

Y kromosom i genetsko podrijetlo Hrvata

Dragan Primorac
Damir Marjanovi
Pavao Rudan
Richard Villems
Peter A Underhill

Y kromosom i genetsko podrijetlo Hrvata

SAŽETAK

Cilj rada: Ponuditi sažetu i točnu interpretaciju znanstvenih podataka o genetskome podrijetlu Hrvata dobivenih tijekom posljednjih 10 godina.

Metode: Suvremena istraživanja velikoga broja informativnih bialelnih biljega na Y kromosomu značajno su pridonijela razumijevanju hrvatske prapovijesti i povijesti. U ovome preglednom radu, napravili smo kratak pregled ranije objavljenih radova (najvećim dijelom naše grupe) koji se temelje uglavnom na rezultatima analize Y kromosoma.

Rezultati: Molekularno-genetska analiza genetskoga materijala suvremene hrvatske muške populacije potvrdila je izvanrednu heterogenost i kompleksnost ove populacije i podržala postavku o visokome stupnju miješanja novopridošlih doseljenika s autohtonim stanovništvom koje je već bilo prisutno u regiji.

Zaključak: Ranija istraživanja dokazala su da hrvatska populacija - kao i gotovo bilo koja druga europska populacija - predstavlja iznimnu genetsku mješavinu. Više od 3/4 današnjih hrvatskih muškaraca vjerojatno su potomci starih Europljana, koju su došli na ove prostore prije i nakon posljednjega ledenog doba. Ostatak populacije uglavnom predstavlja potomke naroda koji su u ovaj dio Europe pristizali južno-istočnim pravcem, u posljednjih 10.000 godina, uglavnom tijekom procesa neolitizacije. Isto tako, uvjereni smo da će najnovije tehnike koje se koriste pri tipizaciji cijelog genoma, a koje su bazirane na čip tehnologiji (microarray technology), pomoći da još detaljnije razumijemo strukturu hrvatske populacije i aspekte njezine demografske povijesti.

Ključne riječi: genetsko podrijetlo Hrvata, Y kromosom, NRY, haplogrupe, stari Europljani, rani poljodjelci

1 Napomena: Tekst je prijevod rada objavljenoga u Croatian Medical Journal-u (Croat Med J. 2011; 52: 225-34), službenome časopisu International Society of Applied Biological Sciences (ISABS) povodom održavanja "7th ISABS Conference in Forensic, Anthropologic and Medical Genetics and Mayo Clinic Lectures in Translational Medicine", od 20 do 24. lipnja 2011. u Bolu, Hrvatska. Suglasnost za prijevod izvornoga članka na hrvatski jezik dala je glavna urednica CMJ-a prof. dr. sc. Ana Marušić.

Autor za korespondenciju:

prof. dr. sc. Dragan Primorac
Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet
Šoltanska 2, 21 000 Split, Hrvatska

PREGOVOR

Rasprava o precima suvremenih Europljana među arheolozima, antropolozima, lingvistima, genetičarima i drugim znanstvenicima traje već dugi niz godina. Zanimljivo je da određeni arheolozi koriste naziv »Stara Europa« kako bi opisali široko rasprostranjenu pred-indoeuropsku neolitsku kulturu u Europi, posebice na Balkanu, smatrajući ga sinonimom za pojmove *neolitska Europa*, *stara Europa*, te *pred-indoeuropska Europa* (1). No, ako neolitske ljude nazovemo stari Europljani, kako bismo trebali imenovati pojedince koji su lovili i preživljavali u cijeloj Europi i prije posljednjega ledenog doba? Rezultati najnovijih molekularno-genetskih analiza polimorfizama Y kromosoma ukazuju na postojanje dvaju glavnih ograna unutar Europskih muškaraca: »stari Europljani« koji uključuje roditeljsku liniju koja je već postojala u Europi prije posljednjega ledenog doba (PLD) i »rani poljodjelci« koji su stigli iz zapadne Azije, bilo kao lovci sakupljači koji su širili svoje područje u ranome postledenom dobu, bilo kao pioniri poljodjelci s područja tzv. Plodnog polumjeseca (Fertile Crescent) - područja koje se protezalo od istočne obale Sredozemlja do Perzijskoga zaljeva te dolina Tigrisa i Eufrata, te koje danas obuhvaća dijelove teritorija Sirije, Izraela, Jordana, Libanona i Iraka (2). Osim toga, moguće je da su tragači za hranom i poljodjelci istovremeno migrirali u Europu tijekom ranoga neolitika. Očito, pojam stari Europljani koji koriste molekularni antropolozi sveobuhvatniji je i opsežniji nego kad se koristi izvan konteksta genetike.

Nedoumica koju želimo razmotriti u ovome izvješću je: koliki je prinos ovih dviju grana suvremenome hrvatskom genofondu? Koje je podrijetlo suvremenih Hrvata? Slična su pitanja obrađena prije 10 godina u za Europljane vrlo zanimljivoj me radu (3), no rasprava koja je nakon toga uslijedila nije bila tako snažna i burna poput one koja se razvila u Hrvatskoj. Reći kako niti jedna tema nije izazvala tako intenzivnu raspravu u hrvatskoj znanstvenoj javnosti u posljednjemu desetljeću kao takozvano »genetsko podrijetlo Hrvata«, nije daleko od istine. Uistinu je fascinantno kako je jedan znanstveni rad, objavljen u časopisu *Science* 2000. godine (4), bio u stanju pokrenuti lavinu velikih i novih znanstvenih ideja i pristupa, ali i stvoriti podlogu za mnoge neznanstvene rasprave. Nekoliko drugih radova na sličnu temu objavljeni su u prvome desetljeću 21. stoljeća. Bez obzira na kojoj je populaciji napravljena analiza (hrvatskoj, bosanskoj, srpskoj, slovenskoj, ostalim europskim populacijama), gotovo svaki članak pridonio je vječnome »sudaru mišljenja« među znanstvenicima različitih znanstvenih područja. Svjesni smo da svaki čovjek unutar vlastitih stanica nosi dugu povijest vrste *homo sapiens*. Ljudski genom je ažuriran zapis vlastite evolucije i povijesti (5). Ipak, moramo se upitati što se uistinu može zaključiti iz tumačenja tih poruka skrivenih unutar svakog od nas. Stoga, želimo ponuditi sažetu i točnu interpretaciju znanstvenih podataka o genetskoj podrijetlu Hrvata dobivenih tijekom posljednjih 10 godina.

