

INTERPRETACE NEBĚŽNÝCH HAPLOTYPŮ

CELIAKIE

Vraná Milena

Odd. HLA, Národní referenční laboratoř pro DNA diagnostiku, ÚHKT, Praha



WWW.UHKT.CZ

Hodnocení nálezů vzhledem k celiakii

dle konsensu laboratoří ze dne 16. 2. 2015

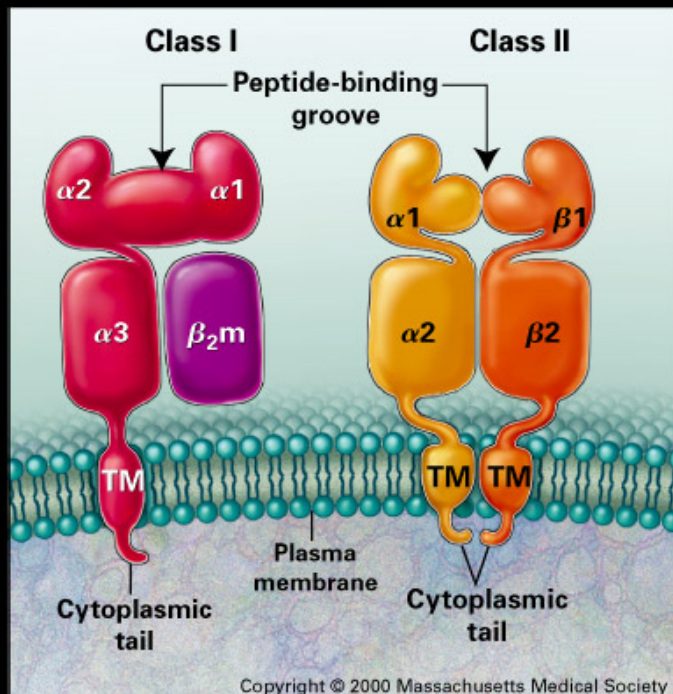
genotyp	Serologický ekvivalent	Kategorie hodnocení
DQA1*05:01/DQB1*02:01	DQ2.5 pozitivní DQ8 negativní	NALEZENÝ GENOTYP HLA JE ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE. Výsledek nelze samostatně interpretovat jako potvrzení celiakie vzhledem k jeho nízké specifitě pro tuto diagnosu.
DQA1*05:05/DQB1*03:01 současně s DQA1*02:01/DQB1*02:02	DQ2.5 pozitivní DQ8 negativní	NALEZENÝ GENOTYP HLA JE ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE. Výsledek nelze samostatně interpretovat jako potvrzení celiakie vzhledem k jeho nízké specifitě pro tuto diagnosu.
DQA1*03:01/DQB1*03:02	DQ8 pozitivní DQ2 negativní	NALEZENÝ GENOTYP HLA JE ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE. Výsledek nelze samostatně interpretovat jako potvrzení celiakie vzhledem k jeho nízké specifitě pro tuto diagnosu.
DQA1*02:01/DQB1*02:02 bez druhé predispoziční alely	DQ2.2 pozitivní DQ8 negativní	NALEZENÝ GENOTYP HLA JE ASOCIOVANÝ S OJEDINĚLÝM RIZIKEM CELIAKIE. Diagnosu celiakie nelze vyloučit.
DQA1*05:05/DQB1*03:01 bez druhé predispoziční alely	DQ2 negativní DQ8 negativní	NALEZENÝ GENOTYP HLA NENÍ ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE. Výsledek s vysokou pravděpodobností tuto diagnosu vylučuje.
Všechny HLA-DQ genotypy, které neobsahují DQA1*05 nebo 02/DQB1*02 ani DQA1*03:01/DQB1*03:02		NALEZENÝ GENOTYP HLA NENÍ ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE. Výsledek s vysokou pravděpodobností tuto diagnosu vylučuje.

Alely vázané s celiakií jsou uvedeny tučným písmem.

