

# Il ruolo del laboratorio di Immunogenetica nella rete del Registro Nazionale Italiano dei Donatori di Midollo Osseo

**La compatibilità** degli alleli HLA fra donatore e ricevente è alla base del successo del trapianto di cellule staminali ematopoietiche (CSE). Solo il 30% dei pazienti in attesa ha un familiare compatibile, da qui l'esigenza di reclutare in tempi rapidi un numero sempre crescente di donatori volontari. L'introduzione del sequenziamento di nuova generazione nei laboratori di Immunogenetica ha consentito di rendere più rapido e accurato l'inserimento di nuovi donatori nel Registro IBMDR

**Il trattamento** di pazienti con patologie onco-ematologiche sta vivendo un capitolo senza precedenti, grazie all'introduzione nella pratica clinica di terapie farmacologiche mirate e alla sperimentazione di molecole che mostrano un elevato tasso di risposta e un basso profilo di tossicità. Tuttavia, una remissione durevole della malattia viene osservata solo in una parte dei pazienti e ancora oggi, il trapianto di cellule staminali ematopoietiche (CSE) si dimostra la principale strategia terapeutica.

Con il trapianto di CSE si determina la sostituzione di un midollo osseo con CSE sane, che andranno a rigenerare tutte le linee cellulari del sangue e ricostituire le normali funzioni ematologiche ed immunologiche.

Le CSE, infatti, grazie alle loro caratteristiche di automantenimento, di differenziazione nelle diverse cellule ematiche, di conservazione della vitalità dopo manipolazioni, quali crioconservazione e scongelamento, e alla capacità di raggiungere e insediare, una volta infuse per via endovenosa, la sede midollare, sono idonee per l'uso clinico ai fini di trapianto.

I geni appartenenti al Sistema HLA (Human Leucocyte Antigene) sono la prima barriera immunologica al successo del trapianto di cellule staminali ematopoietiche, in quanto è proprio la corrispondenza degli antigeni di istocompatibilità fra donatore e ricevente a de-



**MANUELA CATALANO**



**ALESSANDRA MOSCETTI**  
UOCLaboratorio di Genetica Medica, Azienda Ospedaliera San Camillo-Forlanini, Roma



terminarne la riuscita. A causa, però, dell'elevato polimorfismo dei geni codificanti le molecole HLA di classe I e II, la possibilità per un paziente di trovare un donatore compatibile nella famiglia fra i fratelli, è solo del 30%, e diminuisce ancora di più (1: 100.000) fuori dall'ambito familiare.

Per incrementare la probabilità di reperire un donatore compatibile non consanguineo, sono stati istituiti in quasi tutti i Paesi del mondo dei Registri Nazionali di donatori volontari, organizzazioni che costituiscono dei veri e propri archivi di dati genetici, in collegamento tra di loro, in grado di individuare per pazienti affetti da malattie ematologiche gravi, un donatore volontario, estraneo alla famiglia, che presenti caratteristiche immunogenetiche tali da consentire il trattamento terapeutico con elevate probabilità di successo.

Nel 1989, presso l'Ente Ospedaliero Ospedali Galliera di Genova, è stato isti-

tuito l'IBMDR (Italian Bone Marrow Donor Register), il Registro Italiano dei Donatori di Midollo Osseo, riconosciuto a livello nazionale dalla Legge n° 52 del 6 marzo 2001 e definito dall'Accordo Stato-Regioni del 5/10/2006, quale unica struttura autorizzata alla ricerca di CSE da non familiare per finalità di trapianto. Tale Centro coordina tutti i Registri istituiti a livello regionale (Registri Regionali), assicura e certifica il corretto svolgimento delle procedure di sperimentazione delle cellule, dalla ricerca, all'esecuzione delle indagini genetiche di istocompatibilità, al prelievo ed infine al trasporto delle cellule presso la struttura che effettuerà il trapianto.

L'IBMDR è accreditato presso la World Marrow Donor Association (WMDA) e certificato ISO 9000:2015 e tutte le sue attività, quelle dei Registri Regionali e di ogni struttura che afferisce al programma di ricerca e trapianto, sono disciplinate dagli *Standard operativi IBMDR*.