UVOD

Istraživanje ljudske prapovijesti tradicionalno je povezano s arheologijom. Ipak, najnovija znanstvena otkrića u području populacijske genetike uspostavljaju ovo polje znanosti kao potencijalno koristan alat u proučavanju prošlih ljudskih migracija (5). Istaknuto je mnogo puta u prošlosti da je razumijevanje suvremenih obrazaca genetskih varijacija ključno za dobivanje uvida u povijesne demografske procese (4,6,7,8). Također, genski polimorfizmi danas se mogu koristiti za utvrđivanje iz koje populacije pojedinac vuče podrijetlo (9,10,11). Najzanimljivije i najkorisnije informacije dobivaju se analizom dvaju haploidnih uniparentalnih biljega unutar našega genoma: Y kromosoma i mitohondrijske DNA (mtDNA). Nekoliko značajki čine Y kromosom korisnim i zanimljivim filogenetskim alatom. Ovaj kromosom je haploidan i prisutan samo kod muškaraca. Prenosi se s oca na sina, a njegov najveći dio (preko 95%) isključen je iz mejozičke rekombinacije. Sve promjene nastaju samo putem mutacija. Ljudski Y kromosom pokazuje izvanredan broj i raznolikost različitih klasa genetskih biljega (12). Ova akumulacija polimorfizama tijekom linearnoga životnog vijeka Y haplotipnih sustava predstavlja moćan resurs za saznavanje genetske prapovijesti (6). Ako pođemo od pretpostavke o uravnoteženome omjeru spolova 1:1 te zamislimo ljudsku populaciju kao jednu ženu i jednog muškarca, tada ovaj par nosi samo jedan Y kromosom. Stoga, efektivna je veličina populacije za Y kromosom jedna četvrtina u odnosu na bilo koji autosom i jedna trećina u odnosu na X kromosom. Osim toga, gotovo 70% modernih društava prakticira patrilokalnost, što pojednostavljeno znači da muškarci imaju tendenciju živjeti bliže svome mjestu rođenja u odnosu na žene, te se za Y kromosom očekuje da pokaže povećanu geografsku specifičnost u odnosu na druge populacijske biljege (13). Prije nekoliko godina konstruirano je sveobuhvatno stablo za haplogrupe humanoga Y kromosoma na osnovi genotipizacije većine poznatih polimorfizama. U početku je ovo stablo pokazalo odnose među 153 haplogrupe na temelju 243 binarna biljega (14). Nekoliko godina kasnije, objavljeno je revidirano stablo, koje je sadržavalo 311 različitih haplogrupa i obuhvatilo oko 600 binarnih biljega (15). Ove brojke još uvijek rastu. Prije izgradnje stabla, koristio se nepotpun Eu haplotip (4).

Slične značajke vrijede i za mtDNA. Filogenetski odnosi između mitohondrijskih haplotipova u uzorku odražavaju materne genealoške odnose među promatranim pojedincima, te je tako na temelju mutacija kodirajuće i kontrolne regije izgrađeno i filogenetsko stablo ukupne varijacije ljudske mitohondrijske DNA (16-18).

Nedavna identifikacija velikoga broja informativnih bialelnih biljega u nerekombinirajućoj regiji Y kromosoma (NRY) i mtDNA biljega značajno je pridonijela razumijevanju europske prapovijesti i povijesti. U ovom ćemo pregledu razmotriti samo neke od njih. Ovaj odabir, za razliku od nekih u ranije

objavljenim radovima (19), uglavnom se temelji na rezultatima istraživanja Y kromosoma - glavnoga temelja masovno popularne rasprave o genetskom podrijetlu Hrvata.

EUROPSKA PRIČA O Y KROMOSOMU

Vrlo zanimljiva i informativna studija atraktivnoga naslova u vidu pitanja »Odakle je došao europski čovjek?« objavljena je prije nekoliko godina (2). Obim (cijelih 50 stranica) i kvaliteta podataka (broj referenci, mapa i drugih slika) čine taj rukopis vrijednim respektabilnoga poglavlja u knjizi. Stoga smo za polazište našega »putovanja genetskim podrijetlom Hrvata« odlučili koristiti kratak pregled tog rukopisa. Međutim, pokušali smo, također, ažurirati obrasce filogeografske diverzifikacije unutar Y kromosom haplogrupa E i R i njihove revizije (20-22).

Prema rezultatima koje je objavio Wiik 2008, gotovo svi europski muškarci mogu biti raspoređeni unutar jedanaest Y haplogrupa (abecednim redom: E3a, E3b, G, I1a, I1b1-P37, I1b2-M223, J2, N3, R1a, R1b, N2) (2). Migracije muškaraca, prema klasifikaciji Y haplogrupa, događale su se u nekoliko faza. Prva migracija, podijeljena u 10 faza, predstavlja najranija kretanja predaka europskoga čovjeka. Devet od tih faza dogodilo se prije posljednjega ledenog doba. Wiikova priča započinje prije 50.000 godina, kada su svi preci europskoga čovjeka još uvijek živjeli u sjeveroistočnoj Africi unutar jedne rodovske zajednice (klana). Dvadeset tisuća godina kasnije prvi pripadnici vrste *homo sapiens* (klan R1) stižu preko Euroazije na europsko tlo (područje stepa između Urala i Kaspijskoga jezera). Oko 5.000 godina kasnije prvi su se ljudi naselili na lberskome poluotoku i obaloma Atlantika (klan R1b). Gotovo u isto vrijeme novi je Klan stigao s Bliskoga istoka, preko Anadolije, na područje Balkana. Ova je mala grupa bila odgovorna za donošenje gotovo najvažnijega genetskog subjekta za našu priču - haplogrupe I. Vrlo brzo, nakon tog prvoga dolaska, otprilike prije 20.000 do 13.000 godina (4), ljudske su populacije u cijeloj Euroaziji iskusile posljednje ledeno doba. Taj je događaj značajno smanjio teritorij pogodan za život ljudske vrste u to vrijeme. Preci europskoga čovjeka bili su prisiljeni preživjeti unutar četiriju velikih utočišta koja su se nalazila u Ukrajini, u Iberiji, na Balkanu i vjerojatno u Sibiru. Ove izolirane lokacije minimizirale su protok gena i pojačale proces genetskoga drifta u oblikovanju različitih genetskih obrazaca u smislu frekvencije alela i pojave novih regionalno specifičnih mutacija. Ovi inkubatori genetske raznolikosti kasnije su za vrijeme posljednjega ledenog doba postali regije iz kojih je krenula rekolonizacija Europe tijekom postglacijalne ekspanzije (migracije nakon posljednjega ledenog doba) i Holocena (započeo približno prije 10.000 godina). Istovremeno, s ovim postglacijalnim ekspanzijama/migracijama, otprilike prije 10.000 godina, novi su klanovi sa Srednjega i Bliskoga istoka i Anadolije stigli u Grčku i proširili se duž obala Sredozemlja. Oni su sa sobom donijeli tradiciju pripitomljavanja

divljih životinja i uzgajanja biljaka dijeleći svoje znanje s autohtonim stanovništvom, što ujedno predstavlja početak poljoprivrede i stočarstva u Europi.

