

АјДи Дизајн 2012/ДООЕЛ Скопје
 Македонско медицинско електронско списание
 Волумен 2015; Статија ИД 50011, 10 страници
<http://dx.doi.org/10.3889/mmej.2015.50011>
 eISSN: 1857-9809
Јавно здравство



Улогата на медицинската сестра во Македонската банка за хумана ДНК

Елена Цветковска, Мирко Спироски*

Институт за имунобиологија и хумана генетика, Медицински факултет, Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Скопје

Извадок

Цитирање: Цветковска Е, Спироски М. Улогата на медицинската сестра во Македонската банка за хумана ДНК. Макед Мед Електр С. 2015 Окт 04; 2015; 50011. <http://dx.doi.org/10.3889/mmej.2015.50011>

Клучни зборови: ДНК; Македонска Банка за хумана ДНК; медицинска сестра.

Кореспонденција: Проф. д-р Мирко Спироски. Институт за имунобиологија и хумана генетика, Медицински факултет, Универзитет "Св. Кирил и Методиј", Скопје E-mail: mspiroski@mjms.mk

Примено: 11-Сеп-2015; **Ревидирано** 20-Сеп-2015; **Прифатено:** 28-Сеп-2015; **Објавено:** 04-Окт-2015

Печатарски права: © 2015 Елена Цветковска, Мирко Спироски. Оваа статија е со отворен пристап дистрибуирана под условите на Нелокализирана лиценца (CC BY 3.0), која овозможува неограничена употреба, дистрибуција и репродукција на било кој медиум, доколку се цитираат оригиналниот(ите) автор(и) и изворот.

Конкурентски интереси: Авторите изјавуваат дека немаат конкурентски интереси.

ОСНОВА: Банка за хумана ДНК (хДНАМКД) претставува складирање на примерок на ДНК од поединецот, како и нејзино безбедно и долгорочно чување со цел да се обезбеди примерок на генетски материјал за медицински и научни истражувања. Македонската банка за хумана ДНК датира од 2000 година и во неа се дефинирани неколку проектни полиња. Медицинската сестра како дел од стручниот тим извршува многу активности со кои учествува во истражувачката дејност на хДНАМКД.

ЦЕЛ: Целта е да се презентира улогата на медицинската сестра во хДНАМКД во сите сегменти во кои таа зема учество почнувајќи од земањето на писмена согласност, земање на примероци, ДНК екстракција и складирање на истата.

МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДИ: Примероците на ДНК се земени од доброволни дарители по претходно потпишана согласност, доброволно и без притисок. Поединците се информирани во однос на видот на истражувањата што ќе се вршат, аранжманите за пристап и споделување на складираните примероци и времетраењето на чување на примероците. ДНК е изолирана од периферна крв со фенол-хлороформ метод за екстракција. Квалитетот и квантитетот на изолираната геномска ДНК е определен со 260/280 УВ спектрофотометар со GENEQUANT pro RNA/DNA калкулатор. Интактоста на изолираната ДНК е одредена со електорфореза на ДНК на агарозен гел по што истата се аликуотира во нормализирана концентрација и се складира во замрзнувач Heraus Sepatech на -80°C.

РЕЗУЛТАТИ: Во хДНАМКД се дефинирани три проектни области: антропологија, несродни пациенти и сродни пациенти. Лабораторискиот код за ДНК примероците што се чуваат во Македонската банка за хумана ДНК е MKDSP1. Вкупниот број на примероци кои се складираат во Македонската банка за хумана ДНК до крајот на 2010 година е 5252 примероци – 1575 во антропологијата, 2186 несродни пациенти и 1491 сродни пациенти.

ЗАКЛУЧОК: Медицинската сестра има целокупно учество во собирање на сите важни информации за генетските истражувања како земање на семејна историја, медицински информации и доброволна согласност од страна на дарителите. При тоа мора да ги применува етичките принципи за одржување на приватноста и доверливоста на генетски информации. Преку правилно земање и соодветно одбележување на примероците крв таа обезбедува точност на резултатите добиени од генетските истражувања. Претставува неопходен дел од тимот на хДНАМКД заради што треба да има големо искуство и знаење од областа на генетиката и медицинската етика.

The Role of Nurse in Macedonian Bank for Human DNA

Elena Cvetkovska, Mirko Spiroski*

Institute of Immunobiology and Human Genetics, Faculty of Medicine, Ss Cyril and Methodius University of Skopje, Skopje, Republic of Macedonia

Citation: Cvetkovska E, Spiroski M. [The Role of Nurse in Macedonian Bank for Human DNA]. *Maced Med Electr J*. 2015 Oct 04; 2015;50011:1-10. [Macedonian] <http://dx.doi.org/10.3889/mmej.2015.50011>

Key words: DNA; Macedonian Human DNA Bank; nurse.

***Correspondence:** Prof. Dr. Mirko Spiroski. Institute of Immunobiology and Human Genetics, Faculty of Medicine, Ss Cyril and Methodius University of Skopje, Skopje, Republic of Macedonia. E-mail: mspiroski@mjms.mk

Received: 11-Sep-2015; **Revised:** 20-Sep-2015; **Accepted:** 28-Sep-2015; **Published:** 04-Oct-2015

Copyright: © 2015 Elena Cvetkovska, Mirko Spiroski. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (CC BY 3.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

Abstract

BACKGROUND: Human DNA Bank (hDNAMKD) provides deposition of a DNA sample of an individual, and its safe and long term storage in order to provide genetic material for medical and scientific research. The Macedonian Human DNA Bank dates back to year 2000 and it covers several project areas. The nurse as a part of the professional team performs many professional activities, by which, she participates in the research activity of hDNAMKD.

AIM: Our aim is to present the role of the nurse in hDNAMKD, starting from obtaining informed consent, taking samples, extraction and finally, storage of DNA.

MATERIAL AND METHODS: DNA samples are taken from voluntary donors, by a previously signed agreement, freely and without pressure. The individuals are informed about the type of the research that will be done, arrangements for access and sharing of the stored samples and duration of storage period. DNA is isolated from the peripheral blood by phenol-chloroform extraction method. The quality and the quantity of the isolated genomic DNA is determined by measuring the 260/280 ratio, using GENEQUANT pro RNA/DNA calculator. The intactness of DNA is established with electrophoresis of DNA on an agarose gel after which it is aliquoted in normalized concentration and stored in a freezer Heraus Sepatech at -80°C.

RESULTS: Three project areas are defined in hDNAMKD: anthropology, unrelated patients and related patients. The lab code for the DNA samples that are stored in the Macedonian Bank for human DNA is MKDSP1. The total number of samples that are stored in the Macedonian bank for human DNA by the end of year 2010 is 5252 samples; 1575 in anthropology, 2186 unrelated patients and 1491 related patients.

