

CANVI DE MÈTODE PER L' ESTUDI MOLECULAR DELS AL·LELS AMB SUSCEPTIBILITAT GENÈTICA A LA MALALTIA CELÍACA

La malaltia celíaca (MC) és una malaltia inflamatòria crònica intestinal, que es desencadena en individus genèticament predisposats, al ingerir aliments rics en prolamines que provenen del blat, la civada o el centè.

A Europa i USA afecta del 1 al 3% de la població amb una major prevalença en les dones.

El retràs de creixement i els símptomes digestius s'observen freqüentment aviat a l'inici de la malaltia mentre que en la seva aparició tardana s'observen altres símptomes extra digestius. Les complicacions sistèmiques inclouen anèmia ferropènica, osteoporosi, limfomes, etc.

El diagnòstic precís de la MC requereix de la combinació de tècniques serològiques, moleculars i histològiques. Malgrat els avenços aconseguits en l'obtenció de nous mètodes de diagnòstic, la millora clínica del pacient davant d'una dieta lliure de gluten constitueix la prova clínica que millor defineix el diagnòstic final de celiàquia.

A nivell molecular, la MC està associada a gens del sistema HLA.

Els gens HLA (*Human Leukocyte Antigen*) del complexa major d'histocompatibilitat (MHC), es troben localitzats en una regió del braç curt del cromosoma 6 (6p21). Aquests gens són altament polimòrfics, cada locus presenta gran varietat al·lèlica i l'expressió del al·lels és codominant.

Els primers estudis que van mostrar associació del sistema HLA a la MC , van descriure la susceptibilitat aportada pel HLA-B8 (anteriorment HL-A8), detectat per tècniques serològiques . Posteriorment es va observar associació amb HLA-DR3 i a més a més es va descobrir que es trobava formant part dels haplotips ancestrals 8.1 (A1-B8-DR3), que conté la variant HLA-B8, i 18.2 (A30-B18-DR3), ambdós altament conservats i que s'associen fortament a celiàquia en població caucàsica i de Sardenya , respectivament. Paral·lelament, es va detectar associació amb la variant DR7 quan apareixia en heterozigosi amb la variant DR5.

Estudis posteriors van revelar que la MC també s'associava al **HLA-DQ2** (anteriorment HLA-DQw2) , però sobretot a la combinació al·lèlica

HLADQA1*05 i HLA-DQB1*02 (HLA-DQ2.5), que codifiquen variants de les cadenes α i β , respectivament, de la molècula de presentació antigènica HLA-DQ. Aquestes variants al·lèliques poden presentar-se en cis (localitzades en el mateix cromosoma) o en trans (cada al·lel en un cromosoma homòleg diferent),

Catlab Informa

mostrant un desequilibri de lligament molt elevat amb les diferents variants DR anteriorment citades.

Aproximadament el 90% dels malalts celíacs presenta la molècula HLADQ2, però la seva presència no prediu el desenvolupament de la malaltia, ja que també apareix en un 25% de la població general sana.

La resta dels pacients celíacs que no tenen la combinació al·lèlica HLADQ2 (aproximadament el 8-10%), presenta majoritàriament la molècula HLA-DQ8: HLA-DQA1*0301 i HLA-DQB1*0302 en cis.

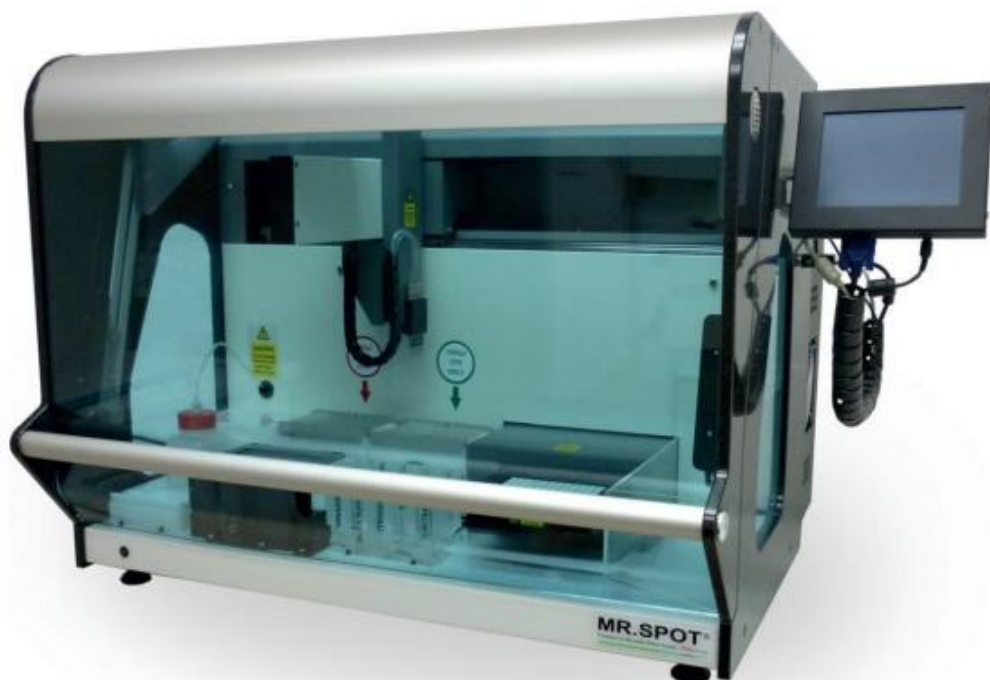
Fins al novembre del 2013 a CATLAB fèiem l'estudi molecular dels genotips(HLA-DQ2/DQ8) mitjançant una PCR convencional i una hibridació reversa en tires de nitrocel·lulosa. Aquests procediments eren molt manuals i suposaven una gran càrrega de treball.