Prema ovom izvoru, moglo bi se zaključiti da se na osnovi povijesti Y kromosoma sve europske muškarce može svrstati unutar dviju glavnih grana: »stari Europljani« s roditeljskim linijama (haplogrupa I, moguće G i N) koje su već bile prisutne u Europi prije posljednjega ledenog doba i koje su preživjele to razdoblje u četiri europska utočišta, i »rani poljodjelci« (haplogrupe E3b, J2, neke podskupine G) koji su još uvijek bili na »ljetovanju« u Aziji i Africi za vrijeme posljednjega ledenog doba, a u Europu su stigli tijekom neolitizacije.

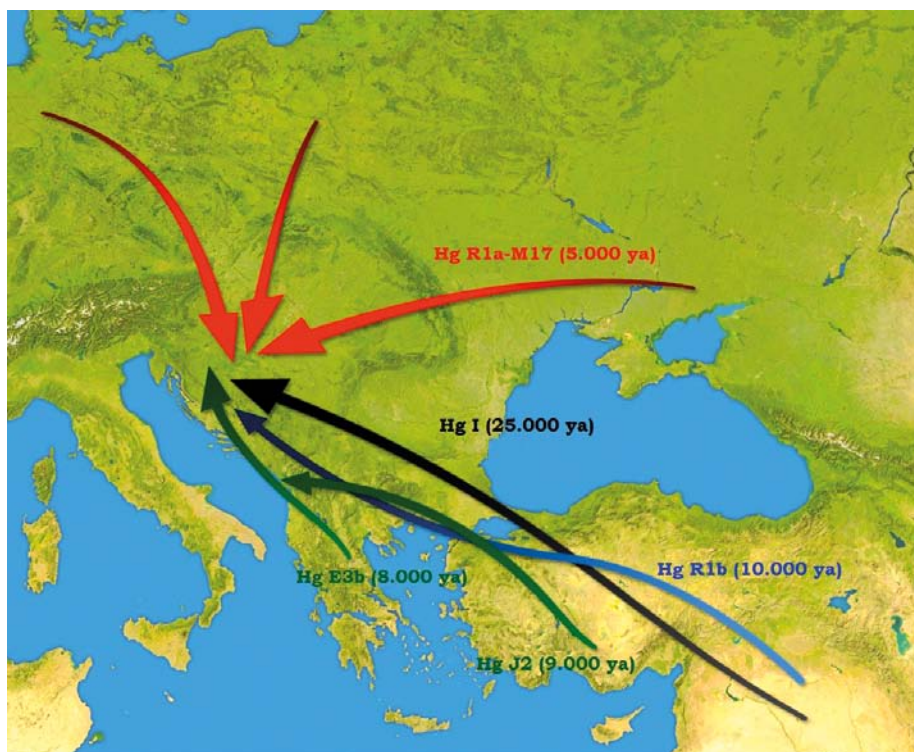
Međutim, dok je Wiikov rad dosta dobro sažeo ranije publikacije o modernoj Europi, postalo je jasnije da bi ranije postavljen model (4), koji navodi da je haplogrupa R paleolitska, trebalo revidirati. Najnovija istraživanja na tom polju (20,21) navode da je prisustvo haplogrupe R, bilo R1a-M17 ili R1b-M269, u Europi noviji (nakon PLD) događaj (prije ≤ 15.000 godina). Prema tim nedavnim nalazima, moguće je da su se ove R linije počele širiti iz zapadne Azije u Europu ubrzo nakon povlačenja ledenih pokrivača, ali prije dolaska poljoprivrede u jugoistočnu Europu i Kretu prije 9.000 godina. Dakle, ovaj model sugerira da su prije 15.000 do 10.000 godina Europu naseljavali mezolitski ljudi, od kojih su neki pripadali autohtonoj haplogrupi I, a neki su pripadali post-glacijalnoj invazivnoj haplogrupi R iz zapadne Azije. Tada poljoprivredna djelatnost stiže s pionirskim poljodjelicima iz područja Plodnog polumjeseca te biva prihvaćena od strane lokalnih stanovnika.

Zanimljivo je da Wiik (2), uzimajući u obzir povijest Y kromosoma i poštujući postojeće europske jezične skupine, dijeli cijeli kontinent u osam zasebnih područja. Jedno od njih - Balkan - posebno je zanimljivo za našu »kroniku Y kromosoma Hrvata«. Wiik opisuje nekoliko zanimljivih Y kromosom gradijenata u ovome području: a) sjever-jug gradijent R1b u sjevernome dijelu Balkana, što je vjerojatno povezano sa širenjem zapadnoeuropskih ili ljudi s Iberijskoga poluotoka na Balkan, b) haplogrupa R1a pokazuje sjever-jug gradijent, što je vjerojatno povezano s migracijama iz euroazijskoga područja, c) vrlo visoka učestalost haplogrupe I1b1-P37 u zemljama zapadnoga Balkana koja se smanjuje u svim smjerovima, što je vjerojatno povezano s postojanjem utočišta tijekom posljednjega ledenog doba i postglacijalne ekspanzije/rekolinizacije od strane starih Europljana iz tog područja, d) haplogrupa E3b pokazuje jug-sjever gradijent i sličan, ali slabiji gradijent koji se tiče haplogrupe J2, što je vjerojatno povezano s migracijama ranih poljodjelaca. Međutim, Battaglia i suradnici u svome članku (22) preispituju tumačenje E3b u Europi. Čini se da su gotovo sve europske E3b haplogrupe zapravo nastale V13 mutacijom za koju se čini da se pojavila na Balkanu kod M78* molekularnoga pretka. Ipak se stječe dojam da haplogrupa E-V13 ipak nije došla s Bliskoga istoka.

Prema King i suradnicima njezino je prisustvo vjerojatnije posljedica grčke kolonizacije (23). Važno je napomenuti da u onim područjima Plodnog polumjeseca, na kojima je nastala prva poljoprivredna djelatnost, mutacija V13 nije zabilježena. Dakle, suprotno onom što je predloženo ranije (2), haplogrupa E3 u Europi je vjerojatno nastala kao lokalno specifična balkanska linija, vjerojatno ne prije 8.000 do 10.000 godina, a potom je, kada se uspostavio poljoprivredni uzgoj, doživjela demografski rast.

Znakovito je da Wiik prepoznaje posebnost hrvatske populacije, što je čak obrađeno u posebnome odjeljku. On je zaključio da su R1a muškarci u Hrvatsku stigli uglavnom iz ukrajinskoga utočišta, R1b muškarci iz iberskoga utočišta, dok je najveća koncentracija haplogrupa I1b1-P37 na zapadnome Balkanu na području središnje Hrvatske, što bi se moglo opisati kao središte balkanskoga utočišta i epicentar postglacijalne rekolonizacije Europe iz ovoga područja. I1b1-P37 proizašla je iz haplogrupe I vjerojatno tijekom rekolonizacije. Haplogrupa I na ovo je područje stigla prije približno 25.000 godina s Bliskoga istoka.