CONCLUSION: The nurse participates in collection of all relevant information for the genetic research, like enquiring family history, medical information and informed consent from the donors. At the same time she must obey the ethical principles for maintaining the privacy and confidentiality of genetic information. The nurse represents an essential part of the hDNAMKD team, for which she has to have a lot of experience and knowledge in the field of genetics and medical ethics.

Вовед

Здравствената заштита зависи од истражувањата, а современите истражувања бараат пристап до биолошки примероци вклучувајќи ја и ДНК. Анализата на ДНК е многу важен извор на медицински корисни информации. Долгорочната стабилност на ДНК дозволува одредени прашања да бидат одговорени подоцна иако истите не биле предвидени во времето кога се земал примерокот. Потенцијалните придобивки го оправдуваат воспоставувањето на ДНК банки [1, 2].

Складирање на примерок ДНК во банка претставува безбедно, долгорочно чување на генетскиот материјал на поединецот. Тоа е еден од централните капацитети врз кој почиваат современите генетски истражувања. Банките на ДНК играат важна улога во протоколот на генетски податоци од пациентите до генетските истражувачи за примена на генетски истражувања во клиниката. До неодамна големи колекции на примероци од ДНК не беа честа појава во хуманата генетика. Сега, збирки на стотици илјади примероци се вообичаени во академските институции и приватни компании [3].

Македонската банка за хумана ДНК (хДНКМКД) е основана во 2000 година од страна на Проф. д-р Мирко Спироски и неговите соработници. Во неа се дефинирани три проектни полиња: антропологија, несродни пациенти и сродни пациенти.

Медицинската сестра се наоѓа во првите редови за грижа на пациентите што и дава можност активно да учествува во истражувачката дејност на хДНАМКД. Извршувајќи најразлични активности доаѓа во допир со многу лични генетски информации на пациентите, при што е неопходно добро да ги познава етичките принципи за одржување на приватноста и доверливоста на генетски информации.

Целта на овој труд е да се прикаже улогата на медицинската сестра во Македонската банка за хумана ДНК (хДНКМКД) како дел од истражувачкиот тим и презентација на хДНКМКД како генетика во јавното здравство, правни прашања за барање на писмена согласност, постапка на земање на примероци, методи на ДНК екстракција, контрола на примероците во банката, сопственост на истите.

Цели на Македонската банка за хумана ДНК (хДНКМКД)

Целите на Македонската банка за хумана ДНК се:

- Да обезбеди генетски материјал за човековите варијации во Македонската популација внатре и надвор од Република Македонија и на малцинствата кои живеат во Република Македонија (молекулска антропологија);
- Да обезбеди материјал за истражувања на молекуларните оштетувања здружени со разликите во популациите и со генетските заболувања (генетска епидемиологија или генетика во јавно здравство);
- Да им одговори на барањата на лицата и нивните фамилии кои се нападнати од генетски заболувања, особено нивната желба да дознаат дали имаат или немаат ризик за развој или пренесување болест со генетска компонента (медицинска генетика) [4].

Дарување ДНК

Антрополошки испитувања

За испитување на антрополошките особини на популациите кои живеат во Република Македонија и за Македонците кои живеат во другите земји потребно е да се пополни потпишана дозвола односно согласност во која се внесуваат податоци за испитаникот, неговите родители и родителите на неговите родители (две генерации наназад) за културна, јазична, религиска и географска идентификација (слика 1).

Македонска банка за хумана ДНК (хДНКМКД)
Macedonian Human DNA Bank (hDNAMKD)

Потпишана согласност - антропологија (хДНКМКД)
Written Consent - Anthropology (hDNAMKD)

Ип./No.: _____ Дата/Date: _____ Код/Code: _____ Група/Group: _____
Примерок/Sample: Спир/Spit Собирање од уста/facial swab Спирот/Spit

Испитаник/Subject
Име и презиме/Name and Surname: _____
Место на раѓање (со општина)/Birth Place (Municipality): _____
Дата на раѓање/Birth Date: _____ Жинсе (општина)/Living (Municipality): _____
Националност (етнос)/Nationality (ethnicity): _____ Религија/Religion: _____
Зборува на Spoken Languages: _____
Адреса на живеење/Living Address: _____
Телефон/Telephone: _____
Пол/Gender: _____

Татко/Father
Име и презиме/Name and Surname: _____
Место на раѓање (со општина)/Birth Place (Municipality): _____
Дата на раѓање/Birth Date: _____ Жинсе (општина)/Living (Municipality): _____
Националност (етнос)/Nationality (ethnicity): _____ Религија/Religion: _____
Зборува на Spoken Languages: _____

Дево од татко/Father's father
Име и презиме/Name and Surname: _____
Место на раѓање (со општина)/Birth Place (Municipality): _____
Дата на раѓање/Birth Date: _____ Жинсе (општина)/Living (Municipality): _____
Националност (етнос)/Nationality (ethnicity): _____ Религија/Religion: _____
Зборува на Spoken Languages: _____

Баба од татко/Father's mother
Име и презиме (моминско)/Name and Surname (Maiden): _____
Место на раѓање (со општина)/Birth Place (Municipality): _____
Дата на раѓање/Birth Date: _____ Жинсе (општина)/Living (Municipality): _____
Националност (етнос)/Nationality (ethnicity): _____ Религија/Religion: _____
Зборува на Spoken Languages: _____

Мајка/Mother
Име и презиме (моминско)/Name and Surname (Maiden): _____
Место на раѓање (со општина)/Birth Place (Municipality): _____
Дата на раѓање/Birth Date: _____ Жинсе (општина)/Living (Municipality): _____
Националност (етнос)/Nationality (ethnicity): _____ Религија/Religion: _____
Зборува на Spoken Languages: _____

Дево од мајка/Mother's father
Име и презиме/Name and Surname: _____
Место на раѓање (со општина)/Birth Place (Municipality): _____
Дата на раѓање/Birth Date: _____ Жинсе (општина)/Living (Municipality): _____
Националност (етнос)/Nationality (ethnicity): _____ Религија/Religion: _____
Зборува на Spoken Languages: _____

Баба од мајка/Mother's mother
Име и презиме (моминско)/Name and Surname (Maiden): _____
Место на раѓање (со општина)/Birth Place (Municipality): _____
Дата на раѓање/Birth Date: _____ Жинсе (општина)/Living (Municipality): _____
Националност (етнос)/Nationality (ethnicity): _____ Религија/Religion: _____
Зборува на Spoken Languages: _____

Слика 1: Формулар за податоци од доброволен дарител на ДНК

Согласноста мора да биде доброволно потпишана од страна на дарителот, без никаков притисок и врз основа на информациите обезбедени од страна на обучен персонал [4, 5].

