REPUBLIKA E SHQIPËRISË

UNIVERSITETI I MJEKËSISË, TIRANË

FAKULTETI I MJEKËSISË

SHËRBIMI UNIVERSITAR I IMUNOLOGJISË DHE PAJTUESHMËRISË INDORE

RAPORT SHKENCOR (STUDIMI) I PROJEKTIT Nr._____

Polimorfizmi gjenetik i sistemit HLA në popullatën shqiptare dhe roli i markuesve imunologjikë dhe imunogjenetikë në realizimin e transplanteve dhe diagnozën e sëmundjeve autoimmune.

REKTORI I UNIVERSITETIT TË MJEKËSISË

Prof. Ali Refatllari

KOORDINATORI I PROJEKTIT

Prof. Genc Sulcebe

Tiranë, Prill, 2014

Përmbajtja e Lëndës: **Faqe**

1. Hyrja..... 5

1.1. Programi Kombëtar i Kërkimit dhe Zhvillimit që i referohet projekti…… 5

1.2. Objektivat dhe rezultatet kryesore të arritura..... 7

1.3. Të dhëna për organin financues dhe financimi nga buxheti i shtetit dhe burimet e tjera....8

1.4. Organizmat shkencorë bashkëpunëtorë të vendit dhe të huaja.....8

1.5. Personeli shkencor i projektit……8

1.6. Botimet dhe referimet shkencore të realizuara në kuadrin e projektit.....9

1.7. Përfituesit nga projekti.....11

2. Rezultatet shkencore të projektit.....12

2.1. Të dhëna të përgjithshme për tematikën e projektit 12

2.2. Impakti i Projektit.....14

2.3. Materialet dhe metodat……16

2.4. Rezultatet në popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë…….....….19

2.5. Krahasimi i popullatave nëpërmjet shpeshtësive të aleleve HLA…….....……..26

2.6. Studimi HLA tek pacientët me indikacion për transplant të palcës kockore.....33

2.7. Studimi i pacientëve me artrit reumatoid për frekuencat alelike DRB1/DQB1……34

2.8. Korelacionet e aleleve HLA me prevalencën e AR në popullatat europiane…….....35

3. Përfundime.....40

4. Rekomandime……...42

5. Literatura ndërkombëtare dhe e grupit studiues mbi tematikat e projektit.....44

6. Aneksi 2. Situacioni përfundimtar i shpenzimeve të projektit…….....…….....50

7. Aneksi 3. Skeda informatike.....52

8. Permbledhje e punimit.....53

Lista e shkurtimeve të termave të përdorura

- PKKZH - Programi Kombëtar për Kërkim e Zhvillim
- IRK - Insuficienca renale kronike
- TQBH - Transplanti i qelizave bazë hematopoietike
- QBH - Qelizat bazë hematopoietike
- FT - Flakja e transplantit
- HLA (Human leukocyte antigen)
- XMT - Cross-match testing
- AKTI - Agjensia Kombëtare për Kërkimet, Teknologjinë dhe Inovacionin
- SHUIPI - Shërbimi Universitar i Imunologjisë dhe Pajtueshmërisë Indore
- ACPA - Antitrupat anti-peptidë ciklikë të citrulinuar
- PCR - Polimerase chain reaction
- SSP - Sequence specific priming
- SSO - Sequence specific oligonucleotides
- FR - Faktori reumatoid
- AR - Artriti reumatoid

Lista e Figurave dhe ilustrimeve

Figura 1. Organizimi i geneve HLA në kromozomin 6.

Figura 2. Nomenklatura e geneve HLA.

Figura 3. Principi i metodës SSP.

Figura 4. Principi i metodës SSO.

Figura 5. Shpërndarja e individëve të përzgjedhur si popullatë normale shqiptare nga Shqipëria dhe Kosova.

Figura 6. Shpërndarja e shpeshtësive të aleleve HLA-A në popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë.

Figura 7. Shpërndarja e shpeshtësive të aleleve HLA-B në popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë.

Figura 8. Shpërndarja e shpeshtësive të aleleve HLA-C në popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë.

Figura 9. Shpërndarja e shpeshtësive të aleleve HLA-DRB1 në popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë.

Figura 10. Shpërndarja e shpeshtësive të aleleve HLA-DQB1 në popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë.

Figura 11. Shpërndarja e shpeshtësive të haplotipeve HLA-A-B-C-DRB1-DQB1 në popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë.

Figura 12. Paraqitja grafike e distancave gjenetike të popullatave të studiuara nga popullatat shqiptare.

Figura 13. Pema filogjenetike e popujve të Ballkanit dhe të Europës Juglindore, e hartuar duke u bazuar në distancat gjenetike midis tyre.

Figura 14. Paraqitje grafike bidimensionale e distancave gjenetike midis 15 popullatave të Europës qëndrore dhe juglindore, të llogaritura duke u nisur nga frekuencat e gjeneve HLA në këto popullata (unrooted Neighbor-Joining program).

Figura 15. Paraqitja grafike e korelacionit midis shpeshtësisë së hasjes së aleleve DRB1*04 dhe DRB1*11 në 19 popullatat europiane të studiuara.

1. Hyrje

1.1. Programi Kombëtar i Kërkimit dhe Zhvillimit dhe problemet e këtij programi të cilëve u referohet projekti.

Ky projekt është propozuar si pjesë e Programit Kombëtar për Kërkim e Zhvillim (PKKZH). Emërtimi i Programit Kombëtar të cilit i referohet është "Shëndeti" dhe objektivat e Programit të cilëve u referohet Projekti janë "Sëmundjet kronike me rëndësi të veçantë".

Sëmundjet kronike, invalidizuese dhe ato tumorale të cilëve u referohet ky projekt përbëjnë një problem të madh shëndetsor në ditët e sotme. Rritja e konsiderueshme e jetëgjatësisë të popullatës ka bërë që në problematikën shëndetsore të dalin tashmë në rradhë të parë jo më sëmundjet infektive si disa dhjetëvjeçarë më parë, por sëmundjet kronike dhe tumorale që përbëjnë sot problemin kryesor shëndetësor me të cilin haset shoqëria bashkëkohore.

Insuficienca renale kronike (IRK), prek sot pothuajse 1 në 10 individë, pasi kjo patollogji është pasojë e shumë sëmundjeve kronike që prekin veshkat në stadin final të tyre. Këtu përmendim diabetin e tipit të dytë, sëmundjet e zemrës dhe të qarkullimit të gjakut, ato autoimune, tumorale, metabolike etj.

Trajtimi i IRK me hemodializë është i pamjaftueshëm dhe me një kosto të lartë ekonomike. Transplanti i veshkës është një zgjidhje e IRK që përmirëson në mënyrë të konsiderueshme cilësinë e jetës së individëve me IRK dhe njëkohësisht ul në mënyrë mjaft konsistente koston e trajtimit me dializë të këtyre individëve.

Nga ana tjetër, shumë sëmundje hematologjike, akute apo kronike si leukozat dhe limfomat që deri dje konsideroheshin sëmundje fatale për jetën, sot kanë një shans të konsiderueshëm trajtimi dhe shërimi, falë mundësive që paraqet transplanti i qelizave bazë hematopoietike (TQBH). Po kështu, TQBH jep mundësi të konsiderueshme trajtimi dhe për mjaft sëmundje me natyrë gjenetike.

Pra, për këto arsye, transplantet alogjenike, qoftë të organeve, apo të qelizave bazë hematopoietike (QBH), përbëjnë sot një terapi jetë-shpëtuese për shumë sëmundje fatale për jetën dhe ky lloj mjekimi paraqet mjaft perspektivë. Por realizimi me sukses i transplanteve, qoftë i organeve apo i QBH, kërkon parandalimin e reaksionit natyral me natyrë imunologjike ndaj çdo transplanti, që është flakja e transplantit (FT). Parandalimi i FT kërkon në radhë të parë përcaktimin e pajtueshmërisë indore midis dhuruesit të transplantit dhe marrësit të tij. Kjo pajtueshmëri realizohet në radhë të parë nëpërmjet përcaktimit të kompleksit gjenik HLA (Human leukocyte antigen) te dhuruesi dhe marrësi si dhe me anë të provave të pajtueshmërisë së kryqëzuar (cross-match testing (XMT)).

Metodologjia që përdoret sot për përcaktimin e aleleve të sistemit HLA është kryesisht biologjia molekulare. Por, realizimi i përcaktimit të aleleve HLA tek dhuruesit dhe marrësit e transplanteve kërkon në radhë të parë përcaktimin e frekuencës së hasjes së këtyre gjeneve multialelike në popullatën normale. Genet e sistemit HLA janë ndër ata me polimorfizëm alelik më të lartë në genomen humane. Kjo i bën

genet e këtij sistemi një mjet shumë të dobishëm për të studiuar polimorfizmin e popullatave njerëzore si dhe rrugët historike të migrimit të tyre. Rjedhimisht përcaktimi i polimorfizmit alelik të geneve të këtij sistemi merr një rëndësi të veçantë edhe në antropologji për të përcaktuar origjinën e popullatave dhe distancat gjenetike midis tyre.

Për këto arsye, në këtë projekt, ne patëm si objektiv tipizimin e sistemit HLA në popullatën shqiptare duke patur si qëllim kryesor aplikimin e këtij tipizimi në kryerjen e transplanteve në vendin tonë, si dhe krahasimin e distancave gjenetike midis popullatave shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë me popullatat e tjera europiane.

Ky projekt, i aprovuar nga AKTI (Agjensia Kombëtare për Kërkimet, Teknollogjinë dhe Inovacionin) për t'u realizuar për periudhën 2010-2013, është projekti i parë dhe i vetëm kërkimor i miratuar në këtë fushë në vendin tonë. Ai nuk përsërit asnjë projekt tjetër të zhvilluar më parë dhe nuk shfrytëzon si output-e rezultatet e ndonjë projekti kërkimor të kryer më parë, të financuar nga PKKZH ose nga fonde/burime të tjera financimi nga qeveria, institucione ose projekte/programe të huaja.

Rezultatet e deritanishme të këtij projekti kanë nxjerrë në dritë konkluzione të rëndësishme dhe origjinale që kanë impakt direkt në konfirmimin me të dhëna gjenetike të autoktonisë së lashtë të popullit shqiptar në viset ku ai jeton si dhe raportet e afërsisë gjenetike të tij me popujt e tjerë të Ballkanit dhe të Europës.

Shërbimi Universitar i Imunologjisë dhe Pajtueshmërisë Indore (SHUIPI) në Fakultetin e Mjeksisë, Universiteti i Mjekësisë, Tiranë, Qendra Spitalore Universitare "Nënë Tereza", ka një eksperiencë afat-gjatë në fushën e Imunogjenetikës dhe Pajtueshmërisë Indore. Duke filluar që nga viti 2005 ky Shërbim ka nisur tipizimin e plotë të sistemit HLA me metodat e serologjisë dhe biologjisë molekulare me qëllim përcaktimin e pajtueshmërisë indore për realizimin e transplantit të veshkave.

Shërbimi i Imunologjisë i QSUT është qendra e vetme në Shqipëri me aktivitet në këto fusha. Në këtë drejtim në këtë Sherbim është grumbulluar një eksperiencë tashmë e rëndësishme dhe janë të disponueshme pajisjet dhe aparaturat e nevojshme për metodat serologjike, qelizore (me anë të citometrisë me fluks) si dhe të biologjisë molekulare me qëllim tipizimin HLA.

Duke patur si qëllim studimin e shpërndarjes normale të aleleve të sistemit HLA në popullatën shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë, Shërbimi i Imunologjise dhe Pajtueshmërisë Indore studioi këtë sistem me ane të biologjisë molekulare në popullatën shqiptare normale në Shqipëri dhe Kosovë si dhe aplikoi këtë studim dhe në të semuret që kanë nevoje për transplant të veshkave apo të qelizave baze hematopoietike.

Rezultatet e këtij studimi janë publikuar në revista të njohura shkencore në këtë fushë si dhe janë referuar në një sërë kongrese dhe konferenca ndërkombëtare.

1.2. Objektivat dhe rezultatet kryesore të arritura

Objektivi 1:

Përcaktimi i shpështësisë së hasjes së aleleve të ndryshme të sistemit HLA në popullatën shqiptare të Shqipërisë dhe popullatën shqiptare të Kosovës nëpërmjet genotipizimit të sistemit HLA në një numër sinjifikativ individësh të shëndoshë, përfaqësues të kësaj popullate.

Rezultati 1: Aplikimi i metodave të biologjisë molekulare me PCR-SSO dhe PCR-SSP në përcaktimin e genotipit HLA në lokuset HLA*-A, HLA*-B, HLA*-C, HLA-DRB1*, HLA-DQB1*.

Rezultati 2: Përcaktimi i shpështësisë në përqindje të aleleve dhe haplotipeve HLA në një grup studimi përfaqësues të popullatës shqiptare normale.

Objektivi 2:

Krahasimi i të dhënave të përftuara si shënjues antropollogjikë të rëndësishëm, me ato të popullatave të tjera normale të regjionit dhe të Europës si dhe me sëmundjet autoimune të lidhura me sistemin HLA.

Rezultati 1: Krahasimi i shpështësisë se aleleve HLA në popullatën shqiptare me popullatat fqinje të rajonit si dhe me ato europiane dhe boterore nëpërmjet programeve kompjuterike bashkekohore dhe modeleve studimore perkatese.

Rezultati 2: Krahasimi i shpështësisë së aleleve HLA-DRB1 dhe HLA-DQB1 në popullatën normale me shpështësinë e këtyre aleleve në grupin e pacientëve me Artrit reumatoid.

Objektivi 3:

Studimi i vlerës diagnostike të markuesve imunologjikë të rinj krahasuar me vlerën diagnostike të atyre të deritanishëm në përdorim, si edhe studimi i korelacionit midis rezultateteve të markuesve imunologjikë si dhe aleleve HLA të përcaktuar në Artritin rheumatoid. Njohja e aleleve HLA protektorë (mbrojtës) për këtë sëmundje autoimune.

Rezultati 1: Aplikimi në praktikën diagnostike i markuesve imunologjikë të rinj si antitrupat anti-peptide ciklike të citrulinuar (ACPA) me sensitivitet dhe specificitet të lartë për atritin reumatoid.

Rezultati 2: Përcaktimi i aleleve HLA predispozues, korelacioni me markuesit imunologjikë në sëmundjet autoimune për popullatën shqiptare dhe krahasimi me popullatat e tjera në Europë.

1.3. Të dhëna për organin financues dhe financimi nga buxheti i shtetit dhe burimet e tjera.

Ky studim është financuar ekskluzivisht nga "Agjensia Kombëtare e Teknologjisë dhe Inovacionit (AKTI)". *Emërtimi dhe adresa e institucionit që administron Programin Kombëtar për Kërkim e Zhvillim*: AGJENCIA E KËRKIMIT, TEKNOLOGJISË DHE INOVACIONIT (AKTI), Rr. Abdi Toptani Nr. 4, AL - 1001, Tiranë, Tel.: 00 355 4 2 222 409; E-mail: www.akti.gov.al.

Projekti u realizua në periudhën : Tetor 2010 – Dhjetor 2013.

1.4. Organizmat shkencorë bashkëpunëtorë të vendit dhe të huaja

Institucionet që kanë bashkëpunuar në këtë studim: QSUT "Nënë Tereza", Tiranë dhe Departamenti i Sëmundjeve të Brendshme me Shërbimin e Hematologjisë, Shërbimin e Nefrologjisë, Shërbimin e Reumatologjisë, Qendra e dhurimit të gjakut.
Ky studim u bë i mundur falë kontributit edhe të disa bashkëpunëtorëve të tjerë shqiptarë dhe të huaj. Falenderojmë të gjithë studentet e fakultetit të Mjekësisë që në mënyrë vullnetare kontribuan si dhurues vullnetarë gjaku për tipizimin HLA të tyre. Në mënyrë të veçantë falenderojmë Kimiste Valentina Kardhashi dhe Dr. Bukurije Zhubin që kontribuan në marrjen e kampioneve të gjakut nga dhuruesit shqiptarë dhe kosovarë, respektivisht nga Qëndra e Dhurimit të Gjakut në QSU Tiranë dhe Prishtinë. Prof. Alicia Sanchez-Mazas, Departamenti i Antropologjisë dhe Historisë së Popullatave, Universiteti i Gjenevës si dhe Prof. Jean-Marie Tiercy, Laboratori i Histokompatibilitetit të Universitetit të Gjenevës dha këshilla të vlefshme për interpretimin e rezultateve të studimit në kuadrin e programit COST të B.E. ku është pjesëmarrës dhe laboratori ynë (BMBS COST Action BM0803: A European network of the HLA diversity for histocompatibility, clinical transplantation, epidemiology and population genetics (HLA-NET)). Prof. Joe Felstenstein i Universitetit Washington, USA, dha këshilla shumë të vlefshme (on line) për përdorimin e programit Phylip të krijuar prej tij.

1.5. Personeli shkencor i projektit

Drejtuesi i Grupit Kërkimor: Genc Sulcebe, Shef Shërbimi i Shërbimit Universitar të Laboratorit të Imunollogjisë dhe Pajtueshmërisë indore (SHUIPI).
Pjesëtarët e tjerë të grupit kërkimor:

Prof. Asoc. Zamira Ylli, pedagoge Fakulteti të Mjeksisë, SHUIPI.

Margarita Prifti-Kurti, Mjeke specialiste në SHUIPI, QSUT, Tiranë, Doktoraturë Viti i fundit.

Erkena Shyti, Biologe në SHUIPI, Doktoraturë Viti i fundit.

Dr. Arjana Strakosha, Mjeke Nefrologe, Shërbimi i Nefrologjisë, Dializës dhe Transplantit, QSUT, Tiranë, Doktoraturë e përfunduar në fund të këtij projekti.

Valentina Semanaj, Biologe në SHUIPI, Doktoraturë Viti i fundit.

Jonila Pasholli, Teknike laboratori në SHUIPI, sektori i transplanteve.