Hodnocení problematických výsledků MPZ 2015

vzorek	HLA						SEROLOGICKÉ VYJÁDŘENÍ	INTERPRETACE
	DRB1*	DRB1*	DQA1*	DQA1*	DQB1*	DQB1*		
01_2015_II	07	11	02:01	05:09	02:02	03:01	DQ 2.5 POZITIVNÍ DQ 8 NEGATIVNÍ	NALEZENÝ GENOTYP HLA JE ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE. ?????
HODNOCENÍ LABORATOŘEMI: tento vzorek testovaly pouze dvě laboratoře, <ul style="list-style-type: none"> • Serologický ekvivalent DQ2.5 POZITIVNÍ obě laboratoře (správně) • Interpretace JE ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE obě laboratoře (? správná interpretace ?) 								
02_2015	04:05	04:08	03:03	---	03:01	03:02	DQ 2 NEGATIVNÍ DQ 8 POZITIVNÍ	NALEZENÝ GENOTYP HLA NENÍ ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE. ??????
HODNOCENÍ LABORATOŘEMI: Tento vzorek testovaly všechny laboratoře <ul style="list-style-type: none"> • Serologický ekvivalent DQ8 POZITIVNÍ 13 laboratoří (správně – serologický ekvivalent odpovídá alelám DQB1 lokusu) negativní 4 laboratoře (chybně) • Interpretace <ul style="list-style-type: none"> JE ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE 13 laboratoří NENÍ ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE 5 laboratoří MÍRNÁ ČI NEJASNÁ PREDISPOZICE K CELIAKII 6 laboratoří <p style="text-align: center;">???? správná interpretace ????? Interpretace nebyla u tohoto vzorku hodnocena</p>								

Struktura molekul HLA a riziko vzniku celiakie



Klein J, Sato A. The HLA System. First of two parts. N Engl J Med 2000;343:702-9.



The New England Journal of Medicine

HLA II. třídy

α řetězec molekuly DQ kódován DQA1 genem

β řetězec molekuly DQ kódován DQB1 genem

Oblast vazebného žlábků (Peptide-binding groove) je zodpovědná za vazbu „nežádoucích“ peptidových zbytků, čímž je spuštěna kaskáda imunitních reakcí

Podjednotky vazebného žlábků $\alpha 1$ a $\beta 1$ kódovány v exonu 2:

$\alpha 1$ kódován exonem 2 v DQA1 genu

$\beta 1$ kódován exonem 2 v DQB1 genu

Funkční skupiny P-group

= alely HLA II. třídy se stejným řetězcem DNA v exonu 2

Riziko vzniku celiakie

- je dáno možností spuštění imunitní odpovědi po vazbě gliadinových zbytků z lepku do vazebného žlábků vnímavé molekuly HLA II. třídy
- za riziko vzniku celiakie tedy odpovídají kombinace alel DQA1/DQB1 s „vhodným“ řetězcem DNA v exonu 2 (tedy z příslušných funkčních skupin)

Alelické a funkční skupiny alel HLA asociovaných s celiakií

DQA1

alelická skupina	Funkční skupina (P-group ^a)	běžné alely (CWD ^b)	vzácné alely (ND ^c)
DQA1*02	NEDEFINOVÁNO	DQA1*02:01	
DQA1*03	DQA1*03:01P	DQA1*03:01 DQA1*03:02 DQA1*03:03	
DQA1*05	DQA1*05:01P	DQA1*05:01 DQA1*05:03 DQA1*05:05 <i>DQA1*05:08 (ORIENTAL)</i> DQA1*05:09	<i>DQA1*05:07</i> <i>DQA1*05:11</i>
	<i>NEDEFINOVÁNO</i>	<i>DQA1*05:02 (BLACK)</i>	<i>DQA1*05:04</i> <i>DQA1*05:10</i>

DQB1*02

alelická skupina	Funkční skupina (P-group ^a)	serologický ekvivalent ^d	běžné alely (CWD ^b)	vzácné alely (ND ^c)
DQB1*02	DQB1*02:01P	DQ2	DQB1*02:01 DQB1*02:02	<i>DQB1*02:04</i>
				<i>DQB1*02:06</i>
				<i>DQB1*02:09</i>
	<i>DQB1*02:10</i>			
<i>DQB1*02:48</i>				
<i>DQB1*02:59</i>				
<i>DQB1*02:64</i>				
	<i>DQB1*02:07P</i>	<i>NEDEFINOVÁNO</i>	<i>NEJSOU ZNÁMY</i>	<i>DQB1*02:07</i>
	<i>DQB1*02:14P</i>	<i>NEDEFINOVÁNO</i>	<i>NEJSOU ZNÁMY</i>	<i>DQB1*02:14</i>
	NEDEFINOVÁNO	DQ2	DQB1*02:03	<i>NEJSOU ZNÁMY</i>
		<i>NEDEFINOVÁNO</i>	<i>NEJSOU ZNÁMY</i>	<i>DQB1*02:05</i> <i>DQB1*02:08</i> <i>51 alel</i> <i>DQB1*02:11-02:65</i>

^a určeno dle http://hla.alleles.org/alleles/p_groups.html

^b CWD = STATUS common well documented alleles dle databáze **IMGT/HLA** <http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/>

^c ND = STATUS not defined dle databáze **IMGT/HLA** <http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/>