Najnoviji podaci (20,21) koji opisuju R1b-M412 linije ne podržavaju Wiikov model da je R1b u Hrvatsku došao s Iberijskoga poluotoka. Ako bi to bilo točno, današnja bi populacija u Hrvatskoj trebala imati vrlo čestu M412 mutaciju. Međutim, najnoviji podaci objavljeni od strane Myres (20) jasno pokazuju da balkanska R1b ne nosi ovu mutaciju već prije varijantu L23 prekursora. Prema tim podacima postalo je jasnije da balkanska R1b najvjerojatnije nije došla u Hrvatsku iz Iberije, nego iz nekog nepoznatoga mjesta iz zapadne Azije, vjerojatno preko Levanta (Libanon), no neovisno od poljodjelaca. Nadalje, moguće je da su R1a-M17 linije u Hrvatsku došle iz sjevernoga dijela istočne Europe kao dio širega procesa koji je započeo s rasprostranjenjem tzv. »Corded ware cultures« tijekom bakrenoga i brončanoga doba (prije 5.200 – 4.300 godina) sve do skorijih ekspanzija Slavena (slika 1). Arheolozi se slažu da se tradicija tzv »Corded ware cultures« proširila iz Srednje Europe prema istoku do Volge. Stoga, ćemo se usredotočiti na ove zaključke kroz direktan i kratak pregled nekoliko važnih i ranijih izvješća koja je Wiik u svome preglednom članku (2) naveo kao referentna, kao i korištenjem nekih skorije objavljenih studija (20,21).



Predloženi migracijski putovi glavnih promatranih haplogrupa za sadašnje hrvatsko područje: Crna (HgI) – preglacijalne migracije s Bliskoga istoka; Plava – postglacijalne migracije iz zapadne Azije (preko Levanta); Crvena (R1a-M17) – postglacijalne migracije iz ukrajinskoga postglacijalnog utočišta, kao i iz dijela Njemačke/Poljske; Tamno zelena (J2) – rani poljodjelci s Bliskoga istoka; Svjetlozelena (E3b) – specifična balkanska linija koja se širila s grčkom kolonizacijom. Migracijski su putovi konstruirani na osnovi podataka objavljenih u nekoliko radova (2,20,21).

Legenda: ya = Years Ago (prije toliko godina)

»POLAZNA TOČKA«

Kao što je navedeno ranije, nitko nije mogao predvidjeti da bi jedan znanstveni izvještaj iz područja molekularne antropologije i populacijske genetike (4) mogao potaknuti toliko intenzivnih rasprava unutar hrvatske znanstvene i neznanstvene zajednice. Ornello Semino sa Sveučilišta u Paviji u Italiji, i Peter A. Underhill sa Sveučilišta Stanford u Kaliforniji, pokrenuli su ovaj kolaborativni međunarodni projekt. Ova studija Y kromosoma, koja je obuhvatila 1.007 muškaraca iz 25 različitih regija u Europi i na Bliskome istoku, predložila je tri vala migracija u Europu: prvi se zbio oko 40.000, drugi oko 22.000, a treći oko 9.000 godina. U skladu s navedenim, oko 95% europskih muškaraca može pratiti svoje podrijetlo do 1 od 10 muških predaka. Autori su naveli da je više od 80 posto europskih muškaraca naslijedio Y DNA od paleolitskih predaka koji su živjeli u Europi prije 25.000 do 40.000 godina, što bi, prema prethodnoj studiji (2), moglo biti prepoznato kao **klaster** starih Europljana. Ostalih dvadeset posto naslijedilo je svoj Y kromosom od neolitskih poljodjelaca u Europi prije 9.000 do 10.000 godina. Gotovo odmah nakon objavljivanja članka u časopisu Science, svi su koautori, posebice onaj iz Hrvatske (Dragan Primorac), preko noći postali »slavne osobe« i nezaobilazni gosti brojnih novinskih članaka i TV emisija. Ono što je bilo još zanimljivije, mnoge su osobe različitih znanstvenih profila, javnosti tumačile značenje rezultata. Neka su od tih tumačenja bila manje ili više smisljena, neka potpuno kriva, a neka ništa drugo do puka zabava. No, ostaje pitanje: što je istina?

Kao što je navedeno na početku članka, glavni cilj ove studije bio je ponuditi genetsku perspektivu ljudske povijesti u Europi izvedenu iz 22 NRY binarna biljega. Dvadeset i dva odabrana NRY binarna biljega tipizirana su u 1.007 muškaraca iz 25 različitih europskih i bliskoistočnih geografskih regija. Pedeset i osam od tih uzoraka potjecalo je od hrvatskoga stanovništva. Što se tiče »europskih rezultata«, najvažniji je zaključak bio taj da su gotovo svi europski Y kromosomi analizirani u studiji spadali u 10 linija koje se odlikuju jednostavnim bialelnim mutacijama (slika 2). Također, znatan dio europskoga genofonda potječe iz gornjega paleolitika, ali je premješten nakon završetka posljednjega ledenog doba, kada je veći dio Europe ponovno naseljen (24). To je bio jedan od prvih radova u tom znanstvenome području koji je ponudio molekularno-genetički scenarij naseljavanja Europe temeljen na Y kromosomu (25). Također, po prvi je put populacijska genetika predočila rezultate koji podržavaju postojanje više utočišta za stare Europljane tijekom posljednjega ledenog doba. Pored toga, utvrđen je utjecaj modela demske difuzije (model migracije poljodjelskih zajednica zbog značajnoga povećanja brojnosti populacija, uvjetovana po prvi put sustavnom proizvodnjom hrane) nadiranjju ranih poljodjelaca od Bliskoga istoka do Europe, koje je, čini se, bilo izraženije duž sredozemne obale nego u srednjoj Europi.

