

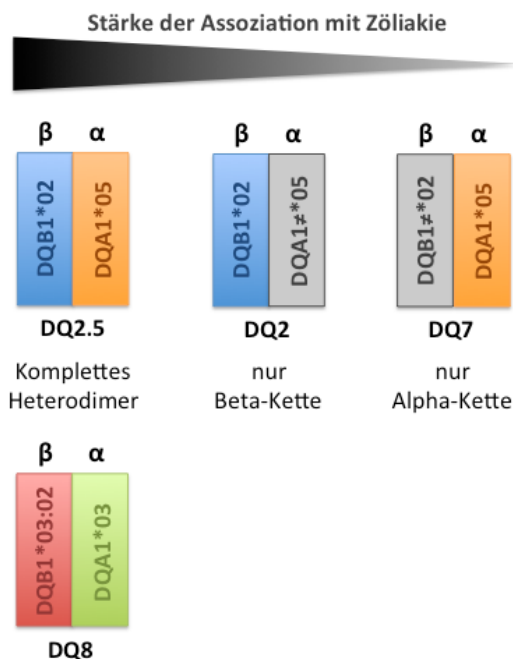
Zöliakie:

Nachweis mit Zöliakie assoziierter HLA-Varianten

Zöliakie ist eine immunvermittelte, chronisch-entzündliche Darmerkrankung mit starker genetischer Disposition. Für die Diagnosestellung kann deshalb die Untersuchung Zöliakie-assoziiierter HLA-Varianten hilfreich sein. Die Untersuchung dieser HLA-Varianten ermöglicht dabei primär den **Ausschluss einer Zöliakie bei Abwesenheit der assoziierten Allele**.

Die mit Zöliakie assoziierten HLA-Varianten befinden sich in den HLA-Genen *HLA-DQA1* und *HLA-DQB1*. Diese Gene codieren für Untereinheiten (die Alpha- respektive Beta-Kette) des Proteins HLA-DQ des Haupthistokompatibilitäts-Komplexes. Für die Zöliakie sind bestimmte Varianten von HLA-DQ relevant, welche sich aus spezifischen Kombinationen (Heterodimeren) der Alpha- und Beta-Kette zusammensetzen:

- Die am häufigsten in Zöliakiepatienten nachgewiesene HLA-Variante ist das **Heterodimer DQ2.5**, die Kombination der **Alpha-Kette DQA1*05** und der **Beta-Kette DQB1*02**. Diese Konstellation tritt in etwa 90% der Kaukasischen Zöliakiepatienten auf.
- Das zweithäufigste assoziierte Allel (ca. 6% der Zöliakiepatienten) ist die **Variante DQ8** (charakterisiert durch **HLA-DQB1*03:02** in Kombination mit **HLA-DQA1*03:01**).
- Seltener gibt es Zöliakiepatienten, in welchen **nur die Hälfte des DQ2.5 Heterodimers** vorhanden ist; d.h. nur die Beta-Kette (**Variante DQ2**) oder nur die Alpha-Kette (**Variante DQ7**). Die Variante DQ7 (Alpha-Kette DQA1*05 ohne die Beta-Kette DQB1*02) ist jedoch nur schwach mit Zöliakie assoziiert.



Bei **>99% der Zöliakiepatienten** Kaukasischer Herkunft wird **mindestens eines dieser HLA-DQ Allele** nachgewiesen. Eine Zöliakie kann daher bei Abwesenheit dieser Allele mit hoher Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen werden (**hoher negativer Vorhersagewert**). Da aber die Trägerfrequenz dieser Allele auch in der generellen Bevölkerung bei jeweils 15-40% liegt, hat deren alleiniger Nachweis einen niedrigen positiven Vorhersagewert. Eine gesicherte Diagnose einer Zöliakie kann daher alleine durch ein positives HLA-Testergebnis nicht gestellt werden.

Indikation: Ausschlussdiagnostik bei Verdacht auf Zöliakie; insbesondere bei Patienten mit diskrepanten Befunden, Patienten mit fraglicher Zöliakiediagnose auf glutenfreier Diät, bei denen eine Glutenbelastung erwogen wird, oder bei Patienten mit erhöhtem Risiko für eine Zöliakie.

Methode: PCR-SSP aus DNA (aus Vollblut)

Molekulargenetischer Nachweis der folgenden HLA-DQ Varianten mittels PCR-SSP (Polymerase-Kettenreaktion mit Sequenz-spezifischem Priming):

- DQ2.5: *HLA-DQB1*02:01* mit *HLA-DQA1*05:01* oder *HLA-DQB1*02:02* mit *HLA-DQA1*05:05*.
- DQ8: *HLA-DQB1*03:02*
- DQ2: *HLA-DQB1*02*
- DQ7: *HLA-DQA1*05:05*

Nach Isolierung der genomischen DNA wird mittels PCR eine Amplifikation in den *HLA-DQB1* und *HLA-DQA1* Genen durchgeführt. Durch allelspezifisches Priming wird dabei nur in Trägern der nachzuweisenden Allele die entsprechende Genregion amplifiziert. Die Anwesenheit oder Abwesenheit der allelspezifischen Amplifikate unterschiedlicher Grösse wird mittels Agarose-Gelelektrophorese detektiert.

Anwesenheit des allelspezifischen Amplifikats bedeutet, dass mindestens eine Kopie des untersuchten Allels vorhanden ist. Heterozygote und homozygote Träger der untersuchten Allele werden mit dem Test nicht unterschieden.

Durch das Kopplungsungleichgewicht („linkage disequilibrium“) liegt *HLA-DQA1*03:01* bei Assoziation mit Zöliakie immer zusammen mit *HLA-DQB1*03:02* vor. Ein separater Nachweis von *HLA-DQA1*03:01* ist deshalb nicht notwendig.

Proben: 2 ml EDTA-Blut oder DNA

Versand: am Entnahmetag ungekühlt per A-Post

Frequenz: 1 mal pro Woche

Testresultat:

- **Positiv für DQ2.5, DQ8 und/oder DQ2:** Mindestens ein mit **Zöliakie assoziiertes Allel wurde nachgewiesen**. Eine Zöliakieerkrankung kann somit nicht ausgeschlossen werden. Eine gesicherte Diagnose einer Zöliakie kann aber nur mit weiteren Tests (z.B. Serologie, Dünndarmbiopsie) gestellt werden.

- **Positiv für DQ7:** Das **schwach mit Zöliakie assoziierte Allel DQ7 wurde nachgewiesen**. Diese Variante wird in 1-2% der Zöliakiepatienten beobachtet, ist aber auch in der gesunden Bevölkerung häufig (ca. 40% Trägerfrequenz). Da DQ7 nur in einem sehr kleinen Anteil der Zöliakiepatienten so vorliegt, liegt die **Sensitivität für einen Ausschluss einer Zöliakie** trotz Anwesenheit dieses Allels immer noch bei **ca. 98%**. Diese Sensitivität ist jedoch leicht tiefer als bei einem negativen Testresultat (siehe unten).

- **Negativ: Keines der mit Zöliakie assoziierten Allele wurde nachgewiesen.** Eine **Zöliakie kann mit einer Sensitivität von >99% ausgeschlossen** werden.

Referenzen

Karell K, et al (2003). Hum Immunol. 64(4):469–77.

Megiorni F & Pizzuti A. (2012) J Biomed Sci. 19:88.

Husby S et al. (2012) J Ped Gastroenterol Nutr. 54(1):136–60.