

Che cos'è l'HLA?

HLA sta per Human Leukocyte Antigen, antigene leucocitario umano, noto anche come complesso di istocompatibilità maggiore o MHC. Si tratta di un'ampia raccolta di geni sul cromosoma umano 6 che gestisce la risposta del sistema immunitario alle infezioni da virus o batteri e dirige la produzione anticorpale contro le sostanze estranee o antigeni. I leucociti sono i globuli bianchi presenti in circolo. Alcune classi di queste cellule producono anticorpi (linfociti), mentre altre fagocitano batteri e detriti nei tessuti. (macrofagi e neutrofili). Il sistema HLA comprende due classi di proteine che sono espresse sulla superficie cellulare e sono inoltre coinvolte nel riconoscimento del self. Come per i gruppi sanguigni, una componente del sistema HLA svolge un ruolo importante nel rigetto dei trapianti, nella reazione grafts versus host e nella protezione dalle infezioni.

Che cos'è il B*5701?

Esistono circa 30 milioni di possibili genotipi nel sistema HLA. HLA B è una sottoclasse del sistema HLA e, sulla base delle variazioni di sequenza del DNA, sono state identificate oltre 920 diverse versioni del gene nella popolazione umana che codificano per l'antigene. In genere, è possibile avere due di questi geni, uno ereditato da ciascun genitore. La famiglia HLAB*57 è composta da almeno 16 geni correlati e i prodotti dei membri della famiglia del gene *5701 sono stati associati ad ipersensibilità all'abacavir. Circa il 5-8% della popolazione caucasica esprime antigeni *57-simili e pertanto questo rappresenta un genotipo HLA comune. Questo genotipo è molto più raro in altri gruppi etnici; è presente in meno del 2% della popolazione di origine africana.

Che tipo di dosaggio viene usato?

Innanzitutto, il DNA viene estratto dal sangue del paziente ed il campione di DNA viene analizzato per accertare la presenza o assenza di membri della famiglia del gene *57. Come controllo, allo stesso tempo il DNA viene inoltre analizzato per individuare la sequenza di geni presenti in tutta la popolazione; pertanto un risultato negativo per le sequenze *57-simili è sempre accompagnato da un risultato positivo per altri geni. Vengono effettuati almeno due diversi esami per la rilevazione di varie parti dei geni. In questa fase, i risultati negativi vengono riportati come tali. Eventuali positivi sospetti per la famiglia *57 vengono quindi rianalizzati mediante tecniche di sequenziamento del DNA in modo da escludere geni che non sono associati ad ipersensibilità (es.: HLA-B*5702 o *5703).

Qual è la tecnologia?

Il test viene effettuato con una tecnica denominata Polymerase chain reaction (reazione a catena della polimerasi) o PCR. In tappe successive, una sequenza di DNA target all'interno della famiglia *57 viene amplificata mediante un enzima stabile al calore denominato Taq polimerasi. Le successive fasi di riscaldamento e raffreddamento, mediante una complessa miscela di componenti, generano milioni di copie del frammento target del gene. Questo frammento può quindi venire identificato mediante elettroforesi su gel e colorazione fluorescente che consente l'identificazione del DNA sotto luce UV. Nei soggetti privi del gene *5701 non viene rilevato nessun frammento, nessun frammento o banda di DNA. Se è presente una banda, il DNA sarà sequenziato per determinare la presenza di geni *5701.

Come viene convalidato il test?

Molti anni di ricerche scientifiche hanno consentito l'identificazione del gene e la sua specifica sequenza di DNA è ben conosciuta. Abbiamo adattato vari test dalla letteratura e abbiamo effettuato dosaggi di controllo su centinaia di campioni di DNA per dimostrare che l'esame può evidenziare sia la presenza che l'assenza del gene *5701. I dati di sequenza derivati dai nostri esperimenti e da laboratori esterni dimostrano chiaramente che il test genera solo i frammenti PCR che ci attendiamo dalla sequenza nota del gene.