Kakvi su bili rezultati istraživanja hrvatskoga stanovništva u ovoj studiji?! Prema njima, gotovo 45% ispitanih hrvatskih muškaraca pripada Eu7 haplotipu (sinonim za trenutno definiranu haplogrupu I). Osim toga, gotovo 30% njih pripada Eu19 (haplogrupa R1a1) i oko 10% Eu18 (haplogrupa R1b). Ostatak hrvatskih muškaraca (oko 15%) podijeljen je između Eu4 (E3b), Eu9 (J2a), Eu11 (G) i Eu16 (LT) haplotipova. Isto tako, zaključili su da 45% ispitanih Hrvata vjerojatno potječe od starih Europljana koji su uglavnom preživjeli posljednje ledeno doba na području zapadnobalkanskoga utočišta. Nakon što su se klimatski uvjeti poboljšali, ova se populacija proširila na sjever i istok. Skoro 30% ispitanih Hrvata povezivalo se pak s ukrajinskim, a njih oko 10% s iberijskim utočištem. Ostatak, njih oko 15% može s ponosom izjaviti da su njihovi muški preci »donijeli poljoprivredu« u Europu tijekom nadiranja poljodjelaca s Bliskoga istoka u Europu (demska difuzija). Samo tri od 58 ispitanih hrvatskih muškaraca, koji su tipizirani kao Eu16, ne može biti točno uključen u neku od te četiri grupe, zbog nedostatka odgovarajućih NRY biljega (NRY=nerekombinirajuća regija kromosoma Y) u to vrijeme (slika 2). To je bilo to - ništa više i ništa manje! Završna misao za ovaj dio bila bi: »hrvatski rezultati« ponuđeni u ovome radu mogli/trebali bi biti prepoznati kao polazište za buduće znanstvene studije.

LOGIČAN IDUĆI KORAK

Kao što se i očekivalo, hrvatska znanstvena zajednica - pod vodstvom znanstvenika iz Instituta za antropološka istraživanja, i u suradnji s uglednim znanstvenicima iz Estonije - prepoznala je potencijal prethodno dobivenih rezultata. Tri godine kasnije - opremljeni s mnogo više znanstvenih spoznaja prikupljenih tijekom razdoblja 2000. - 2003., novim NRY genetskim biljezima, novom YCC (Y-kromosom konzorcij) nomenklaturom modela haplogrupa Y kromosoma, te vrlo učinkovitim i uporabljivim YCC stablom (14) - ti su znanstvenici objavili informativan i detaljan članak o Y kromosom podrijetlu hrvatske populacije (26). Uzorci su dobiveni od 457 hrvatskih muškaraca. Zanimljivo je da je 1/4 osoba uzorkovana s hrvatskoga kopna, a 3/4 osoba s četiriju jadranskih otoka. Ova studija, zajedno s brojnim prethodno objavljenim radovima, promovira ta četiri otoka kao jedno od najbolje istraženih područja u pogledu populacijske genetike unutar europskoga kontinenta u posljednjoj četvrtini stoljeća.

Prema rezultatima ovoga istraživanja, gotovo 49% ispitanih hrvatskih muškaraca pripada haplogrupi I. Pored toga, gotovo 27% njih pripada HgR1a, a manje od 7% njih haplogrupi R1b. Ostatak hrvatskih muškaraca (oko 20%) podijeljen je između haplogrupa E, G, J, F, K i P. Čitajući ovaj rad može se zaključiti da 49% ispitanih Hrvata vjerojatno potječe od starih Europljana koji su uglavnom preživjeli posljednje ledeno doba u utočištu na području zapadnog Balkana.

Zapravo, zaključak je da je za vrijeme posljednjega ledenog doba Balkan - zajedno sa sjevernojadranskim platoom, koji je u to vrijeme bio povezan s današnjim otocima - bio među nekoliko utočišta na tlu Europe. Dakle, zapadni je dio balkanskoga poluotoka moguće bio rezervoar haplogrupe I tijekom posljednjega ledenog doba i ishodišna točka ekspanzije kojom se haplogrupa I proširila u susjedne populacije. Druga najčešća haplogrupa u populacijama kopna i otoka (R1a) sugerira da je barem neka od predačkih utemeljiteljskih skupina hrvatskoga stanovništva potekla od populacija indoeuropskoga govornog područja koje su moguće doselile iz južne Rusije (čije su se migracije odvijale u više faza i koje su započele otprilike 2.000 godina prije Krista) i vjerojatno nosile ovu mutaciju. Također, dobiveni rezultati ukazuju da su migracije koje su nosile M173 mutaciju (R1a) bile izraženije u sjevernome dijelu Hrvatske nego u južnome priobalnom području. Uočene frekvencije haplogrupa E, G i J u hrvatskome su uzorku niske, što upućuje na manji genetski utjecaj s Bliskoga istoka, preko ranih poljodjelaca. To je, prema mišljenju autorâ ovoga rada, u suprotnosti s nekim od prethodno objavljenih studija (27).

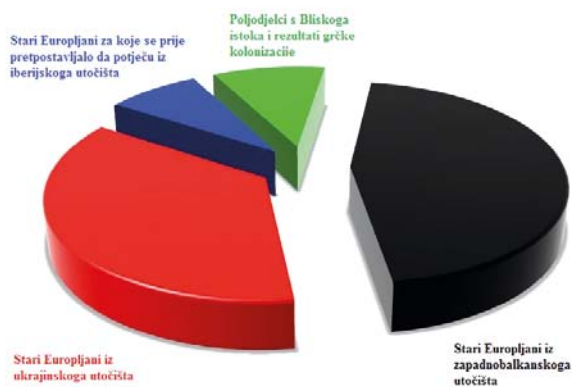
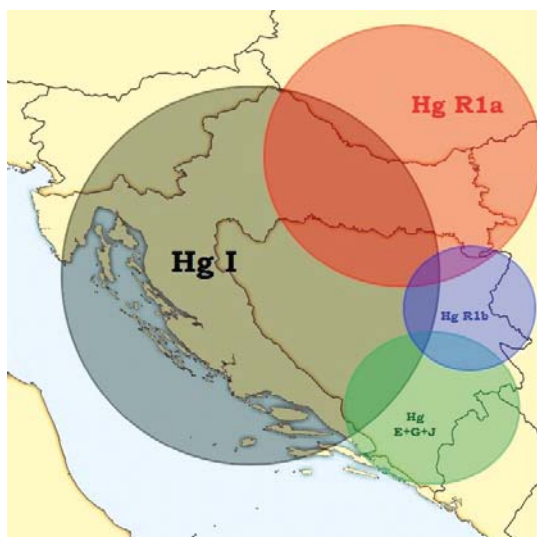
Kao što se moglo vidjeti, ova detaljnija i informativnija studija potvrdila je preliminarne rezultate iz prethodnoga izvješća (4). Unatoč činjenici da više od tri četvrtine ispitanih muškaraca potječe iz relativno izoliranih otočnih populacija, za ovu studiju iz 2003. godine može se reći da predstavlja jedno od do sada najinformativnijih izvješća o genetskome podrijetlu Hrvata.

O NAJBЛИŽEM SUSJEDSTVU

Bosna i Hercegovina i Hrvatska susjedne su zemlje koje dijele vrlo dugu kopnenu granicu. Njihov međusobni geografski položaj, opsežna zajednička povijest i činjenica da Hrvati predstavljaju jedan od tri konstitutivna naroda u Bosni i Hercegovini, daju zanimljiv dodatan uvid o hrvatskome stanovništvu općenito.