Посебен интерес за антрополошки испитувања Македонската банка има за:

- Македонци кои се родени од два родители и нивните родители се во Република Македонија, Егејска Македонија, Пиринска Македонија, Албанија, Косово (без разлика каде живеат сега);
- Македонци кои се раселени од Егејска Македонија после Првата светска војна;
- Македонци кои се раселени од Егејска Македонија после Граѓанската војна во Грција;
- Македонци муслимани од сите делови на светот;
- Горани од сите делови на светот;
- Албанци, Турци, Роми, Власи, Срби и други кои се родени во Република Македонија.



СОГЛАСНОСТ / CONSENT

Јас/ I

изјавувам дека доброволно дарувам примерок за оформување на Македонска банка за ДНК примероци (хДНКМКД). Дозволувам даруваниот примерок ДНК да биде користен за генетски анализи во истражувачки цели. За резултатите од генетските испитувања, кои имаат дијагностичко значење и кои се однесуваат на мојата здравствена состојба или индиректно на здравствената состојба на моите родители, сакам да бидам информирана. Информирани сум дека можам во секое време даруваниот примерок од ДНК и/или резултатите од генетските истражувања да побарам да бидат уништени.

I declare that voluntarily donate DNA sample for building Macedonian Human DNA Bank (hDNAMKD). I permit donated DNA sample to be used for genetic analysis for scientific purposes. For the results from genetic investigations, which are of diagnostic meaning and are connected with my health or indirectly with my family, I wish/don't wish to be informed. I am informed that I can ask in any time to be destroyed donated DNA samples and/or results from the genetic investigations.

Адреса/Address _____

Телефон/Telephone _____
 Матичен број/ID Number _____
 Болести во семејството/Family Diseases _____

Потпис/Signature _____

Датум/Date, _____

Слика 2: Формулар за согласност од доброволен дарител на ДНК

Пријавување проект

Секој доктор може да пријави проект во Македонската банка за хумана ДНК со цел да складира примероци од ДНК од определена дефинирана болест и да договори генетски испитувања за своите пациенти.

За таа цел пополнува формулар со кој ја дефинира болеста која сака да ја испитува и се бара дозвола од етичка комисија за изведување на генетските истражувања. Докторот е должен на

секој пациент да му го даде текстот *Информирана дозвола за дијагностичко генетско испитување*, да го информира во однос на видот на истражувањето што ќе се врши и му дозволи самостојно да одлучи дали да се вклучи во генетското испитување (слика 3). Предвидена е специфична заштита за ранливите популации (малолетни лица, лица кои страдаат од ментални нарушувања, како и возрасни кои се ставени под ограничено старателство). Генетски тестирања на овие лица за дијагностички цели е дозволено само кога тоа е потребно со сопственото здравје или ако информациите се потребни да се дијагностицира постоењето на генетска болест кај членовите во семејството [2, 6].



Пријавување проект во Македонска банка за хумана ДНК

Име и презиме (депозитор): _____
 Институција: _____
 Телефон: _____ Е-мајл: _____
 Наслов на проектот: _____

Код на проектот:

Главен истражувач: _____

Накусо прикажи ги критериумите за вклучување во проектот:

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____
9. _____
10. _____

Со потпишувањето подолу, се согласувам:

- 1) да се искаже благодарност за користенето материјали од Македонската банка за хумана ДНК и за трудовите кои произлегуваат од таа работа;
- 2) дека Македонската банка за хумана ДНК и Институтот за имунобиологија и хумана генетика не се одговорни за следење на примероците, откога тие ќе бидат отстранети од Македонската банка за хумана ДНК на мое барање или со моја дозвола. Тука се вклучува и одговорноста за уништувањето на примерокот после повлекување согласноста од страна на учесникот во ова испитување.

Потпис: _____ Датум: _____

Слика 3: Формулар за пријавување проект во Македонска банка за хумана ДНК

Земање примерок за генетско испитување

Откако ќе ја потпише согласноста, на дарителот му се зема 5-10 мЛ крв од страна на стручниот персонал по што се транспортира до Македонската банка за хумана ДНК.

Медицинската сестра преку процес на разговори ја потврдува потпишаната согласност и вади примерок од крв. Нејзината улога вклучува интеракција со пациентите, семејствата и лекарите.

Порачка на материјали од банката

Секој научник од Република Македонија или од друга земја има право да порача материјали од Македонската банка за хумана ДНК

за научни цели со пополнување на специјални формулари. Споделувањето на сите знаења и материјали е задолжително. Податоците и материјалите се бесплатни и се достапни по номинална цена односно за покривање на трошоците за транспортирање [6].

Барање за уништување на примерок

ДНК примероците во банката се чуваат на неодредено време. Секое лице, пациент или доктор (депозитор) има право да побара уништување на сопствените примероци ДНК од македонската банка за хумана ДНК со пополнување на специјално барање за тоа. Уништувањето на примероци не е можно за примероци кои се веќе доставени до истражувачи или ако примерокот на ДНК е веќе влезен во истражувачки протокол [6].

Сопственост на примероците

Антрополошките примероци се сопственост на Македонската банка за хумана ДНК. Примероците од пациентите кои се дел од проекти им припаѓаат на Македонската банка за хумана ДНК и на докторите (депозитори) кои испратиле материјал и поднеле пријава за проект во хДНАМКД.

Законски акти врз кои функционира Македонската банка за хумана ДНК

Бидејќи во Република Македонија во тек е донесувањето на законите и подзаконските акти за пресадување на органи и матични клетки и складирање на генетски материјал, Македонската банка за хумана ДНК работи врз основ на законските регулативи кои што се применуваат во Европската Унија:

- Советот на Европа: Конвенција за човекови права и биомедицина, Овиедо, 04 јуни 1997 година
- Складирање на податоци и ДНК банкарство за биомедицински истражувања: технички, социјални и етички прашања. Препораки на Европското здружение за хумана генетика, 2001 (СЕЕ BIO4-СТ98-0550).
- Ревидирано Резиме на меѓународната декларација за човечки генетски податоци. УНЕСКО, Меѓународен комитет за биоетика (IBC), Париз, 22 јануари 2003 година.
- Закон за пресадување органи и ткива (Службен весник на Република Македонија, 2011 година).

Материјал и методи

Примероците кои се складираани во Македонската банка за хумана ДНК се добиени со изолација на ДНК од периферна венска крв (5-10мл) која е земена во вакумизирани епрувети со антикоагуланс К3 ЕДТА. Сите примероци се земени со претходно потпишана доброволна согласност од страна на дарителите. Дарителите се информирани во однос на видот на истражувањето што ќе се врши, аранжманите за пристап до складираните примероци и времетраењето на чување на истите.

При земање на крв за ДНК примерок, медицинската сестра води сметка за точно одбележување на епруветите, вклучувајќи го и лабораторискиот број и соодветниот код.