1.6. Botimet në revista shkencore dhe referimet në aktivitetet shkencore të realizuara në kuadrin e projektit.

Artikuj në revista shkencore

1. 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 May;83(5):307-23. doi: 10.1111/tan.12356.
2. Shyti E, Idrizi A , Sulcebe G. Histocompatibility testing for organ transplantation purposes in Albania: A single center experience. Balkan Medical Journal (Prill 2014, accepted for publication).
3. Prifti-Kurti M, Nunes JM, Shyti E, Ylli Z, Sanchez-Mazas A, Sulcebe G. HLA-DRB1 and HLA-DQB1 allele associations in an Albanian patient population with rheumatoid arthritis: correlations with the specific autoantibody markers and inter-population DRB1 allele frequency variability. Rheumatol Int. 2014 Jan 1. [Epub ahead of print]
4. Riccio, M. E., S. Buhler, J. M. Nunes, C. Vangenot, M. Cuénod, M. Currat, D. Di, G. Sulcebe et al. "16th IHIW: Analysis of HLA Population Data, with updated results for 1996 to 2012 workshop data (AHPD project report)." Int J Immunogenet. 2013 Feb;40(1):21-30. doi: 10.1111/iji.12033. Epub 2012 Dec 22.
5. Sulcebe G, M. Cuenod, A. Sanchez-Mazas, J-M. Tiercy, B. Zhubi, E. Shyti, and V. Kardhashi. "Human leukocyte antigen-A,-B,-C,-DRB1 and-DQB1 allele and haplotype frequencies in an Albanian population from Kosovo. Int J Immunogenet. 2013 Apr;40(2):104-7. doi: 10.1111/j.1744-313X.2012.01136.x. Epub 2012 Jun 22.
6. Sanchez-Mazas, Alicia, B. Vidan-Jeras, J. M. Nunes, G. Fischer, A-M. Little, U. Bekmane, Stéphane Buhler, G. Sulcebe et al. "Strategies to work with HLA data in human populations for histocompatibility, clinical transplantation, epidemiology and population genetics: HLA-NET methodological recommendations. Int J Immunogenet. 2012 Dec;39(6):459-72; quiz 473-6. doi: 10.1111/j.1744-313X.2012.01113.x. Epub 2012 Apr 26.
7. Nunes M, Riccio E, Sulcebe G et al. 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, 18–30.

Referime në konferenca ndërkombëtare:

1. E. Shyti , A. Strakosha, A. Idrizi, G. Sulcebe. Histocompatibility testing for transplantation purposes in Albania. 24th European immunogenetics and Histocompatibility Conference, 15-18 May 2010, Florence, Italy.
2. Kurti–Pifti M, Ylli Z. Sulcebe G. The frequency and pattern expression profile of antinuclear antibodies in an unselected clinical practice patient population. 18th Meeting of the Balkan Clinical Laboratory Federation, Tirana 22-25 September 2010.
3. E. Shyti, A. Strakosha, A. Idrizi, G. Sulcebe. HLA Typing and donor-recipient crossmatch testing in living donor kidney transplantation. 18th Meeting of the Balkan Clinical Laboratory Federation, Tirana 22-25 September 2010.
4. Sulcebe G, Zhubi B, Shyti E, Pasholli J, Kardhashi V. HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1 allele groups and haplotype frequencies in the Kosovo Albanian population and their comparison with the other populations. 25th European Immunogenetics and Histocompatibility Conference, Prague, Czech Republic, May 4-7, 2011.
5. M. Kurti, Z. Ylli, G. Sulcebe. The prevalence of heumatoid factor, cyclic citrullinated peptide and antinuclear antibodies in albanian patients with rheumatoid arthritis. 20th Meeting of Balkan Clinical Laboratory Federation, 18-22 October 2012.
6. Margarita Prifti-Kurti, Jose M. Nunes, E. Shyti, Z. Ylli, Jonila Pasholli, Alicia Sanchez-Mazas, G. Sulcebe. HLA-DRB1* and -DQB1* associations in an Albanian Population with Rheumatoid Arthritis. Tissue Antigens, 81(5), 383-4, Abstract, 27st European Immunogenetics and Histocompatibility Conference, 11-14 May, 2013, Maastricht, The Netherlands.
7. Alicia Sanchez-Mazas, Jose M. Nunes. G. Sulcebe et al. HLA-NET: A real example of "Networking in Immunogenetics". Tissue Antigens, 81(5), 300-1, Abstract, 27st European Immunogenetics and Histocompatibility Conference, 11-14 May, 2013, Maastricht, The Netherlands.
8. G. Sulcebe. HLA genotypic relationships in the Balkan populations: Implications in the transplantation field. Annual EFI Region 8 EPT meeting, 29 – 30 November, 2013, Belgrade, Serbia.
9. G Sulcebe. Why (and how) to write scientific articles for Biomedical Journals. First Conference on Scientific writing and editing in Biomedicine. Skopje, Macedonia, 14 december 2013.

Referime në konferenca kombëtare:

1. G. Sulcebe. "Roli i polimorfizmit të sistemit madhor të përgjigjes immune HLA në realizimin e transplanteve si dhe në studimin e lidhjeve gjenetike midis popullatave". Konferenca e I Kombëtare e Shërbimit të Imunologjisë së QSUT "Nënë Tereza", Tiranë, 18 Nëntor 2011.
2. Z. Ylli, G. Sulcebe. "Autoantirupat në sëmundjet autoimmune organ-specifike". Konferenca e I Kombëtare e Shërbimit të Imunologjisë së QSUT "Nënë Tereza", Tiranë, 18 Nëntor 2011.

3. E. Shyti, J. Pasholli, G. Sulcebe. “Ekzaminimet imunologjikë në transplantet e veshkave”. Konferenca e I Kombëtare e Shërbimit të Imunologjisë së QSUT “Nënë Tereza”, Tiranë, 18 Nëntor 2011.
4. M. Kurti-Prifti, Z. Ylli, G. Sulcebe. Diagnostika imunologjike në sëmundjet autoimune sistemike. Konferenca I Kombëtare e Shërbimit të Imunologjisë së QSUT “Nënë Tereza”, Tiranë, 18 Nëntor 2011.

1.7. Përfituesit nga projekti:

1. Shërbimi i Imunologjisë dhe Tipizimit Indor, Nefrologjisë, Hematologjisë, Reumatologjisë si dhe i të gjithë Shërbimeve Klinike në Fakultetin e Mjeksisë dhe QSUT “Nënë Tereza”.
2. Ky projekt ka mundësuar realizimin e aktiviteteve kërkimore në nivel doktorature në këtë Shërbim, duke shërbyer si bazë e rëndësishme shkencore për studentët e ciklit të tretë si në doktoraturë ashtu dhe në specializimet afat-gjata në Mjekësi. Në projekt kanë marrë pjesë 4 studente të Doktoraturave në Programet e Fakultetit të Mjeksisë si dhe të Fakultetit të Shkencave të Natyrës të cilat me anë të këtij studimi kanë mundësuar realizimin e temave të tyre të Doktoraturës dhe zhvillimin shkencor në këtë fushë në këto Fakultete.
3. Nga ky studim do të përfitojnë gjithashtu direkt të sëmurët që kanë nevojë për transplante të organeve apo të palcës kockore si dhe ata me sëmundje autoimune.
4. Ne të njëjtën kohë, rritja e nivelit kërkimor-shkencor të Shërbimit Laboratorik të Imunologjisë dhe Tipizimit Indor kontribuon direkt në rritjen e bashkëpunimit shkencor rajonal dhe sidomos me trojet shqiptare.
5. Do të përfitojnë gjithashtu Institutet shkencore dhe grupet kërkimore që merren me studime antropollogjike dhe albanologjike si dhe me origjinën e popullit shqiptar në Shqipëri dhe Kosovë.
6. Te gjithë Shërbimet Klinike në vendin tonë si dhe të sëmurët që kanë nevojë për tipizimin HLA me qëllim diagnozën dhe prognozën e mjaft sëmundjeve të lidhura me këtë sistem.

2. Rezultatet shkencore të projektit

2.1.Të dhëna të përgjithshme për tematikën e projektit

Sistemi HLA (Human Leukocyte Antigen) është një nga sistemet gjenetike me të rëndësishëm tek njeriu. Ai është një kompleks gjenesh që ndodhen në *krahun e shkurtër të kromozomit të gjashtë* 6p21.31 tek njeriu. Funksioni i këtij kompleksi është kodimi për molekula membranore që ndodhen në sipërfaqen e të gjitha qelizave me bërthamë të trupit dhe që janë shumë të rëndësishme për njohjen dhe diferencimin e "vetes" nga e "huaja" si dhe ruajtjen e organizmit nga vetëdëmtimi. Ky sistem komandon funksionet imunollogjike të organizmit duke përcaktuar shumëllojshmërinë e përgjigjes imunitare të çdo individi ndaj agresioneve të jashtëm, kryesisht atyre infeksioze.

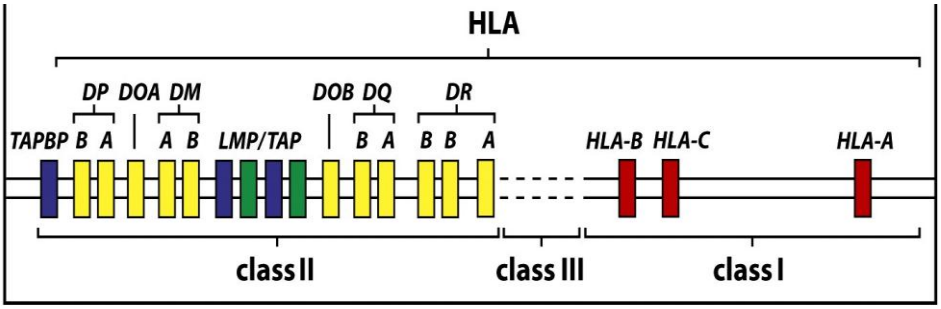
Karakteristika kryesore e sistemit HLA është polimorfizmi genik dhe ai alelik që përcaktojnë variabilitetin e përgjigjes imunitare brenda species humane dhe garantojnë kështu mbijetesën e species. Përveç përgjigjes imunitare, sistemi HLA përcakton dhe flakjen apo pranimin e transplanteve të indeve apo organeve. Përcaktimi i geneve dhe antigenëve HLA te marrësi i një transplanti si dhe te dhuruesi janë një proçedurë e domosdoshme laboratorike për kryrjen e transplanteve të organeve si dhe të palcës kockore. Përcaktimi i këtyre geneve, veçanërisht i varianteve alelike të ndryshme të tyre në individë të një popullatë të caktuar është i rëndësishëm dhe për kërkimin e lidhjeve të shumta që ekzistojnë midis geneve HLA dhe predispozitës për sëmundje të ndryshme, kryesisht atyre autoimune.

Genet e sistemit HLA kanë polimorfizmin alelik më të shprehur në genomën humane. Shpeshtësia e shprehjes së këtyre aleleve ndryshon nga popullata në popullatë dhe në këtë mënyrë ky sistem është një markues gjenetik dhe antropollogjik i rëndësishëm dhe shumë i përdorur për studimin e distancave gjenetike midis popullatave të ndryshme.

Deri vonë, përcaktimi i aleleve të sistemit HLA është realizuar me metoda serologjike me anë të antitrupave anti-HLA. Futja në përdorim të gjerë të metodave të biologjisë molekulare edhe në sistemin HLA e ka rritur mjaft saktësinë dhe specificitetin e studimit të këtij sistemi duke përcaktuar direkt variantet alelike në genomë. Metodat që përdoren për këtë qëllim në Shërbimin tonë janë amplifikimi i geneve HLA me anë të metodës PCR (polimerase chain reaction) dhe përcaktimi i aleleve me anë të metodave PCR-SSP (sequence specific priming) dhe PCR-SSO (sequence specific oligonucleotides).

Bazuar në strukturën dhe funksionin e tyre, përshkruhen tre klasa të antigenëve HLA, përkatësisht klasa e parë, e dytë dhe e tretë. Proteinat sipërfaqsore të qelizave HLA-A, -B, -C janë quajtur antigjene të klasës se parë të HLA. Këta antigenë gjënden në të gjitha qelizat me bërthamë të trupit. Proteinat sipërfaqsore të qelizave HLA-DR, -DQ, -DP janë quajtur antigenë të klasës së dytë të HLA. Këta antigenë gjenden vetëm në limfocitet B, në makrofagë, monocitet, qelizat dendritike, qelizat endoteliale dhe në limfocitet T të aktivizuara.

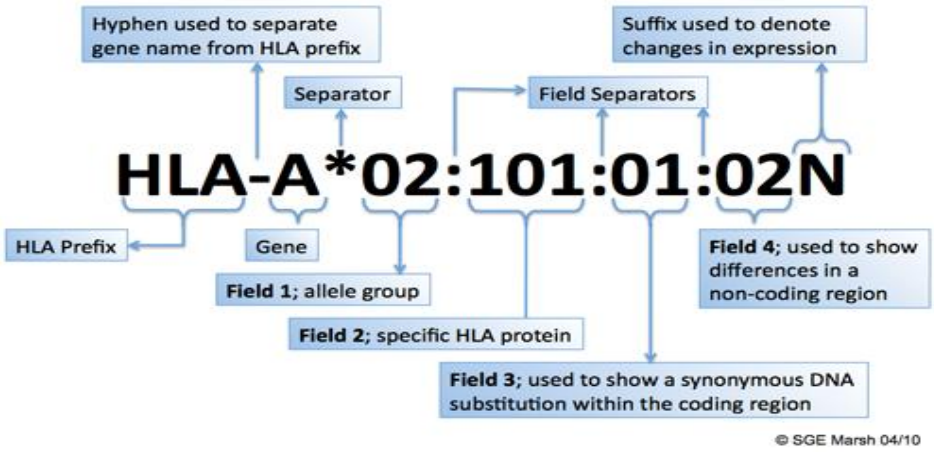
Figura 1. Organizimi i geneve HLA në kromozomin 6



Nomenklatura HLA

Dy sisteme janë aplikuar për njohjen dhe vlerësimin e HLA. Sistemi i parë është i bazuar në vlerësimin serologjik në të cilin antigjenet shënohen me shkronja dhe numra (p.sh. HLA-B 51). Nomenklatura e re e bazuar në përdorimin e metodave të biologjisë molekulare fillon me HLA- dhe emrin e lokusit, pastaj * dhe më pas numri me disa shifra për të specifikuar alelin. Dy shifrat e para specifikojnë grupin e aleleve. Shifra e tretë dhe e katërt specifikon alelin (p.sh.HLA-A*02:01). Shifra e pestë dhe e gjashtë diferencon mutacionet (zëvendësim i një aminoacidi) brenda regjionit kodues. Dy shifrat e fundit specifikojnë mutacionet jashtë regjionit kodues të gjenit. Shkronjat si L, S, Q, apo N përcaktojnë nivelin e shprehjes së genit në molekulë.

Figura 2. Nomenklatura e geneve HLA.



2.2. Impakti i Projektit

Genotipizimi i sistemit HLA në popullatën shqiptare ka impakt të shumëfishtë qoftë me karakter teorik dhe shkencor të mirëfilltë ashtu dhe me karakter teknollogjik, praktik dhe përmirësues i shëndetit dhe rritjes së jetëgjatësisë nëpërmjet transplantit në shumë sëmundje fatale për jetën.

Realizimi i këtij projekti ka bërë të mundur që edhe popullata shqiptare të mund të krahasohet në mënyrë të hollësishme me popullatat e tjera europiane dhe botërore nga pikpamja e frekuencës së aleleve dhe haplotipeve HLA si dhe të llogariten distancat gjenetike përkatëse duke hedhur një dritë të re dhe të detajuar shkencore në pikpamjet e formimit dhe të origjinës së popullatës shqiptare.
Realizimi i këtij studimi me metodat më aktuale të biologjisë molekulare në Laboratorin e Shërbimit të Imunologjisë të Fakultetit të Mjeksisë dhe QSUT "Nënë Tereza" do të ndihmojë që metodat e biologjisë molekulare në këtë fushë të futen në mënyrë rutinë në bagazhin teknollogjik të laboratoreve tona. Duke e realizuar këtë studim me metodat më bashkëkohore në e bëjmë atë lehtësisht të krahasueshëm me studime të ngjashme në popullatat e tjera.
Nga ana tjetër, përcaktimi i saktë i frekuencave të hasjes së aleleve HLA në popullatën shqiptare bën të mundur të studiohet me saktësi dhe në kushtet konkrete të vendit tonë lidhja gjenetike që ekziston midis sëmundjeve të ndryshme dhe aleleve dhe haplotipeve HLA të veçanta. Kjo bashkëlidhje, në masa të ndryshme, ekziston në me tepër se 100 sëmundje dhe përcaktimi i saktë i saj ndihmon në diagnostikimin e mjaft patollogjive, kryesisht me natyrë autoimune dhe që janë të lidhura me sistemin HLA, po ashtu dhe në parandalimin e tyre në ata individe që kanë këto alele dhe haplotipe.
Genotipizimi i popullatës shqiptare në sistemin HLA ndihmon edhe në realizimin e transplanteve si të organeve ashtu dhe të palcës kockore duke lehtësuar kërkimin e dhuruesve në këtë drejtim.
Realizimi i një regjistri kombëtar të dhuruesve të palcës kockore është një detyrë tjetër e rëndësishme që kalon pa dyshim nëpërmjet genotipizimit HLA të popullatës dhe realizimi i tij është mjaft i rëndësishëm për kryerjen e transplantit të palcës kockore që është një akt jete-shpëtues për mjaft sëmundje kryesisht të gjakut.
Verifikimi i lidhjes së markuesve imunologjikë me alelet HLA është një kombinim i vlefshëm që do të ndihmojë në diagnozën me të saktë të sëmundjeve autoimune, në vlerësimin e progresit të sëmundjeve autoimune si dhe do të japë kontribut origjinal në shkencën botërore në këtë fushë.

Roli i HLA në transplantin e qelizave hemapoietike

Transplanti alogjenik i qelizave bazë hematopoietike është terapia finale për një numër të madh të pacientëve me patologji malinje. Pajtueshmëria e antigeneve HLA për të gjashtë lokuset HLA-A,-B,-C,-DRB1,-DQB1,-DPB1,ka rëndësi mjaft të madhe në suksesin e transplantit të QBH. Zhvillimet e fundit në fushën e imunogjenetikës, rritja e numrit të dhuruesve vullnetarë si dhe aplikimi i metodave

me bashkëkohore të biologjisë molekulare lejon përcaktimin me rezolucion të larte të antigeneve HLA duke kontribuar në reduktimin e rrezikut të flakjes së organit të transplantuar nga GVHD ose HVGD. Por vetëm 25-30% të pacientëve që kanë nevoje për transplant, mund të kenë dhurues, vëllezër apo motra, HLA identikë. Transplanti me dhurues HLA haploidentike po konsiderohet si një mundësi alternative për shumicen e këtyre pacientëve që kanë një dhurues të përshtatshëm brenda rrethit familiar.

