakokinetiku i farmakodinamiku lijekova u organizmu. Polimorfizam gena modificira odgovore organizma na određeni lijek s obzirom na kretanje lijeka u tijelu, njegovo metaboliziranje, interakciju sa ciljem, djelovanje i pojavu alergijske reakcije u organizmu (Katara, Yadav, 2019). Najveći dio ADME- gena pripada porodici CYP P-450 koja kodira metaboličke izoenzime uključene u biotransformaciju većine ksenobiotika (70-80% svih lijekova u kliničkoj uporabi).

Kao glavni uzroci varijabilnosti farmakogena pokazali su se polimorfizam jednog nukleotida (SNP, od eng. *Single Nucleotid Polymorphism*) (Katara, Yadav, 2019) i varijacija broja kopija gena (CNV, od eng. - Copy Number Variation) (Katara, Yadav, 2019). Njihova prisutnost u regulacijskoj regiji farmakogena može uzrokovati varijabilnost genske ekspresije, dočim nesinonimni

polimorfizam u kodirajućoj regiji može promijenti strukturnu konformaciju proteina, stvarajući varijabilnost količine i stabilnosti proteinskog produkta (Katara, Yadav, 2019), a u enzimima konformacijske promjene koje utječu na funkciju i konstantu brzine enzimatske reakcije (Katari, Yadav, 2019).

Jedna od klasifikacija farmakogena je grupiranje u četiri kategorije s obzirom na funkciju njihovih proteina (Katara, Yadav, 2019):

a) enzimi faze I metabolizma

Metaboliziraju lijekove kroz nesintetske reakcije poput oksidacije i redukcije. Dominiraju enzimi iz obitelji CYP450 (CYP2C9, CYP2D6, CYP2C19 i CYP3A5) koji kataliziraju dodavanje ili uklanjanje vodika, mijenjajući time njihov naboj (Katara, Yadav, 2019).

b) enzimi faze II metabolizma

Metaboliziraju lijekove konjugiranjem endogenih konjugirajućih molekula na spojeve sa promijenjenom polarosti.

Enzimi faze I i II prisutni najviše u jetri, gastrointestinalnom sustavu, bubrezima i dr. Ubrzavaju reakcije pretvaranja lijeka u hidrofilni spoj s većom polarosti, što ga čini topljivijim u vodi i lakšim za izlučivanje iz tijela putem žuči ili urina (Katara, Yadav, 2019). Varijacijom ovih gena mijenja se struktura njihovih enzimatskih produkata i konstanta brzine reakcija koje kataliziraju u procesu metaboliziranja lijeka (Katara, Yadav, 2019), što utječe na izlučivanje lijeka iz tijela.

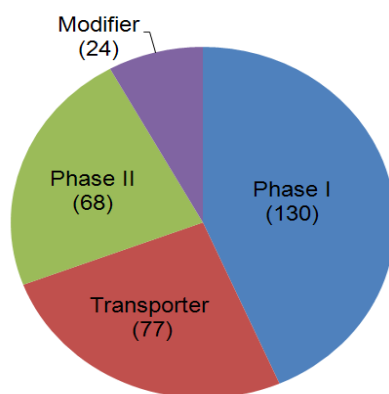
c) prenosioči

Nalaze se na površini stanice, specifični su za supstrat i zaduženi za prijenos biotika i ksenobiotika preko membrane. Njihova raspodjela u tijelu određuje doseg i specifičnu koncentraciju lijeka (Katari, Yadav, 2019). Varijacije u ovim genima mijenjaju brzinu transporta, priljev i odljev lijeka, njegovu koncentraciju, učinkovitost i mogućnost povećanja nuspojava (Katara, Yadav, 2019).

d) modifikatori

Oni mijenjaju ekspresiju drugih ADME gena ili utječu na biokemiju ADME- enzima (Tomas i sur., 2017).

U literaturi se spominje i skupina ciljeva za lijekove (od eng. *drug targets*) koji su većinom proteinske biomolekule. Nesinonimni polimorfizam njihovih gena mijenja proteinsku strukturu što može dovesti do promjene fizikalno-kemijska svojstva, promjenu afiniteta vezanja na lijek i time odgovor organizma na primjenu lijeka (Tomas i sur., 2017). Udio pojedinih kategorija ADME gena prikazan je na Slici 1.



**Slika 1.** Udio ADME gena po kategorijama (Phase I-enzimi faze I metabolizma, Phase II-enzimi faze II metabolizma, Transporter-prenosioci, Modifer-modifikatori). Preuzeto i prilagođeno s

[http://pharmaadme.org/joomla/index.php?option=com\\_content&task=view&id=16&Itemid=5](http://pharmaadme.org/joomla/index.php?option=com_content&task=view&id=16&Itemid=5)  
dana 30.07.2022.

Nađena su 32 najvažnija gena pripadnika genskih obitelji *ABC*, *CYP1*, *CYP2*, *CYP3*, *GST*, *NAT*, *SLC15*, *SLC22*, *SLCO*, *SULT*, *UGT1*, *UGT2* i dr sa ulogom u metabolizmu lijekova ([http://pharmaadme.org/joomla/index.php?option=com\\_content&task=view&id=12&Itemid=27](http://pharmaadme.org/joomla/index.php?option=com_content&task=view&id=12&Itemid=27)). U različitim populacijama na svim zemljopisnim regijama javljaju se različite vrste genskih varijanti pojedinih ADME- gena koji kodiraju proteine izmijenjenih aktivnosti i time različite kvalitete i brzine odgovora na lijek koji osoba unese u organizam. Varijante alela ADME gena javljaju se s različitom učestalosti među populacijama (Katara, Yadav, 2019) pri čemu je različiti zemljopisni uzorak varijacija odraz prošlog evolucijskog procesa (Tomas i sur, 2017). Unutar populacija pojedinci također pokazuju značajnu razliku metaboliziranja lijekova radi njihovog heterogenog podrijetla. Frekvencije distribucije varijanti temeljena na frekvenciji rjeđeg alela (MAF, od eng. *minor allele frequency*), klasificiraju varijante u one uobičajene (>1% MAF), rijetke

varijante ( $<1\%$ MAF) i vrlo rijetke varijante ( $<0,1\%$  MAF) (Katara, Yadav, 2019). Osim značajne uloge uobičajnih varijanti kod varijabilnog odgovora na lijekove, novija istraživanja otkrila su važnu ulogu rijetkih varijanti gena PG-x na funkcionalnu varijabilnost i odgovor pojedinca na lijek (Katara, Yadav, 2019). Spoznaja o tome kakav metabolički fenotip pokazuje nositelj određenog genotipa važna je za pravilnu primjenu i doziranje određenog lijeka.

U cilju smanjivanja rizika od ozbiljnih nuspojava povezanih sa određenim lijekovima, prilagođavanja doze lijeka koji pacijent koristi ili preporuka drugog lijeka postoji mogućnost farmakogenetičkog testiranja pacijenata na prisutne varijante određenih farmakogena, PGx-biomarkera.

### **3. Izolirane populacije na primjeru Roma**

Populacija u biologiji označava skupinu jedinki iste vrste koja nastanjuje određeni prostor, može se slobodno međusobno razmnožavati, odnosno izmjenjivati genetički materijal, te koja ima fertilno potomstvo. Jedinke u populaciji pokazuju varijacije u fenotipovima i genotipovima, pri čemu specifične učestalosti alela i genotipova definiraju genetičku strukturu neke populacije. Temelj genetičke strukture populacije su raznolikost (polimorfizmi, heterozigotnost-homozigotnost) i distribucija alela u populaciji (Šolić, 2005).

Osnovana od strane uglavnom malog broja pojedinaca, izolirana populacija započinje svoju evoluciju ograničenom zalihom gena i manjim brojem genskih varijacija koja se odražava na heterozigotnosti i genetičkoj raznolikosti (Crow i Kimura 1970). Radi nemogućnosti prenošenja novonastalih mutacija na druge populacije (nedostatak toka gena) i dugog razdoblja genetičke izolacije, prisutna je veća razina srođivanja tijekom kojega se može dogoditi genetički pomak i manja učestalost rekombinacije među pojedincima. To rezultira razlikama u učestalosti alela u odnosu na većinsku populaciju u okolini, ali i pojavom novih alela (Žunić, 2019).

Uzroci izolacije mogu biti nastanjivanje nove, udaljene zemljopisne lokacije (geografska izolacija), primjena nove kulturne prakse (sociokulturni uzroci), novog jezika, plemenskog ili nacionalnog identiteta, religije (Rudan, 2006). Posljedica izolacije je ograničeni broj haplotipova, koji govori o visokoj razini neravnoteže vezanosti gena (eng. linkage disequilibrium, LD) budući da ograničena veličina populacije ne dopušta onu učestalost rekombinacije koja je prisutna u

velikoj populaciji. Mali broj jedinki u ishodišnoj populaciji uz pojavu genetičkog pomaka u narednim generacijama dovodi do nestanka nekih genetskih osobina i pojave drugih, pa je genom izoliranih populacija homogeniji od genoma kozmopolitskih populacija (Lacy, 1997).

Istraživanja genetski izoliranih ljudskih populacija pokazala su se korisnima pri mapiranju gena za rijetke monogenske bolesti, kao i boljem razumijevanju podloge kompleksnih, poligenetskih bolesti (Capocasa i sur., 2013). Najčešće korišteni pokazatelji genetičke varijabilnosti neke populacije su polimorfni biljezi poput SNP-a i mikrosateliti (eng. Short Tandem Repeats, STR), dok se pri istraživanju evolucijske prošlosti populacije, njezine zemljopisne raspodjele, utjecaja prirodnog odabira, mutacija i drugih čimbenika koji djeluju na učestalost alela primjenjuje analiza neravnoteže vezanosti gena, LD. Visoka razina neravnoteže vezanosti gena u ovim populacijama pripisuje se manjem broju generacija rezultirajući smanjenom rekombinacijom.