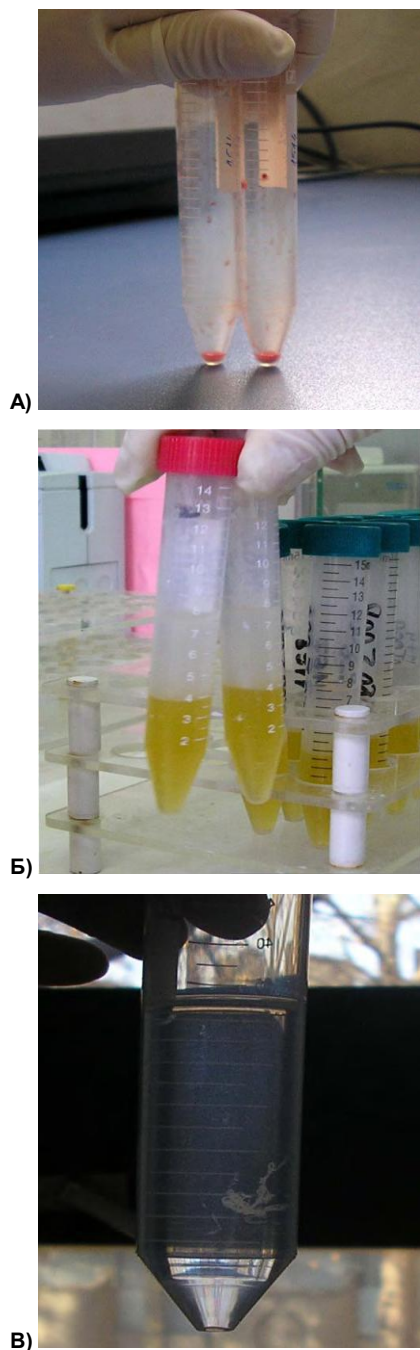
Изолирање (екстракција) на ДНК

Постојат повеќе начини на изолирање на ДНК. Изолирањето на геномска ДНК не е тешка постапка, но за да може понатаму да се користи таа треба да биде со голема молекулска тежина т.е. неоштетена. Изолацијата на геномска ДНК со примена на протеиназа К, детергент СДС (натриум додецил сулфат) и фенол е еден од најприменуваните методи за изолација кој обезбедува голема количина на ДНК. Протеиназата К и СДС го раствораат примерокот и ја дигестираат протеинската компонента без притоа да делуваат на ДНК. Примерокот потоа се екстрахира со денатуранси на протеините (фенол-хлороформ) а од останатиот воден раствор ДНК се преципитира со абсолютен етанол.

Генерално, колку помалку се манипулира со ДНК, толку нејзиниот квалитет на крај е подобар, но некои постапки не смее да се прескокнат. Различните хемикалии кои се користат за изолирање на геномска ДНК треба да бидат со највисок можен квалитет исто како и водата која се користи за припремање на растворите [7].

Постапката на изолација на ДНК се одвива по следниот редослед:

1. *Издвојување на леукоцити од периферна крв по лизирање на еритроцитите.* Клетките се мијат со ретикулоцитен раствор и потоа со раствор за лизирање се лизираат еритроцитите при што по центрифугирање на дното од тубичката се исталожуваат леукоцитите (слика 4А);
2. *Фенол-хлороформ екстракција на ДНК.* Се врши денатурирање на протеините најпрво со фенол, а потоа и со хлороформ при што се добива супернатант во кој се содржи ДНК прочистена од протеините (слика 4Б);



Слика 4: А) Талог од леукоцити; Б) Изолација на ДНК со Фенол-хлороформна екстракција; В) Преципитирана ДНК

3. **Преципитација на ДНК со абсолютен етил алкохол.** ДНК се преципитира со додавање на абсолютен етил алкохол кој е претходно изладен на -200°C . Добро преципитирана ДНК изгледа како бело конец кој се издига на површината од епруветката (слика 4В).
4. **Миење и растворање на ДНК.** Преципитираната ДНК се префрла во стерилни тубички и се мие со 70% етил алкохол, се остава да се исуши и се раствора во 1 мл стерилна вода од ампула или ТЕ пуфер.

Одредување концентрацијата и интактноста на ДНК

По екстракцијата на ДНК потребна е проверка на нејзината концентрација и чистота бидејќи е можно во изолатот да се присутни и други примеси (најчесто протеини или фенол) кои може да влијаат врз резултатот од понатамошните анализи. За одредување концентрација на раствори на нуклеинските киселини најчесто се користи спектофотометриски метод [7]. Ние користиме GENEQUANT pro RNA/DNA calculator од фирмата AmerchamPharmaciaBiotech (слика 5).

Концентрацијата и чистотата на ДНК се определува со односот абсорбанца 260/280.

Интактноста на изолираната ДНК се одредува со електрофореза на ДНК на агарозен гел во редовни временски интервали и на случајно избрани примероци [4].

Складирање и чување на ДНК во банката

По изолација и оценување на квалитетот примерокот на ДНК се аликвотира во нормализирана концентрација. Подготовката на аликвоти служи за да се обезбедат подготвени ДНК примероци за дистрибуција како и да се спречи прекумерно замрзнување и одмрзнување на примарниот ДНК изолат што би резултирало со забележлива деградација на геномската ДНК. Сите примероци се чуваат замрзнати во Heraus Seratech замрзнувач на -80°C . Вака подготвените и складирани ДНК примероци во банката се чуваат неопределено време [4].



Слика 5: GENEQUANT pro RNA/DNA калкулатор

Пристапот до ДНК банката е ограничен на персоналот во банката, а пристапот до базите на податоци на ДНК банката е уште повеќе ограничен само на избрани членови од персоналот на банката [4].

Медицинската сестра води сметка за правилно распоредување на примероците ДНК во

банката во зависност од тоа на кое проектно поле припаѓаат.

Резултати

Дефинирани се три проектни области во Македонската банка за хумана ДНК: антропологија (hDNAMKD1), несродни пациенти (hDNAMKD2) и сродни пациенти (hDNAMKD3). Лабораторискиот код за ДНК примероците што се чуваат во Македонската банка за хумана ДНК е MKDSP1. Вкупниот број на примероци кои се складирани во Македонската банка за хумана ДНК до крајот на 2010 година е 5252 примероци – 1575 во антропологијата, 2186 несродни пациенти и 1491 сродни пациенти. Во табела 1 се претставени проектните полиња, кодовите на банката и фреквенцијата на ДНК примероците складирали во Македонската банка за хумана ДНК

Табела 1: Проектни полиња, код и фреквенција на складирани примероци во hDNAMKD до декември 2010

Проектни полиња	Код на банката за хДНК	Складирани примероци на ДНК					Вкупно
		2000-2001	2002-2003	2004-2005	2006-2007	2008-2010	
Антропологија	hDNAMKD1	327	1054	166	21	/	1575
Несродни пациенти	hDNAMKD2	360	285	180	366	995	2186
Сродни пациенти	hDNAMKD3	178	218	205	322	568	1491
ВКУПНО	3	865	1557	551	709	1563	5252

Антропологија (хДНАМКД1)

Депозитор на ДНК примероците од антрополошкото проектно поле е Македонската банка за хумана ДНК, со 1575 складирани примероци. Структурата и дефинициите на популациите од овој проект се дефинирани според личното изјаснување за национална припадност, јазик и религија (Табела 2).