Rritja e numrit të dhuruesve vullnetarë në regjistrat kombëtarë dhe zgjerimi i bankave të ruajtjes së kordonit umbilikal në mbarë botën krijon mundësinë që shumë pacientë që nuk kanë mundësi të kenë dhurues familiarë HLA identikë, të kenë një shans për të shpëtuar jetën nëpërmjet transplantit jashtë rrethit familiar.

Roli i HLA në artritin reumatoid

Artriti rheumatoid (AR) është një sëmundje autoimmune që nga studimet e shumta rezulton të këtë një prevalencë 0.5-1% të popullatës. Kjo prevalencë ndryshon në popullata të ndryshme. Dy janë shkaqet kryesore: ndikimi i faktorëve ambientalë të jashtëm të lidhur me zonën gjeografike në të cilën jeton popullata si dhe polimorfizmi i geneve HLA tek këto popullata. Gjenet e klasës së dytë HLA-DRB1 dhe DQB1 janë shkaktare te të paktën 1/3 e predispozitës gjenetike tek individët me AR, dhe ky asocim është një objekt shumë i rëndësishëm studimi për patogjenezën dhe veçanërisht për prodhimin e autoantitrupave.

Autoantitrupat specifikë si faktori reumatoid (FR) dhe antitrupat anti-citrullinated peptide (ACPA) janë marker-ë të rëndësishëm për diagnozën e AR. Ato mund të jenë prezentë shumë vite para se të shfaqet sëmundja.

Faktori reumatoid, që është autoantitrupi klasik në AR, nuk është shumë specifik për këtë sëmundje pasi mund të jetë i pranishëm edhe në shumë sëmundje të tjera autoimune, sëmundje me natyrë tjetër, ashtu si edhe në individë normale. Ndersa ACPA ka treguar një specifitet të lartë për këtë sëmundje duke luajtur një rol të rëndësishëm në patogjenezën e AR.

Studimet e fundit kanë treguar një asocim të fortë midis pozitivitetit të ACPA dhe prezencës së disa aleleve të klasës së dytë të HLA. Për shkak të polimorfizmit gjenetik të sistemit HLA, me variabilitetin e tij të njohur në popullata të ndryshme, është me interes studimi i asocimit të sëmundjeve autoimune dhe pranisë së autoantitrupave specifikë të tyre me polimorfizmin alelik HLA në këto popullata specifike. Për këtë arsye ne studiuam shpërndarjen e aleleve të klasës së dytë HLA-DRB1 dhe -DQB1 në një grup prej 100 pacientë me AR. Duke marrë parasysh nëngrupet me antitrupa specifike për këta pacientë, u bë krahasimi me grupin e kontrollit prej 191 individësh normalë pa patologji. Gjithashtu, duke u nisur edhe nga pozitiviteti relativisht i ulët i ACPA dhe FR në pacientët shqiptarë me AR, u studiua edhe prezenca e lidhjeve midis prodhimit të autoantitrupave dhe shpërndarjes së aleleve të ashtuquajtur protektivë dhe atyre predispozues, duke bërë edhe krahasimin me popullata të ndryshme të Europës.

2.3. Materialet dhe metodat

Në këtë studim janë përfshirë 380 individë të cilët janë tipizuar për lokuset e klasës së parë HLA-A*, B* dhe C* si dhe për ato të klasës së dytë HLA-DRB1* dhe HLA-DQB1*. Këtu bëhet fjalë si për 280 individët e shëndoshë që kanë shërbyer si grup kontrolli ashtu dhe për 100 pacientë të diagnostikuar me artrit reumatoid.

Individët e shëndoshë:

Studimi i individëve të shëndoshë përsa i përket tipizimit HLA është me rëndësi të veçantë se ai mundëson njohjen e shpërndarjes normale së aleleve HLA në popullatën shqiptare. Kjo ka rëndësi si për realizimin me sukses të programeve të transplantit për pacientët që kanë nevojë për to, por dhe për të studiuar lidhjen gjenetike të popullatës shqiptare me ato ballkanike, europiane dhe më gjerë.

Per këtë qëllim u hartuan formularë të veçantë për çdo individ të studiuar, të cilët janë fokusuar në kriteret që shkurtimisht janë si më poshtë:

1. të mos raportojnë për praninë e njohur të ndonjë sëmundje.
2. të jenë të etnisë shqiptare, pra të deklarojnë se janë të kësaj etnie prej të paktën 3 brezash.
3. të mos kenë lidhje gjaku me njeri-tjetrin.
4. të deklarojnë origjinën nga një krahinë e caktuar gjeografike.

Kampionet e individëve të shëndoshë janë marrë nga individë vullnetarë në laboratorin tonë, kryesisht studentë të Fakultetit të Mjekësisë, nga Qendra e dhurimit të gjakut në QSUT si edhe nga Qendra e dhurimit të gjakut në Prishtinë konform kërkesave të përcaktuara paraprakisht.

Individët e sëmurë:

Të plotësojnë kriteret përmbushëse diagnostike për patologjinë që do të studiohet (artritin reumatoid). Kampionet e pacientëve të diagnostikuar me Artrit Reumatoid janë marrë nga Shërbimi i Reumatologjisë në QSUT. Të gjithë individët e këtij studimi janë futur në një data-base kompjuterike me të gjithë parametrat e analizuara.

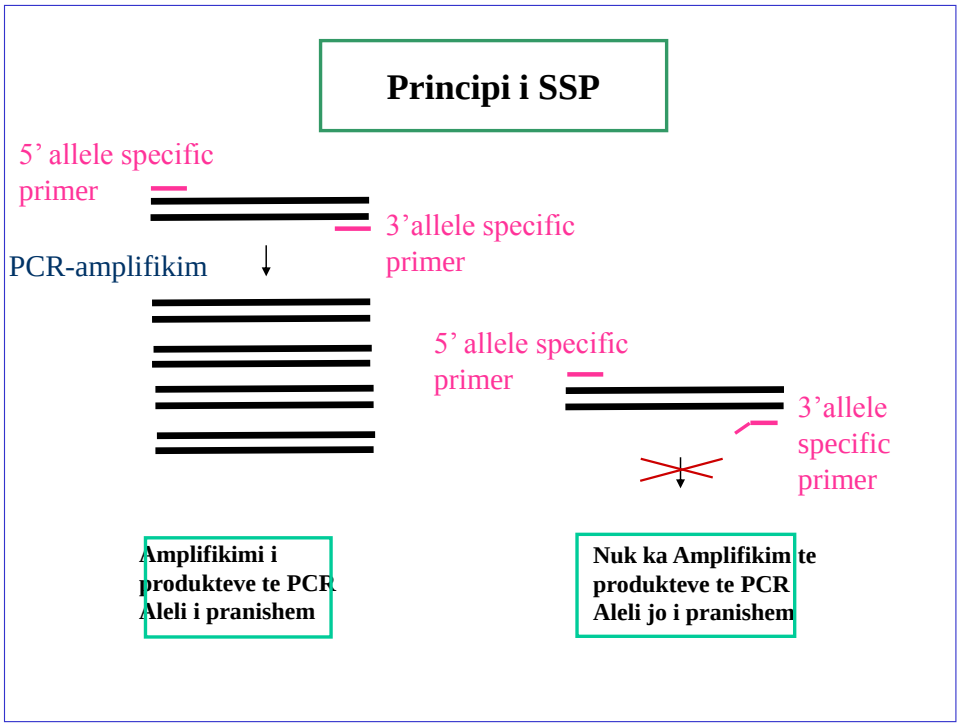
Metodat

ADN për genotipizimin HLA të pacientëve dhe dhuruesve, është ekstraktuar nga "buffy coat" duke përdorur metoda manuale me reagentët e "QIAamp DNA Blood Mini-Kits" si dhe "DNA Isolation Kit Invitrogen™" USA.

Për tipizimin me rezolucion të ulët të geneve të klasës së parë dhe të dytë të HLA-së janë përdorur metodat e biologjisë molekulare: PCR-SSP (sequence specific primer) Allset ™ Gold, Invitrogen, USA; si dhe Micro SSP ™ DNA Typing Trays, One Lambda, USA. Për metodën PCR-SSO (Sequence Specific Oligonucleotide Probes) u përdoren reagentet tëPNEL Lifecodes, (Luminex based),GTI; Dynal RELI ™ SSO, INVITROGEN; INNO-LiPA, INNOGENETICS, Ghent, Belgium.

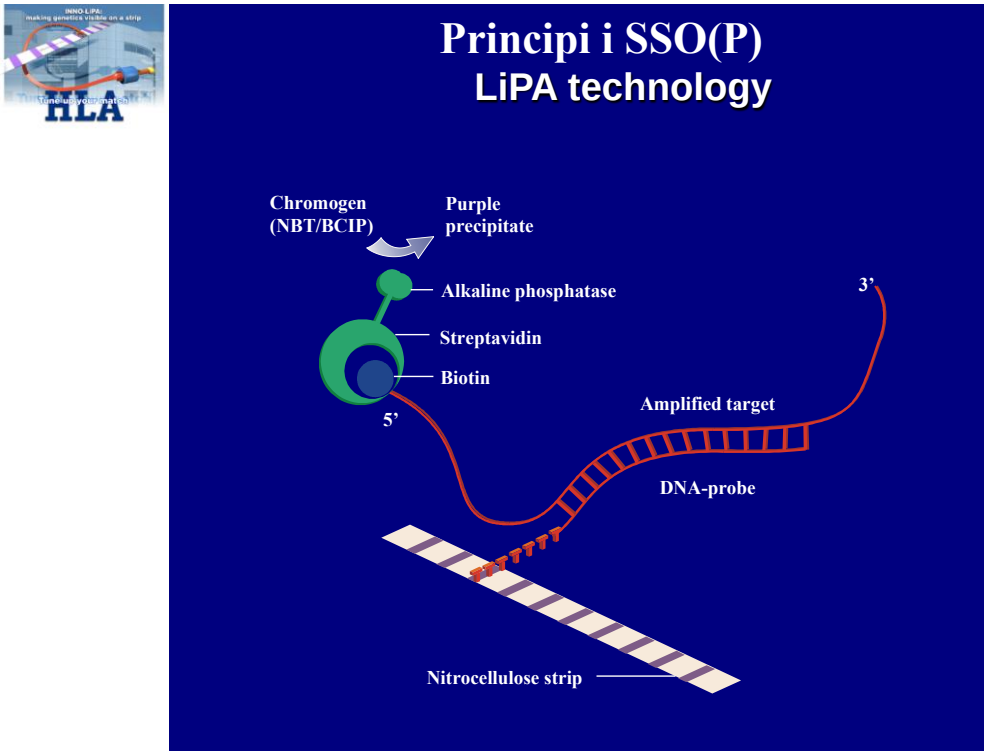
Këto metoda karakterizohen nga një sensibilitet dhe specificitet i lartë në analizën e gjeneve apo produkteve gjenike dhe në rastin tonë të aleleve të klasës së parë HLA-A,-B,-C si dhe të klasës së dytë HLA- DRB1,- DQB1. Tipizimi me anë të PCR-SSP (*sequence specific primer*) bazohet në përdorimin e sekuencave specifike që shërbejnë si *primer* të cilët njohin në mënyrë specifike një alel apo grup alelesh.

Figura 3. Principi i metodës SSP.



Tipizimi me anë të PCR-SSO *(sequence specific oligonucleotides)* është një metodë e tipizimit molekular që bazohet në përdorimin e sekuencave specifike të oligonukleotideve, karakteristika e të cilave është njohja dhe hibridizimi në kushte të caktuara të një fragmenti të ADN-së, segment komplementar me atë sekuencë. Këto oligonukleotide që veprojnë si sonda, tregojnë prezencën apo mungesën në kampionin e studiuar të një aleli apo të një grupi alelesh.

Figura 4. Principi i metodës SSO.



Studimet e shënjuesve serologjikë në të sëmurët me Artrit Rheumatoid

Për pacientët AR u studiuan vlerat e ACPA dhe FR. Vlerat e autoantitrupave ACPA u përcaktuan nga matjet në serum të antitrupave anti-peptide të citrulinuar CCP (anti-cyclic citrullinated peptide) me ane të metodës ELISA (Anti-CCP hs, Orgentec Diagnostica GmbH, Mainz, Germany).
RF screen (anti IgG, IgM, dhe IgA Fc fragment IgG autoantibodies) gjithashtu u përcaktua me metodën ELISA (Orgentec, Mainz, Germany).
Antitrupat antinukleare (ANA) u përcaktuan me imunofluoreshencë indirekte duke përdorur qelizat Hep2 (Orgentec, Mainz, Germany) sipas rekomandimeve të firmës prodhuese.

Rezultatet u interpretuan duke ndjekur instruksionet e kiteve përkatëse lidhur me cut-off (>20 U/mL për ACPA dhe >25 U/mL për FR).

Analiza statistikore

Frekuencat e aleleve dhe haplotipeve HLA në popullatat e studiuara u llogaritën me anë të programit "Arlequin" nëpërmjet një metode algoritmi "pritshmërie-maksimizimi E-M" nga të dhënat e genotipizimit për fazë të panjohur gametike. Prania apo jo e ekuilibrit sipas Hardy-Weinberg në popullatat e studiuara u testua në programin "Arlequin" me anë të një metode zinxhir sipas Markov me vlerësim të saktë të vlerës së P. Të dhënat e shpeshtësive të aleleve HLA të popullatave të tjera të përfshira në studimin krahasues u morën nga të dhënat përkatëse të botuara.
Distancat gjenetike ndërmjet dy popullatave shqiptare të studiuara dhe popullatave të tjera u llogaritën me anë të programit "Phylip", nëpërmjet llogaritjes së distancës gjenetike sipas Nei-t, duke përdorur të dhënat e frekuencave të aleleve HLA. Paraqitja grafike e distancave gjenetike u realizua nëpërmjet llogaritjes së pemëve filogjenetike me metodën "Neighbor-Joining" si dhe me metodën "Multidimensional Scaling" (MDS).
Frekuencat e aleleve për grupin e kontrollit dhe atë të pacientëve me AR janë përllogaritur duke përdorur programin Gene[rate]. Ndryshimet e këtyre frekuencave nëpërmjet dy grupeve janë përcaktuar me anë të programit statistikor R. Raporti OR (odds ratio) është llogaritur me anë të MedCalc software (MedCalc Software, Acacialaan 22, B-8400 Ostend, Belgium).
Korelacioni midis frekuencave të aleleve dhe prevalencës së AR midis popullatave të ndryshme është bërë duke përdorur testin jo parametrik të Spearman dhe sinjifikanca e tij u testua me R software statistikor.

2.4. Rezultatet e tipizimit të sistemit HLA në popullatat normale të studiuara, Shqiperi dhe Kosove

Përsa i përket popullatës së shëndoshë shqiptare, në këtë studim u përfshinë 160 individë shqiptarë të shëndoshë dhe pa lidhje gjaku midis tyre të zgjedhur në mënyrë të rastësishme ndërmjet studentëve të Fakultetit të Mjekësisë të Universitetit të Tiranës si dhe dhurues gjaku në Njësinë e Dhurimit të Gjakut të Qëndrës Spitalore Universitare të Tiranës. Ata ishin me origjinë nga të gjitha krahinat e vëndit dhe u përzgjodhën pasi u deklaruan si shqiptarë etnikë prej të paktën 3 breza nga të dy prindët.
Nga popullata kosovare u përzgjodhën ndërmjet dhuruesve të gjakut nga të gjitha rajonet e Kosovës, 120 individë të shëndoshë dhe pa lidhje gjaku duke ndjekur të njëjtët kritere si individët nga Shqipëria.

Figura 5. Shpërndarja e individëve të përzgjedhur si popullatë normale shqiptare nga Shqipëria dhe Kosova

Popullata shqiptare nga Shqipëria:

Numrat e aleleve të vënë në dukje ishin 17 alele HLA-A, 30 alele HLA-B, 12 alele HLA-C, 13 alele HLA-DRB1 dhe 5 alele HLA-DQB1.

HLA-A*02 është më i shpeshti ndër alelet HLA-A, i ndjekur në rend zbritës nga A*24, A*01, A*03, A*32, A*11, A*26, A*68, A*23 dhë A*29. Këto 10 alele HLA-A u gjetën në 94% të popullatës të studiuar.

Në lokusin HLA-B, 10 alelet më të shpeshtë janë B*51, B*35, B*18, B*44, B*08, B*07, B*40, B*37, B*15 dhe B*52. Së bashku ata përbëjnë 75% të gjithë 30 aleleve HLA-B të hasur.

Alelet HLA-C më të shpeshtë janë në rend zbritës: C*07, C*04, C*15, C*12, C *02, C*06, C*05, C*03, C*01, C*14, C*16 dhë C*08.

Në lokusin HLA-DRB1, DRB*11 është më i shpeshti, i ndjekur nga DRB1*16, DRB1*13, DRB1*04, DRB1*15, DRB1*14, DRB1*07, DRB1*03, DRB1*01 dhë DRB1*08.

Përsa i përket lokusit DQB1 aleli i hasur më shpesh është DQB1*03, i ndjekur nga DQB1*05, DQB1*06, DQB1*02 dhë DQB1*04.

Haplotipet më të shpeshtë janë: A02*-B*18-C*07-DRB1*11-DQB1*03; A*01- B*08-C*07-DRB1*03-DQB1*02; A*24-B*35-C*04-DRB1*11-DQB1*03 dhë A*02-B*51-C*15-DRB1*16-DQB1*05.

Popullata shqiptare nga Kosova:

Alelet dyshifrore të vënë në dukje janë 16 alele HLA-A*, 22 alele HLA-B, 12 alele HLA-C, 13 alele HLA-DRB1 dhe 5 alele HLA-DQB1.

Në lokusin HLA-A u hasën me frekuencë në zbritje alelet si vijon: A*02, A*24, A*01, A*03, A*26, A*11, A*32, A*68, A*23.

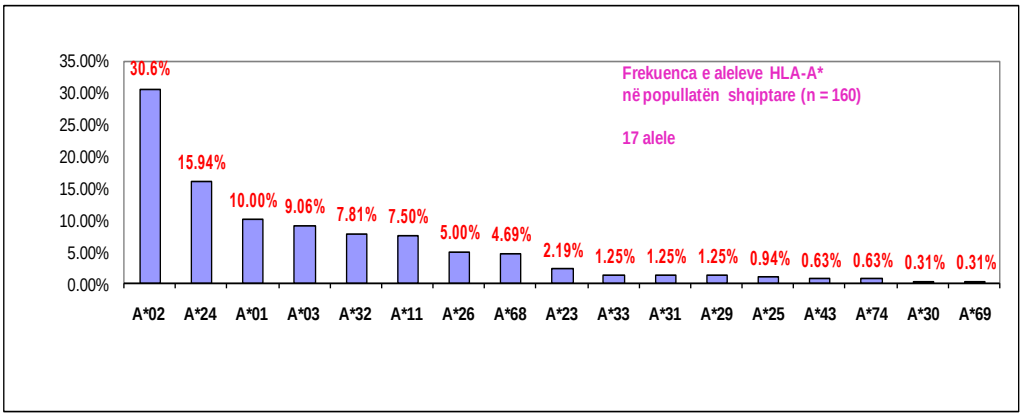
Në lokusin HLA-B në rend zbritës hasen: B18*, B*35, B*51, B*44, B*07, B*08, B*40.