Romi pripadaju skupini transnacionalnih izolata budući da se radi o izoliranoj populaciji bez vlastite države koja je široko zemljopisno rasprostranjena, ali je sačuvala izoliranost zbog sociokulturnih obrazaca ponašanja (Barešić, 2013), npr. običaja endogamije. Endogamija je pojava u kojoj pripadnici neke populacije traže partnera isključivo unutar vlastite skupine. Na temelju povijesnih i lingvističkih istraživanja izvorna romska populacija smješta se u Indiju (Barešić, 2013), u sjeverozapadne pokrajine Dardistan i Kafiristan (Barešić, 2013) odakle se seli u nekoliko migracijskih valova u drugom polovici prvog tisućljeća. Prve skupine kreću preko Afganistana, dolaze u Perziju u 9. stoljeću i nastavljaju do obala Kaspijskog jezera gdje se dijele u dvije velike skupine: sjevernu koja kreće prema Rusiji i južnu koja prolazi duž riječnih tokova Eufrata, Tigrisa, preko Bliskog istoka do Sirije i Egipta (Barešić, 2013). Dio južne skupine se odvaja i kreće prema sjeverozapadnoj Africi i Španjolskoj (Romi Gitani) (Barešić, 2013), dok će najveći dio Roma prolaziti Anatoliju, Bospor i doći na Balkan i Europu između 11. i 12. stoljeća (Barešić, 2013). Otuda se šire po svim dijelovima Europe pri čemu najveći dio Roma naseljava područje Balkana gdje i danas žive. Drugi dio populacije nastavlja se seliti prema zapadnoj i sjevernoj Europi, a treći dio populacije prelazi Dunav i naseljava pokrajine Vlašku, Moldaviju i Transilvaniju radi čega ih danas nazivamo „Vlaški Romi“ (Barešić, 2013). Tijekom narednih 500 godina Vlaški Romi prolaze razdoblje ropstva te 1856. godine bivaju oslobođeni i u nekoliko valove sele se prema

zapadu. Tada u područja velikih rijeka doseljavaju Romi Bajaši koji govore arhaičnim rumunjskim jezikom budući da u razdoblju ropstva nisu smjeli koristiti vlastiti romski jezik (Barešić, 2013).

Dugotrajno razdoblje ropstva utječe na društveni ustroj vlaških Roma pa se prvotno homogena populacija raspada na mnogo manjih podgrupa koje se s vremenom međusobno razlikuju po načinu života, običajima i društvenom ustroju s izrazitom endogamijom, što se odražava u promjeni njihove genetičke strukture i značajnom međusobnom genetičkom razlikovanju današnjih skupina vlaških Roma (Barešić, 2013). Zadnji val iseljavanja Roma tijekom 20 st., u zemlje zapadne Europe i Ameriku uzrokovan je ekonomskim razlozima (u Barešić, 2013).

Procjenjuje se da danas u svijetu živi oko 15 milijuna Roma od čega se najveći broj nalazi u Europi (12 milijuna) i to zemljama jugoistočne Europe. Najviše Roma živi redom u Rumunjskoj, Bugarskoj, Španjolskoj, Mađarskoj, Slovačkoj, Srbiji, Francuskoj, Češkoj, Makedoniji, Grčkoj, Italiji i dr. Prema zastupljenosti u odnosu na većinsku populaciju, Romi su najzastupljeniji u Makedoniji, Bugarskoj, Slovačkoj, Rumunjskoj, Mađarskoj, Srbiji i dr. (Tonković, 2017). Radi neizjašnjavanja Roma oko pripadnosti svome narodu prilikom popisivanja stanovništva, najčešće zbog straha od diskriminacije ili progona (entomimikrija), javlja se veliko neslaganje između službenih brojki i procjena stvarnog broja romskog stanovništva u nekoj državi.

### **3.1. Romi u Hrvatskoj**

Na području Hrvatske Romi se prvi puta spominju u Dubrovniku 1362. godine, dok već 1373. godine postoji zapis o njihovom boravku na području grada Zagreba. Romi danas prisutni u Hrvatskoj, s obzirom na seobene obrasce i dijalekte romskog i/ili rumunjskog jezika, pripadaju dvjema osnovnim skupinama. Tako imamo Vlaške Rome (Bajaši, Čurari, Kalderaši i dr.) i Balkanske Rome (Lovari, Kaloperi, Čergaši i dr.).

Vlaški Romi obuhvaćaju sve skupine koje su tijekom svoje povijesti bile podvrgnute ropstvu u bivšim rumunjskim kneževinama. Iz tih područja već u 17 stoljeću dolaze prve veće skupine na prostor Hrvatske, naseljavajući nizine uz rijeke Savu, Dravu i Dunav. Njihovi potomci govore starovlaškim dijalektom romskog jezika. U sljedećem valu, nakon potpunog ukinuća ropstva u

Rumunjskoj 1856. godine, u naše krajeve dolaze skupine poput Roma Bajaša čiji jedan dio potomaka govori novovlaške dijalekte romskog jezika, a drugi, veći dio prestaje govoriti romski jezik i govori arhaični starorumunjski jezik ljimba d'bjaš (Barešić, 2013) koji ima tri dijalekta. Bajaši iz Međimurja govore erdeljskim dijalektom, oni iz Baranje govore baranjski muntenski, dok Bajaši s područja Siska, Kutine i Slavenskog Broda govore ludarski muntenski. Morfološka i fonološka istraživanja ovih dijalekata pokazuju da su baranjski i ludarski muntenski međusobno slični, dok se erdeljski dijalekt od njih značajno razlikuje (Barešić, 2013).

Balkanski Romi potječu od prvih doseljenika na Balkan, koji se naseljavaju unutar granica Otomanskog carstva oko 11. stoljeća (Barešić, 2013). Govore balkanskim dijalektima romskog jezika romani chib.

### **3.2. Antropološka i epidemiološka istraživanja Roma**

Prostorna, ekonomska, politička i kulturna marginalizacija radi vrijednosnog sustava, običaja i stavova koji se ne mogu uklopiti u način života europskog stanovništva odražavaju se na antropološkoj i epidemiološkoj razini. Prostorna stabilizacija Roma na periferijama gradova ili sela bez osnovne urbane infrastrukture u lošim stambenim i nehigijenskim uvjetima života, u teškom siromaštvu i niskog obrazovnog statusa očituje se u njihovom lošem zdravstvenom stanju i kratkom životnom vijeku. Gledajući epidemiološki, romska populacija se može smatrati izuzetno ranjivom jer nosi genetički rizik u smislu visoke razine reproduktivne izoalcije od populacije koja ju okružuje što povećava mogućnost specifičnog genetičkog sastava (povećana učestalost za populaciju specifičnih alela i povećane frekvencije homozigotnih genotipova kao posljedica genetičkog pomaka i srođivanja) i rizik okoliša (niska socioekonomska razina, utjecaj tradicije i način života koji ugrožava zdravstveno ispravna ponašanja, nomadski stil života sa niskodohodovnim zanimanjima bez formalnog zaposlenja i sustava socijalne sigurnosti) (Škarić-Jurić i sur., 2007).

Rezultati istraživanja Škarić-Jurić i sur. (2007) rađenog na odrasloj populaciji Roma Bajaša s područja istočne (Baranja) i sjeverozapadne (Međimurje) Hrvatske ukazali su na prehrambeni status ove populacije očitovan prosječnim BMI za osobe do 35 godina, nakon čega se javlja



prevalencija gojaznosti sa rastućim trendom kod starije populacije. S druge strane, 7% pojedinaca bilo je pothranjeno s naglaskom na žensku populaciju. Istraživanja prehranbenih navika Roma Bajaša iz Baranje pokazala su neredovitost u obrocima i njihovom nekvalitetnom sastavu (mnogo životnjske masti, kave i alkohola) pa se može pretpostaviti povezanost nezadovoljavajućeg prehranbenog statusa i nezdravih prehranbenih navika sa siromaštvom ove populacije Roma (Zajc i sur., 2006). Pušenje kao dio tradicionalnog ponašanja Roma bilo je prisutno u 70 % ispitanika bez obzira na spol. Reproductivni status žena Roma Bajaša ukazao je na njihovu visoku prosječnu plodnost, rano udavanje (16,8 godina) i rađanje mnogo djece po ženi (3,9) za razliku od žena iz opće populacije Hrvatske (1,5). Usporedno, zapažen je visoki stupanj induciranih pobačaja, kao glavnih regulatora poroda, naročito u skupini starijih žena. Izjavljena prevalencije hipertenzije i KOPB-a u istoj populaciji bila je manja od stvarne prevalencije tih bolesti radi niskog postotka zdravstvenih pregleda. Hipertenzija se javljala više u žena starije populacije s naglaskom na pet puta veću zastupljenost u Baranji nego u Međimurju. Procjena prevalencije faktora rizika od kardiovaskularnih bolesti u odraslih osoba romske zajednice na ruralnim područjima Hrvatske, uzimajući u obzir klasične fenotipove rizika za kardiovaskularne bolesti, pokazala je visoke faktore rizika za kardiovaskularne bolesti u odnosu na opću populaciju Hrvatske, naročito kod žena (gojaznost i razina triglicerida) zajedno sa trendom visoke razine BMI u mlađe populacije (18-34 godina) (Zeljko i sur., 2013). KOPB kao bolest javljao se trostruko više u Baranji, unatoč nižeg udjela pušača nego u Međimurju što ukazuje utjecaj okoliša na području obitavanja (onečišćenja, dim, prašina) i/ili utjecaja genetičkih čimbenika, respiratornih infekcija i stresa. U obje regije žene su imale više izražene psihosomatske simptome. Rezultati su pokazali opće nepovoljno zdravstveno ponašanje koje uz loše životne uvjete dovelo do homogene raspodjele zdravstvenih problema u cijeloj populaciji.