Табела 2: Дефиниција на ДНК примероците од македонските популации складирани во антрополошкото проектно поле во Македонската банка за хумана ДНК (хДНАМКД1)

Име на популација (етницитет)	Нација	Втора нација	Примарен јазик	Секундарен (домашен) јазик	Религија
Македонци	Македонска	Македонска	Македонски	Македонски	Православни Католици Протестанти Муслимани
МКДАлбанци	Албанска	Македонска	Албански	Македонски	Муслимани Католици
МКДРоми	Ромска	Македонска	Ромски Македонски Турски	Македонски	Муслимани
МКДТурци	Турска	Македонска	Турски	Македонски	Муслимани
МКДСрби	Српска	Македонска	Српски	Македонски	Православни
МКДВласи	Влашка	Македонска	Влашки	Македонски	Православни
МКДМешани	Мешана	Македонска	Мешан	Македонски	Мешани
ЈУГГорани	Горанска	Српска	Македонски	Српски	Муслимани

Македонци се дефинираат како нација од македонско потекло, со македонски примарен и секундарен јазик и со различни религии. Националните малцинства во Република Македонија сев дефинираат со префиксот МКД додаден на името на малцинството. **МКДАлбанци** се албанско малцинство со албански примарен јазик, македонски како секундарен јазик и муслиманска религија. **МКДРоми** се ромско малцинство со хетероген примарен јазик (македонски, ромски, турски), македонски како секундарен јазик и со муслиманска религија. **МКДТурци** се турско малцинство со турски примарен јазик, македонски секундарен јазик и со муслиманска религија. **МКДСрби** се српско малцинство со српски примарен јазик, македонски секундарен јазик и православна религија. **МКДВласи** се влашко малцинство со влашки примарен јазик, македонски секундарен јазик и православна религија. **МКДМешани** се остатокот од малцинствата (Црногорци, Евреи и др.) со мешан примарен јазик, и мешани религии. Во банката има примероци ДНК од регионот Гора, југозападно Косово, означени како **ЈУГГора** со горански примарен јазик (македонски дијалект) и муслиманска религија. Тие се многу блиски до **МКДМуслимани** сместени во западните делови од Македонија. Бројот на примероци во антрополошкото проектно поле постојано расте.

Несродни пациенти (хДНАМКД2)

Депозитори на клиничките примероци ДНК се докторите кои работат врз различни проективно соработка со Македонската банка за хумана ДНК. Постојат 21 проект со различни клинички дијагнози одбрани од депозиторот според дефинирани критериуми. Кодовите за проектите од несродните пациенти се дефинираат со четири букви. Вкупно се складирани 2186 ДНК примероци во различни проекти од несродни пациенти (Табела 3). Бројот на клиничките проекти и примероците ДНК постојано растат.

Табела 3: Проекти и нивните лабораториски и проектни кодови од проектното поле несродни пациенти во Македонската банка за хумана ДНК (хДНАМКД2)

Проект	Лабораториски код	Проектен код
Ревматоиден артрит	MKDSP1	RHEU
Дилатирана кардиомиопатија	MKDSP1	DILC
Коронарна артериска болест	MKDSP1	CAD1
Туберкулоза	MKDSP1	TBC1
Дијабетес мелитус тип 1	MKDSP1	DM01
Дијабетес мелитус тип 2	MKDSP1	DM02
Астма	MKDSP1	ASTH
Псориаза	MKDSP1	PSOR
Тромбоза	MKDSP1	THRO
Имуни недостатоци	MKDSP1	IMMD
Макуларна дегенерација поврзана со старост	MKDSP1	ARMO
Пародонтопатија	MKDSP1	PARO
Тромбози	MKDSP1	CVD, F5L, PIC1
Алфа 1 антитрипсински дефицит	MKDSP1	A1AT
Интолеранција на шеќер	MKDSP1	SI
Стерилитет и повторувачки абортуси	MKDSP1	MISC
Херидитарен ангиоедем	MKDSP1	HAE
Хемохроматоза	MKDSP1	HFE
X1H1 вирус	MKDSP1	FLU

Сродни пациенти (хДНАМКДЗ)

Во Македонската банка за хумана ДНК има шест проекти кои содржат фамилијарни податоци: сродна трансплантација на коскена срцевина (BMTR), сродна трансплантација на бубрег (RETR), аутизам (AUTI), сродна трансплантација на црн дроб (LTR), инфламаторна болест на цревата (IBD) и хиперимуноглобулин Е (HIGE) (Табела 4). Депозитори се докторите кои се поврзани со соодветниот проект.

Табела 4: Проекти и нивните лабораториски и проектни кодови од проектното поле сродни пациенти во Македонската банка за хумана ДНК (хДНАМКДЗ)

Проект	Лабораториски код	Проектен код
Сродна трансплантација на коскена срцевина	MKDSP1	BMTR
Сродна трансплантација на бубрег	MKDSP1	RETR
Сродна трансплантација на црн дроб	MKDSP1	LTR
Аутизам	MKDSP1	AUTI
Црвена инфламаторна болест	MKDSP1	IBD
Хиперимуноглобулин Е	MKDSP1	HIGE

Дискусија

Складирањето на ДНК примероци во банки е еден од столбовите врз кој се темели современата медицина. Долгорочното чување на ДНК примероци дава можност за одговор на многу прашања во иднина, кои денешните дијагностички методи не можат да ги одговорат.

Македонската банка за хумана ДНК има голем придонес во развојот на генетските истражувања во Република Македонија [9]. Антрополошките анализи можат да се користат за генетските варијации кај македонската популација и малцинствата што живеат во Република Македонија. До моментот на објавување на овој труд, ДНК примероците од македонските популации складирали во антрополошкото проектно поле во Македонската банка за хумана ДНК (хДНАМКД1) беа употребени во значаен број трудови [10-24].

Резултатите добиени од клиничките генетски истражувања поврзани со одредени наследни заболувања се од голема важност за понатамошниот тек и третман на болеста. Многу е значајно да се зголеми бројот на примероците и проектите кои што претставуваат надеж за голем број денес неизлечиви болести. Од проектното поле несродни пациенти во Македонската банка за хумана ДНК (хДНАМКД2) досега се објавени најмногу трудови [25-49].