Në lokusin HLA-C alelet në rend zbritës janë C*07, C*12, C*06, C*15, C*04, C*01, C*05, C*02, C* 03.

Në lokusin HLA-DRB1 alelet më të shpeshtë janë DRB1*11, DRB1*16, DRB1*13, DRB1*15, DRB1*03, DRB1*04, DRB1*14, DRB1*12, DRB1*01, DRB1*07. HLA-DQB1: DQB1*03, DQB1*05, DQB1*06, DQB1*02, DQB1* 04.

Haplotipet më të shpeshtë janë: A*02-B*18-C*07-DRB1*11-DQB1*03; A*01-B*08-C*07-DRB1*03-DQB1*02; A*02-B*35-C*12-DRB1*14-DQB1*05; A*02-B*35-C*04-DRB1*03-DQB1*02; A*24-B*35-C*04-DRB1*16-DQB1*05 dhe A*68-B*51-C*12-DRB1*13-DQB1*06.

Figura 6. Shpërndarja e shpeshtësive të aleleve HLA-A në popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë



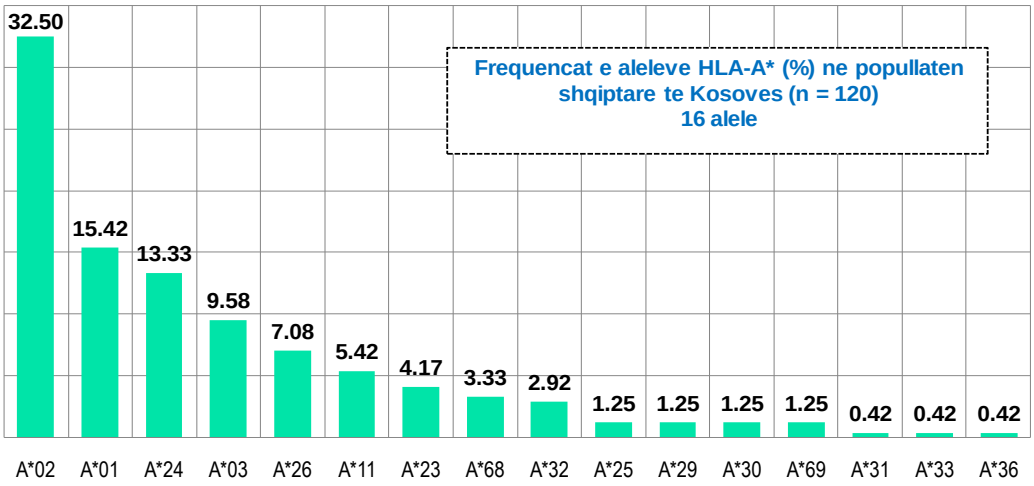
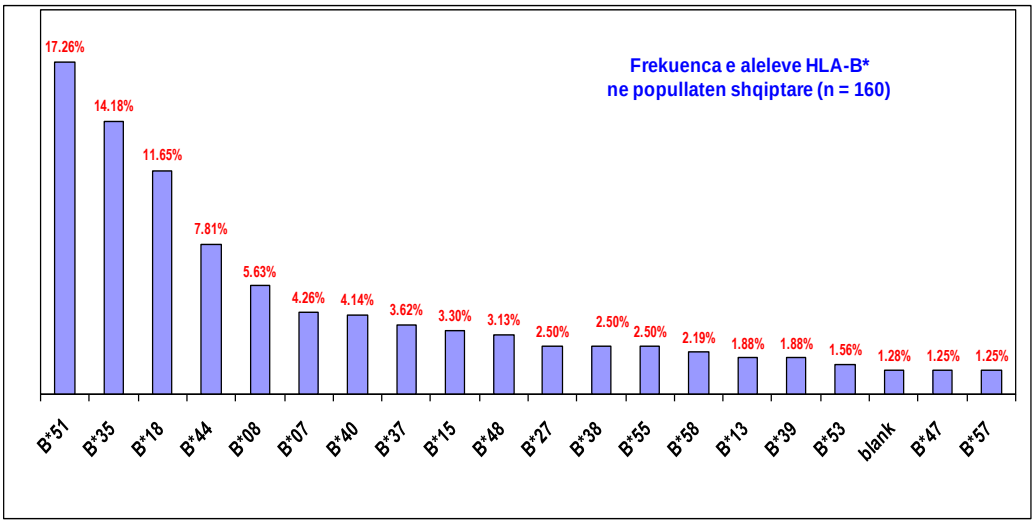
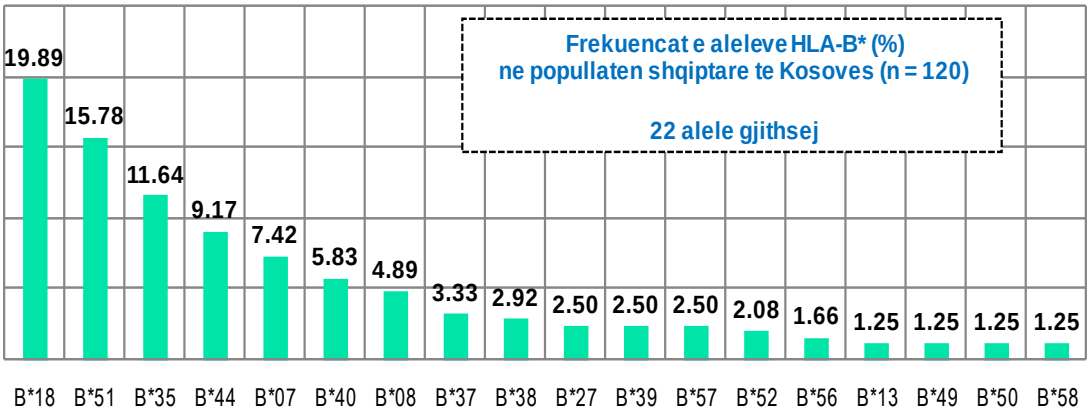


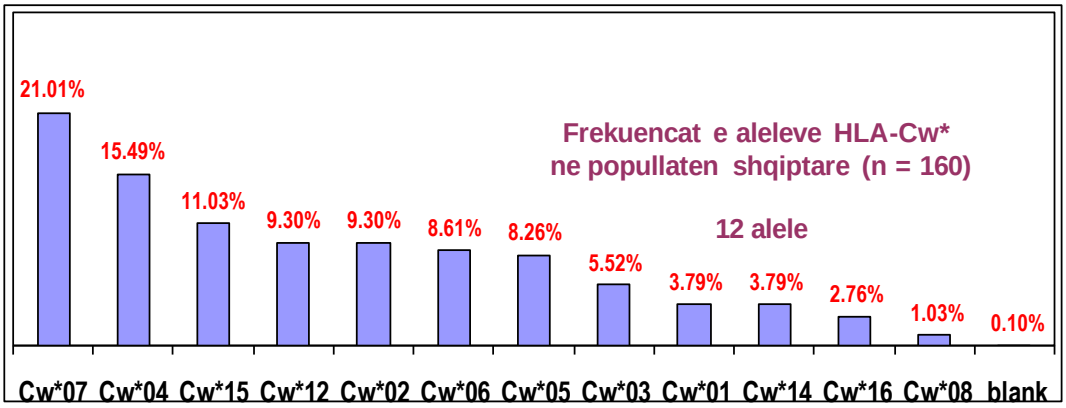
Figura 7. Shpërndarja e shpeshtësive të aleleve HLA-B në popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë

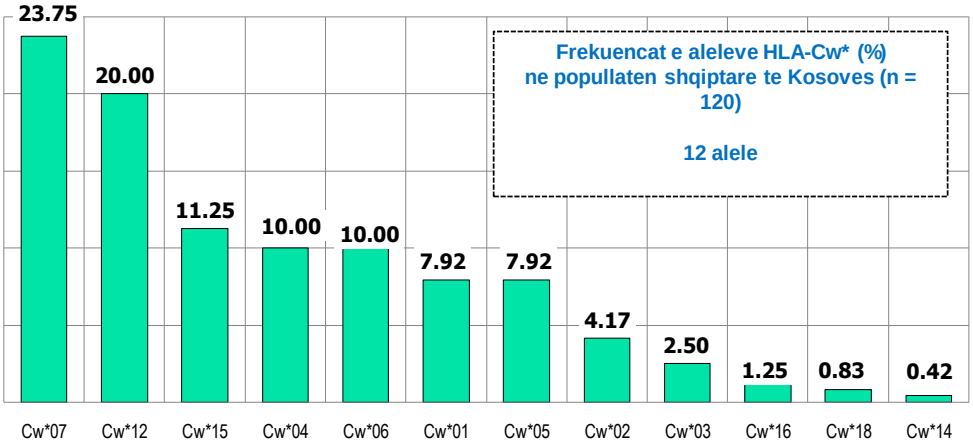




12

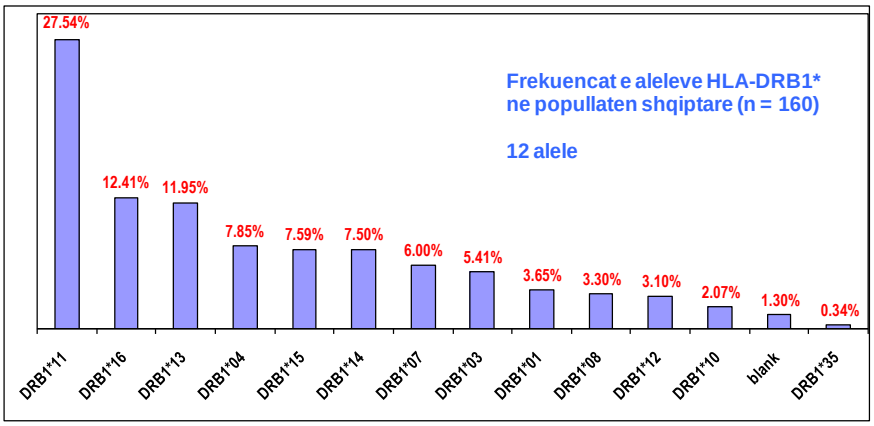
Figura 8. Shpërndarja e shpeshtësive të aleleve HLA-C në popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë





13

Figura 9. Shpërndarja e shpeshtësive të aleleve HLA-DRB1 në popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë



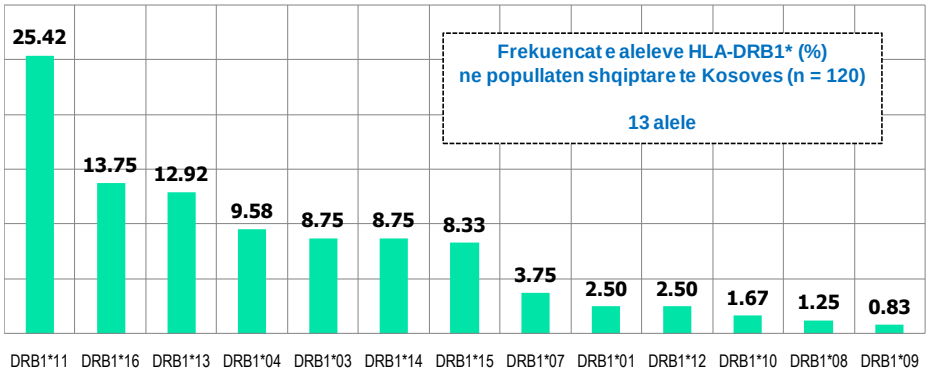
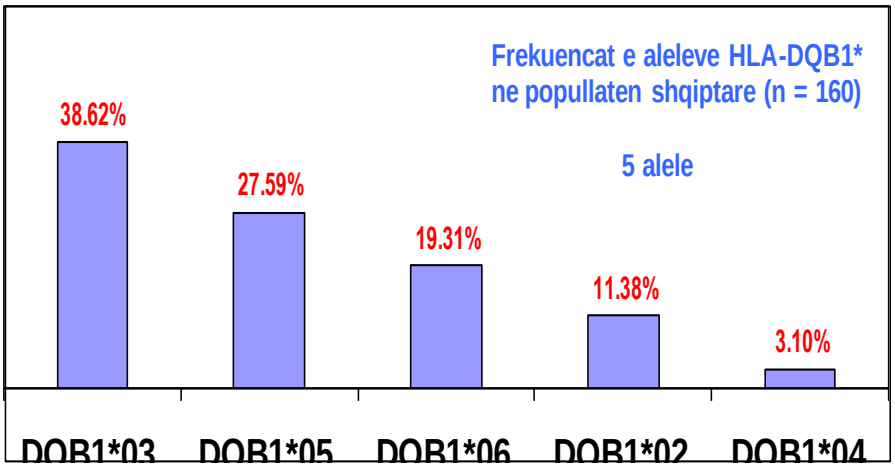
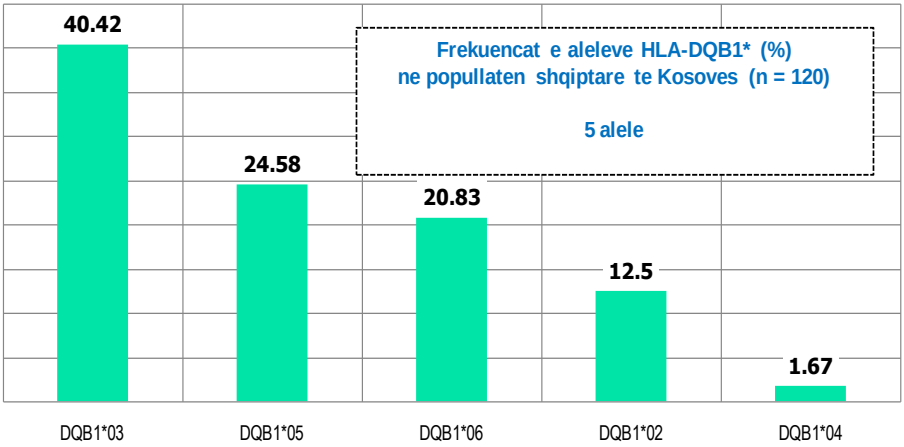


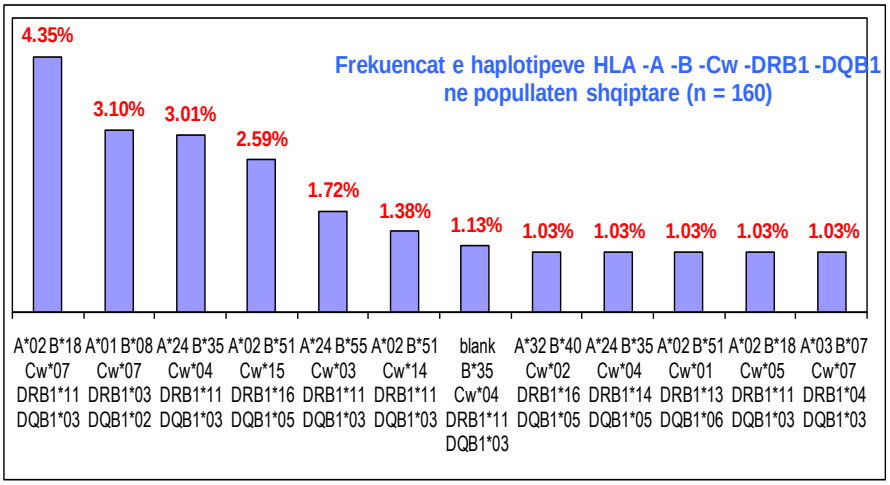
Figura 10. Shpërndarja e shpeshtësive të aleleve HLA-DQB1 në popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë

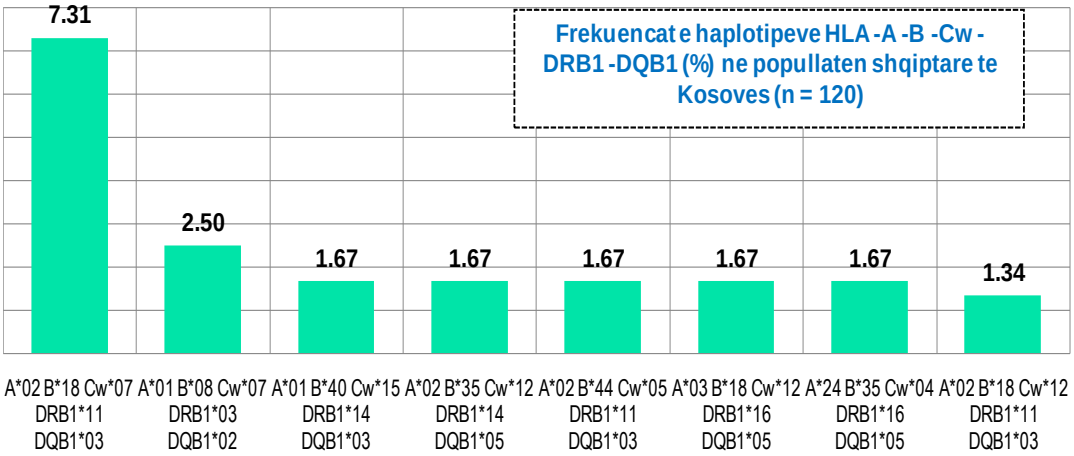




15

Figura 11. Shpërndarja e shpeshtësive së haplotipeve HLA-A-B-C-DRB1-DQB1 në popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë





16

2.5. Krahasimi i popullatave nëpërmjet shpeshtësive të hasjes së aleleve HLA

Krahasimi i popullatave u studiua me llogaritjen e distancave gjenetike sipas Nei-t:

- Ky kalkulim merr parasysh që popullatat zhvillohen në mënyrë të pavarur, frekuencat gjenike ndryshohen me anë të një drift-i gjenetik, dhe gjithashtu mund të ndodhin mutacione të reja.
- Distancat gjenetike u llogaritën nga frekuencat e 14 aleleve HLA-A, 23 HLA-B and 12 HLA-DRB1 grup-alele (49 gjithsej).
- Të dhënat e popullatave të marra për krahasim u morën nga artikuj të botuar ose nga web-site i D. Middleton's www.allelefrequencies.net.