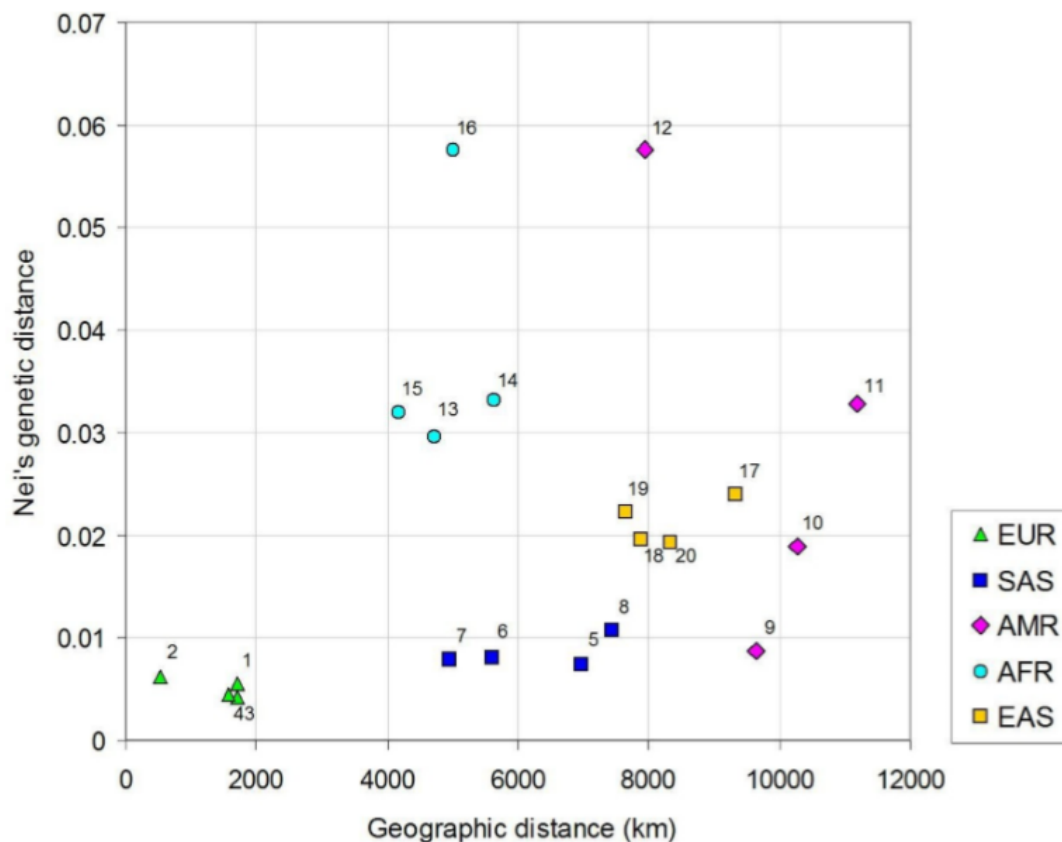
## 4. Istraživanja farmakogena u romskoj populaciji Hrvatske

Romi predstavljaju znanstveni i klinički izazov s obzirom na njihovo indijsko podrijetlo, fragmentaciju populacije i mrežu često endogamnih podskupina. Njihova trajna izolacija doprinjela je očuvanju njihovog temeljnog genetskog fonda sa određenim karakteristikama naspram okolnih većinskih populacija (Škarić-Jurić i sur. 2018).

Malo je dostupnih radova o prevalenciji varijanti ADME gena u romskoj populaciji. U studiji Škarić-Jurić i sur. na Institutu za antropologiju u Zagrebu istraživala se pozicija koju zauzimaju hrvatski Romi s obzirom na svjetsku varijaciju u 95 lokusa u 31 ADME genu. Koristili su se podaci iz prikupljenih uzoraka nekoliko hrvatskih regija s najvećim brojem stanovnika romske nacionalnosti, podaci 20 svjetskih populacija u 5 veliki regija navedenih u popisu projekta 1000 Genoma (Faza 3) obogaćeni sa podacima pronađenim sustavnim pretraživanjem literature zajedno sa dodanim podacima iz publikacija koje citiraju neke od 95 istraživanih SNP-ova u ovih 20 svjetskih populacija (Škarić-Jurić, 2018).

Prikupljeni uzorci bili su genotipizirani KASP metodom, izračunate su učestalosti manjeg alela (eng. minor allele frequencies- MAF) za 95 ADME genskih lokusa u populaciji hrvatskih Roma i uspoređivane s MAF vrijednostima istih genskih lokusa u 20 svjetskih populacija. Matrica genetičke udaljenosti populacija rađena je prema metodi Masatoshi Nei-a i podvrgnuta aglomerativnoj hijerarhijskoj metodi grupiranja UPGMA na softveru Phylip v3.697. Proveden je statistički test korelacije između matrica genetskih i geografskih udaljenosti (Mantelov test) i izračunata geografska udaljenosti između analiziranih populacija. Odnos genetičke varijacije i geografske udaljenosti ovih populacija analiziran je pozitivnim odnosom između matrica njihove genetičke i geografske udaljenosti.

Rezultati su pokazali zamjetno odvajanje klastera s populacijama u kontinentalnoj naspram otočne regije pri čemu su klasteri europskih i južnoazijskih populacija dali najmanju genetsku udaljenost prema populaciji Roma u Hrvatskoj. To govori o grupiranju Roma unutar europskih populacija i genetičkoj relativnoj blizini s južnoazijskim populacijama, unatoč njihovoj značajnijoj geografskoj udaljenosti. Genetička udaljenost Roma i istočnoazijskih i američkih populacija daleko je veća, a najveća je ona sa afričkim populacijama makar su geografski bliže nego azijsko područje (Škarić-Jurić i sur. 2018).



**Slika 2.** Genetička udaljenost između hrvatskih Roma i 20 svjetskih populacijau odnosu na njihovu geografsku udaljenost. Legenda: 1=Finska; 2=Italija; 3=Šanjolska; 4=UK; 5=Bangladeš; 6= Indija; 7=Pakistan; 8= Sri Lanka; 9=Kolumbija; 10=Meksiko; 11=Peru; 12=Puerto Rico; 13=Gambia; 14=Kenija; 15=Nigerija; 16=Siere Leone; 17= Japan; 18=Kina-Dai; 19=Kina-Han; 20=Vijetnam. Preuzeto iz Škarić-Jurić i sur. 2018.

Također, Škarić-Jurić i sur. koristili su MAF podatke za 95 lokusa ADME gena u 21 populaciji (uključujući Rome Hrvatske) i populacijski orjentiranu analizu glavnih komponenti (eng. Principal Component Analysis-PCA) koja sustavno prepoznaje temeljne varijable ili glavne komponente (PC) koje najbolje razlikuju skup podataka za stvaranje dijagram raspršenosti s prikazom grupiranja 21 populacije u odnosu na prve dvije glavne komponente i genskim lokusima s najvećim vrijednostima rezultata faktora. Nađeno je šest glavnih vrijednosti (PC) koji čine 76,4% ukupne objašnjene varijance i pokazuju genetičke odnose među populacijama. PC1 (28,4% ukupne varijance) odvaja četiri afričke zemlje od ostalih, PC2 (20,9% ukupne varijance) odvaja četiri istočnoazijske zemlje, a PC3 (10,8% ukupne gentske varijance) odvaja južne Azijate od europsko-

američkog klastera. Romi iz Hrvatske posrednici su u odnosu na Europljane i južne Azijate. PC4 os (8,54% ukupne varijance) odvaja Amerikance od europsko-romske skupine i stavlja populaciju Roma na vrh pozitivnog pola osi. PC5 (čini 4,3% ukupne varijance) razlikuje europske zemlje, a PC6 (čini 3,5% ukupne varijance) istočnoazijske populacije (Škarić-Jurić i sur. 2018).

Kako bi se istražilo klasteriranje SNP-ova u gore navedene 21 populacije u cilju otkrivanje lokusa koji definiraju klasterne populacije dobivene u populacijskoj PCA, radila se genetički orijentirana analiza glavnih komponenti (eng. Gene-oriented Principal Component Analysis (gPCA) u cilju traženja najznačajnijih (kontinentalnih) SNP-ova ključnih ADME lokusa. Dobivena je komponenta gPC1 (objašnjava 77% varijance), koja nije specifična za populaciju za razliku od gPC2 (9,3% vrijednosti) i gPC3 (6,1% ukupne vrijednosti). Kombinacijom populacijskog i genskog pristupa dobiva se dijagram raspršenosti koji prikazuje grupiranje 21 populacije na temelju prve dvije glavne komponente PCA temeljene na populaciji i lokusa s najvećim rezultatima faktora dobivenih s gPCA (gPC2 i gPC3). Izdvajaju se tri klastera; afrički (AFR), istočnoazijski (EAS) i zajednički južnoazijski, europski i američki (SAS, EUR i AMR). Afrički i istočnoazijski klasteri povezani su ADME genima s najvišim vrijednostima faktora za gPC2 i gPC3, pri čemu su se rs4149117 (*SLCO1B3*) i rs2242480 (*CYP3A4*) pokazali izraziti afrički lokusi, a SNP tri *NAT2* gena i *SNP* (rs9923231) od *VORCI* gena kao istočnoazijski lokusi (Škarić-Jurić i sur. 2018).

Dodatno, ova studija razaznala je šest SNP lokusa gena ADME koji najistaknutije razlikuju kontinentalne skupine, što proširuje naše znanje o globalnoj varijaciji ADME. To su: *VKORCI* (rs9923231), *SLCO1B3* (rs4149117), *CYP3A4* (rs2242480) i *NAT2* (rs1208, rs1801280 i rs1799929).

Jedan od šest SNP lokusa koji stvara razliku kontinentalne grupe od ostalih je SNP rs9923231 u genu *VKORCI* (važan u doziranju i toksičnosti varfarina i dr. lijekova). Ovaj gen ima najveće MAF vrijednosti među svjetskim populacijama i određuje afričke i istočnoazijske kontinentalne klasterne. Njegove MAF vrijednosti kod Roma Hrvatske usporedive su sa europskim populacijama i veće su od vrijednosti njihovih predaka iz južnoazijskih populacija.

SNP lokus rs2242480 gena *CYP3A4* (važan za metaboliziranje većeg broja lijekova, steroidinih hormona) pokazuje značajne razlike u MAF između afričkih i neafričkih populacija. Njegova učestalost u romskoj populaciji (0,3012) je veća nego u ostalim europskim populacijama i sukladna je učestalosti južnoazijskih populacija.

Lokus rs4149117 in *SLCO1B3* genu odvaja afrički klaster, pri čemu G je alel SNP- lokusa rs4149771 ovog gena dvostruko češći u neafričkoj populaciji za razliku od afričke, pri čemu Romi iz Hrvatske imaju najnižu MAF vrijednost u Europi. Njegov protein ima funkciju prenosioca velikih nepolarnih lijekova i hormona u jetri.

NAT2 je jedan od najpolimorfnijih ADME gena za enzim s funkcijom u metabolizmu ksenobiotika. Značajno je da se njegove varijante razlikuju među različitim populacijama, a obrasci genetske diferencijacije povezani su s geografijom. MAF vrijednosti tri NAT2 lokusa (rs1208, rs1801280, and rs1799929) kod Roma nalaze se unutar vrijednosti europskih populacija.

Mutacija u *CYP1A1* genu na lokusu rs1048943 (Ile462Val) izražena u južnoameričkoj populaciji, znatno je niža unutar europske populacije što je utvrđeno i kod Roma u Hrvatskoj. Razlike između maksimalnih i minimalnih MAF vrijednosti (delta vrijednosti) za navedenih 95 SNP-ova u 21 populaciji pokazale su da hrvatski Romi imaju najveće razlike MAF vrijednosti među ovim populacijama u 10 SNP-ova; rs1128503 (*ABCB1*), rs1902023 (*UGT2B15*), rs12248560 (*CYP2C19\*17*), rs1799853 (*CYP2C9*), rs3758581 (*CYP2C19*), rs10509681 (*CYP2C8\*3*), rs1138272 (*GSTP1*), rs8192709 (*CYP2B6*), and rs34059508 (*SLC22A1*) (i uz najviše MAF vrijednosti za rs28371725 (*CYP2D6*)). Romi imaju najmanje MAF vrijednosti za rs4149117 (*SLCO1B3*) (i uz najmanje MAF vrijednosti za rs28399433 (*CYP2A6*)).