Најмал број трудови се објавени од проектното поле сродни пациенти во Македонската банка за хумана ДНК (хДНАМКД3) [50-52].

Се очекува дека во следните години ќе бидат објавени уште трудови поврзани со

Македонската банка за хумана ДНК и дека во нив ќе се почитуваат етичките правила, како за ракување со примероците, за сопственоста на ДНК примероците, така и за авторите кои придонеле за создавање или за одржување на оваа банка. Докторите кои пријавиле проект и складирали ДНК примероци од пациенти со различни болести и/или здрави контроли имаат целосно право да располагаат со примероците, да бидат прашани за согласност за испитување на нивните ДНК примероци и да бидат консултирани и внесени во списокот на авторите во поднесените трудови за објавување. Доколку правата на создавачите, одржувачите и носителите на проекти во Македонската банка за хумана ДНК не се почитуваат, етичките комитети на установите, списанијата и асоцијациите имаат право да ги корегираат несоодветните постапки.

Медицинската сестра како дел од стручниот истражувачки тим има значаен придонес во работата на Македонската банка за хумана ДНК. Таа претставува првиот контакт на дарителите со хДНАМКД. Целосно учествува во собирање на информации важни за генетските истражувања како што се земање семејна историја, медицински информации и добивање на информирана согласност од страна на пациентите. Зголемената достапност на личните генетски информации доведува до неопходна примена на етичките принципи за донесување на информирани одлуки, одржување на приватноста и генетските информации и спречување на генетска дискриминација.

Медицинската сестра придонесува за точноста на резултатите добиени од генетските анализи преку правилно земање и соодветно обележување на примероците крв непосредно по нивното земање. Претставува дел од тимовите кои учествуваат во различни организирани акции за доброволно дарување на крв за генетски истражувања и складирање примерок во хДНАМКД за проектното поле антропологија од страна на здрави доброволци.

Во заклучок, како и останатиот дел од стручниот персонал, медицинската сестра има важна улога во хДНАМКД заради што треба да има повеќегодишно искуство, знаење и континуирана едукација во областа на генетиката и медицинската етика.

Благодарност

Трудот е дел од дипломската работа на Елена Цветковска (ментор проф. д-р Мирко Спироски).

Авторите им се заблагодаруваат на вработените од Институт за имунобиологија и

хумана генетика, Медицински факултет, Универзитет „Св. Кирил и Методиј“ – Скопје за соработката околу создавањето и одржувањето на Македонската банка за хумана ДНК.

Создавањето на Македонската банка за хумана ДНК е делумно финансирано од проектот ICGEB Collaborative Research Programme (Project CRP/MAC03-01, “Ambiguities resolution of HLA genotypes in Macedonian population”), Trieste, Italy.