Rezultatet e studimit krahasues të profilit genotipik HLA të të dy popullatave shqiptare me popullatat e tjera të rajonit ballkanik dhe ato të tjera europiane bënë të mundur hartimin e hartës aktuale gjenetike HLA të popullatave që jetojnë në rajonin ballkanik duke paraqitur me anë të "provës së ADN" raportet e këtyre popullatave në këtë rajon. Studimi përfshiu, përveç popullatave shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë të tipizuara nga ne, edhe 10 popullata të tjera ballkanike, 12 popullata europiane si dhe 2 aziatike rezultatet e të cilave u morën nga literatura. Përfundimet e këtij studimi krahasues vunë qartë në dukje afërsinë gjenetike midis popullsive shqiptare të Shqipërisë dhe të Kosovës duke u nisur nga llogaritja e distancave gjenetike. Pasojnë, po nga këndvështrimi i distancave gjenetike popullatat maqedonase, greke, bullgare, kroate, boshnjake, serbe, italiane, rumune dhe turke, të renditura këto sipas rendit rritës së distancave gjenetike. Popullatat e tjera europiane rradhiten në distanca më të largëta gjenetike të cilat në përgjithësi janë në përpjestim të drejtë me distancat gjeografike.

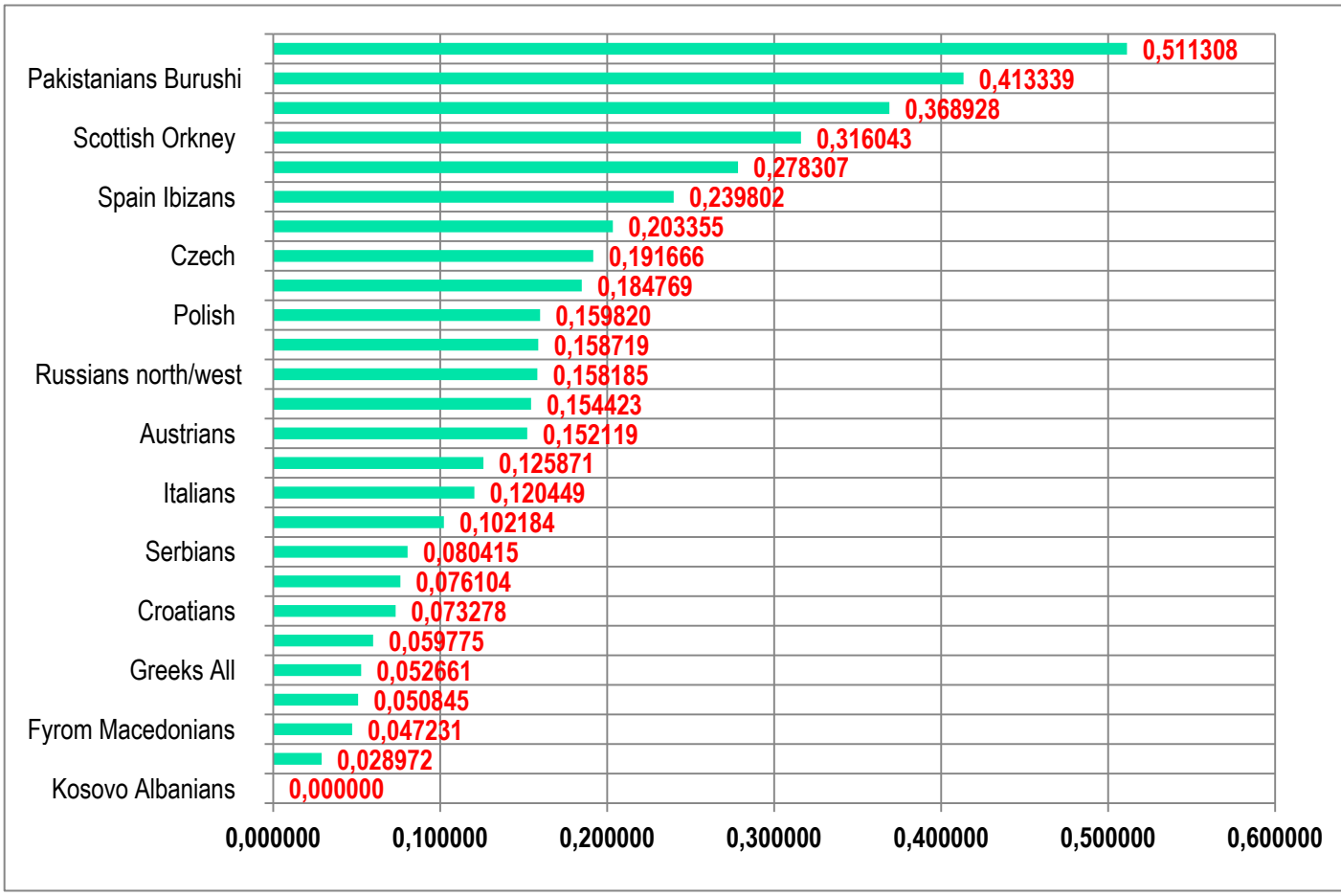
Tabela 1. Të dhënat e 26 popullatave të përfshira në studim.

Nr.	Populllata	Numri i ndividëve/metoda	Burimi i të dhënave mbi shpeshtësinë e aleleve HLA-A -B dhe -DRB1
1	Albanians Kosovo	120 ind, anthrop. study, SSP	Sulcebe, 2011,
2	Albanians Albania	160 ind, anthrop. study, SSOP	Sulcebe, Int J Immunogenetics 2009,36,337
3	Fyrom Macedonia	216 ind, anthrop. study, SSOP	Spiroski, 2001
4	Greece North	500 ind, BMDR, SSP	Lazidou, 2002
5	Greece All	246 ind, anthrop. study, SSP	Papassavas, Human Immunol, 2002, 61, 615
6	Bulgaria	55 ind, anthrop. study, SBT	Ivanova, Tissue Antigens, 2002, 60, 496
7	Croatia	100 ind, unrel. solid organ donors, SSP	Zunec , 2005
8	Bosnia/Hercegovina	134 ind, solid organ don, SBT	Berbic, 2008
9	Serbia	386 ind, anthrop. study, BMDR, SSOP	Andric, Tissue Antigens 2007, 69, 56
10	Crete	135 ind, anthrop. study, SSOP	Arnaiz-Villena, Tiss Antigens, 1999, 53, 213
11	Italy	159311 ind, BMDR, SSOP	Rendine, Tissue Antigens, 52,135, 1998
12	Romania	348 ind, anthrop. study, SSOP	Suciu-Foca, 2000
13	Austria	200 ind, blood donors, SBT	Fischer, 2007
14	Turkey	228 ind, anthrop. study, SSOP	Arnaiz-Vil., Carin M, Tissue Antigens, 57, 308, 2001
15	Russia north west	1011 ind, blood donors, SSP	Russ. Min. of Health, 2002
16	Portugal Center	50 ind, anthrop. study, SSOP	Spinola, Ann. Hum. Genet. 2002, 66, 285
17	Poland	200 ind, SSP	Nowak, Tissue Antigens 2008, 71, 193
18	France South East	130 ind, anthrop. study, SSP	Dubois, 1996
19	Czech	106 ind, anthrop. study, SSP	Zahlavova, 2002
20	Germany	174, solid organ and blood donors, SSP	Ferencik, 1996, in HLA 1997, Terasaki et al.
21	Spain Ibiza	88 ind, anthrop. study, BMDR, SSP	Crespi, Tissue Antigens 2002, 60, 282
22	Wales	1798 ind, anthrop. study, BMDR, SSP	Darke, Exp Clin Immunogenet 1998, 15, 69
23	Scotland Orkney	99 ind, anthrop. study, SSP	Bodmer, Anthropol. Report, Charron, EDK, 1997
24	Spain Basque	83 ind, anthrop. Study, SSP	Sanchez-Velasco, Human Immunology 2004, 65
25	Pakistan Burushi	92 ind, anthrop. study, SSP	Mohyuddin, Tissue Antigens 2002, 59, 492
26	China Shanghai	26266 ind, Shanghai, BMDR, SSP	Ke Ming Du, 2006

Tabela 2. Distancat gjenetike të 25 popullatave të krahasuara me popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë

Nr.	Popullatat e studiuara	Distanca gjenetike (sipas Nei)
1	Kosovo Albanians	0.000000
2	Albania Albanians	0.028972
3	Fyrom Macedonians	0.047231
4	Greeks North	0.050845
5	Greeks All	0.052661
6	Bulgarians	0.059775
7	Croatians	0.073278
8	Bosnia/Hercegovina	0.076104
9	Serbians	0.080415
10	Cretans	0.102184
11	Italians	0.120449
12	Romanians	0.125871
13	Austrians	0.152119
14	Turkey	0.154423
15	Russians north/west	0.158185
16	Portuguese Center	0.158719
17	Polish	0.159820
18	French South East	0.184769
19	Czech	0.191666
20	Germans Essen	0.203355
21	Spain Ibizans	0.239802
22	Welsh	0.278307
23	Scottish Orkney	0.316043
24	Spain Basque	0.368928
25	Pakistanians Burushi	0.413339
26	Chinese Shanghai	0.511308

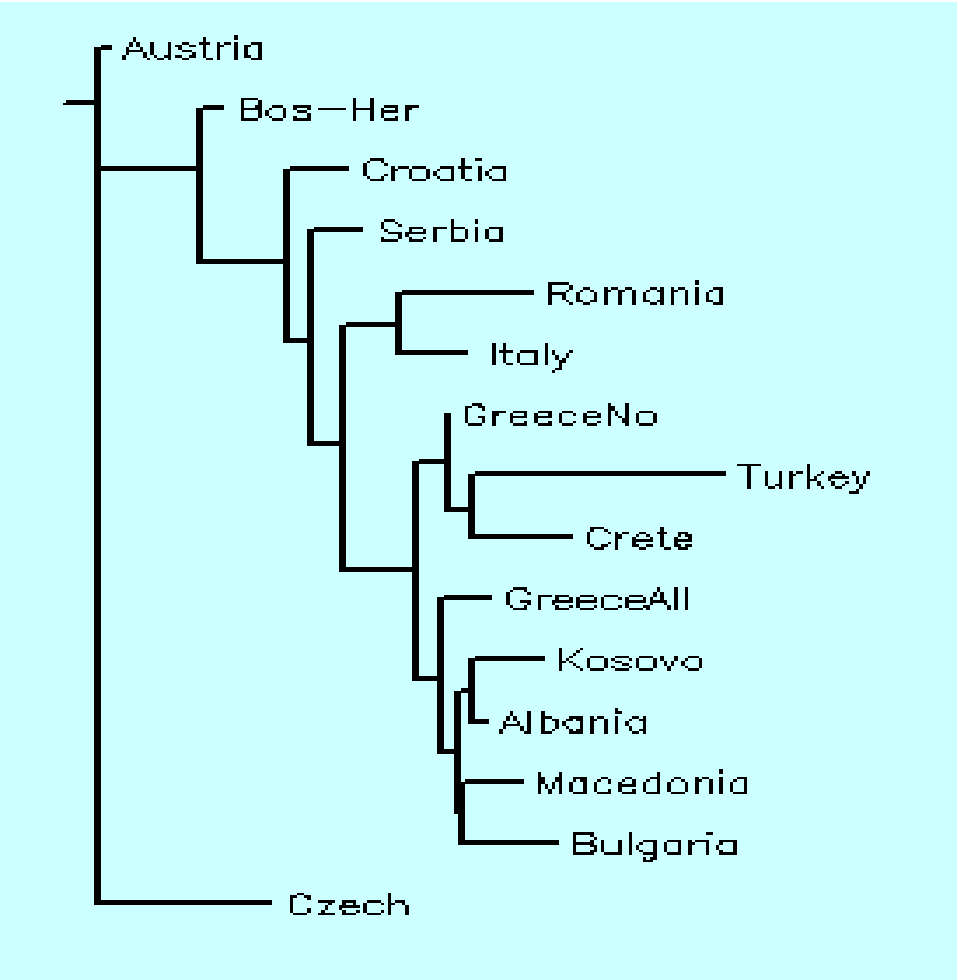
Figura 12. Paraqitja grafike e distancave gjenetike të popullatave të studiuara nga popullatat shqiptare



Ajo që bie në sy në studimin tonë është fakti se në rajonin ballkanik përvijohen dy grupe kryesore popullatash: Në një grup mund të futen popullatat shqiptare, maqedonase, greke dhe bullgare (distancat gjenetike në rritje nga 0.03 në 0.06), ndërsa në një grup të dytë ato kroate, boshnjake dhe serbe (distancat gjenetike nga 0.07 deri 0.08). Popullatat italiane, rumune dhe turke, me distance gjenetike respektivisht 0.12, 0.13 dhë 0.15 janë të vendosura më larg në lidhje më popullsinë shqiptare.

Studimi ynë është i pari fakt gjenetik që ve në dukje unicitetin e popullit shqiptar përtej kufijve politikë në të cilët ai gjëndet i ndarë. Një fakt tjetër interesant është konkluzioni i këtij studimi se popullatat shqiptare, si ajo e Kosovës ashtu dhe e Shqipërisë, janë më afër gjenetikisht me popullatën greke në krahasim me atë serbe gjë që nuk korrespondon, ne rastin e popullatës kosovare, me distancat gjeografike përkatëse.

Figura 13. Pema filogjenetike e popujve të Ballkanit dhe të Europës Juglindore, e hartuar duke u bazuar në distancat gjenetike midis tyre.



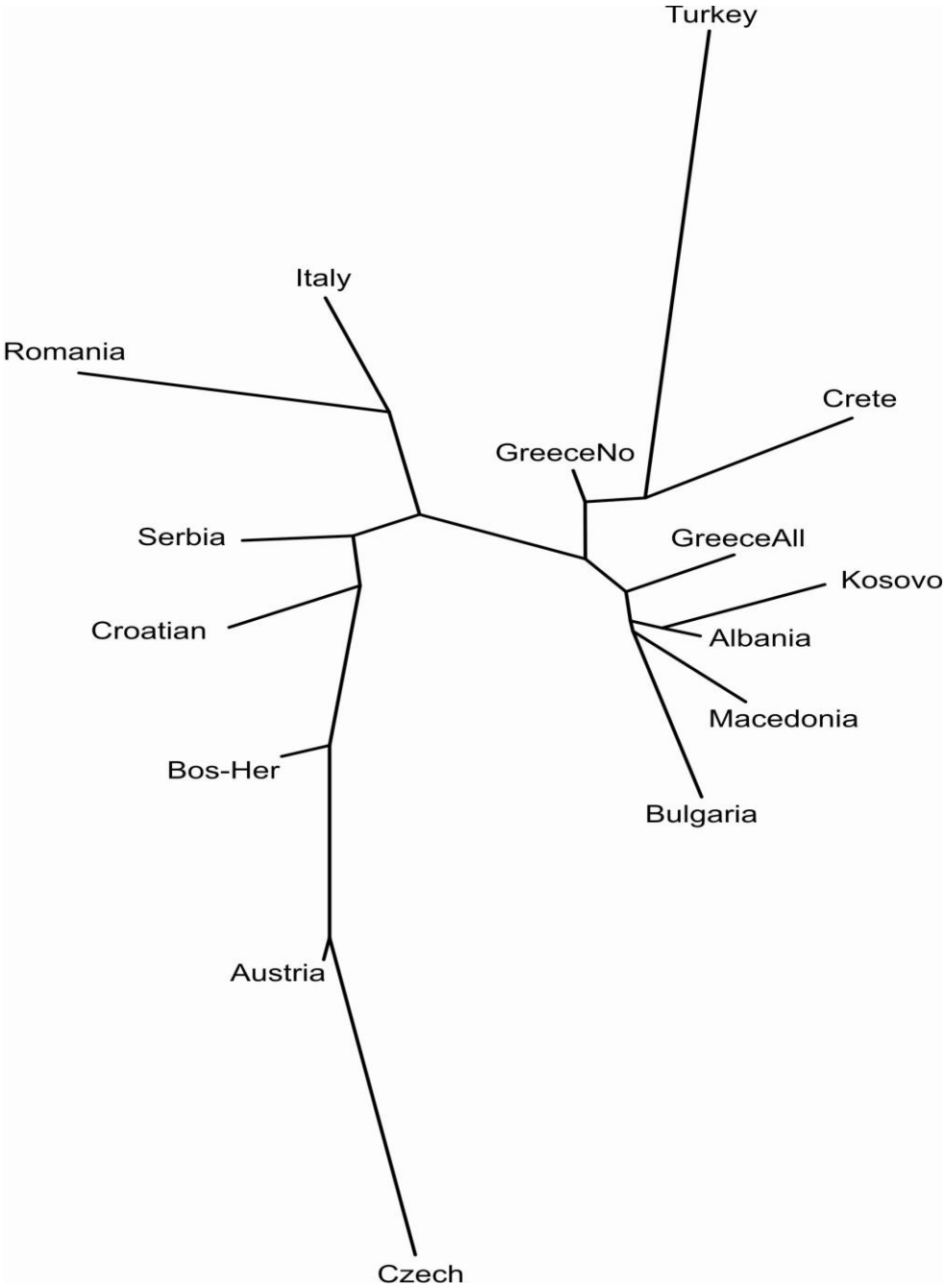


Figura 14. Paraqitje grafike bidimensionale e distancave gjenetike midis 15 popullatave të Europës qëndrore dhe juglindore, të llogaritura duke u nisur nga frekuencat e gjeneve HLA në këto popullata (unrooted neighbor-Joining program).