Zaključeno je da je populacija Roma smještena unutar europskog klastera i bliska je južnoazijskim populacijama. Melegh i suradnici (2017) otkrili su smještaj Roma na PCA (cline) između Europljana i južnoazijaca, bliže Europljanima. Na temelju analize SNP lokusa nađeno je 10 ekstremnih MAF vrijednosti, pri čemu je uočena značajna razlika od europske populacije na lokusima gena podobitelji *CYP2C* i *CYP2D* gena.

Istaraživanja ADME polimorfizama u romskoj populaciji na 3 SNP lokusa u genu *CYP2B6* (Tomas i sur., 2017), 4 SNP lokusa u *MDR1* genu (Spikey i sur., 2011) i 2 SNP lokusa u genu *SLCO1B3* (Nagy i sur., 2015) potvrdili su razlikovanje romske populacije na tim lokusima od geografski bliskih većinskih populacija, ali i od indijanskih populacija. Rezultati su u skladu sa strogim pravilima grupne endogamije, reproduktivne izolacije i specifične prakse stupanja u spolne odnose i izolacije tijekom posljednjih nekoliko stoljeća.

Nekoliko lokusa sa izvanuobičajnim MAF vrijednostima u romskoj populaciji navedeni su u bazi znanja farmakogenomike (Pharmacogenomics Knowledgebase, PharmGKB) pri čemu dva

lokusa označena su razinom 1A kao jaki dokazi: rs1799853 (*CYP2C9*) za određivanje doze varfarina i rs12248560 (*CYP2C19*) za određivanje doze, učinkovitosti i toksičnosti klopidogrela. Potonji je također označen kao razina 2A (vrlo važan farmakogen) za farmakokinetiku citalprama ili escitaloprama. Također rs10509681 (*CYP2C8*) označen je kao razina 2A za farmakokinetiku rosiglitazona i rs1902023 (*UGT2B15*) kao razina 2B (umjereni klinički dokaz) za lorazepam ili oksazepam ([www.pharmagkb.org](http://www.pharmagkb.org)).

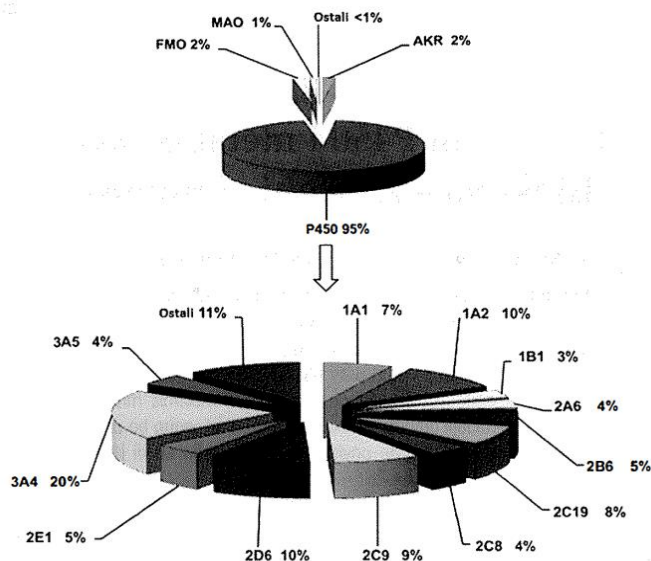
#### 4.1. Citokrom P450 (CYP)

Citokrom P450 je superporodica hemoproteina sa enzimskim djelovanjem kao monooksigenaze, oksidaze i peroksidaze, čak i u reakcijama redukcije (Božina, Bradamante, Lovrić, 2009), uključenih u sinezu i metabolizam širokog spektra spojeva (Estabrook, 2003). Samo ime govori o nekoliko njihovih značajki; vezani su za membranu (cito), sadrže hem kao pigment, vezanjem ugljikovog monoksida imaju apsorpcijski maksimum pri 450 nm tijekom spektrofotometrijske analize (Reichhart, Feyereisen, 2000). CYP proteini kao metabolički izoenzimi većinom kataliziraju oksidativne reakcije, umetanje atoma iz molekularnog kisika u supstrat, tj. tipičnu aktivacijsku fazu (ili fazu I), pri čemu koriste elektrone s NAD(P)H za kataliziranje aktivacije molekularnog kisika dovodeći do regiospecifičnog i stereospecifičnog oksidativnog napada na veliki broja supstrata (Reichhart, Feyereisen, 2000). U monooksigenaznoj reakciji odvija se umetanje jednog atoma kisika na alifatsko mjesto organskog supstrata (RH) dok se drugi atom kisika reducira do vode:  $\text{RH} + \text{O}_2 + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{ROH} + \text{H}_2\text{O} + \text{NADP}^+$ . Porijeklo citokrom P450 superporodice je kod prokariota prije pojave eukariota i nakupljanja molekularnog kisika u atmosferi (Reichhart, Feyereisen, 2000). U prokariota dolaze kao topljivi proteini, dok su u eukariota većinom vezani na endoplazmatski retikulum ili unutarnju membranu mitohondrija uglavnom hepatocita (Lozić, Rimac, Bojić, 2016). Fiziološki supstrati uključuju steroide, masne kiseline, prostaglandine, leukotriene i biogene amine, dok su ksenobiotski supstrati- tvari stranih organizmu- ksenobiotika (grč. xenos- stran, bios- život) lijekovi, biljni toksini i otrovne kemikalije iz okoliša (Božina, Bradamante, Lovrić, 2009).

Njihova aminokiselinska sekvenca jako je raznolika radi intenzivne duplikacije gena, dok struktura ostaje konzervirana (konzervirani Cys kao peti ligand vezivanja željeza u hemu zadržava

se tijekom evolucije (Reichhart, Feyereisen, 2000)). CYP superporodicu se dijeli na tri velike skupine. Prva skupina uključuje CYP porodicu 5 do 51 s visokim afinitetom za endogene supstrate, koji su ostali dobro očuvani tijekom evolucije. Druga skupina uključuje CYP obitelji 1 do 3, koje imaju manji afinitet za supstrate i manje su evolucijski očuvane. Treća skupina uključuje obitelj CYP 4 koja metabolizira masne kiseline, srodne supstrate i neke ksenobiotike (Božina, Bradamante, Lovrić, 2009). Poznato je više od 200 000 različitih proteina CYP. Klasifikacija P450 superobitelji gena temelji se na aminokiselinskoj sekvenci njihovih proteina, filogenetskom kriteriju i organizaciji gena. Na korijen CYP nastavlja se broj obitelji (grupa proteina sa više od 40% sličnosti u aminokiselinskoj sekvenci), slovo obitelji (više od 55% sličnosti aminokiselina) i brojem za gen (Reichhart, Feyereisen, 2000). Poznato je 57 gena i više od 59 pseudogena koji ukupno čine 18 porodica i 43 podporodica citokroma P450 (<http://drnelson.uthsc.edu/human.P450.table.html>).

Najvažniji genski polimorfizmi za metabolizam lijekova nalaze se u *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, and *CYP3A4/5* i mogu utjecati na neuspješnost terapije ili rezultirati ozbiljnim nuspojavama. Geni koji kodiraju za *CYP1A1*, *CYP1A2*, *CYP1B1* i *CYP2E1* su među najodgovornijima su za biotransformaciju kemijskih tvari naročito metaboličku aktivaciju prekarinogena, uz dokaz povezanosti genskog polimorfizma 2016.



**Slika 3.** Udio citokroma P450 u reakcijama oksidacija i redukcija na temelju broja reakcija koje kataliziraju pojedini enzimi (Skraćenice: P45- citokrom P450, AKR-aldo-keto reduktaze, FMO-flavinmonooksigenaze, MAO-monoaminoksidaze). Preuzeto i prilagođeno od Lozić, Rimac, Bojić, 2016.

#### 4.1.1. *CYP2B6* kao farmakogen

Citokrom P4502B6 je eksprimiran u jetri, manjim dijelom u plućima, te u mozgu gdje ima važnu ulogu u metabolizmu lijekova gdje je zaslužan za neurološke nuspojave nekih lijekova) i metabolizam droga (Turpeinen, Zanger, 2012). Pripada enzimima Faze I čineći 5% svih citokroma koji sudjeluju u reakcijama oksidacije i redukcije (Lozić, Rimac, Bojić2016). Odgovoran je za metabolizam oko 4% od 200 najkorištenijih lijekova (Zanger, Klein, 2013). Visoko je inducibilan lijekovima (fenobarbiton, fenitoin, rifampin (Lozić, Rimac, Bojić, 2016)) i drugim ksenobioticima. Njegovi su supstrati artemisinin, bupropion, ciklofosfamid, efavirenz, ifosfamid i metadon (Lozić, Rimac, Bojić, 2016).

Transkripcija ovog gena regulirana je jezgrinim receptorima PXR i CAR koji se vežu za proksimalni element odgovora PREM (oko 1.7 kb uzvodno od mjesta početka transkripcije) te distalni element odgovora XREM (oko 8.5 kb uzvodno od mjesta početka transkripcije) u promotoru *CYP2B6* i aktiviraju transkripciju. Ekspresija *CYP2B6* mRNA je visoko varijabilna kod pojedinaca, pri čemu mnoge tvari koje su metabolizirane s *CYP2B6* preko receptora opet potiču



gensku transkripciju (Kuhanec, 2017). Gen *CYP2B6* sa 53 opisana haplotipa i 28 alela, i više od 100 opisanih SNP-ova slovi za jednog od najpolimorfnijih ADME gena kod ljudi (Hedrich, Hassan, Wang, 2016). Nalazi se zajedno sa pseudogenima *CYP2D7P* i *CYP2D8P* na kromosomu 22q13.1 (Marković, Stojanović i sur., 2022). Varijacije gena obuhvaćaju promjene u promotorskim i intronskim regijama, tihe i nesinonimne promjene, često neravnotežno vezane i odgovorne za pojavu različitih haplotipova poput nul-alela, alela s djelomično smanjenom ekspresijom ili funkcijom, te alele s pojačanom aktivnošću (Kuhanec, 2017). Neki polimorfizmi gena imaju učestalost veću od 50% i razlikuju se između etničkih skupina. Varijabilnosti enzima koji metaboliziraju ksenobiotike i transportere ksenobiotika utječe na široki raspon nasljednih varijabilnosti odgovora na lijekove. Funkcija proteina *CYP2B6* i ekspresija njegovog gena variraju između osoba i u unutar osobe što utječe na nemogućnost predviđanja koncentracije ksenobiotika i njihovih metabolita u organizmu i time na nepredvidive reakcije organizma na lijekove.