^d určeno dle databáze **IMGT/HLA** <http://www.ebi.ac.uk/ipd/imgt/hla/>

Alelické a funkční skupiny alel HLA asociovaných s celiakií

DQB1*03

alelická skupina	Funkční skupina (P-group)	serologický ekvivalent	běžné alely (CWD)	vzácné alely (ND)
DQB1*03	DQB1*03:01P	DQ7 (3)	DQB1*03:01	
		NEDEFINOVÁNO	<i>DQB1*03:09 (BLACK)</i>	<i>19 alel DQB1*03:21-03:206</i>
			DQB1*03:19	
	DQB1*03:02P	DQ8(3)	DQB1*03:02	
		NEDEFINOVÁNO		<i>DQB1*03:32</i>
				<i>DQB1*03:85</i>
	DQB1*03:03P	DQ9 (3)	DQB1*03:03	
		NEDEFINOVÁNO		<i>13 alel DQB1*03:31-03:117</i>
	DQB1*03:04P	DQ7 (3)	DQB1*03:04	<i>NEJSOU ZNÁMY</i>
	DQB1*03:05P	DQ8(3)	DQB1*03:05	
NEDEFINOVÁNO			<i>DQB1*03:181</i>	

alelická skupina	Funkční skupina (P-group)	serologický ekvivalent	běžné alely (CWD)	vzácné alely (ND)
DQB1*03	DQB1*03:10P	<i>DQ8(3)</i>	<i>NEJSOU ZNÁMY</i>	<i>DQB1*03:10</i>
		NEDEFINOVÁNO		<i>DQB1*03:195</i>
	DQB1*03:14P	NEDEFINOVÁNO	<i>NEJSOU ZNÁMY</i>	<i>DQB1*03:14</i>
	DQB1*03:17P	NEDEFINOVÁNO	<i>NEJSOU ZNÁMY</i>	<i>DQB1*03:17</i>
	DQB1*03:23P	NEDEFINOVÁNO	<i>NEJSOU ZNÁMY</i>	<i>DQB1*03:23</i>
	NEDEFINOVÁNO	DQ3	<i>NEJSOU ZNÁMY</i>	DQB1*03:06
				<i>DQB1*03:10</i>
	NEDEFINOVÁNO	NEDEFINOVÁNO	<i>DQB1*03:13 (ORIENTAL)</i>	<i>DQB1*03:07-03:08</i>
				<i>DQB1*03:11-03:12</i>
				<i>DQB1*03:14-03:18</i>
			<i>více než 50 alel DQB1*03:20-03:221</i>	

Hodnocení problematických výsledků MPZ 2015

vzorek	HLA						SEROLOGICKÉ VYJÁDŘENÍ	INTERPRETACE
	DRB1*	DRB1*	DQA1*	DQA1*	DQB1*	DQB1*		
01_2015_II	07	11	02:01	05:09	02:02	03:01	DQ 2.5 POZITIVNÍ DQ 8 NEGATIVNÍ	NALEZENÝ GENOTYP HLA JE ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE SPRÁVNÁ INTERPRETACE
ZDŮVODNĚNÍ: Alela DQA1*05:09 patří do funkční skupiny DQA1*05:01P								

	HLA						SEROLOGICKÉ VYJÁDŘENÍ	INTERPRETACE
	DRB1*	DRB1*	DQA1*	DQA1*	DQB1*	DQB1*		
02_2015	04:05	04:08	03:03	---	03:01	03:02	DQ 2 NEGATIVNÍ DQ 8 POZITIVNÍ	NALEZENÝ GENOTYP HLA NENÍ ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE !!!! ŠPATNÁ INTERPRETACE !!!!
správná interpretace: NALEZENÝ GENOTYP HLA JE ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE ZDŮVODNĚNÍ: Alela DQA1*03:03 patří do funkční skupiny DQA1*03:01P								

Frekvence výskytu alel HLA asociovaných s celiakií v české populaci*

DQA1

ALELA	FREKVENCE VÝSKYTU
DQA1*02:01	30%
DQA1*03:01	15%
DQA1*03:03	5%
DQA1*05:01	20 - 50 %
DQA1*05:05	35 %
DQA1*05:09	Nebyla detekována

DQB1

ALELA	FREKVENCE VÝSKYTU
DQB1*02:01	20 - 50 %
DQB1*02:02	20%
DQB1*02:03	< 0,1 %
DQB1*03:01	40%
DQB1*03:02	15%
DQB1*03:03	< 10%
DQB1*03:04, *03:05	≤ 1 %
DQB1*03:08, *03:12	< 0,1 %