Qual è la specificità del test?

Come sappiamo, vi sono 11 membri della famiglia del gene *5701 e i nostri test possono prevedere la presenza del *5701, *5706, *5708 e del *5710. Gli ultimi tre membri della famiglia sono rarissimi e pertanto non esistono dati sull'eventuale ruolo di questi due antigeni nei fenomeni di ipersensibilità.

Si ottengono falsi negativi?

In considerazione della modalità di esecuzione del test, la presenza di falsi negativi è improbabile. Poiché utilizziamo almeno due diversi test e un controllo di DNA interno riteniamo che i nostri risultati siano affidabili.

Che cos'è lo SNP?

Un SNP, cioè un polimorfismo a singolo nucleotide, è un termine che indica la variazione nelle sequenze del DNA. Questo SNP può essere una normale variazione oppure una mutazione nelle sequenze del gene. Ogni posizione di paia di basi può essere occupata da uno dei 4 diversi nucleotidi, A C G o T, che costituiscono tutte le sequenze DNA di un soggetto. Il genoma umano contiene miliardi di questi nucleotidi e si pensa che almeno 10 milioni di essi possano variare e siano definibili SNP.

Esistono altri SNP che si possono sottoporre a test? Possono migliorare la qualità predittiva del test?

Sì, e siamo costantemente aggiornando le nostre informazioni su questi geni e perfezionando i nostri test affinché specifici membri della famiglia del gene possano venir identificati mediante semplici dosaggi. La qualità predittiva del test è molto elevata, ma le informazioni cliniche sulla relazione fra la presenza di vari membri della famiglia di antigeni *57 e gli effetti collaterali della terapia sono ancora scarse.

Il test può fallire? E se sì, perché?

È possibile che il test possa "fallire". Una fallimento completo è molto raro in quanto abbiamo integrato nel sistema molti controlli. Una fallimento del test è dovuto quasi sempre alla qualità del DNA con cui viene effettuato l'esame. Se il campione di sangue è stato conservato in modo errato o trattato in modo non adeguato prima di essere inviato al nostro laboratorio, potrebbe essere impossibile un'estrazione di DNA di qualità accettabile.

Che correlazione c'è fra l'accreditamento del laboratorio ed il test?

Il nostro laboratorio è accreditato dal British Standards Institute (BSI), come da linee guida UKAS, in conformità allo standard internazionale di qualità BS EN ISO 9001:2000. Questo sistema controlla tutto quanto viene svolto nel nostro laboratorio e richiede che tutti i nostri processi e dosaggi vengano rigorosamente collaudati e verificati in base ai più elevati standard medici e scientifici. In pratica i nostri servizi devono fare esattamente quanto dicono di fare.

Dove è possibile avere informazioni sull'utilità clinica del test?

Per informazioni è possibile scaricare il documento sulle FAQ cliniche al sito: www.delphicdiagnostics.com/pdf/ITA_PGx_5701_CLIN_FAQ.pdf.

Come posso ottenere questo test?

Delphic offre un servizio clinico di routine per gli esami HLA-B*5701 fin dal 2005. Il nostro laboratorio è certificato ISO 9001:2000. Il tempo di consegna è di 10 giorni dalla ricezione del campione presso il nostro centro presso il nostro centro di Torino. Il costo è di €90 per campione. I campioni di sangue intero possono essere conservati e inviati a temperatura ambiente, consentendo spedizioni settimanali. Per ulteriori informazioni su come creare un account, sulla gestione dei campioni e per istruzioni sul corriere, visitare il sito: www.delphicdiagnostics.com/italy/products/pharmacogenetics. Potete contattarci ai numeri indicati di seguito, creeremo un account e potremo così ricevere immediatamente i campioni.

Dettagli di contatti

Per ulteriori informazioni:

Telefono: +39.11.399.7724 o +339.431.7477

Email: customerservices@delphicdiagnostics.com

Sito web: www.delphicdiagnostics.com