Supstrati *CYP2B6* proteina korišteni su kliničkoj praksi i obuhvaćaju lijekove protiv HIV-a (efavirenz i nevirapin), citostatike (ciklofosfamid), antidepresive (bupropion), antimalarike (artemisinin), anestetike (propofol) i sintetičke opioide (metadon) (Kuhanec, 2017).

#### 4.1.1.1. Polimorfizmi gena *CYP2B6* u populaciji Roma Hrvatske

Tomas i sur. analizirali su sedam SNP lokusa gena *CYP2B6* (rs8192709, rs12721655, rs3745274, rs2279343, rs28399499, rs34097093 i rs7260329) iz ukupno 439 uzorka DNA uzetih od tri subpopulacije hrvatskih Roma. Tri lokusa (rs12721655, rs28399499 i rs34097093) pokazala su se monomorfni sukladno njihovoj globalnoj distribuciji učestalosti, dok su ostali polimorfni lokusi bili u Hardy-Weinberg ravnoteži što je neočekivano budući da se HW ravnoteža postiže zadovoljenim uvjetima nasumičnog izbora partnera, beskonačno velikih populacija bez migracija, mutacija i selekcija, što nije slučaj kod romskih populacija - malih i rascjepkanih s izraženom edogamijom. Polimorfni lokusi pokazali su značajne razlike u tri romske subpopulacije s obzirom na raspodjelu učestalost alela i genotipova; npr. lokus rs8192709 gdje je MAF vrijednost u balkanskoj subpopulaciji 5%, a u baranjskoj (18%) i međimurskoj subpopulaciji (19%) ili lokus rs7260329 u kojem je MAF vrijednost najveća u populaciji balkanskih Roma (45%) (Tomas i sur., 2017). U sve tri subpopulacije lokus rs3745274 bio je u neravnoteži vezanja (eng. linkage disequilibrium) s lokusom rs2279343.

U radu Kuhanec, 2017, utvrđeno je neravnotežno vezanje pojedinih parova lokusa ovog gena. Tako je od 21 para lokusa u populaciji baranjskih Roma 5 parova bilo neravnotežno vezano, u međimurskih Roma 6 parova, a balkanskih Roma 4 para. U sve tri populacije tri para lokusa; rs7260329 i rs8192709, rs7260329 i rs3745274 te rs3745274 i rs22793433 pokazali su značajno neravnotežno vezivanje. Neravnoteža vezivanja nastala je zbog veće zatvorenosti romske populacije s obzirom na endogamiju, pri čemu je balkanska populacija Roma zbog povijesti otvorenosti ka neograničenom kretanju i slobodi imala drugačiju demografsku povijest, vidljivu u najmanjoj neravnoteži vezanja u cijeloj romskoj populaciji. Nađeno je zajedničko nasljeđivanje istog dijela genoma (rs3745274 i rs2279343) u balkanskoj i međimurskoj subpopulaciji čineći haplotip *CYP2B6\*6* (Kuhanec, 2017).

Razlike učestalosti genotipova između tri subpopulacije određene testom Exact statistički su značajne te se uočava veće razlikovanje balkanske subpopulacije od baranjske i međimurske nego li njih dvije međusobno (Kuhanec, 2017) radi različite demografske i migracijske povijesti balkanske populacije. Postupno i dugotrajno dijeljenje originalne populacije na subpopulacije dovelo je do genetskog pomaka, a njihova endogamija i zatvorenost smanjuje gensku raznolikost i povećava međusobne razlike.

Analizom sekvence nukleotida, broja i učestalosti svakog od sedam različitih haplotipova s obzirom na sedam SNP lokusa *CYP2B6* gena u ukupnom uzorku i u tri subpopulacije pokazalo je pet prevladavajući haplotipova zastupljenih u sve tri subpopulacije sa različitim učestalosti (33%, 31%, 20%, 13%, i 3%) (Tomas, 2017).

Prevođenjem haplotipova (isključujući rs7260329) u nomenklaturu „zvjezdice“ određenu sa tri polimorfna lokusa smještena na prvom, trećem i četvrtom mjestu u haplotipovima, dobivaju se aleli i genotipovi „zvjezdice“ (Tomas, 2017). U farmakogenetici se koristi specifična nomenklatura za haplotipove koji odstupaju od referentne sekvence odnosno divljeg tipa. Nomenklatura je vezana uz procjenu fenotipova vezanih u metabolizam određenih lijekova iz genotipa. Korištenjem programa Phase uočava se prisutnost tri uobičajna alela (\*1, \*6, \*2) koja čine 96,7% svih alela. Budući da u većine istraživanih uzoraka nije nađen rjeđi alel na istraživanim lokusima, najučestaliji zvjezdasti alel je divlji tip *CYP2B6\*1* (63,7%) koji dominira u balkanskom subpopulacijom (70,5%). Slijede ga aleli *CYP2B6\*6*, *CYP2B6\*2* i *CYP2B6\*4* (20,2, 12,8 i 3,3%) (Tomas, 2017).

Haplotip *CYP2B6*\*6 definiran je rjeđim alelima lokusa rs3745274 i rs2279343 koji su u neravnoteži vezivanja kod populacije Roma. Karakteriziraju ga dvije nesinonimne promjene, 516G>T (Q172H, ekson 4) te 785A>G (K262R, ekson 5) (Kuhanec, 2017). Rjeđi alel lokusa rs3745274 povezan je nizom kliničkih napomena vezano uz doziranja i toksičnosti efavirenza i nepirvapina u terapiji HIV-a, terapiji metadonom, anesteziji, transplataciji i dr. (Tomas, 2017). Zabilježena je veza s slabijom ekspresijom i aktivnošću enzima za efavirenz i bupropion (Desta i sur 2007).

Haplotip *CYP2B6*\*2, je treći po učestalosti, definiran je rjeđim alelom rs8192709 čija je MAF među najvišima u svijetu (osobito kod baranjskih i međimurskih Roma) (Tomas, 2017). Za ovaj alel postoje indikacije povećanog rizika hemoragičnog cistitisa prilikom liječenja ciklofosfamidom u terapiji leukemije transplatacijom hematopoetskih matičnih stanica (Gadel, Friedel, Kharasch, 2015). Također, povećava metabolizam efavirenza u terapiji HIV pacijenata (Swaminathan i sur., 2011).

Haplotip *CYP2B6*\*4 definiran je rjeđim alelom lokusa rs2279343 podjednako raspoređenim u romskoj populaciji, sličnih značajki kao *CYP2B6*\*6 s obzirom na lijekove (Tomas, 2017). Najveća učestalost njegovog genotipa GG nalazi se u južnoazijskoj populaciji, dok je ona u romskoj populaciji Hrvatske slična kao i u europskim populacijama (~4%) (Tomas, 2017).

#### 4.1.2. *CYP2D6* kao farmakogen

Gen *CYP2D6* sastoji se od 9 eksona s otvorenim okvirom čitanja od 1491 parova baza koje kodiraju 497 aminokiselina, smješten je na dugom kraku kromosoma 22 (22q13.2), dugačak je 9,7 kb, čita se s negativnog (-) lanca i kodira protein citokrom P450 2D6 (Kimura i sur. 1989). Eksplicira se u jetri i području središnjeg živčanog sustava gdje je utvrđena povezanost sa Parkinsonovom bolesti, Lewyjevim tijelima i Alzheimerovom bolesti (Halling i sur. 2008), ponašanjima i samoubojstvima (10x veća prisutnost više od dvije kopije aktivnih gena *CYP2D6* (Bertilsson,2010). Protein *CYP2D6* odgovoran je za eliminiranje više od 21% klinički korištenih lijekova (Saravanakumar i sur., 2019) i uključen u metabolizam lijekova za prevenciju kardiovaskularnih bolesti i lijekova koji djeluju CNS (eng. central nervous system):  $\beta$  blokatora, antiaritmika neuroleptika, antidepresiva, antipsihotika, opioida i dr. (Zhou i sur. 2009),

metabolizam prokarcinogenih tvari, neurotoksina, biljnih alkaloida , herbicida, pesticida i droga amfetamina (Wang i sur. 2009). Gen *CYP2D6* je visoko polimorfan u ljudskoj populaciji (više od 100 alelnih varijanti) što pridonosi interindividualnoj varijabilnosti katalitičke aktivnosti *CYP2D6* enzima.

Definirane su 4 fenotipske klase *CYP2D6* enzima: slabe, srednje, normalne i ultrabrze metabolizatore (Stojanović, Marković i sur. 2022). Kod osoba s istim genotipom aktivnost ovog enzima može varirati nekoliko puta radi različite regulacije transkripcije *CYP2D6* gena. (Stojanović, Marković i sur., 2022). Kao varijacije gena *CYP2D6* dolaze SNP-ovi, kratke insercije i delecije (in/del), dugačke delecije, duplikacije čitavog gena. Funkcionalni polimorfizam obuhvaća točkaste mutacije u kodirajućoj regiji, zamjenu aminokiselina i utjecaj na aktivnost, stabilnost i specifičnost enzima. Kombinacija svih polimorfizama tj. prisustvo određenih alelnih varijanti smanjiti će ili povećati aktivnost enzima (Teh i Bertilsson 2012). i dovesti do pojave četiri metabolička fenotipa; kada enzim neće biti aktivan (kodira ga null aleli), aktivnost mu je smanjena, normalno ili povećana (više od dvije kopije normalnih varijanti alela gena *CYP2D6*).

#### 4.1.2.1. Polimorfizmi gena *CYP2D6* u populaciji Roma Hrvatske

Do sada je opisano 113 varijanti gena *CYP2D6*, te velik broj SNP-ova bez dodijeljenih haplotipova i zapažene su značajne etničke razlike u učestalostima funkcionalnih alela. U radu Puljko, 2018 analizirana je varijabilnost egzona gena *CYP2D6* na uzorku DNA iz krvi 323 pripadnika triju romskih subpopulacija u Hrvatskoj. Ustanovljena su 24 polimorfna lokusa i korištenjem rezultata sekvenciranja određena učestalost genotipova navedenih lokusa. U svim subpopulacijama na lokusima rs1065852, rs29001678, rs28371703, rs28371704 i rs1081003 ustanovljene učestalosti rjeđeg (mutiranog) alela (MAF vrijednosti) su manje od onih u svjetskim populacijama, dok su na lokusima rs1058164 i rs28371725 ustanovljene veće učestalosti mutiranih alela od onih u svjetskim populacijama. Na lokusima rs769258, rs17002852 i rs28371732 učestalosti mutiranih alela su u skladu sa onima iz populacije južne Azije što se podudara s porijeklo Roma. Na lokusima rs138100349, rs368389952, rs1985842 i rs16947 učestalosti mutiranih alela u populaciji balkanskih Roma značajno se razlikuje od onih iz Međimurja i Baranje što se i očekuje radi različite povijesti subpopulacija.