Dvije godine nakon prethodno opisane opsežne analize hrvatskoga stanovništva, međunarodni tim, na čelu s Institutom za genetičko inženjerstvo i biotehnologiju, koristio je 28 bialelnih biljega na Y kromosomu u analizi 256 muškaraca (90 Hrvata, 81 Srbin i 85 Bošnjaka) iz Bosne i Hercegovine (28). Uzorak populacije je reprezentativan za Bosnu i Hercegovinu, budući da subjekti potječu s više od 50 različitih lokacija. Svrstavanje subjekata u tri etničke skupine provedeno je prema porijeklu njihovih djedova po ocu. Analiza odabranih biljega Y kromosoma omogućila je klasifikaciju svih bosanskohercegovačkih uzoraka u haplogrupe E, F, G, I, J, K i R. Haplogrupa I najčešće je zastupljena haplogrupa, s učestalošću većom od 50%. Druge haplogrupe s ukupnim frekvencijama višim od 5% su haplogrupe E (14,5%), R-M17 (13,7%) i J (7,1%).

Analiza varijacija Y kromosoma u tri glavne etničke skupine moderne Bosne i Hercegovine otkriva da sve tri etničke skupine iz ove zemlje (Hrvati, Srbi i Bošnjaci) nose haplogrupe koje dijele s mnogim drugim Europljanima, koje su nastale u



Struktura Y kromosoma u hrvatskome stanovništvu prema podacima koje je objavila Semino i suradnici (4). Prema tim rezultatima, oko 45% ispitanih Hrvata vjerojatno potječe od starih Europljana koji su uglavnom preživjeli posljednje ledeno doba u zapadnobalkanskome utočištu. Osim toga, gotovo 30% njih je došlo iz ukrajinskoga utočišta i 10% iz prethodno opisanoga iberijskog utočišta. Ostatak hrvatskih muškaraca (oko 15%) mogli bi biti potomci ljudi koji su »doinjeli poljoprivredu« u Europu tijekom nadiranja poljodjelaca s Bliskoga istoka.

različitim utočištima tijekom posljednjega ledenog doba u Europi (I-M170, R-M17 i RM269), te haplogrupe za koje se smatra da su nastale u Africi (E-SRY4064) i Bliskome istoku (J-12f2) te da su stigle u Europu kroz prolongirani protok gena s Bliskoga istoka (29).

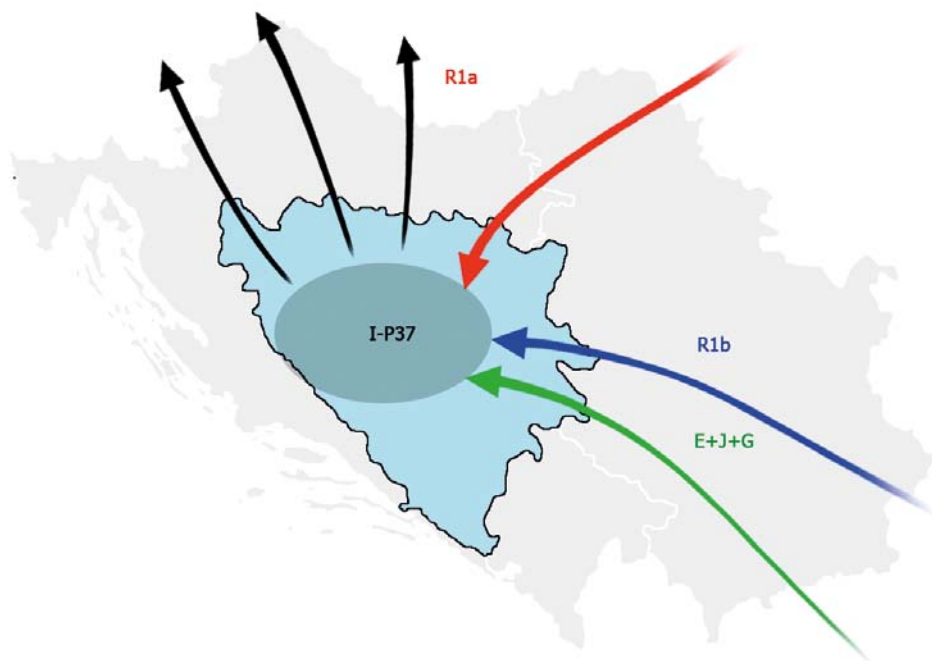
Uzimajući u obzir paleolitsko podrijetlo haplogrupe I (dijelom određene P37 mutacijom) u ovome dijelu Balkanskoga poluotoka (29) i njezinu ekstremno veliku učestalost (u prosjeku za sve tri glavne etničke skupine moderne Bosne i Hercegovine oko 50% ili točnije za bosanske Hrvate 71,1%, Bošnjake 43,5% i bosanske Srbe 30,9%), moguće je da je postglacijalno širenje stanovništva s velikom učestalošću I-P37 iz jednoga od utočišta prisutnih na Balkanu odigralo veliku ulogu u naseljavanju Bosne i Hercegovine i okolnih područja, uključujući i Hrvatsku. Ovi rezultati ukazuju na to da su područja današnje Hrvatske i Bosne i Hercegovine vjerojatno bila dio balkanskoga glacijalnog utočišta. Frekvencije haplogrupe J i G zajedno iznose više od 9%, što ukazuje da 9% bosansko-hercegovačkih muškaraca potječe od ranih poljodjelaca. Prema prethodno navedenim podacima, E-V13 na Balkanu (14% u BiH) predstavlja lokalni biljeg koji je postojao s niskom učestalošću prije pojave poljoprivrednoga uzgoja, ali je onda kada se poljoprivredna djelatnost raširila na Balkanu (22) postao češći. Ovi rezultati ukazuju da je

muški genofond BiH populacije više bio pod utjecajem neolitskih i post-neolitskih migracija nego hrvatski genofond. S druge strane, relativno niske frekvencije R1a i R1b haplogrupa unutar BiH muške populacije dokazuju manje prisustvo gena iz ukrajinskoga glacijalnoga utočišta nego je to slučaj u hrvatskoj populaciji za iste genetske biljege (slika 3).

Učestalost podskupine I-P37 uočena kod bosansko-hercegovačkih Hrvata veća je u odnosu na sve tri BiH etničke skupine i može se djelomično pripisati genetskome driftu, ali još uvijek predstavlja najveću uočenu frekvenciju za neke populacije. Nasuprot tome, protok gena tijekom neolitika i postneolitika čini se da je igrao marginalnu ulogu kod bosanskih Hrvata. Konačno, migracijski procesi iz središnje Azije i istočne Europe - obilježeni haplogrupom R-M17 - čini se, slično su utjecali na tri glavne etničke skupine moderne Bosne i Hercegovine.