Studime të tjera kanë hulumtuar ngjashmërinë rajonale gjenetike në Gadishullin Ballkanik. Megjithatë këto studime kanë qenë të pjesëshme dhe nuk kanë përfshirë të gjitha popullatat ballkanike si psh. popullatat shqiptare, serbe, ose dhe të tjera që jetojnë në rajonin e Ballkanit. Studimi ynë është i pari që ve në dukje distancat gjenetike të të gjithë popullatave të rajonit të Ballkanit duke u bazuar në polimorfizmin

gjenetik të sistemit HLA, duke plotësuar në këtë mënyrë “puzzle”-in ballkanik në këtë fushë. Është interesante gjetja se distancat gjenetike midis popullatave shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë janë më të afërta me popullatat greke, maqedonase dhe bullgare se sa me popullatën serbe, kroate apo boshnjake. Popullata rumune dhe ajo turke ndodhen më larg të distancuara. Popullata italiane është e afërt me atë rumune dhe njëlloj me këtë të fundit përsa i përket distancës nga popullatat shqiptare. Me sa duket ekziston një fond i përbashkët gjenetik midis gjithë popullatave që jetojnë në Gadishullin Ballkanik, por popullatat shqiptare, greke, maqedonase dhe bullgare janë gjenetikisht më shumë të afërta më njëra tjetrën, pavarësisht nga dallimet e njohura gjuhësore, kulturore ose fetare.
Ky fond i përbashkët gjenetik duket se i ka rezistuar migracioneve të njëpasnjëshme dhe valëve pushtuese në këtë rajon. Studimi ynë është prova gjenetike që konfirmon autenticitetin e popullit shqiptar në trojet aktuale që në kohët shumë të lashta dhe hedh poshtë përfundimisht tezat spekullative që kanë hedhur hipotezën e një migrimi të vonshëm historik të popullsisë shqiptare nga krahinat verilindore të Ballkanit apo dhe më larg në trojet aktuale. Një rezultat tjetër me rëndësi mjekësore i llogaritjeve të distancave gjenetike midis popullatave ballkanike është rëndësia e zbatimit të programeve të përbashkëta rajonale të regjistrave të dhuruesve të organeve si dhe të qelizave bazë hematopoietike. Këtu është me vënd të përmendet fakti se si popullata shqiptare ashtu dhe ajo kosovare paraqesin një heterogjenecitet relativisht të kufizuar HLA si në nivel alelik ashtu dhe atë haplotipik në krahasim më popullatat e tjera europiane. Kjo ndihmon gjetjen më të lehtë të dhuruesve të përshtatshëm brënda këtyre popullatave për efekt transplanti dhe inkurajon krijimin e regjistrave të përbashkët të dhuruesve brënda hapësirave shqiptare por dhe me popullatat e tjera ballkanike më të afërta gjenetikisht. Këto programe të përbashkëta do të rrisin në mënyrë të konsiderueshmë shanset për të gjetur dhurues të përshtatshëm për pacientët që kanë nevojë për transplante të organeve ose të qelizave bazë hematopoietike.

2.6. Krahasimi i pajtueshmërisë për alelet HLA midis pacientëve që paraqisnin indikacion për transplant të qelizave bazë hematopoietike dhe grupit të kontrollit prej 510 individesh normale

Për këtë hulumtim në studimin tonë janë përfshirë edhe të dhënat për 70 pacientë me patologji malinje të tipizuar për qëllimet e transplantit të palcës dhe 233 individë dhurues me lidhje ose jo familiare të këtyre pacientëve.
Lidhja e tyre me pacientët :

- 77 (33.1%) janë motra
- 69 (29.6%) vëllezer
- 32 (13.7%) nëna
- 31 (13.3%) baballarë
- 24 (10.3%) kushërinj
- 3 (3.9%) ishin fetus të tipizuar me anë të ADN të ekstraktuar nga kordoni umbilikal nëpërmjet amniocentezës. Të gjithë këta individë janë tipizuar për lokuset e klasës së parë HLA-A, HLA-B dhe të

klasës së dytë HLA-DRB1. Është bërë krahasimi për të parë pajtueshmërinë e plotë në nivel alelik për të tre lokuset midis pacientëve dhe vëllezerve/ motrave. Nga të dhënat tona rezultojnë që vetëm

- 27 (38.6%) prej pacientëve të kenë dhurues HLA identikë, ndërmjet tyre edhe të tre dhuruesit fetus,
- 31 (44.3 %) ishin haplo-identikë,
- 12 (17.1%) e pacientëve nuk kishin asnjë alel të përbashket me dhuruesit e tyre.

Këto të dhëna konfirmojnë edhe një herë faktin që dhuruesit familiarë mbulojnë vetëm 30-35% të nevojave për transplant.

Për të treguar edhe një herë rëndësinë e krijimit të një regjistri kombëtar të dhuruesve vullnetarë të palcës, ne realizuam një studim te të dhënat që disponojmë për 510 individë normalë të tipizuar për lokuset HLA-A, B, DRB1, për të gjetur individë me HLA identikë me pacientët që nuk kishin dhurues familiar. Nga ky studim rezultoi që 10 nga grupi prej 43 pacientësh që nuk kishin gjetur dhurues, kishin pajtueshmeri të plotë (HLA identikë) me 10 individë normalë nga ky grup kontrolli.

Pra mundësitë që krijohen për këta pacientë, për të patur një dhurues identik jo familiar, do të jenë shumë më të mëdha në një numër relativisht të lartë të dhuruesve vullnetarë. Ky grup prej 510 individësh mund të jetë një nismë e mirë për të nisur një regjistër kombëtar.

2.7. Të dhënat studimore midis 100 pacientëve me artrit rheumatoid studiuar për frekuencat alelike DRB1/DQB1 krahasuar me grupin normal të kontrollit:

Karakteristikat e përgjithshme të pacientëve me AR janë paraqitur në tabelën 3.

Tabela 3. Të dhëna të përgjithshme të pacientëve me AR.

Characteristics of RA patients	**Number (%)**
Age in years (mean ± standard deviation)	49.9 ± 10.4
Disease duration in months (mean ± standard deviation)	54.9 ± 48.1
Female patients	83 (83%)
ACPA+	46 (46%)
RF+	48 (48%)
ACPA+/RF+	35 (35%)
ANA- /RF-/ACPA-	26 (26%)

Frekuencat alelike DRB1/DQB1 në këta 100 pacientë krahasuar me grupin normal të kontrollit janë paraqitur në tabelën 4. Nuk ka devijim të ligjit të ekuilibrit nga Hardy-Weinberg për këto lokuse. Duke studiuar këtë grup, në një shikim të parë nuk duken ndryshime sinjifikative të asocimit të aleleve HLA të klasës së dytë me këtë sëmundje. Për lokusin DRB1 u mor një vlerë e P (P-value) 0.071, dhe si për grupin e kontrollit ashtu edhe për grupin e pacientëve AR nuk ka ndryshime sinjifikative. Për lokusin DQB1 ka

ndyshime sinjifikative midis të dy grupeve (P = 0.004), por kjo për arsye të aleleve blank (alelet që nuk mund të identifikohen nga tipizimi) që në mënyrë sinjifikative devijojnë nga pritshmëria.
Frekuencat për lokuset DRB1 dhe DQB1 në grupin e kontrollit janë krahasuar me ato në nëngrupet e pacientëve AR me rezultate të ndryshme të serologjisë ACPA+, RF+, ACPA+/RF+ si edhe me nëngrupin e pacientëve sero-negativ (ANA-/RF-/ACPA-). Rezultatet janë paraqitur në tabelën 5.
Vihet re një diferencë statistikisht sinjifikative për DRB1*04 midis grupit të kontrollit dhe nëngrupeve të pacientëve me ACPA+ (P = 0.0006), RF+ (P = 0.0006) dhe ACPA+/RF+ (P = 0.0004).
E njëjta diferencë është vënë re edhe për DRB1*11 midis kontrolleve dhe pacientëve ACPA+/RF+ (P = 0.01). Gjithashtu dhe për DRB1*13 midis kontrolleve dhe pacientëve me RF+ (P = 0.01) dhe ACPA+/RF+ (P = 0.03).
Frekuencat e alotipeve DRB1 në pacientët ACPA+ dhe RF+ krahasuar me nëngrupin ACPA- dhe RF- janë treguar në tabelën 4. Këtu shihet efekti predispozues i HLA-DRB1*04 për ACPA dhe RF seropositive (P respektivisht 0.0008 dhe 0.0017) dhe roli protektiv i HLA-DRB1*11 për ACPA dhe RF positive (P respektivisht 0.007 dhe 0.02). I njëjti rol protektiv me RF positive është vënë re edhe me alelet HLA-DRB1*13 (P = 0.007).
Gjithashtu, rol protektiv ka edhe aleli HLA-DQB1*06 në nëngrupin e pacientëve RF+ dhe RF+ACPA+ positive (P espektivisht 0.05 dhe 0.04) kur krahasohet grupi i kontrollit me nëngrupet e pacientëve AR.
Në grupin e pacientëve me ACPA+ dhe RF+ krahasuar me ata që kanë ACPA- dhe RF- , ndryshimi i vetëm është midis pacientëve me RF(+) dhe RF(-) (P = 0.04).

2.8. Studimet e korelacionit të frekuencave të aleleve HLA-DRB1*04, DRB1*11 dhe DRB1*13 me prevalencen e AR në 19 popullata europiane.

Ne studiuam prezencën e ndonjë korelimi midis frekuencave të aleleve predispozues DRB1*04 dhe atyre protektive DRB1*11 dhe DRB1*13 në 19 popullata Europiane me një shpërndarje gjeografike që shtrihet pothuaj në të gjithë kontinentin Europian. Të dhënat për frekuencën e aleleve dhe për prevalencën e AR të këtyre vendeve janë marrë nga website www.allelefrequencies.net dhe nga literatura. Në tabelën 6 frekuenca e aleleve DRB1*04 të popullatave të studiuara janë krahasuar me frekuencën e aleleve koresponduese DRB1*11 dhe DRB1*13 si dhe me prevalencë e AR. Sinjifikancë negative është gjetur nga korelimi midis DRB1*04 ndaj DRB1*11 (r = - 0.700, P = 0.0008) por jo midis DRB1*04 ndaj frekuencës së aleleve DRB1*13 (r = 0.039, P = 0.871).
Një korelim statistikisht sinjifikativ është gjetur dhe midis prevalencës të AR në popullatat europiane të studiuara dhe frekuencave të aleleve DRB1*04 dhe DRB1*11 në këto popullata (respektivisht r = 0.513, P= 0.051 dhe r = - 0.691, P= 0.004).

Tabela 4. Frekuenca e aleleve HLA-DRB1 and -DQB1 në popullatën normale të kontrollit dhe në të sëmurët me AR.

Alelet HLA	Kontrollet normale	Pacientët RA
DRB1		
01	0.0491	0.0630
03	0.0538	0.0550
04	0.0807	0.0985
07	0.0644	0.0300
08	0.0278	0.0350
10	0.0209	0.0200
11	0.2621	0.2319
12	0.0288	0.0100
13	0.1248	0.0954
14	0.0755	0.0600
15	0.0759	0.0985
16	0.1283	0.1761
Blank	0.0079	0.0210
DQB1		
02	0.1125	0.0800
03	0.3821	0.3631
04	0.0314	0.0350
05	0.2748	0.3229
06	0.1989	0.1933
Blank	0.0002	0.0056

HLA alele	Normal kontrollet	Nën-grupet e pacientëve RA											
		Nën-grupet e pacientëve të krahasuar me kontrollet normale								Nën-grupet e pacientëve ACPA - and RF - krahasuar me ato ACPA + and RF+			
		ACPA pozitiv (N =46)		RF pozitiv (N =48)		ACPA pozitiv / RF pozitiv (N =35)		ACPA negative / RF negative / ANA negative (N =26)		ACPA negative (N = 54)		RF negative (N = 52)	
DRB1	Nr i aleleve (%)	Nr i aleleve (%)	OR (95% CI) P vlera	Nr of alleles (%)	OR (95% CI) P value	Nr i aleleve (%)	OR (95% CI) P value	Nr i aleleve (%)	OR (95% CI) P value	Nr i aleleve (%)	OR (95% CI) P value	Nr i aleleve (%)	OR (95% CI) P vlera
01	18 (9.4%)	8 (17.4%)	2.0(0.8-5.0) 0.12	8 (16.6%)	1.9(0.8-4.7) 0.15	7 (20%)	2.4 (0.9-6.3) 0.07	1 (3.8%)	0.4 (0.04-3) 0.3	4 (7.4%)	2.63 (0.7-9.4) 0.14	4 (7.7%)	2.4 9 (0.7-8.5) 0.17
03	18 (9.4%)	5 (10.8%)	1.2 (0.4-3.3) 0.8	5 (10.4%)	1.1(0.4-3.2) 0.8	5 (14.3%)	1.6(0.5-4.6) 0.4	1 (3.8%)	0.4(0.04-3) 0.3	6 (11.1%)	0.97 (0.3-3.4) 0.96	6 (11.5%)	0.9 (0.3-3.1) 0.85
04	30 (15.7%)	18 (39%)	3.4(1.7-7.0) **0.0006**	16 (33.3%)	2.7(1.3-5.5) **0.0006**	15 (43%)	4.0 (1.8-8.7) **0.0004**	0 (0%)	0.09(0.01-1.6) 0.1	1 (1.8%)	34.0 (4.3 -268.7) **0.0008**	3 (5.8%)	8.1 (2.2-30.3) **0.0017**
07	23 (12%)	2 (4.3%)	0.3 (0.1-1.5) 0.14	2 (4.2%)	0.3 (0.1-1.4) 0.12	2 (5.7%)	0.4 (0.1-2) 0.3	2 (7.7%)	0.6(0.13-27) 0.5	4 (7.4%)	0.6 (0.1-3.3) 0.5	4 (7.7%)	0.5 9 (0.1-3.0) 0.5
08	10 (5.3%)	4 (8.7%)	1.7 (0.5-5.8) 0.4	3 (6.2%)	1.2 (0.3- 4.6) 0.8	3 (8.6%)	1.7 (0.4-6.5) 0.4	1 (3.8%)	0.7(0.1-5.8) 0.7	3 (5.5%)	1.6 (0.34-7.6) 0.54	4 (7.7%)	0.8 (0.2-3.8) 0.8
10	8 (4.2%)	2 (4.3%)	1.0 (0.2-5.2) 0.9	2 (4.2%)	1.0 (0.2- 4.8) 1.0	1 (2.8%)	0.7(0.1-5.5) 0.7	0 (0%)	0.4 (0.02-7.2) 0.5	2 (3.7%)	1.2 (0.16-8.7) 0.87	2 (3.8%)	1.0 (0.15-8.0) 0.9
11	86 (45%)	14 (30.4%)	0.5 (0.3-1.0) 0.07	16 (33.3%)	0.6 (0.3-1.3) 0.2	8 (23%)	0.4(0.2-0.8) **0.01**	8 (30.7%)	0.5 (0.2-1.3) 0.2	31 (57.4%)	0.32 (0.14-0.7) **0.007**	29 (55.8%)	0.4 (0.2-0.9) 0.02
12	11 (5.8%)	0 (0%)	0.2 (0.01-2.9) 0.2	0 (0%)	0.2 (0.01-2.8) 0.2	0 (0%)	0.2(0.01-2.8) 0.3	1 (3.8%)	0.6 (0.1-5.2) 0.7	2 (3.7%)	0.2 (0.01-4.8) 0.34	2 (3.8%)	0.2 (0.01-4.4) 0.3
13	45 (23.5%)	6 (13%)	0.5 (0.2-1.2) 0.12	3 (6.3%)	0.2 (0.06-0.7) **0.01**	2 (5.7%)	0.2(0.04-0.9) 0.03	4 (15.4%)	0.6 (0.2-1.8) 0.3	12 (22.2%)	0.5 (0.18-1.5) 0.23	15 (28.8%)	0.2 (0.04-0.6) **0.007**
14	27 (14.1%)	5 (10.8%)	0.7 (0.3-2) 0.6	8 (16.7%)	1.2 (0.5- 3) 0.7	5 (14.3%)	1.0(0.4-2.8) 1.0	2 (7.7%)	0.5 (0.1-2.2) 0.4	8 (14.8%)	0.7 (90.2-2.3) 0.6	5 (9.6%)	1.9 (0.6-6.2) 0.3
15	29 (15.2%)	9 (19.6%)	1.4 (0.6-3) 0.5	9 (18.7%)	1.3 (0.6- 3) 0.5	6 (17.1%)	1.2(0.4-3) 0.8	3 (11.5%)	0.7 (0.2-2.6) 0.6	10 (18.5%)	1.0 (0.4-3.0) 0.9	10 (19.2%)	1.0 (0.4-2.6) 0.9
16	48 (25.1%)	15 (32.6%)	1.4 (0.7-3) 0.3	18 (37.5%)	1.8(0.9-3.5) 0.08	11 (31.4%)	1.4(0.6-3) 0.4	5 (19.2%)	0.7 (0.2-2.0) 0.5	18 (33.3%)	0.96 (0.4-2.2) 0.9	15 (28.8%)	1.5 (0.6-3.4) 0.4

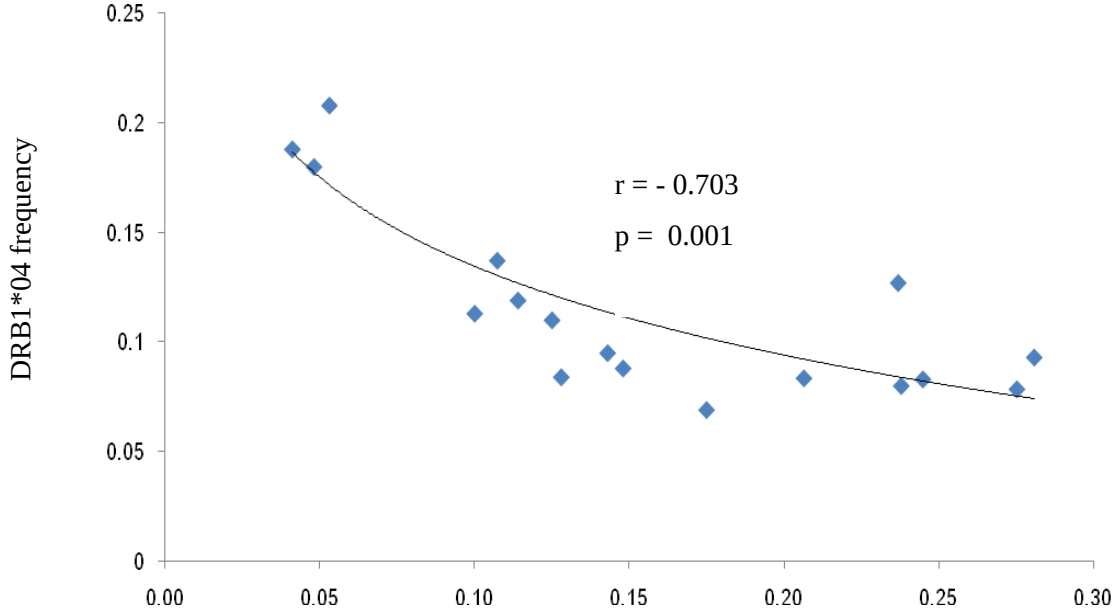
Tabela 5. Frekuenca e aleleve HLA-DRB1 dhe –DQB1 në grupet serologjikë të pacientëve me RA të krahasuar me kontrollet normale, si dhe e pacientëve RA ACPA dhe RF positive të krahasuar me pacientët ACPA dhe RF negative.