Prisutnost mutacija na 24 lokusa povezana je s promjenom u metabolizmu lijekova, te one imaju svoju farmakogenetičku važnost za populaciju Roma. Mutacija u rs1065852 povezuje se s metabolizmom tamoksifena i antipsihotika, mutacija rs28371703 i rs28371704 sa smanjenom aktivnosti CYP2D6 enzima u tretmanu COS1 stanica bufuralolom kod osoba s alelom T (Kagimoto i sur. 1990), rs16947 s promjenama u metabolizmu timolola kod osoba oboljelih od glaukoma (Yuan i sur. 2010), mutacija rs28371725 sa smanjenom ekspresijom CYP2D6 u jetri čovjeka (Toscano i sur (2006)) i dr.

Pomoću programa Phase dobiveno je 49 predviđenih haplotipova koji su na temelju njihovog odstupanja od divljeg tipa *CYP2D6\*1* (referentne sekvence) uspješno translaterani u njih 8 zajedno s divljim tipom *CYP2D6\*1* prema nomenklaturi konzorcija Pharmacogen Variation ([www.pharmvar.org](http://www.pharmvar.org)). *CYP2D6\*1(270T)* je varijanta divljeg tipa, ali ima različitu 3' strukturu gena zbog polimorfizma u rs29001678 (Kramer i sur. 2009), varijanta *CYP2D6\*46* povezana je sa smanjenom aktivnost enzima u terapiji desmetiltamoksifenom (Muroi i sur. (2014), *CYP2D6\*2* povezana s promjenama u metabolizmu nekoliko lijekova (smanjena razgradnja dekstrometorfana u zdravih osoba (Abduljalil i sur. 2010), povećana razgradnja paroksetina u djece s depresivnim poremećajem (Findling i sur. 2006.), pojačan metabolizam amitriptilina u posmrtnim toksikološkim analizama (Koski i sur. 2006), *CYP2D6\*18*, *CYP2D6\*48* povezana sa smanjenim metabolizmom bufuralola i dekstrometorfana (Sakuyama i sur. 2008), *CYP2D6\*35A* i *CYP2D6\*35B* povezane sa većim rizikom od bradikardije kod liječenja timolom u oboljelih od glaukoma otvorenog kuta.

U subpopulacijama Baranje i Međimurja nije nađena HardyWeinbergovoj ravnoteža na polimorfnim lokusima rs769157652, rs4987144 i rs1081004 (program Haploview). U subpopulaciji Balkana u neravnoteži su lokusi rs769157652, rs4987144, rs1081004 i rs368389952. Radi malih i izoliranih subpopulacija sa endogamijom, očekivano je da pojedini lokusi nisu u HW ravnoteži.

S obzirom na vezanost lokusa unutar triju romskih subpopulacija (program Haploview) dobivena je veća neravnoteža vezanja pojedinih parova lokusa u sve tri subpopulacije; Baranje (139 parova lokusa), Međimurja (51 par) i Balkana (80 par). Najveća neravnoteža vezivanja u baranjske subpopulacije nije očekivana zbog njene manje otvorenosti i slobode kretanja, te specifične demografske i migracijske povijesti. U svim subpopulacijama ustanovljena su 4

haplotipa. Exact testom ustanovljena je značajna statistička razlika u učestalostima genotipova između sve tri proučavane populacije što potvrđuje njihovo razdvajanje u subpopulacije, različitu povijest i učinak genetskog pomaka.

#### 4.1.3. *CYP2C19* kao farmakogen

Gen *CYP2C19* nalazi se na kromosomu 10q24.1-q24.3, ima devet eksona i kodira protein CYP2C19 (490 aminokiselina) kojeg nalazimo najviše u jetrenim stanicama gdje ima ulogu u metabolizmu oko 10% uobičajno propisivanih lijekova poput lijekova za liječenje peptičkog ulkusa (omeprazol), konvulzija (S-mefenitoin), anksioznosti (diazepam), depresija (citalopram, imipram), za smanjenje rizika od srčanog ili moždanog udara radi zgrušavanja trombocita (kopidogrel) i dr. (Zajc, Petranović i sur. 2018). S obzirom na metaboliziranje, enzim možemo podijeliti u 3 fenotipa: ekstenzivni (EM), intermedijerni (IM) i slabi (PM) metabolizator. 15-20% osoba iz azijske populacije i 3 % bijelaca su slabi metabolizatori sa smanjenom ili odsutnom aktivnošću ovog enzima. Do sada je opisano 113 varijanti gena *CYP2C19* i veliki broj SNP-ova bez dodijeljenih haplotipova. Najznačajnije naslijeđene varijacije u genu *CYP2C19* su: rs4244285 (681 G>A), rs4986893 (636 G>A) i rs12248560 (806 C>T) važne za odgovor enzima na supstrate i odgovaraju alelima *CYP2C19*\*2 (kodiraju za nefunkcionalan enzim), *CYP2C19*\*3 (kodira za nefunkcionalan enzim) i *CYP2C19*\*17 alelima (povećanje transkripcije gena *CYP2C19* i brzi/ultrabrzi metabolizam lijekova) (Zajc, Petranović i sur., 2018).

##### 4.1.3.1. Polimorfizmi gena *CYP2C19* u populaciji Roma Hrvatske

Zajc, Petranović i sur. istraživali su varijacije gena *CYP2C19* u 440 uzorka DNA iz krvi osoba u tri subpopulacije Roma. Genotipizirano je 10 SNP lokusa *CYP2C19* gena od kojih je sedam bilo monomorfnih, a tri su bila polimorfna: rs12248560, rs4244285 i rs3758581. Niti u jednoj subpopulaciji lokus rs3758581 nije bio u HW ravnoteži. Na polimorfnim lokusima pokazala se neravnoteža vezanja između lokusa rs12248560 and rs4244285 u sve tri subpopulacije. Lokus rs12248560 je pokazao značajnu razliku između subpopulacija s obzirom na učestalost pojedinog

genotipa (značajne razlike između balkanske i baranjske subpopulacije Roma dobivene Exact testom) i učestalosti alela ovog lokusa (T alel se pokazao učestalijim u balkanskoj subpopulaciji).

Dobiveno je 5 haplotipova prisutnih u svim subpopulacijama s različitim učestalostima, pri čemu  $\chi^2$  test nije pokazao značajnu razliku u učestalostima haplotipa između subpopulacija. Haplotip TGGGCATGTA naučestaliji je u baranjskoj, a CGGGCATGTA u međimurskoj i balkanskoj subpopulaciji. Prevođenjem haplotipa u nomenklaturu sa „zvjezdicom“ dobivena su tri haplotipa temeljena na polimorfnim lokusima smještenim na prvom, trećem i osmom mjestu u haplotipu. U sve tri subpopulacije najučestaliji je bio divlji haplotip *CYP2C19\*1* (56,6%), zatim *CYP2C19\*17* (28,3%) i *CYP2C19\*2* (15,1%).

Učestalost pojedinog genotipa „zvjezdice“ za gen *CYP2C19* pokazala je najveću zastupljenost \*1/\*17 genotipa u populaciji Roma Hrvatske (33%) koji se u fenotipu pokazao kao brzi metabolizator. U baranjskih Roma učestalost ovog genotipa je najveća (43,2%), dok je kod međimurskih Roma (33,6%) i balkanskih Roma (24,9%) ona druga po zastupljenosti iza \*1/\*1 genotipa za normalni metabolizam. Međimurski Romi imali su najmanju zastupljenost ultra brzog metabolizatora s genotipom \*17/\*17 (3%) naspram njegovog prisustva kod baranjskih (9,9%) i balkanski (7,9%) Roma. Pokazala se najmanja učestalost \*2/\*2 genotipa, dok \*3/\*3 genotip koji je važan za farmakokinetiku *CYP2C19* enzima nije bio prisutan. Učestalost fenotipa ultrabrzog (\*17/\*17) i brzog metabolizatora (\*1/\*17) u romskoj populaciji pokazuje slične vrijednosti onoj u hrvatskoj populaciji.

Usporedba MAF vrijednosti za lokus rs3758581 (\*1) i rs12248560 (\*17) hrvatskih Roma i svjetske populacije 1000 Genoma pokazala povećane vrijednosti kod romske populacije. Uspoređujući sa hrvatskim stanovništvom, učestalost alela \*2 u Roma Hrvatske bila je slična (15,1% naspram 15%,0 u populaciji Hrvatske), dok je učestalost alela \*17 bila veća u romskoj populaciji (28,3%) nego kod hrvatskog stanovništva (23,7%) s naglaskom na veće vrijednosti kod Roma Baranje. Više od polovine baranjske populacije Roma ima *CYP2C19* enzime kao ultrabrz i brze metabolizatore što je podatak značajan za izbor prikladne terapije u odgovarajućoj dozi za terapiju ove subpopulacije. Njezine najčešće bolesti su hipertenzija (13,6%), bolovi u želucu (20,8%), česte glavobolje (24,85%) i tjeskoba/nesanica (16,2%), pa se preporučuje izbjegavanje korištenja lijekova u čiji se metabolizam uključuje *CYP2C19* enzim.

## 4.2. Prenosioci SLC22

Prenosioci SLC22 (od *Solute Carrier*) su transportni proteini većinom iz jetre i bubrega, važni u transportu mnogih lijekova, hormona, pesticida i toksina. Poznato je više od dvadesetak članova ovih transportera koju obuhvaćaju organske kationske transportere (OCT), zwitterion / kation transportere (OCTN) i organske anionske transportere (OAT). Djeluju na više načina: a) prijenosnici u olakšanoj difuziji u bilo kojem smjeru (OCT), b) izmjenjivači aniona (OAT1, OAT3 i URAT1), c) kotransporteri Na<sup>+</sup>/L-karnitina (OCTN2). Uključeni su u apsorpciju i/ili izlučivanje lijekova, endogenih spojeva (monoaminski neurotransmiteri, kolin, L-karnitin, α-ketoglutarat, cAMP, cGMP, prostaglandin i urat) i ksenobiotika u crijevima, jetri i /ili bubrezima i obavljaju homeostatske funkcije u mozgu i srcu. Najvažnija uloga odnosi se na prijenos endogenih metabolita, malih molekula lijekova i toksina (egzogenih i endogenih) između tkiva i izvanstanične tekućine kao što je to u hepatocita ili proksimalnih tubula bubrega (Nigram, 2019). Mutacije ovih gena prijenosnika iz porodice SLC22 mogu uzrokovati metaboličke bolesti vezane uz karnitin i ureate (sistemski manjak karnitina ili tubulointersticijski nefritis), promijeniti apsorpciju ili izlučivanje lijeka (Koepsell, Endou 2003).