DODATNA PROMIŠLJANJA O STARIM EUROPLJANIMA I RANIM POLJODJELCIMA U HRVATSKOJ

Ovaj je rad od početka usmjeren na analizu odnosa starih Europljana i ranih poljodjelaca. Obje su ove kategorije



Tumačenje bosansko-hercegovačkoga Y kromosom stabla predloženoga prema podacima objavljenima u Marjanović et al. (28). Uzimajući u obzir dobivene rezultate, moguće je da su područja današnje Hrvatske i Bosne i Hercegovine vjerojatno bila dio balkanskoga utočišta tijekom posljednjega ledenog doba. Također, rezultati sugeriraju da je muški genofond BiH populacije bio više pod utjecajem neolitskih i post-neolitskih migracija nego hrvatski genofond. S druge strane, nešto niže frekvencije R1a i R1b haplogrupa unutar BiH muške populacije pokazuju manje prisustvo gena iz ukrajinskoga glacijalnog utočišta nego što je to slučaj u hrvatskoj populaciji za iste genetske biljege.

sveobuhvatno istražene u sklopu dvaju izvješća. Nadalje, obje su se studije bavile hrvatskom i bosanskom populacijom i uključivale su znanstvenike iz tih dviju zemalja.

Što se tiče starih Europljana, dodatne analize više od 1.000 Hgl Y kromosoma u uzorku 60 populacija, otkrile su nekoliko pod-klastera u Europi, s divergentnom geografskom distribucijom (30). Autori ukazuju na to da haplogrupa I pruža odličan zapis preglacijalne diferencijacije iza koje je uslijedila geografska izolacija te kasnija postglacijalna ekspanzija i širenje. Pojava I1a u Skandinaviji u skladu je s postglacijalnom rekolonizacijom sjeverozapadne Europe iz franko-kantabrijske regije. Ekspanzija I1b* u širem jadranskome području sugerira da su demografski procesi započeli iz utočišta koji se nalazio u toj regiji, dok I1c pokriva širok prostor u Europi s najvišim frekvencijama u sjeverozapadnoj Europi. Pretpostavlja se da haplogrupa I potječe iz preglacijanoga genofonda Europljana (28.000-23.000 godina). Također, čini se da su I1a, I1b i I1c divergirali od I* vjerojatno tijekom postglacijalne rekolonizacije Europe. Što se tiče starih Europljana u tom području, velika raznolikost STR unutar I1b* linije u Bosni i Hrvatskoj podržava stav da je P37 SNP možda bio prisutan na području Balkana prije posljednjega ledenog doba. To potvrđuje teoriju da su ove dvije zemlje tijekom posljednjega ledenog doba vjerojatno bile vrlo atraktivne za »ljetovanje«.

Neolitska revolucija – uvođenje organiziranoga života na selu, uzgoja usjeva i životinja – stigla je u Grčku oko 7.000 godina prije Krista iz Plodnog polumjeseca. Analiza hrvatskoga genofonda također je bila uključena u najnovija istraživanja širenja poljoprivrede u jugoistočnoj Europi (22). Ovom studijom obuhvaćeno je više od 1.200 muškaraca koji nisu u krvnome srodstvu iz 17 populacija. Nekoliko podklastera unutar haplogrupa E, J i I bilo je odabrano kao fokus ovoga istraživanja. Dobiveni rezultati ukazuju na to da su stari Europljani s Balkana bili predodređeni da prvi usvoje poljoprivredu, kada je došla preko ranih poljodjelaca s Bliskoga istoka. Ovo je lokalno stanovništvo koje je usvojilo uzgajivačku djelatnost postalo glavni nositelj takvoga »načina života« duž Jadrana i prenijelo neolitsku kulturu na druge »staroeuropske« populacije. Ovaj genetski dokaz, zajedno s nekim drugim studijama provedenima samo na Y-STR (31), podržava model kulturne difuzije.

ZAKLJUČAK

Populacijska genetika ponekad može dovesti do vrlo zanimljivih rezultata/predviđanja unutar analiza diferenciranih skupina stanovništva (32,33). Molekularno-genetska analiza genofonda moderne hrvatske muške populacije potvrdila je izvanrednu heterogenost i kompleksnost ove populacije i podržava visok stupanj miješanja doseljenika s autohtonim stanovništvom koje je već bilo prisutno u regiji. Kao što je prikazano u ovome kratkom pregledu, ranija su istraživanja

ponudila genetski scenarij najvažnijih migracijskih epizoda koje su snažno utjecale na proces naseljavanja cijeloga područja suvremene Hrvatske. Većina se tih studija temeljila na istraživanju predačkoga genetskog utjecaja starih Europljana i ranih poljodjelaca na Hrvate. Dokazali su da hrvatska populacija, kao i bilo koja druga europska populacija, predstavlja izuzetnu genetsku mješavinu.

Na osnovi rezultata dobivenih u prethodnim studijama (2,4,26,28) može se jasno zaključiti da većina hrvatskih muškaraca (»vlasnika« haplogrupe I) potječe od ljudi koji su zakoračili na europsko tlo prije 25.000 godina i preživjeli posljednje ledeno doba u utočištu na zapadnome Balkanu. Budući da najnovija istraživanja (20,21) predlažu potpuno novu pozadinu R1b migracije i uzimajući u obzir 27% R1a nositelja, može se zaključiti da su više od 3/4 današnjih hrvatskih muškaraca najvjerojatnije potomci starih Europljana koji su došli ovdje prije i nakon posljednjega ledenog doba. Za ostatak populacije može se uglavnom reći da su potomci naroda koji su došli u ovaj dio Europe južno-istočnim putem, u posljednjih 10.000 godina, uglavnom tijekom procesa neolitizacije. Prilično smo sigurni da će nam najnovija otkrića u tehnikama tipizacije cijeloga genoma, baziranih na čip tehnologiji, pomoći da detaljnije razumijemo strukturu hrvatske populacije i aspekte njezine demografske povijesti. Taj je pristup, koji namjeravamo koristiti u budućnosti za istraživanje ljudske populacije na ovim prostorima, već donio zanimljive rezultate u analizi različitih populacija u cijelome svijetu (34-36).

LITERATURA

Gimbutas M. *The Goddesses and Gods of Old Europe: Myths and Cult Images*. Los Angeles: University of California Press; Reprinted 1996.

Wiik K. Where did European man come from? *Journal of Genetic Genealogy* 2008; 4:35-85.

Barbujani G, Bertorelle G. Genetics and the population history of Europe. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:22-5.

Semino O, Passarino G, Oefner PJ, Lin AA, Arbuzova S, Beckman LE et al. The genetic legacy of Paleolithic Homo sapiens in extant Europeans: a Y chromosome perspective. *Science* 2000;290:1155-9.