A partir del desembre de 2013 incorporem una nou equip anomenat Mr Spot que ens permet fer un estudi complet de les dues regions genètiques relacionades amb la celiàquia (HLA-DQA/HLA-DQB).

Aquest equip està dissenyat per treballar amb la tècnica de la hibridació reversa adaptada a una placa de microarrays.

A partir d'una PCR convencional multiplex, l'equip Mr Spot es capaç de fer tota la hibridació i detecció de les regions estudiades de manera automàtica.

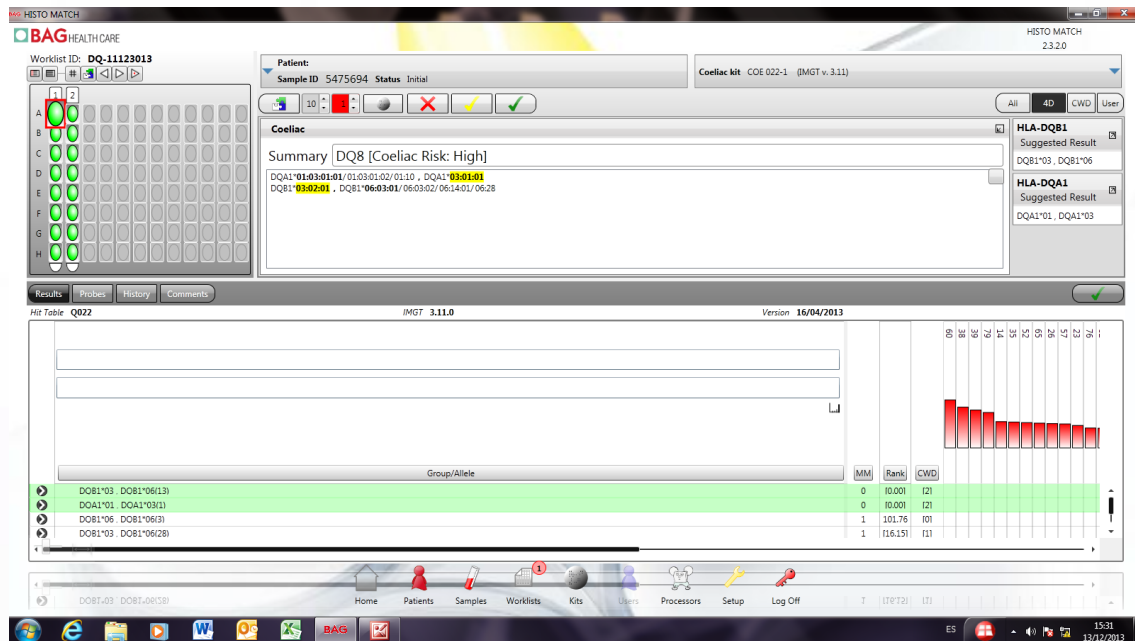
Mr Spot (BAG. Health care)



Catlab Informa

Aquest equip està associat a un software anomenat Histomach que ens facilitarà la interpretació final.

Exemple d'anàlisi amb el software Histomach:



Actualment som el primer laboratori de l'estat espanyol en incorporar aquest equip tan avançat per fer l'estudi dels al·lels de susceptibilitat a la malaltia celíaca.

Els avantatges del canvi són diversos. Un dels més importants és el seu alt grau d'automatització, que ens permet poder fer "runs" d'un major nombre de mostres amb un control del procés molt més exhaustiu.

Per altra banda també ens proporciona molta més informació a nivell genètic, i així podem donar un informe molt més complet als clínics.

Fins ara informaven de la presència o absència dels següents al·lels:

HLA-DQA1*0501 }
HLA-DQA1*0505 } La combinació d'aquest al·lels ens dona l' HLA-DQ2
HLA-DQB1*0201 }
HLA-DQB1*0202 }

HLA-DQA1*0301 } La combinació d'aquest al·lels ens dona l' HLA-DQ8
HLA-DQB1*0302 }

Catlab Informa

A partir de Desembre del 2013 **modifiquem la nomenclatura dels resultats** degut a la incorporació a l'estudi de nous al·lells quedant l'informe final de la següent manera:

HLA DQ2.5 ----- al·lels implicats: HLA-DQA1*0501
HLA-DQA1*0505
HLA-DQB1*0201
HLA-DQB1*0202

HLA DQ2.2 ----- al·lels implicats:

HLA-DQA1*0201

HLA-DOB1*0202

HLA DQ8 ----- al·lels implicats: HLA-DQA1*0301
HLA-DQB1*0302

L'heterodimer HLA-DQ2.2 apareix com un resultat nou que amplia l'estudi per saber la susceptibilitat genètica a la malaltia celíaca.

Paral·lelament aquesta tecnologia ens permet conèixer si aquests al·lels es troben en estat heterozigot u homozigot. Aquesta informació addicional pot ser important per valorar el risc genètic de la doble dosis gènica de l'al·lel HLA-B1*0201. Sempre que el clínic l'interessi aquesta informació complementària, es pot posar en contacte amb el servei i li podrem proporcionar.

Jordi Roigé
Biologia Molecular
CATLAB
Tel. 93.748.56.00 - ext. 5020 / 628.16.78.63
jroige@catlab.cat
www.catlab.cat

Bibliografia:

Fasano, A., Catassi, C. (2012). Celiac disease. *N Engl J Med*; 367,2419-26.

Megiorni, F., Pizzuti. A.(2012) *HLA-DQA1* and *HLADQB1* in Celiac disease predisposition: practical implications of the HLA molecular typing. *Journal of Biomedical Science*, 19.