OR: Odds Ratio; **95% CI**: 95% Confidence Interval i odds ratio. Vlerat **P** të ndryshimeve statistikisht sinjifikative pas korrigjimit të Bonferroni ($\alpha' = 0.0125$) janë paraqitur në "bold".

Table 6. Shpeshtësia e aleleve DRB1*04, *11 and *13 në 19 popullatat europiane dhe prevalenca respektive e RA (pacientë për 100 banorë) kur janë të disponueshme.
*n.a.: not available

Popullatat europiane të studiuara	**RA prevalenca**	**DRB1*04**	**DRB1*11**	**DRB1*13**
Wales	0.85	0.208	0.053	0.098
Ireland (Northern)	0.5	0.188	0.041	0.081
Scotland (Orkney)	0.85	0.180	0.048	0.096
France (South/East)	0.31	0.150	0.150	0.159
Portugal (Center)	0.47	0.137	0.107	0.157
Bosnia-Herzegovina	*n.a.	0.127	0.149	0.104
Bulgaria	0.48	0.127	0.237	0.136
Russia (Northwest)	0.61	0.119	0.114	0.124
Germany (Essen)	0.83	0.113	0.100	0.133
Czech Republic	0.61	0.110	0.125	0.148
Austria	0.47	0.095	0.143	0.142
Greece (pop3)	0.35	0.093	0.281	0.090
Serbia	0.19	0.088	0.148	0.127
Poland	0.45	0.084	0.128	0.098
Spain (Ibiza)	0.5	0.083	0.206	0.067
Macedonia (pop1)	n.a.	0.083	0.245	0.108
Italy	0.33	0.080	0.238	0.157
Albania	n.a.	0.078	0.275	0.119
Croatia (pop 2)	n.a.	0.069	0.175	0.098

Figura 15. Paraqitje grafike e korelacionit midis frekencave të aleleve DRB1*04 dhe DRB1*11 në 19 popullatat europiane të studiuara.



3. Përfundime

Nga studimi i kryer me gjenet e sistemit HLA në popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë, të krahasuara këto me popullatat e tjera europiane dhe ballkanike mund të nxirren shkurtimisht disa konkluzione të rëndësishme:

1. *Së pari*, distanca gjenetike, e llogaritur sipas frekuencave të aleleve HLA, midis dy popullsive shqiptare, asaj në Shqipëri dhe në Kosovë është e papërfillshme, provë e parë kjo e unitetit gjenetik të popullit shqiptar kudo ku ai jeton.

2. *Së dyti*, në rajonin ballkanik diferencohen dy grupe popullatash kryesore: një grup i përbërë nga popullatat greke, shqiptare, bullgare dhe maqedonase si dhe një grup tjetër ku marrin pjesë popullatat serbe, boshnjake dhe kroate. Popullatat që bëjnë pjesë në secilin nga këto dy grupe kryesore kanë një ngjashmëri shumë më të madhe brenda grupit se me çdo popullatë të grupit tjetër. Është interesant fakti se këto ndryshime të konstatuara në gadishullin Ballkanik janë më të spikatura në krahasim me rajonet e tjera tëEuropës qendrore, veriore ose veriperëndimore ku nuk vihen re diferencime të tilla, megjithëse këto rajone shtrihen në sipërfaqe më të gjëra se rajoni ballkanik.

3. *Së treti*, midis popullatës shqiptare kosovare nga njëra anë dhe popullatës serbe nga ana tjetër ndryshimet në distancat gjenetike janë të dukshme dhe statistikisht sinjifikative. Kjo shkon në kundërshtim me rregullin e përgjithshëm të lidhjes së ngushtë të distancave gjenetike me ato gjeografike. Këto fakte shkencore të bazuara në studime gjenetike të kryera në ADN-në e popullatave aktuale mbështesin tezën e autoktonisë së shqiptarëve të ngritur fort nga të parët tanë rilindas.

4. Nga ana tjetër afërsia gjenetike e popullatave shqiptare, si ne Shqipëri dhe Kosovë, me ato greke konfirmon autoktoninë e lashtë të këtyre dy popujve fqinjë në këto troje si dhe mbështet teorinë e origjinës së përbashkët pellazgjike të këtyre dy popujve. Nëqoftëse teoritë e "mohuesve të autoktonisë shqiptare" mbi migrimin e vonshëm të shqiptarëve në trojet aktuale do të ishin të vërteta, atëherë midis popullatave shqiptare dhe atyre greke ndryshimet gjenetike do të ishin të dukshme, ashtu siç ndodh me popullatën serbe. Është interesant fakti se të dhënat e studiuesve shqiptarë janë konfirmuar së fundmi dhe nga një studim i kryer nga gjenetistë amerikanë (Ralph dhe Coop, *Universiteti i Kalifornisë*, korrik 2012). Këta studiues, duke përdorur gjithashtu metoda të biologjisë molekulare (të ndryshme nga sistemi HLA), kanë arritur në konkluzione të ngjashme me studiuesit shqiptarë.

5. Një impakt direkt dhe praktik i këtyre gjetjeve të reja është dobia (dhe nevoja) e krijimit të regjistrave kombëtarë dhe ndërkombëtarë të dhuruesve të qelizave bazë gjakformuese (staminale) si dhe të organeve për rajonin ballkanik. Duke patur parasysh afërsinë gjenetike të popujve që banojnë në këtë rajon, këta regjistra do të ishin shumë të vlefshëm për të vënë në dispozicion të të sëmurëve që kanë nevojë për transplante, dhurues pa lidhje gjaku me ta, por të përshtatshëm nga ana imunogjenetike. Heterogjeneciteti i restriktuar gjenetik në popullatat shqiptare si në Shqipëri dhe në Kosovë ngre rëndësinë e realizimit të regjistrave të dhuruesve të organeve dhe QBH të përbashkëta midis Kosovës dhe Shqipërisë, e cila bën të mundur gjetjen në mënyrë efikase të dhuruesve të përshtatshem në këto popullata.

6. Antitrupat anti-peptide ciklikë të citrulinuar (ACPA) luajnë një rol të rëndësishëm diagnostik në diagnozën e Artritit reumatoid. Ato kanë një specificitet më të lartë se faktori reumatoid dhe së bashku me të rrisin në mënyrë të konsiderueshme realizimin e hershëm dhe të saktë të diagnozës të AR.

7. Prevalenca e ACPA në AR është më e ulët në popullatën shqiptare në krahasim me popullatat e tjera të Europës Veriore e Përëndimore.

8. Prevalenca më e ulet e ACPA për AR në popullatën shqiptare është e lidhur me shpeshtësinë më të ulët të HLA-DRB1*04 në popullatën shqiptare në krahasim me popullatat e tjera të Europes Veriore e Përendimore. Probabilisht edhe graviteti më i ulët klinik i AR në popullatën shqiptare mund të lidhet me shpështësinë më të ulët të HLA-DRB1*04 në këtë popullatë.

9. Ekziston një përpjestim i zhdrejtë midis frekuencës së HLA-DRB1*04 dhe HLA-DRB1*11 në popullatat europiane. Kjo mund të lidhet me një frekuencë më të pakët të sëmundjeve autoimune të lidhura me alelet HLA-DRB1 në popullatën tonë.

10. Nje përpjestim statistikisht sinjifikativ (i drejtë) u vu re midis prevalencës së AR në popullatat europiane dhe shpeshtësisë së HLA-DRB1*04 në këto popullata. Gjithashtu një përpjestim statistikisht sinjifikativ negativ (i zhdrejtë) u vu re midis prevalencës së AR në popullatat europiane dhe shpeshtësisë së HLA-DRB1*11.

11. Përcaktimi i aleleve predispozuese HLA-DRB1*04 dhe HLA-DRB1*01 dhe i atyre mbrojtëse HLA-DRB1*11 dhe HLA-DRB1*13 merr vlerë diagnostike si dhe prognostike në raste të veçanta kur diagnoza e AR është e paqartë.

4. Rekomandime

1. I rekomandojmë institucioneve që merren me studimet e origjinës së popullit shqiptar apo me studime albanologjike që të marrin parasysh përfundimet e mëposhtme të studimit tonë:

   a) Prova e parë gjenetike e unicitetit të popullit shqiptar, e cila evidentohet nëpërmjet distancave gjenetike të papërfillshme midis 2 popullatave, asaj shqiptare të Shqipërisë dhe popullatës shqiptare të Kosovës.

   b) Distancat e papërfillshme gjenetike midis popullatës shqiptare, greke, bullgare dhe maqedonase venë në dukje faktin se ekziston një bazë gjenetike e përbashkët e këtyre popujve. Kjo flet në favor të teorisë së përbashkët pellazgjike të këtyre popujve.

   c) Fakti që popullata shqiptare e Kosovës është gjenetikisht e largët nga ajo serbe me ndyshim statistikor, mbështet autoktoninë e popullit shqiptar në ato vise.

2. Fakti i ngjashmërisë gjenetike të madhe të sistemit HLA midis popullatave shqiptare në Kosovë dhe Shqipëri mbështet rëndësinë e madhe të hartimit të programeve të përbashkëta të transplanteve të organeve dhe QBGJ. Rekomandojmë autoritetet vendimmarrëse në politikat shëndetsore të marrin masa për hartimin e këtyre programeve të përbashkëta.

3. Rekomandojmë hartimin e regjistrave të përbashket për dhurues pa lidhje gjaku të QBGJ për popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosove që duhet të kenë një madhësi prej 2500 deri 3000 dhuruesish për të përballuar nëvojat për dhurim për transplant të këtyre qelizave.

4. Diagnoza e Artritit reumatoid përmirësohet në mënyrë të konsiderueshme nëpërmjet testimit të antitrupave anti-peptide ciklike të citrulinuar në të sëmurët me këtë sëmundje. Rekomandojmë testimin në mënyrë sistematik të këtyre antitrupave për diagnozën e kësaj sëmundjeje, krahas faktorit reumatoid.

5. Nevojiten studime më të detajuara për prevalencën e AR në popullatën shqiptare të krahasuara këto me popullatat europiane, për të nxjerrë në pah nëse korrelacioni i zhdrejtë i gjetur nga ne midis frekuencës së aleleve HLA-DRB1*04 me ato HLA-DRB1*11 dhe 13 në popullatat europiane është gjithashtu i asociuar me ndryshime në prevalencën e AR dhe/ose me një shkallë te ulët të progresivitetit të sëmundjes, siç vërehet në popullatën shqiptare.

6. Në raste të veçanta, kur kërkohet konfirmimi me siguri të lartë i diagnozës së artritit rheumatoid, rekomandohet të realizohet genotipizimi i aleleve HLA-DRB1 me rezolucion të larte. Prania e

aleleve favorizuese HLA-DRB1*04 dhe HLA-DRB1*01 flasin në favor të kësaj diagnoze, ndërkohë që alelet mbrojtëse HLA-DRB1*11 dhe HLA-DRB1*13 nuk mbështesin këtë diagnozë.

7. Në bazë të konkluzioneve të studimit tonë rekomandojmë shtrirjen e këtij studimi në përdorimin e markuesve të tjerë gjenetikë polimorfe si psh. me anë të polimorfizmit të nukleotideve të veçuar (SNP).

8. Rekomandojmë shtrirjen e studimit tonë dhe në sëmundje të tjera autoimmune si sëmundjet autoimune të tiroides etj.

9. Rekomandojmë studime më të zgjeruara për të hulumtuar lidhjen e mundshme midis shpeshtësisë së aleleve HLA në popullata të ndryshme europiane si dhe prevalencës apo gravitetit të sëmundjeve autoimmune në këto popullata.

5. Literatura

5.1. Burime të literaturës ndërkombëtare mbi tematikat e projektit:

1. Bodmer JG, Marsh SG, Albert ED et al. Nomenclature for factors of the HLA system 1998. Hum Immunol 1999: 60: 361–95.
2. Imanishi T, Wakisaka A, Gojorobi T. Genetic relationships among various human populations indicated by MHC polymorphism. In: Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T, eds. HLA 1991. Vol I. Oxford: Oxford University Press, 1992: 627–32.
3. Imanishi T, Akaza T, Kimura A, Tokunaga K, Gojorobi T. Allele and haplotype frequencies for HLA and complement loci in various ethnic groups. In: Tsuji K, Aizawa M, Sasazuki T, eds. HLA 1991. Vol I. Oxford: Oxford University Press, 1992: 1065–220.
4. Bodmer J. HLA and Anthropology. In: tërasaki P, Gjertson D, eds. HLA 1997. Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory, 1997: 45–55.
5. Piazza A, Lonjou C. HLA in Europe and in Mediterranean countries. In: Charron D, ed. Genetic diversity of HLA. Functional and medical implications. Vol I. Paris: EDK, 1997: 374–84.
6. Tiilikainen A, Fisher G, Grubic Z. Anthropological features of the East European Region. In: Charron D, ed. Genetic diversity of HLA. Functional and medical implications. Vol I. Paris: EDK, 1997: 307–14.
7. Stavropoulos-Giokas C, Papasteriades C, Polymenidis A. HLA in MEDI region populations: 12th International Histocompatibility Workshop MEDI Region report. In: Charron D, ed. Genetic diversity of HLA. Functional and medical implications. Vol I. Paris: EDK, 1997: 323–8.
8. Ivanova R, Naumova E, Lepage V et al. HLA-DRB1, DQA1, DQB1 polymorphism in the Bulgarian population. Tissue Antigens 1996: 47: 122–7.
9. Clayton J, Lonjou C, Whittle D. Allele and Haplotype frequencies for HLA loci in various ethnic groups. In: Charron D, ed. Genetic diversity of HLA. Functional and medical implications. Vol. I. Paris: EDK, 1997: 665–820.
10. Contu L, Carcassi C. Sardinian Normal. In: tërasaki P, Gjertson D, eds. HLA 1997. Los Angeles: UCLA Tissue Typing Laboratory, 1997: 243.
11. Eichler H, Richter E, Schwarz K, Woelpel A, Goldmann SF. Turkish Normal. In: tërasaki P, Gjertson D, eds. HLA 1998. Lenexa, KS: American Society for Histocompatibility and Immunogenetics, 1998: 190–1.
12. Mitsuishi Y, Ge P, Bibee KI et al. Armenian US Normal. In: tërasaki P, Gjertson D, eds. HLA 1998. Lenexa, KS: American Society for Histocompatibility and Immunogenetics, 1998: 106–7.

13. Vasilescu R, Ho E, McManus P et al. Romanian Normal. In: tërasaki P, Gjertson D, eds. HLA 1998. Lenexa, KS: American Society for Histocompatibility and Immunogenetics, 1998: 176–7.
14. Muro M. Caucasian Spanish Normal. In:Terasaki P, Gjertson D, eds. HLA 1998. Lenexa, KS: American Society for Histocompatibility and Immunogenetics, 1998: 186–7.
15. Gebuhrer L, Betuel H. Caucasian French Normal. In: tërasaki P, Gjertson D, eds. HLA 1998. Lenexa, KS: American Society for Histocompatibility and Immunogenetics, 1998: 142–3.
16. Ivashkova E, Bendukidze N, Kupkova L, Sajdlova H, Hana I. Czech Normal In: tërasaki P, Gjertson D, eds. HLA 1998. Lenexa, KS: American Society for Histocompatibility and Immunogenetics, 1998: 126–8.
17. Lenhard V, Peters A, Ballas M. Caucasian German Normal. In: tërasaki P, Gjertson D, eds. HLA 1998. Lenexa, KS: American Society for Histocompatibility and Immunogenetics, 1998: 146–7.
18. Haworth S, Davidson J, Kippax R, Dyer P. Caucasian English Normal. In: tërasaki P, Gjertson D, eds. HLA 1998. Lenexa, KS: American Society for Histocompatibility and Immunogenetics, 1998: 133.
19. Hidajat M, Andrien M, De Canck I, Dupont E. Caucasian Belgian Normal. In: tërasaki P, Gjertson D, eds. HLA 1998. Lenexa, KS: American Society for Histocompatibility and Immunogenetics, 1998: 119–21.
20. Nei M. Genetic distances between populations. Am Nat 1972: 106: 283–92.
21. Geer L, tërasaki P, Gjertson D. Gene frequencies and world maps of their distributions. In: tërasaki P, Gjertson D, eds. HLA 1998. Lenexa, KS: American Society for Histocompatibility and Immunogenetics, 1998: 327–63.
22. Bodmer J, Chambon-Thomsen A, Hors J, Piazza A, Sanchez-Hazas A. Anthropology report. Introduction. In: Charron D, ed. Genetic diversity of HLA. Functional and medical implications. Vol. I. Paris: EDK, 1997: 269–84.
23. Krausa P, Brywka M, Savage D et al. Genetic polymorphism within HLA-A*02: significant allelic variation revealed in different populations. Tissue Antigens 1995: 45: 223–31.
24. Papassavas E, Spyropoulou-Vlachou M, Papassavas A et al. MHC class I and class II phenotype, gene, and haplotype frequencies in Greeks using molecular typing data. Hum Immunol 2000: 61: 615–23.
25. Arnaiz-Villena A, Martinez-Laso J, Gomez-Casado E et al. Relatedness among Basques, Portuguese, Spaniards and Algerian studied by HLA allelic frequencies and haplotypes. Immunogenetics 1997: 47: 37–43.
26. Arnaiz-Villena A, Iliakis P, Gonzalez-Hevilla M et al. The origin of Cretan populations as determined by characterization of HLA alleles. Tissue Antigens 1999: 53: 213–26.