* Česká populace (bez české romské populace) referovaná na: The allele Frequencies Website <http://www.allelefrequencies.net/>

Hodnocení nálezů vzhledem k celiakii se zohledněním funkčních skupin a výskytu alel v populaci

genotyp	Serologický ekvivalent	Kategorie hodnocení
DQA1*05/DQB1*02	DQ2.5 pozitivní DQ8 negativní	NALEZENÝ GENOTYP HLA JE ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE. Výsledek nelze samostatně interpretovat jako potvrzení celiakie vzhledem k jeho nízké specifitě pro tuto diagnosu.
DQA1*03/DQB1*03:02P	DQ8 pozitivní DQ2 negativní	NALEZENÝ GENOTYP HLA JE ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE. Výsledek nelze samostatně interpretovat jako potvrzení celiakie vzhledem k jeho nízké specifitě pro tuto diagnosu.
DQA1*02/DQB1*02	DQ2.2 pozitivní DQ8 negativní	NALEZENÝ GENOTYP HLA JE ASOCIOVANÝ S OJEDINĚLÝM RIZIKEM CELIAKIE. Diagnosu celiakie nelze vyloučit.
Není přítomna DQB1*02 ani DQB1*03:02P	DQ2 negativní DQ8 negativní	NALEZENÝ GENOTYP HLA NENÍ ASOCIOVANÝ S RIZIKEM CELIAKIE. Výsledek s vysokou pravděpodobností tuto diagnosu vylučuje.
Je přítomna DQB1*02 bez DQA1*05 /*02 nebo DQB1*03:02 bez DQA1*03		Neodpovídá vazebné nerovnováze DQA1/DQB1. Výskyt velmi vzácný. K riziku celiakie se nelze vyjádřit.

Výběr vhodného kitu pro vyšetření HLA alel pro diagnostiku celiakie

- Detekce všech alel/alelických skupin zodpovědných za riziko celiakie
- tj. minimálně tyto alely/alelické skupiny
 - DQA1*02, *03, *05
 - DQB1* 02, *03:02
- Nutná dostatečná přesnost detekce, tedy jednoznačné rozlišení rizikových a nerizikových alel s běžným výskytem v populaci
- Především JEDNOZNAČNÉ rozlišení DQB1*03:02 od DQB1*03:01 a DQB1*03:03
- Frekvence výskytu DQB1*03:02 v české populaci se pohybuje kolem 5%, proto v případě, že nelze tyto alely rozlišit, nutné doplnění dalšího testování, například jiným kitem, jinou metodou, zasláním do jiné laboratoře
- Detekce alel/alelických skupin DRB1 je pouze orientační bez významu pro riziko celiakie
- Vzhledem k silné vazebné nerovnováze lokusů DRB1/DQA1/DQB1 je detekce DRB1 doplňující faktor pro ověření správnosti typizace

Hodnocení výsledků

- Stanovení přítomnosti/nepřítomnosti rizikových alel/alelických skupin DQA1 a DQB1
- Tedy určení přítomnosti/nepřítomnosti
 - DQA1*02, *03, *05
 - DQB1* 02, *03:02
- Vyjádření serologického ekvivalentu, tedy positivity/negativity DQ2 (DQ2.5, DQ2.2) a DQ8
- Interpretace vzhledem k riziku celiakie na základě přítomnosti/nepřítomnosti rizikových alel/alelických skupin DQA1 a DQB1 lokusu
- U výsledků s detekovaným rizikem celiakie nutno uvést upozornění na nízkou specifitu vyšetření
- Při interpretaci neběžných alel či alelických kombinací nutno zohlednit jejich zařazení do funkčních skupin (P-groups)
- Zařazení alel do funkčních skupin lze nalézt zde: http://hla.alleles.org/alleles/p_groups.html
- U výsledků, kde není zachována vazebná nerovnováha DQA1/DQB1 ani po zařazení do funkčních skupin, se nelze vyjádřit k riziku celiakie

Závěr a poděkování

**Detekce HLA alel a hodnocení rizika celiakie není jednoduché,
ale společnými silami to jistě zvládneme tak,
abychom dávali lékařům relevantní informace**



Děkuji svým kolegyním z oddělení HLA ÚHKT

**V. Šiffnerové, S. Nazarové, E. Ratajové, R. Macnerové, H. Vondráčkové, M. Melkové, K. Šimonové
spolupracujícím lékařům, především MUDr. P. Szitanyimu z KDDL VFN,
všem účastníkům MPZ**

a

spolupracujícím firmám dodávajícím kity pro HLA diagnostiku celiakie

Vám všem děkuji za pozornost a spolupráci!