Литература

- Data storage and DNA banking for biomedical research: technical, social and ethical issues. Recommendations of the European Society of Human Genetics. European Journal of Human Genetics, 2003; 11, Suppl 2: S8-S10
<http://dx.doi.org/10.1038/sj.ejhg.5201115>
PMid:14718935
- American Society of Human Genetics. Ad hoc committee on DNA technology, DNA banking and DNA analysis: Points to consider. Am J Hum Genet 1988; p: 781-3
- Thornton M, Gladwin A, Payne R, Moore R, Cresswell C, McKechnie D, Kelly S, March R. Automation and validation of DNA-banking systems (abstract). In: Drug Discov Today. 2005 Oct 15;10(20): 1369-75
[http://dx.doi.org/10.1016/S1359-6446\(05\)03560-9](http://dx.doi.org/10.1016/S1359-6446(05)03560-9)
- Spiroski M, Arsov T, Petlichkovski A, Strezova A, Trajkov D, Efinska-Mladenovska O, Zaharieva E. Case Study: Macedonian Human DNA bank (hDNAMKD) as a source for public health genetics. Health determinants in the scope of new public health. Sofia 2005: 34-44
- Knoppers BM, Hirtle M, Lormeau S, Laberge C, Laflamme M, Control of DNA samples and information. Genomics, 1998; 50: 385-401
<http://dx.doi.org/10.1006/geno.1998.5287>
PMid:9676435
- American College of Medical Genetics. Storage of Genetics Materials. Materials Committee. ACMG Statement. Statement on storage and use of genetics materials. Am J Hum Genet 1995; 57: 1499-500
PMid:8533780 PMCID:PMC1801411
- Spiroski M, Trajkov D, Petlichkovski A, Efinska-Mladenovska O, Sibinovska O, Hristomanova S. Practicum for Human Genetics. Skopje: Medical Faculty, 2009.
- Spiroski M. Ethics in basic biomedical investigations. Macedonian Medical Review.
- Macedonian bank for human DNA. <http://www.hdna.mk>. Accessed: October 02, 2015.
- Nunes JM, Buhler S, Roessli D, Sanchez-Mazas A; HLA-net 2013 collaboration. The HLA-net GENE[RATE] pipeline for effective HLA data analysis and its application to 145 population samples from Europe and neighbouring areas. Tissue Antigens. 2014;83(5):307-23.
<http://dx.doi.org/10.1111/tan.12356>
PMid:24738646
- Nunes JM, Riccio ME, Buhler S, Di D, Currat M, Ries F, Almada AJ, Benhamamouch S, Benitez O, Canossi A, Fadhlouli-Zid K, Fischer G, Kervaire B, Loiseau P, de Oliveira DC, Papasteriades C, Piancatelli D, Rahal M, Richard L, Romero M, Rousseau J, Spiroski M, Sulcebe G, Middleton D, Tiercy JM, Sanchez-Mazas A. Analysis of the HLA population data (AHPD) submitted to the 15th International Histocompatibility/Immunogenetics Workshop by using the Gene[rate] computer tools accommodating ambiguous data (AHPD project report). Tissue Antigens. 2010;76(1):18-30.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0039.2010.01469.x>
- Trajkov D, Petlichkovski A, Efinska-Mladenovska O, Hristomanova S, Djulejic E, Kirijas M, Senev A, Spiroski M. Distribution of 22 cytokine gene polymorphisms in Roma from the Republic of Macedonia. Iran J Allergy Asthma Immunol. 2012;11(4):282-93.
PMid:23264404
- Petlichkovski A, Djulejic E, Trajkov D, Efinska-Mladenovska O, Hristomanova S, Kirijas M, Senev A, Spiroski M. Distribution of killer cell immunoglobulin-like receptor genes in Roma from Republic of Macedonia. Int J Immunogenet. 2011;38(6):493-500.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-313X.2011.01039.x>
PMid:21955885
- Djulejic E, Petlichkovski A, Trajkov D, Hristomanova S, Middleton D, Spiroski M. Distribution of killer cell immunoglobulinlike receptors in the Macedonian population. Hum Immunol. 2010;71(3):281-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2009.12.001>
PMid:20004695
- Zimmermann B, Brandstätter A, Duftner N, Niederwieser D, Spiroski M, Arsov T, Parson W. Mitochondrial DNA control region population data from Macedonia. Forensic Sci Int Genet. 2007;1(3-4):e4-9.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.fsigen.2007.03.002>
PMid:19083765
- Strezova A, Arsov T, Petlichkovski A, Trajkov D, Efinska-Mladenovska O, Spiroski M. Ambiguous allele combinations at group level of HLA-A, -C, and -B genes in Macedonian population using reverse line strip typing method. Prilozi. 2008;29(1):77-91.
PMid:18709002
- Pavkovic M, Petlichkovski A, Strezova A, Arsov T, Trajkov D, Spiroski M. Gene frequencies of human platelet antigens in the Macedonian population. Tissue Antigens. 2006;67(3):241-6.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0039.2006.00551.x>
PMid:16573563
- Trajkov D, Arsov T, Petlichkovski A, Strezova A, Efinska-Mladenovska O, Spiroski M. Cytokine gene polymorphisms in population of ethnic Macedonians. Croat Med J. 2005;46(4):685-92.
PMid:16100774
- Spiroski M, Arsov T, Krüger C, Willuweit S, Roewer L. Y-chromosomal STR haplotypes in Macedonian population samples. Forensic Sci Int. 2005;148(1):69-73.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.forsciint.2004.04.067>
PMid:15607593
- Petlichkovski A, Efinska-Mladenovska O, Trajkov D, Arsov T, Strezova A, Spiroski M. High-resolution typing of HLA-DRB1 locus in the Macedonian population. Tissue Antigens. 2004;64(4):486-91.
<http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-0039.2004.00273.x>
PMid:15361127
- Trajkov D, Atanasovska-Stojanovska A, Petlichkovski A, Strezova A, Gogusev J, Hristomanova S, Djulejic E, Petrov J, Spiroski M. IL-1 gene cluster polymorphisms in the Macedonian population. Maced J Med Sci. 2008; 1(1): 26-33.
<http://dx.doi.org/10.3889/MJMS.1857-5773.2008.0001>
- Spiroski M. Retraction: Ana Strezova. Genotyping of HLA-A, HLA-C and HLA-B Loci with Reverse Line Strip Hybridization in Macedonian Population and Association of HLA Class I Alleles with Spondylitis [MSc thesis]. Maced J Med Sci. 2010; 3(2):188-191.
<http://dx.doi.org/10.3889/MJMS.1857-5773.2009.0107>
- Djulejic E, Senev A, Kirijas M, Hristomanova S, Petlichkovski A, Trajkov D, Spiroski M. Allele Frequency of HLA-DQB1 Locus in Macedonian Population. Maced J Med Sci. 2012; 5(1):67-71.
<http://dx.doi.org/10.3889/MJMS.1857-5773.2012.0223>
- Petlichkovski A, Djulejic E, Trajkov D, Efinska Mladenovska O, Hristomanova Mitkovska S, Spiroski M. Distribution of Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptor Genes in Albanians from Republic of Macedonia. SEE J Hum Genet. 2015; 2015:40001.
<http://dx.doi.org/10.3889/seejhq.2015.40001>
- Atanasovska-Stojanovska A, Popovska M, Trajkov D, Spiroski M. IL1 cluster gene polymorphisms in Macedonian patients with chronic periodontitis. Bratisl Lek Listy. 2013;114(7):380-5.
<http://dx.doi.org/10.4149/bll.2013.080>
- Spiroski M, Milenkovic Z, Petlichkovski A, Ivanovski L, Topuzovska IK, Djulejic E. Killer cell immunoglobulin-like receptor genes in four human West Nile virus infections reported 2011 in the Republic of Macedonia. Hum Immunol. 2013;74(3):389-94.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2012.11.015>
PMid:23220498
- Pavkovic M, Stojanovic A, Karanfili O, Cevreska L, Spiroski M. Association of polymorphisms in human platelet antigens with idiopathic thrombocytopenic purpura in Macedonians. Prilozi. 2012;33(1):135-46.
PMid:22952100
- Atanasovska-Stojanovska A, Trajkov D, Popovska M, Spiroski M. IL10 -1082, IL10 -819 and IL10 -592 polymorphisms are associated with chronic periodontitis in a Macedonian population. Hum Immunol. 2012;73(7):753-8.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2012.04.009>
PMid:22537751
- Stavric K, Peova S, Trajkov D, Spiroski M. Gene polymorphisms of 22 cytokines in Macedonian children with atopic dermatitis. Iran J Allergy Asthma Immunol. 2012;11(1):37-50.
PMid:22427475
- Atanasovska-Stojanovska A, Trajkov D, Nares S, Angelov N, Spiroski M. IL4 gene polymorphisms and their relation to periodontal disease in a Macedonian population. Hum Immunol. 2011;72(5):446-50.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.humimm.2011.02.005>
PMid:21354455
- Trajkov D, Trajchevska M, Arsov T, Petlichkovski A, Strezova A, Efinska-Mladenovska O, Sandevski A, Spiroski M. Association of 22 cytokine gene polymorphisms with tuberculosis in Macedonians. Indian J Tuberc. 2009;56(3):117-31.
PMid:20349753
- Spiroska V, Kedev S, Antov S, Trajkov D, Petlichkovski A, Hristomanova S, Djulejic E, Paneva M, Senev A, Spiroski M. Association between 22 cytokine gene polymorphisms and dilated cardiomyopathy in Macedonian patients. Kardiol Pol. 2009;67(11):1237-47.
PMid:20024851
- Spiroski I, Kedev S, Antov S, Trajkov D, Petlichkovski A, Dzhekova-Stojkova S, Kostovska S, Spiroski M. Investigation of SERPINE1 genetic polymorphism in Macedonian patients with occlusive artery disease and deep vein thrombosis. Kardiol Pol. 2009;67(10):1088-94.
PMid:20017074
- Trajkov D, Mishevska-Perchinkova S, Karadzova-Stojanoska A, Petlichkovski A, Strezova A, Spiroski M. Association of 22 cytokine gene polymorphisms with rheumatoid arthritis in population of ethnic Macedonians. Clin Rheumatol. 2009;28(11):1291-300.
<http://dx.doi.org/10.1007/s10067-009-1238-4>
PMid:19662331
- Trajkov D, Arsov T, Petlichkovski A, Strezova A, Efinska-Mladenovska O, Gogusev J, Spiroski M. Distribution of the 22 cytokine gene polymorphisms in healthy Macedonian population. Bratisl Lek Listy. 2009;110(11):7-17.
- Trajkov D, Mirkovska-Stojkovicik J, Petlichkovski A, Strezova A, Efinska-Mladenovska O, Sandevska E, Sibinovska O, Hristomanova S, Djulejic E, Petrov J, Gogusev J, Spiroski M. Association of cytokine gene polymorphisms with chronic obstructive pulmonary disease in Macedonians. Iran J Allergy Asthma Immunol. 2009;8(1):31-42.
PMid:19279357
- Spiroski I, Kedev S, Antov S, Arsov T, Krstevska M, Dzhekova-Stojkova S, Bosilkova G, Kostovska S, Trajkov D, Petlichkovski A, Strezova A, Efinska-Mladenovska O, Spiroski M. Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR-677 and MTHFR-1298) genotypes and haplotypes and plasma homocysteine levels in patients with occlusive artery disease and deep venous thrombosis. Acta Biochim Pol. 2008;55(3):587-94.
PMid:18800176
- Trajkov D, Mirkovska-Stojkovicik J, Arsov T, Petlichkovski A, Strezova A, Efinska-