### 4.2.1. *SLC22A1* i *SLC22A2* kao farmakogeni

#### a) *SLC22A1*

Nalazi se na kromosomu 6, ekspirira se u jetri, bubrezima i crijevima gdje njegov protein SLC22A1 kao integralni membranski protein plazme ima ulogu polispecifičnog prijenosnika organskog kationa, važnog za eliminaciju ne samo endogenih malih organskih kationa već i mnogih lijekova i toksina iz okoliša. Pripada grupi OCT1 koji su glavna grupa transportera jetre. Protein SLC22A1 ima 544 aminokiseline ([www.genecards.org](http://www.genecards.org)) i smata se u dvanaest transmembranskih domena. Zadatak mu je translocirati veći raspon organskih kationa različite strukture i molekulske mase (endogenih spojeva histamina, epinefrina, adrenalina, gvanidina, kolina, lijekova metformina i kinina te modelnih spojeva 1-metil-4-fenilpiridinij (MPP), tetraetilamonij (TEA), N-1metilnikotinamid (NMN) ([www.genecards.org](http://www.genecards.org)). Reguliran je različitim intracelularnim signalnim putevima, uključujući inhibiciju aktivacijom protein kinaze A i endogenu aktivaciju kompleksom



kalmodulina, kalmodulin-ovisnom kinazom II, te LCK tirozin kinazom. Transport organskih kationa inhibiran je sa dosta spojeva poput kokaina, lidokaina, antagonista NMDA (N-metil-D-aspartatni receptor) receptora, gvanidina, atropina, cimetidina, kinina, kolina, TEA i NMN i dr. Bolesti uključuju leukemiju, sindrom mikrodelecije kromosoma 17 i dr. ([www.genecards.org](http://www.genecards.org)).

#### b) *SLC22A2*

Nalazi se na kromosomu 6, ekspirira se većim djelom u bubregu i može sudjelovati u prvom koraku reapsorpcije kationa. Nosi informaciju za protein *SLC22A2* (555 aminokiselina) koji pripada grupi OCT2 i sudjeluje u prijenosu organskih spojeva (agmatin, dopamin, noradrenalin, serotonin, kolin, histamin, kreatinin, amantadin, memantin, akriflavin, metformin, N-1-metilnikotinamid (NMN), tetraetilamonij (TEA), 1-metil-4-fenilpiridinij (MPP) i dr. ([www.genecards.org](http://www.genecards.org)). Ekspirira se prvenstveno u bubregu, gdje može sudjelovati u prvom koraku reapsorpcije kationa. Glavna odrednica antikancerogenog djelovanja oksaliplatina i može pridonijeti antitumorskoj specifičnosti. Bolesti koje se povezuju sa *SLC22A2* vezane su uz nedostatak karnitina i pojavu limfoma (sistemska primarna i sive zone medijastala).

#### 4.2.1.1. Polimorfizmi gena *SLC22A1* i *SLC22A2* u populaciji Roma Hrvatske

U radu Bolf (2021) analizirani su polimorfizmi gena *SLC22A1* i *SLC22A2* na uzorku DNA iz krvi 437 pripadnika triju romskih subpopulacija u Hrvatskoj. Ustanovljeno je 5 polimorfni lokusa za gen *SLC22A1*: rs12208357, rs2282142, rs34130495, rs628031, rs34059508 dok su ostali bili monomorfni, te jedan polimorfni lokus gena *SLC22A2* rs316019. Rezultat testiranja polimorfni lokusa na Hardy-Weinbergov zakon ravnoteže govore o ravnoteži na svim lokusima osim lokusu rs12208357 kod međimurske subpopulacije i lokusa rs316019 u baranjske subpopulacije.

Rekonstruirana su 6 haplotipa u baranjskoj i balkanskoj, te 5 haplotipova u međimurskoj subpopulaciji. Haplotip CCGAG pokazao se među najučestalijim u svim subpopulacijama: balkanskoj (44,32%), baranjskoj (43,18%) i međimurskoj (30,16%). Najučestaliji u baranjskoj (49,24%) i međimurskoj subpopulaciji (40,47%) pokazao se haplotip CCGGG, što je u skladu sa najvećom učestalošću ovog haplotipa u europskim i južnoazijskim populacijama. Mjere raznolikosti haplotipova unutar subpopulacije pokazale su najveću raznolikost kod Roma iz

Međimurja. Najveća genetička udaljenost uočena je između međimurskih i baranjskih Roma, te međimurskih i balkanskih Roma, a najmanja između baranjskih i balkanskih koji su smještene u blizini europskih populacija, dok je međimurska subpopulacija pokazala najveću izoliranost. Pojedinačnu raspodjelu alela i genotipova s promatranih lokusa gena *SLC22A1* i *SLC22A2* možemo koristiti za predviđanje potencijalnih odgovora na lijekove koje metaboliziraju proteini SLC22A1 i SLC22A2 (Bolf, 2021 i [www.pharmgkb.org](http://www.pharmgkb.org)) u Tablici 1.

**Tablica 1.** Učestalost genotipova i alela polimorfizma nekih gena *SLC22A1* i *SSLC22A2*, uloga proteina i promjene fenotipa kod romske populacije u Hrvatskoj. Preuzeto i prilagođeno od Bolf, 2021 i www.pharmgkb.org.

gen <i>SLC22A1</i>							
Lokus	Uloga proteina	Varijacija alela	Varijacija ak	Promjene fenotipa	MAF Romi RH	Genotip Roma	Sličnost s drugim populacijama
rs12208357	metabolizam metformina i fenoterola	C>T	Arg u Cys	<ul style="list-style-type: none"> <li>veća izloženost metforminu nuspojave kod izlaganja fenoterolu</li> </ul>	T (2%)	CC (95%) CT i TT rijetko	euroazijske
rs2282143	metabolizam metformina	C>T	Pro u Leu	<ul style="list-style-type: none"> <li>povećani klirens metformina (CC genotipu)</li> </ul>	T (9%)	CC (83%) CT (15%) TT rijetko	euroazijske
rs34130495	metabolizam O-desmetil-tramadola	G>A	Gly u Ser	<ul style="list-style-type: none"> <li>povećane koncentracije O-desmetil-tramadola (AA i AG genotip)</li> </ul>	A (2%)	GG (91%) GA (4%) AA nije uočen	euroazijske
rs628031	metabolizam imatiniba, metformina, lamotrigina	A>G	Met u Val	<ul style="list-style-type: none"> <li>povećani odgovor i toksičnost kod terapije imantinibom, (GG genotip)</li> <li>povećani odgovor na metformin (GG genotip)</li> <li>smanjeni odgovor na lamotrigin (GG genotip)</li> </ul>	A (43%)	GG (45%) GA (31%) AA (20%)	euroazijske
rs34059508	metabolizam olanzapina	G>A	Gly u Met	<ul style="list-style-type: none"> <li>povećana izloženost olanzapinu (AG genotip)</li> </ul>	A (5%)	GG (90%) GA (8%) AA (vrlo rijetko)	euroazijske
gen <i>SLC22A2</i>							
rs316019	metabolizam antraciklina i cisplatina	T>G	Ser u Ala	<ul style="list-style-type: none"> <li>manja kardiotoksičnost kod liječenja antraciklinima</li> <li>smanjeni rizik ototoksičnosti kod liječenja cisplatinom</li> </ul>	6%	TT (85%) TG (11%) GG vrlo rijetko	euroazijske

## **5. Zaključak**

U pojedinoj subpopulaciji hrvatskih Roma javljaju se haplotipovi vezani uz promijenjen metabolizma lijekova i toksina, što govori o važnosti uzimanja u obzir genetskog profila Roma za učinkovitu farmakoterapijsku praksu.

## 6. Literatura

Abduljalil K., Frank D., Gaedigk A., Klaassen T., Tomalik-Scharte D., Jetter A., Jaehde U., Kirchheiner J. and Fuhr U. (2010): Assessment of Activity Levels for CYP2D6\*1, CYP2D6\*2, and CYP2D6\*41 Genes by Population Pharmacokinetics of Dextromethorphan. *Clin. Pharmacol. Ther.* 88: 643–651.

Barešić, A. (2013): Genetička struktura romskih populacija u Hrvatskoj: analiza kromosoma X. Doktorski rad. Zagreb: Prirodoslovno matematički fakultet.

Bolf, A. (2021): Polimorfizmi gena SLC22A1 i SLC22A2 u populacijama Roma Hrvatske. Diplomski rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet.

Bertilsson L. (2010): CYP2D6, serotonin, and suicide relationship? *Clin. Pharmacol. Ther.* 88: 304–305.

Crow J.F., Kimura M. (1970): *An introduction to Population Genetics Theory*. Harper Row. New York.

Capocasa M., Battaglia C., Anagnostou P., Montinaro F., Boschi I., Ferri G., Alu M., Coia V., Crivellaro F., Destro Bisol G., (2013): Detecting Genetic Isolation in Human Populations: A Study of European Language Minorities. *PLoS ONE* 8(2):e56371.

Desta Z., Saussele T., Ward B., Bliedernicht J., Li L., Klein K., Flockhart D. A., Zanger U. M. (2007): Impact of CYP2B6 polymorphism on hepatic efavirenz metabolism in vitro. *Pharmacogenomics* 8: 547-558.

Božina N., Bradamante V., Lovrić M. (2009): Genetic polymorphism of metabolic enzymes P450 (CYP) as a susceptibility factor for drug response, toxicity, and cancer risk, *Arh Hig Rada Toksikol*; 60:217-242.

Estabrook, R (2003): A passion for P450s (remembrances of the early history of research on cytochrome P450), *Drug Metab Dispos.* Dec, 31(12):1461-73.

Findling R. L., Nucci G., Piergies A. A., Gomeni R., Bartolic E. I., Fong R., Carpenter D. J., Leeder J. S. Gaedik A., Danoff T. M. (2006): Multiple Dose Pharmacokinetics of Paroxetine in Children and Adolescents with Major Depressive Disorder or Obsessive–Compulsive Disorder. *Neuropsychopharmacology* 31: 1274-1285.

Gadel S, Friedel C, Kharasch ED. (2015): Differences in methadone metabolism by CYP2B6 variants. *Drug Metab. Dispos.* 43(7), 994–1001.