27. Arniaz-Vilena A, Benmamar D, Alvarez M et al. HLA allele and haplotype frequencies in Algerians. Relatedness to Spaniards and Basques. Hum Immunol 1995: 43: 259–68.
28. Martinez-Laso J, De Juan D, Martinez-Quiles N, Gomez-Casado E, Cuarado E, Arniaz-Villena A. The contribution of the HLA-A, -B, -C and -DR, -DQ DNA typing to the study of the origin of Spaniards and Basques. Tissue Antigens 1995: 45: 237–45.
29. Chimge N, Tanaka H, Kashiwase K et al.HLA system in the population of Mongolia. Tissue Antigens 1997: 49: 477–84.
30. Fisher DA, Schoen EJ, La Franchi S, Mandel SH, nëlson JC, Carlton EI and Goshi JH. The hypothalamic-pituitary-thyroid nëgative feedback control axis in children with treated congenital hypothyroidism. J Clin Endocrinol Metab 2000;85:2722-7.
31. Nohr SB, Jorgensen A, Pedersen KM and Laurberg P. Postpartum thyroid dysfunction in pregnant thyroid përoxidase antibody-positive women living in an area with mild to moderate iodine deficiency: Is iodine supplementation safe? J Clin Endocrinol Metab 2000;85:3191-8.
32. Panesar NS, Li CY and Rogers MS. Reference intervals for thyroid hormones in pregnant Chinese women. Ann Clin Biochem 2001;38:329-32.
33. Visser H, le Cessie S, Vos K et al. How to diagnose rheumatoid arthritis early: a prediction model for përsistent (erosive) arthritis. Arthritis Rheum 2002;46:357–65.
34. van Venrooij WJ, Hazes JM, Visser H. Anticitrullinated protein/peptide antibody and its role in the diagnosis and prognosis of early rheumatoid arthritis. nëth J Med 2002;60:383–8.
35. van Boekel MA, Vossenaar ER, van den Hoogen FH, van Venrooij WJ. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis: specificity, sensitivity and diagnostic value. Arthritis Res 2002;4:87–93.
36. Steiner G, Smolen JS. Autoantibodies in rheumatoid arthritis and their clinical significance. Arthritis Res 2002;4(Suppl. 2):S1–S5.
37. Marcelletti JF, Nakamura RM. Assessment of serological markers associated with rheumatoid arthritis: diagnostic autoantibodies and conventional disease activity markers. Clin Appl Immunol Rev 2003;4:109–23.
38. Vossenaar ER, Zendman AJ, van Venrooij WJ, Pruijn GJ. PAD, a growing family of citrullinating enzymes: genes, features and involvement in disease. Bioessays 2003;25:1106–18.
39. Vittecoq O, Incaurgarat B, Jouen-Beades F et al. Autoantibodies recognizing citrullinated rat filaggrin in an ELISA using citrullinated and non-citrullinated recombinant proteins as antigens are highly diagnostic for rheumatoid arthritis. Clin Exp Immunol 2004;135:173–80.
40. Nissinen R, Paimela L, Julkunen H et al. Peptidylarginine deiminase, the arginine to citrulline converting enzyme, is frequently recognized by sera of patients with rheumatoid arthritis,

systemic lupus erythematosus and primary Sjogren syndrome. Scand J Rheumatol 2003;32:337–42.

41. Nogueira L, Sebbag M, Vincent C et al. Përformance of two ELISAs for antifilaggrin autoantibodies, using either affinity purified or deiminated recombinant human filaggrin, in the diagnosis of rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2001;60:882–7.
42. Vincent C, Nogueira L, Sebbag M et al. Detection of antibodies to deiminated recombinant rat filaggrin by enzyme-linked immunosorbent assay: a highly effective tëst for the diagnosis of rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 2002;46:2051–8.
43. Union A, Meheus L, Humbel RL et al. Identification of citrullinated rheumatoid arthritis-specific epitopes in natural filaggrin relevant for antifilaggrin autoantibody detection by line immunoassay. Arthritis Rheum 2002;46:1185–95.
44. Nielen MM, van der Horst AR, van Schaardenburg D et al. Antibodies to citrullinated human fibrinogen (ACF) have diagnostic and prognostic value in early arthritis. Ann Rheum Dis 2005;64:1199–204.
45. Schellekens GA, Visser H, de Jong BA et al. The diagnostic propërties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. Arthritis Rheum 2000;43:155–63.
46. Van Gaalen FA, Visser H, Huizinga TW. A comparison of the diagnostic accuracy and prognostic value of the first- and second anti-cyclic citrullinated peptides autoantibody (CCP1 and CCP2) tësts for rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 2005.
47. Pinheiro GC, Scheinberg MA, Aparecida da Silva M, Maciel S. Anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in advanced rheumatoid arthritis. Ann Intern Med 2003;139:234–5.
48. The quality of life of patients with end-stage renal disease. Evans R., Manninen DL, Garrison LP. N Engl J Med 312:553-559.
49. Meier-Kriesche EU et al Kidney transplantation halts cardiovascular disease progression in patients with end stage renal disease. Am J Transplant 2004; 4:1662.
50. Lentine KL et al. Incidence and predictors of myocardial infarction after kidney transplantation. J Am Soc nëphrol 2005; 16: 496.
51. Acute myocardial infarction and kidney transplantation. J Am Soc nëphrol 2006; 17:900.
52. Lumsdaine et al. Higher quality of life in living donor kidney transplantation: prospective cohort study.
53. Harada KM. Risk factors associated with graft loss and patient survival after kidney transplantation. Transplant Proc. 2009 Nov;41(9):3667-70.

54. William E. Braun, Naga G. Yadlapalli. The spectrum of long-term renal transplantation: Outcomes, complications, and clinical studies. Transplantation reviews Vol. 16; Issue 1; 22-50; January 2002
55. Roberts I et al. Impact of immunosuppression on the incidence of early suclinical renal allograft rejection: implications for protocol biopsy policy. Transplant International Vol 22; 8; 831-837; august 2009
56. Seron D et al. Protocol renal allograft biopsies and the design of clinical trials aimed to prevent or treat chronic allograft nëphropathy. Transplantation 2000; 69:1849.
57. Choi BS et al. Clinical significance of an early protocol biopsy in living-donor renal transplantation. Am J Transplant 2005; 5: 1354.
58. Gourraud, P.A., Barnetche, T., Vidan-Jeras, B., Cambon-Thomsen, A. (2005). Introduction to statistical analysis of population data in immunogenetics. Transplant Immunology, 14:245.
59. Ivanova M, Spassova P, Michailova A, Naumova E. (2004). Distributions of HLA class I alleles and haplotypes in Bulgarians - contribution to understanding the origin of the population. Hum Immunol 65:1093-4.
60. Petlichkovski A, Efinska-Mladenovska O, Trajkov D, Arsov T, Strezov, A, Spiroski, M. (2004). High-resolution typing of HLA-DRB1 locus in the Macedonian population. Tissue Antigens 64:486-91.
61. Excoffier, L., G. Laval, & Schneider, S. (2005). Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online, 1: 50.
62. Gonzalez-Galarza FF, Christmas S, Middleton D and Jones AR. (2011). Allele frequency nët: a database and online repository for immune gene frequencies in worldwide populations. Nucleic Acid Research, 39: D913-D919.

5.2 Artikuj shkencorë nga grupi studiues mbi tematikat e projektit

1. 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 nëighbouring areas. Tissue Antigens 2014 May;83(5):307-23. doi: 10.1111/tan.12356.

2. Shyti E, Idrizi A , Sulcebe G. Histocompatibility tësting for organ transplantation purposes in Albania: A single center expërience Balkan Medical Journal (accepted for publication).

3. Semanaj V, Pecani A, Dedej T, Barbullushi A, Ylli Z, Curaj T, Pulluqi P, Caja T, Përolla A, Ivanaj A, Xhumari P, Sulcebe G. The diagnostic value of flow cytometry imunophenotyping in an Albanian patient population with a preliminary clinical diagnosis of chronic lymphocytic leukemia. Maced J Med Sci. 2014 Mar 15; 7(1):51-55.

4. Prifti-Kurti M, Nunes JM, Shyti E, Ylli Z, Sanchez-Mazas A, Sulcebe G. HLA-DRB1 and HLA-DQB1 allele associations in an Albanian patient population with rheumatoid arthritis: correlations with the specific autoantibody markers and inter-population DRB1 allele frequency variability. Rheumatol Int. 2014 Jan 1. [Epub ahead of print]

5. Riccio, M. E., S. Buhler, J. M. Nunes, C. Vangenot, M. Cuénod, M. Currat, D. Di, G. Sulcebe et al. "16th IHIW: Analysis of HLA Population Data, with updated results for 1996 to 2012 workshop data (AHPD project report)." Int J Immunogenet. 2013 Feb;40(1):21-30. doi: 10.1111/iji.12033. Epub 2012 Dec 22.

6. Sulcebe G, M. Cuenod, A. Sanchez-Mazas, J-M. Tiercy, B. Zhubi, E. Shyti, and V. Kardhashi. "Human leukocyte antigen-A,-B,-C,-DRB1 and-DQB1 allele and haplotype frequencies in an Albanian population from Kosovo. Int J Immunogenet. 2013 Apr;40(2):104-7. doi: 10.1111/j.1744-313X.2012.01136.x. Epub 2012 Jun 22.

7. Sanchez-Mazas, Alicia, B. Vidan-Jeras, J. M. Nunes, G. Fischer, A-M. Little, U. Bekmane, Stéphane Buhler, G. Sulcebe et al. "Strategies to work with HLA data in human populations for histocompatibility, clinical transplantation, epidemiology and population genetics: HLA-NET methodological recommendations. Int J Immunogenet. 2012 Dec;39(6):459-72; quiz 473-6. doi: 10.1111/j.1744-313X.2012.01113.x. Epub 2012 Apr 26.

8. Nunes M, Riccio E, Sulcebe G et al. 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, 18–30.

9. Sulcebe G, Kondakciu M, Shehu B, Cullufi P. Prevalenca e antitrupave anti-gliadinë dhe anti-transglutaminazë indore në fëmijët e dyshuar për sëmundje celiake. Buletini i Shkencave Mjeksore, 2010, 2, 44-49.

10. Sulcebe G, Sanchez-Mazas A, Tiercy J-M, Shyti E, Mone I, , Ylli Z, Kardhashi V. “HLA allele frequencies in the Albanian population and their relationships with the other European populations”, Int J Immunogenet. 2009 Dec;36(6):337-43. Epub 2009 Aug 24.

11. Sulcebe G, Ylli Z, Shyti E, Hoxha P. Polimorfizmi alelik HLA-DRB1 dhe DQB1 në një grup të sëmurësh shqiptarë me Diabet Tip. Buletini i Shkencave Mjeksore 2009, Vol 40, Nr. 3, 3-9.

6. Aneksi 2

SITUACIONI PËRFUNDIMTAR I SHPENZIMEVE TË PROJEKTIT

Emërtimi i Agjencisë Ekzekutuese: Fakultetit të Mjekësisë, Universiteti i Tiranës

Titulli i projektit: **"Polimorfizmi gjenetik sistemit HLA në popullatën Shqiptare dhe roli i markuesve imunologjik dhe imunogjenetikë në realizimin e transplanteve dhe diagnozën e sëmundjeve autoimune".**

Pasqyrë e realizimit të financimit për vitet 2010-13

Nr. i artikullit	Emërtimi i artikullit	Fonde (në Mijë Lekë)				
		nga OQFP		nga vetë Agj. Ekz.	nga burime të tjera	Gjithsej
		Plan	Fakt	....	....	
230	**Shpz. për rritjen e Aktiveve të Qëndrueshme të Patrupëzuara** **1.Studime fizibiliteti** *-pagesa për grupin e punës* *-Shpenzime udhëtimi (dieta, hotel, bileta udhetimi, ...)* *-Shpenzime transporti (karburant, ...)* **2. Të tjera (që nuk përfshihen në studime fizibiliteti)** *-Shpenzime për të tretë* *-Shpenzime operative*	**2010:** 3007 (kite, reagentë laboratori) **2011:** 612 (kite, reagentë laboratori) **2012:** 2000 (kite, reagentë laboratori)	3007 612 2000	--- ----- ------	----- ------ ------	3007 612 2 000 ---------- **5619**
231	**Shpz. per rritjen e Aktiveve te Qendrueshme te Trupezuara** *-Shpenzime për aparate, pajisje teknike dhe vegla pune* *TOTALI*	**2011:** 340 (pajisje kompjuterike) **2013:** 2048 (pajisje laboratori) **2388** **8007**	340 2048 -------- **2388** **8007**			340 2048 ---------- **2388** **8007**

Drejtuesi i Grupit kërkimor **Përgjegjësi i financës** **Drejtori i Instituconit**

7. Aneksi 3

SKEDË INFORMATIVE

MBI RAPORTIN SHKENCOR TË STUDIMIT MBI PROJEKTIN QË FINANCOHET NË KUADRIN E PROGRAMEVE KOMBËTARE TË KËRKIMIT DHE ZHVILLIMIT

1. Raport shkencor (studimi) i projektit Nr._____

2. Titulli i projektit (studimit): **Polimorfizmi gjenetik i sistemit HLA në popullatën shqiptare dhe roli i markuesve imunologjikë dhe imunogjenetikë në realizimin e transplanteve dhe diagnozën e sëmundjeve autoimmune**

3. Institucioni përgjegjës: Shërbimi Universitar i Imunologjisë dhe Pajtueshmërisë Indore Fakulteti i Mjekësisë, Universiteti i Mjekësisë, Tiranë.

4. Vendndodhja e studimit: Tiranë

5. Drejtuesi shkencor i Projektit: Prof. Genc Sulcebe. Bashkëpunëtorët shkencorë: Prof. Asoc. Zamira Ylli, Dr. Margarita Prifti-Ylli, Dr. Arjana Strakosha, Biol. Erkena Shyti, Biol. Valentina Semanaj, Lab. Jonila Pasholli.

6. Data e përfundimit të Studimit: Dhjetor 2013

7. Numri i faqeve të studimit: 54

8. Numri i ilustrimeve : 15

9. Fjalët kyç: Programi Kombëtar për Kërkim e Zhvillim, Insuficienca renale kronike, Transplanti i qelizave bazë hematopoietike, Flakja e transplantit, Human leukocyte antigen, Agjensia Kombëtare për Kërkimet, Teknollogjinë dhe Inovacionin, Shërbimi Universitar i Imunologjisë dhe Pajtueshmërisë Indore , Antitrupat anti-peptide ciklike të citrulinuar, Artriti reumatoid.

10. Përmbledhje e studimit:

Në këtë projekt realizuam tipizimin HLA në popullatën shqiptare duket patur si qëllim kryesor aplikimin e këtij tipizimi në kryerjen e transplanteve në vendin tonë, si dhe krahasimin e distancave gjenetike midis popullatave shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë me popullatat e tjera europiane. Në këtë studim u përfshinë 380 individë të cilët janë tipizuar në lokuset HLA me metodat e biologjisë molekulare. Frekuencat e aleleve dhe haplotipeve HLA në popullatat e studiuara si dhe distancat gjenetike ndërmjet dy popullatave shqiptare të studiuara dhe popullatave të tjera u llogaritën me anë të programeve biostatistikore përkatëse më bashkëkohore. Nga studimi i kryer me genet e sistemit HLA në popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë, të krahasuara këto me popullatat e tjera europiane dhe ballkanike, si dhe nga studimi i lidhjeve HLA / artrit reumatoid mund të përmënden shkurtimisht konkluzionet e mëposhtme:

1. Distanca gjenetike midis dy popullsive shqiptare, asaj në Shqipëri dhe në Kosovë është e papërfillshme, provë kjo e unitetit gjenetik të popullit shqiptar kudo ku ai jeton.
2. Në rajonin ballkanik diferencohen dy grupe popullatash kryesore: një grup i përbërë nga popullatat greke, shqiptare, bullgare dhe maqedonase si dhe një grup tjetër ku marrin pjesë popullatat serbe, boshnjake dhe kroate. Popullatat që bëjnë pjesë në secilin nga këto dy grupe kryesore kanë një ngjashmëri shumë më të madhe brenda grupit se me çdo popullatë të grupit tjetër.
3. Midis popullatës shqiptare kosovare nga njëra anë dhe popullatës serbe nga ana tjetër ndryshimet në distancat gjenetike janë të dukshme dhe statistikisht sinjifikative. U rekomandojmë institucioneve që merren me studimet e origjinës së popullit shqiptar apo me studime albanologjike që të marrin parasysh përfundimet e mëposhtme të studimit tonë:

a) Si prova e parë gjenetike e unicitetit të popullit shqiptar, e cila evidentohet nëpërmjet distancave gjenetike të papërfillshme midis 2 popullatave, asaj shqiptare të Shqipërisë dhe popullatës shqiptare të Kosovës.
b) Distancat e paperfillshme gjenetike midis popullatës shqiptare, greke, bullgare dhe maqedonase vënë në dukje faktin se ekziston një bazë gjenetike e përbashkët e këtyre popujve. Kjo flet në favor të teorisë së përbashkët pellazgjike të këtyre popujve.
c) Fakti që popullata shqiptare e Kosovës është gjenetikisht e largët nga ajo serbe me ndryshim statistikor, mbështet autoktonine e popullit shqiptar në ato vise.

4. Rekomandojmë hartimin e regjistrave të përbashkët per transplante te organeve dhe qelizave baze hematopoietike në popullatat shqiptare në Shqipëri dhe Kosovë. Per realizimin e transplanteve te qelizave baze hematopoietike duhet të realizohen rregjistra me një madhësi prej 2500 deri 3000 dhuruesish për të përballuar nevojat për dhurim për transplant të këtyre qelizave.

5. Prevalenca më e ulët e ACPA për AR në popullatën shqiptare është probabilisht e lidhur me shpeshtësinë më të ulët të HLA-DRB1*04 në popullatën shqiptare në krahasim me popullatat e tjera të Europes Veriore e Perëndimore. Probabilisht edhe graviteti më i ulet i AR në popullatën shqiptare mund të lidhet me shpeshtësinë më të ulët të HLA-DRB1*04 në këtë popullatë.

6. Ekziston një përpjestim i zhdrejtë midis frekuencës së HLA-DRB1*04 dhe HLA-DRB1*11 në popullatat europiane. Gjithashtu ne vumë në dukje një lidhje statistikisht sinjifikative midis frekuencës së aleleve HLA-DRB1*04 dhe HLA-DRB1*11 dhe prevalencës së AR në popullatat europiane. Këto lidhje mund të shpjegojë frekuencën më të ulët të AR në popullatën tonë si dhe në vëndet e tjera të Europes juglindore dhe mesdhetare në krahasim me popullatat europiane-veriore dhe perëndimore.

7. Diagnoza e Artritit reumatoid përmirësohet në mënyrë të konsiderueshme nëpërmjet testimit të antitrupave anti peptide ciklike të citrulinuar (ACPA) në të sëmurët me këtë sëmundje. Rekomandojmë bërjen në mënyrë sistematike të këtyre antitrupave për diagnozën e kësaj sëmundje, krahas faktorit reumatoid.

8. Në raste të veçanta, kur kërkohet konfirmimi me siguri më të lartë i diagnozës së artritit reumatoid mund të realizohet genotipizimi i aleleve HLA-DRB1 me rezolucion të lartë. Prania e aleleve favorizuese HLA-DRB1*04 dhe HLA-DRB1*01 flet në favor të kësaj diagnose, ndërkohë që prania e aleleve mbrojtëse HLA-DRB1*11 dhe HLA-DRB1*13 nuk mbështet këtë diagnozë.