Chaubey G. *The Demographic History of India: A Perspective Based on Genetic Evidence*. Tartu: Tartu University Press; 2010.

Underhill PA. Inferring human history: Clues from Y-Chromosome Haplotypes. *Cold Spring Harbor Symposia on Qualitative Biology* 2003;68:487-93.

Sokal RR. The continental population structure of Europe. *Ann. Rev. Anthropology* 1991;20:119-40.

von Haeseler A, Sajantila A, Paabo S. The genetical archaeology of the human genome. *Nat Genet.* 1996;14:135-40.

Calafell F. Classifying humans. *Nature Genetics* 2003;33:435-6.

Rosenberg NA, Pritchard JK, Weber JL, Cann HM, Kidd KK, Zhivotovskiy LA, et al. Genetic structure of human population. *Science* 2002;298:2381-85.

- Bamshad MJ, Wooding S, Watkins WS, Ostler CT, Batzer MA, Jorde LB. Human population genetic structure and inference of group membership. *Am. J. Hum. Genet.* 2003;72:578-89.
- Kittler R, Erler A, Braurer S, Stoneking M, Kayser M. Apparent intrachromosomal exchange on the human Y chromosome explained by population history. *Eur. J. Hum. Gen.* 2003;11:304-14.
- Jobling MA, Tyler-Smith C. The human Y chromosome: An evolutionary marker comes of age. *Nature Reviews* 2003;4:598-612.
- Y Chromosome Consortium. A nomenclature system for the tree of human Y-chromosomal binary haplogroups. *Genome Res.* 2002; 12:339-48.
- Karafet TM, Mendez FL, Meilerman MB, Underhill PA, Zegura SL, Hammer MF. New binary polymorphisms reshape and increase resolution of the human Y chromosomal haplogroup tree. *Genome Res.* 2008;18:830-8.
- Watson E, Forster P, Richards M, Bandelt HJ. Mitochondrial Footprints of Human Expansions in Africa. *Am. J. Hum. Genet.* 1997;61:691-704.
- Kocher TD, Thomas WK, Meyer A, Edwards SV, Paabo S, Villablanca FX, et al. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proc Natl Acad. Sci USA* 1989;86:6196-200.
- Oven M, Kayser M. Updated comprehensive phylogenetic tree of global human mitochondrial DNA variation. *Hum Mutat* 2009;30:386-94.
- Peričić M, Barać-Lauc L, Martinović-KLarić I, Janičijević J, Rudan P. Review of Croatian Genetic Heritage as Revealed by Mitochondrial DNA and Y Chromosomal Lineages. *Croat Med J* 2005;46:502-13.
- Myres NM, Rootsi S, Lin AA, Jarve M, King RJ, Kutuev I et al. A major Y-chromosome haplogroup R1b Holocene era founder effect in Central and Western Europe. *Eur. J. Hum. Genet.* 2011;19:95-101.
- Underhill PA, Myres NM, Rootsi S, Metspalu M, Zhivotovsky LA, King RJ et al. Separating the post-Glacial coancestry of European and Asian Y chromosomes within haplogroup R1a. *Eur J Hum Genet* 2009;18:479-84.
- Battaglia V, Fornarino S, Al-Zahery N, Olivieri A, Pala M, Myres N, et al. Y-chromosomal evidence of the cultural diffusion of agriculture in southeast Europe. *Eur. J. Hum. Genet.* 2008;17:820-30.
- King RJ, DiCristofaro J, Kouvatzi A, Triantaphyllidis C, Scheidel W, Myres NM, et al. The Coming of the Greeks to Provence and Corsica: Y-chromosome Models of Archaic Greek Colonization of the Western Mediterranean. *BMC Evol Biol.* 2011;11:69.
- Otte M. The northwestern European plain around 18.000 BP in The World at 18000 BP, O. Soffer, C. Gamble, Eds. London: Unwin Hyman; 1990.
- Gibbons A. Europeans Trace Ancestry to Paleolithic People. *Science* 2000;290:1080.
- Barać L, Peričić M, Klarić IM, Janičijević B, Parik J, Rootsi S, et al. Y chromosomal heritage of Croatian population and its island isolates. *Eur. J. Hum. Genet.* 2003;11:535-542.
- Chikhi L, Nichols RA, Barbujani G, Beaumont MA: Y genetic data support the Neolithic demic diffusion model. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002; 99: 11008-13
- Marjanović D, Fomarino S, Montagna S, Primorac D, Hadžiselimović R, Vidović S, et al. The peopling of modern Bosnia-Herzegovina: Y-chromosome haplogroups in the three main ethnic groups. *Ann. Hum. Genet.* 2005;69:757-63.
- Semino O, Magri C, Benuzzi G, Lin AA, Al-Zahery N, Battaglia V, et al. Origin, diffusion, and differentiation of Y-chromosome haplogroups E and J: Inferences on the neolithization of Europe and late migratory events in the Mediterranean area. *Am J Hum Genet* 2004;74:1023-34.
- Rootsi S, Magri C, Kivisild T, Benuzzi G, Help H, Bermisheva M, et al. Phylogeography of Y-chromosome haplogroup I reveals distinct domains of prehistoric gene flow in Europe. *Am J Hum Genet* 2004;75:128-37.
- Mirabal S, Varljen T, Gayden T, Regueiro M, Vujovic S, Popovic D, et al. Human Y-Chromosome Short Tandem Repeats: A Tale of Acculturation and Migrations as Mechanisms for the Diffusion of Agriculture in the Balkan Peninsula. *Am. J Physical. Anthropol.* 2010;142: 380-90.
- Wozniak M, Malayarchuk B, Derenko M, Vanecek T, Lazur J, Gomolcak P, et al. Similarities and distinctions in Y Chromosome gene pool of Western Slavs. *Am. J Physical. Anthropol.* 2010; 142: 540-8.
- Boattini A, Luiselli D, Sazzini M, Useli A, Tagarelli G, Pettener D. Linking Italy and the Balkans. A Y-chromosome perspective from the Arbereshe of Calabria. *Ann of Hum Biology* 2009;38:59-68.
- Abdulla MA, Ahmed I, Assawamakin A, Bhak J, Brahmachari SK, Calacal GC et al. Mapping Human genetic diversity in Asia. *Science* 2009;326: 1541-45.
- Biswas S, Sheinfeldt LB, Akey JM. Genome wide insight into the patterns and determinants of fine scale population structure in humans. *Am. J. Hum. Genet.* 2009;84:641-50.
- Behar DM, Yunusbayev B, Metspalu M, Metspalu E, Rosset S, Parik J, et al. The genome wide-structure of the Jewish people. *Nature* 2010;466: 238-42.