Halling J., Petersen M.S., Grandjean P., Weihe P., Broesen K. (2008): Genetic predisposition to Parkinson's disease: CYP2D6 and HFE in the Faroe Islands. *Pharmacogenet. Genomics* 18: 209–212.

Hedrich W.D., Hassan H.E., Wang H. J. (2016): Insights into CYP2B6-mediated drug–drug interactions. *Acta Pharm. Sin. B.* 6(5), 413–425 (2016).

Katara P., Yadav A. (2019): Pharmacogenes (PGx-genes): Current understanding and future directions, *Gene* 718 144050.

Koepsell H., Endou H. (2003): The SLC22 drug transporter family *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol* 150: 36-90.

Koski A., Sistonen J., Ojanpera I., Gergov M., Vuori E., Sajantila A. (2006): CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and amitriptyline metabolite ratios in a series of medicolegal autopsies. *Forensic Sci. Int.* 158: 177-183.

Kramer W. E., Walker D. L., O’Kane D. J., Mrazek D. A., Fisher P. K., Dukek B. A., Black J. L. (2009): CYP2D6: novel genomic structures and alleles. *Pharmacogenet. Genomics* 19: 813–822.

Kagimoto M., Heim M., Kagimoto K., Zaugin T., Meyer U. A. (1990): Multiple mutations of the human cytochrome P450IID6 gene (CYP2D6) in poor metabolizers of debrisoquine. Study of the functional significance of individual mutations by expression of chimeric genes. *J. Biol. Chem.* 265: 17209-17214.

Kimura S., Umeno M., Skodaj R.C., Meyert U.A., Gonzalez F.J. (1989): Sequence and Identification of the Polymorphic CYP2D6 Gene , a Related Gene , and a Pseudogene. *Am. J. Hum. Genet.* 45: 889–904.

Kuhanec A. (2017): Raspodjela alela gena CYP2B6 u romskim populacijama Hrvatske. Diplomski rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet.

Marković, Stojanović A., Petranović Zajc M., Tomas Ž., Puljko B., Šetinc M., Škarić- Jurić T., Salihović Peričić M. (2022): Untangling SNP variations within CYP2D6 gene in Croatian Roma. *J. Pers. Med.* 12,374:1-22.

Melegh B.I., Banfai Z, Hadzsiev K, Miseta A, Melegh B. (2017): Refining the South Asian Origin of the Romani people. *BMC genetics.* 18(1):82. Epub 2017/09/02.

Muroi Y., Saito T., Takahashi M., Sakuyuma K., Niinuma Y., Ito M., Tsukada C., Ohta K., Endo Y., Oda A., Hirasawa N., Hiratsuka M. (2014): Functional characterization of wild-type and 49 CYP2D6 allelic variants for N-desmethyiltamoxifen 4hydroxylation activity. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 29: 360-366.

Nagy A., Sipeky C., Szalai R., Melegh BI., Matyas P., Ganczer A. et al. (2015): Marked differences in frequencies of statin therapy relevant SLCO1B1 variants and haplotypes between Roma and Hungarian populations. *BMC genetics.* 16:108. Epub 2015/09/04.

Nigam S. K. (2019): *The SLC22 Transporter Family: A Paradigm for the Impact of Drug Transporters on Metabolic Pathways, Signaling and Disease*. California 92093. USA: Departments of Pediatrics and Medicine, University of California. San Diego. La Jolla.

Puljko B. (2018): *Varijabilnost egzona gena CYP2D6 u romskim populacijama Hrvatske*. Diplomski rad. Zagreb: Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet.

Rudan I., (2006): *Health Effects of Human Population Isolation and Admixture*. *Croat Med. J.* 47(4):526-531.

Sakuyama K., Sasaki T., Ujie S., Obata K., Mizugaki M., Ishikawa M., Hiratsuka M. (2008): *Functional Characterization of 17 CYP2D6 Allelic Variants (CYP2D6\*2, \*10, \*14A-B, \*18, \*27, \*36, \*39, \*47-51, \*53-55, and \*57)*. *Drug Metab. Dispos.* 36: 2460-2467.

Saravanakumar A., Sadighi, A., Ryu, R., Akhlaghi, F. (2019): *Physicochemical properties, biotransformation, and transport pathways of established and newly approved medications A systematic review of the top 200 most prescribed drugs vs. the FDA-approved drugs between 2005 and 2016*. *Clin. Pharmacokinet.* 58, 1281–1294.

Sipeky C, Csongei V, Jaromi L, Safrany E, Maasz A, Takacs I, et al. (2011): *Genetic variability and haplotype profile of MDR1 (ABCB1) in Roma and Hungarian population samples with a review of the literature*. *Drug metabolism and pharmacokinetics.* 26(2):206–15. Epub 2010/12/24.

Stojanović Marković A., Zajc Petranović M, Tomas Ž, Puljko B, Šetinc M, Škarić-Jurić T, Peričić Salihović M (2022): *Untangling SNP Variation within SYP2D6 gene in Croatian Roma*. *J Pers Med.* 12, 374.

Swaminathan S., Ramachandran G., Agibothu Kupparam H.K. (2011): *Factors influencing plasma nevirapine levels: a study in HIV-infected children on generic antiretroviral treatment in India*. *J. Antimicrob. Chemother.* 66 (6), 1354–1359.

Škarić-Jurić T., Martinović Klarić I., Smolej Narančić N., Drmić S., Peirčić Salihović M., Barać Lauc L., Miličić J., Barabalić M., Zajc M., Janićijević B. (2007): *Trapped between tradition and translation-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., Petričić Salihović M. (2018): *Characterization of ADME genes variation in Roma and 20 populations worldwide*, *PLoS ONE* 13(11): 1-15.

Šolić, M (2005): *Ekologija-interna skripta*. Institut za oceanografiju i ribarstvo. Split.

Teh L.K., Bertilsson L. (2012): Pharmacogenomics of CYP2D6: Molecular Genetics, Interethnic Differences and Clinical Importance. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 27: 55–67.

Tomas Z., Kuhanec A., Škarić-Jurić T., Petranović M.Z., Smolej Narančić N., Janićijević B., Salihović Peirić M. (2017): Distinctiveness of the Roma population within CYP2B6 worldwide variation. *Pharmacogenomics.* 2017; 18(17):1575– 87.

Tonković A. (2017). Uloga predškolskog odgoja u školovanju i integraciji romske djece. Doktorska disertacija, Sveučilište u Zagrebu. Filozofski fakultet, Odsjek za pedagogiju.

Toscano C., Klein K., Bliedernicht J., Schaeffeler E., Saussele T., Raimundo S., Eichelbaum M., Schwab M., Zanger U. M. (2006): Impaired expression of CYP2D6 in intermediate metabolizers carrying the \*41 allele caused by the intronic SNP 2988G > A: evidence for modulation of splicing events. *Pharmacogenet. Genomics* 15: 755-766.

Turpeinen M, Zanger U.M. (2012): Cytochrome P450 2B6: function, genetics and clinical relevance. *Drug Metabol. Drug Intera.* 27(4), 185–197.

Wang B., Yang L. P., Zhang X. Z., Huang S. Q., Bartlam M., Zhou S .F. (2009): New insights into the structural characteristics and functional relevance of the human cytochrome P450 2D6 enzyme Structural features of CYP2D6. *Drug Metab. Rev.* 41: 573–643.

Werck-Reichhart D., Feyereisen R. (2000): Cytochromes P450: a success story, *Genome Biology* 1 (6): reviews 3003.1-3003.9.

Yuan H., Yu M., Yang Y., Wu K., Lin X., Li J. (2010): Association of CYP2D6 Single Nucleotide Polymorphism with Response to Ophthalmic Timolol in Primary Open Angle Glaucoma—A Pilot Study. *J. Ocul. Pharmacol. Ther.*26: 497-501.

Zanger U. M, Klein K. (2013): Pharmacogenetics of cytochrome P450 2B6 (CYP2B6): advances on polymorphisms, mechanisms and clinical relevance. *Front. Genet.* 4(24).

Zajc M., Smolej Narančić N., Škarić Jurić T., Miličić J., Barbalić M., Meljanac Salope K., Martinović Klarić I., Janijević B. (2006): Body Mass Index and nutritional status of the Bayash Roma from Eastern Croatia, *Coll. Antropol.* 30. 4: 783-787.

Zajc Petranovic M., Tomas Z., Skaric-Juric T., Smolej Narancic N., Janicijevic B., Pericic Salihovic M., (2018): The variation of CYP2C19 gene in the Roma population from Croatia. *Molecular and Experimental Biology in Medicine.* 2:32-37.



Zeljko H., Škarić Jurić T., Smolej Narančić N., Peričić Salihović M., Martinović Klarić I., Barbalić M., Starčević B., Barać Lauc L., Janićijević B. (2008): Traditional CVD risk factors and socio-economic deprivation in Roma minority population of Croatia, *Coll.Antropol.* 32 3:667-676.

Zhou S. F., Liu J. P., Lai X.-S. (2009): Substrate Specificity, Inhibitors and Regulation of Human Cytochrome P450 2D6 and Implications in Drug Development. *Curr. Med. Chem.* 16: 2661–2805.

Žunić L. (2019): Detekcija novootkrivenih mutacija u genu CYP2D6 u romskoj populaciji Hrvatske. Diplomski rad. Zagreb: Prirodoslovno matematički fakultet.

[http://pharmaadme.org/joomla/index.php?option=com\\_content&task=view&id=12&Itemid=27](http://pharmaadme.org/joomla/index.php?option=com_content&task=view&id=12&Itemid=27)

[http://pharmaadme.org/joomla/index.php?option=com\\_content&task=view&id=16&Itemid=5](http://pharmaadme.org/joomla/index.php?option=com_content&task=view&id=16&Itemid=5)

[www.pharmaadme.org](http://www.pharmaadme.org)

<http://drnelson.uthsc.edu/human.P450.table.html>

[www.genecards.org](http://www.genecards.org)

[www.pharmgkb.org](http://www.pharmgkb.org)

## 7. Životopis

Rođena sam 1977. godine u Zagrebu, završila osnovnu školu „Dragutin Domjanić“ u Svetom Ivanu Zelini i Školu za zdravstvene tehničare u Zagrebu. Godine 2018. diplomirala sam na sveučilišnom studiju biologije i kemije na Fakultetu prirodoslovno-matematičkih i odgojnih znanosti u Mostaru.

Završila sam brojne programe obrazovanja, seminare i tečajeve iz područja informacijskih znanosti, knjigovodstva, administracije, psihologije i duhovnosti. Radila sam u području medicine, ekonomije, turizma, edukacije, poljoprivrede i dr. Aktivno se služim engleskim jezikom u govoru i pismu.