- Mladenovska O, Sandevska E, Gogusev J, Spiroski M. Association of cytokine gene polymorphisms with bronchial asthma in Macedonians. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2008;7(3):143-56.
PMid:18780949
39. Spiroski I, Kedev S, Antov S, Arsov T, Krstevska M, Dzhekova-Stojkova S, Kostovska S, Trajkov D, Petlichkovski A, Strezova A, Efinska-Mladenovska O, Spiroski M. Association of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR-677 and MTHFR-1298) genetic polymorphisms with occlusive artery disease and deep venous thrombosis in Macedonians. *Croat Med J.* 2008;49(1):39-49.
<http://dx.doi.org/10.3325/cmj.2008.1.39>
PMid:18293456 PMCID:PMC2269242
40. Arsov T, Miladinova D, Spiroski M. Factor V Leiden is associated with higher risk of deep venous thrombosis of large blood vessels. *Croat Med J.* 2006;47(3):433-9.
PMid:16758522 PMCID:PMC2080416
41. Stefanovska AM, Efremov GD, Dimovski AJ, Jasar D, Zografski G, Josifovski T, Panovski M, Jankova R, Spiroski M. TbetaR-I(6A) polymorphism is not a tumor susceptibility allele in Macedonian colorectal cancer patients. Correspondence re: B. Pasche et al. Type I TbetaR-I(6A) Is a Candidate Tumor Susceptibility Allele. *Cancer Res.* 58: 2727-2732, 1998. *Cancer Res.* 2001;61(22):8351-2.
PMid:11719470
42. Petlichkovski A, Milenkovic Z, Djulejic E, Jefremovska B, Babacic H, Ivanovski LJ, Kondova Topuzovska I, Spasovska K, Spiroski M. Association of Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptor Genes with Pandemic Influenza A (H1N1)pdm09 Infection in Critically Ill Macedonian Patients. *Maced J Med Sci.* 2012; 5(3):288-295.
<http://dx.doi.org/10.3889/MJMS.1857-5773.2012.0265>
43. Petlichkovski A, Stojanoski Z, Cibrev D, Spiroski M. Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptor Genes Polymorphisms in Macedonian Patients with Haematological Malignancies. *Maced J Med Sci.* 2013; 6(1):24-30.
<http://dx.doi.org/10.3889/MJMS.1857-5773.2012.0271>
44. Djulejic E, Petlichkovski A, Trajkov D, Dimitrov G, Alabakovska S. KIR Gene Frequencies in Women with Infertility Problems. *SEE J Immunol.* 2015; 2015:20002.
<http://dx.doi.org/10.3889/seejim.2015.20002>
45. Hristomanova Mitkovska S, Trajkov D, Mihajlovik J, Spiroski M. Gene Polymorphisms of 22 Cytokines in Macedonian Children with Hyperimmunoglobulinemia E. *SEE J Immunol.* 2015; 2015:20001.
<http://dx.doi.org/10.3889/seejim.2015.20001>
46. Kirijas M, Mishevskva-Perchinkova S, Karadzova-Stojanoska A, Efinska-Mladenovska O, Petlichkovski A, Trajkov D, Spiroski M. Association between HLA-A, HLA-C and HLA-B Genes and Ankylosing Spondylitis in Macedonian Population. *Maced J Med Sci.* 2012; 5(3):263-268.
<http://dx.doi.org/10.3889/MJMS.1957-5773.2012.0255>
47. Jakjovski K, Labachevski N, Petlichkovski A, Senev A, Trojancanec J, Atanasovska E, Kostova E, Spiroski M. Distribution of CYP2C9 and VKORC1 Gene Polymorphisms in Healthy Macedonian Male Population. *Maced J Med Sci.* 2013;6(4):339-343.
<http://dx.doi.org/10.3889/MJMS.1857-5773.2013.0319>
48. Spiroski I, Kedev S, Efinska-Mladenovska O. Factor V Leiden (G1691A), Factor V R2 (A4070G), and Prothrombin (G20210A) Genetic Polymorphisms in Macedonian Patients with Occlusive Artery Disease and Deep Vein Thrombosis. *SEE J Cardiol.* 2015; 2015:30001.
<http://dx.doi.org/10.3889/seejca.2015.30001>
49. Efinska-Mladenovska O, Trajkov D, Petlichkovski A, Sibinovska O, Hristomanova Mitkovska S, Spiroski M. Immunonephelometry and Reverse Hybridization Genotyping in Diagnosis of Alpha-1-Antitrypsin Deficiency in Macedonians. *SEE J Immunol.* 2015; 2015:20004.
<http://dx.doi.org/10.3889/seejim.2015.20004>
50. Trajkovski V, Spiroski M. DNA typing of HLA-A, -C, -B, AND -DRB1 in the children with autism in the Republic of Macedonia. *Bratisl Lek Listy.* 2015;116(1):14-9.
<http://dx.doi.org/10.4149/bll.2015.003>
51. Petlichkovski A, Stojanoski Z, Djulejic E, Georgievski B, Spiroski M. Association of Killer Cell Immunoglobulin-Like Receptor Genes with the Graft versus Host Disease after Related Haematopoietic Stem Cell Transplantation in Patients with Haematological Malignancies from Republic of Macedonia. *Maced J Med Sci.* 2012; 5(4):404-410.
<http://dx.doi.org/10.3889/MJMS.1857-5773.2012.0270>
52. Spiroski M. Immunological and Immunogenetic Changes in Children with Autistic Disorder in Republic of Macedonia. *SEE J Immunol.* 2015; 2015:20003.
<http://dx.doi.org/10.3889/seejim.2015.20003>