La rete operativa dell'IBMDR è costituita dai laboratori di Immunogenetica, che effettuano la tipizzazione HLA dei potenziali donatori adulti che si iscrivono nel database IBMDR, di quelli richiamati per le riqualificazioni o approfondimento delle caratteristiche immunogenetiche mediante studi ad alta risoluzione, delle unità di sangue cordonale e della madre donatrice, nonché dei pazienti ematologici, dei loro familiari e di eventuali donatori non correlati.

Nell'anno 2021 in Italia sono stati reclutati 24.227 nuovi donatori, dei quali 1.321 nella Regione Lazio, e ciò ha consentito di poter effettuare, nello stesso anno, 932 trapianti da I donazione dato che dimostra il continuo trend in crescita di tale importante attività.

Tra le competenze del laboratorio di Immunogenetica vi è inoltre la valutazione dello stato di pre-sensibilizzazione verso le molecole allogeniche HLA e non di un potenziale donatore, e lo studio del chimerismo post-trapianto per il monitoraggio dei livelli di attecchimento delle CSE.

Il laboratorio di immunogenetica deve operare in conformità alle procedure tecniche e agli standard operativi dell'IBMDR e della WMDA oltre ad essere accreditato da Società Scientifiche Internazionali quali l'EFI (European Federation for Immunogenetics) o l'ASHI (American Society for Histocompatibility and Immunogenetics) che garantiscono il mantenimento dei necessari livelli di qualità.

La UOC Laboratorio di Genetica Medica – Sapienza Università di Roma, A.O. San Camillo-Forlanini, oltre a svolgere attività di tipizzazione HLA è sede del Registro Regionale IBMDR del Lazio, al quale afferisce anche, per la tipizzazione HLA, il Centro trasfusionale del Policlinico Umberto I.

L'introduzione del sequenziamento di nuova generazione (NGS) ha rappresentato negli ultimi anni l'approccio determinante per raggiungere un incremento significativo delle tipizzazioni HLA e di conseguenza del numero di nuovi donatori inseriti nel database IBMDR, supportato anche da un concomitante ed efficace reclutamento da parte delle associazioni, quali l'ADMO, che collaborano con il Registro in questa attività.

L'applicazione del sequenziamento di



nuova generazione alla tipizzazione HLA, ha portato oltre che ad una notevole diminuzione dei tempi di refertazione anche ad un aumento della risoluzione, in quanto tale approccio consente di assegnare una tipizzazione univoca degli alleli HLA. Le metodiche classiche di tipizzazione molecolare infatti mostrano un grado di risoluzione minore per la presenza sia di ambiguità alleliche, dovute a polimorfismi localizzati fuori dalla regione analizzata, sia di ambiguità genotipiche o *cis-trans*. La risoluzione di queste ambiguità genotipiche in epoca pre-NGS, richiedeva l'applicazione di metodiche supplementari con un aumento dei costi e maggiori tempi di refertazione.

Il superamento delle ambiguità, nell'NGS, si ottiene grazie alla combinazione delle due caratteristiche che contraddistinguono questa tecnologia: l'amplificazione clonale, che permette di assegnare la fase ai polimorfismi, e il sequenziamento massivo parallelo, che genera milioni di frammenti di basi sequenziate, le cosiddette "reads", consentendo il sequenziamento di un numero elevato di regioni del genoma e di campioni in una singola corsa (Erlich, 2015). La possibilità di combina-

“  
L'introduzione del sequenziamento di nuova generazione (NGS) ha rappresentato negli ultimi anni l'approccio determinante per raggiungere un incremento significativo delle tipizzazioni HLA

re in un'unica corsa campioni e loci diversi, grazie alla loro indicizzazione, consente inoltre di ridurre i costi per singolo test.

Pertanto l'approccio mediante Sequenziamento di nuova generazione (NGS), l'elevata resa, l'alto grado di risoluzione, il costo contenuto per campione, l'accuratezza e la potenziale eliminazione di tutte le ambiguità oltre ad un minore tempo/uomo necessario ci porta a considerare tale tecnologia come la più efficiente da applicare nella tipizzazione HLA dei potenziali donatori di cellule staminali ematopoietiche.

### Riferimenti

Standard di Funzionamento del Programma nazionale Italiano di donazione di Cellule Staminali Ematopoietiche da non familiare – Versione XXIII: 1 Luglio 2020

<https://www.ibmldr.galliera.it/>

<https://admo.it>

<https://admolazio.it>

Erlich H.A. *HLA typing using next generation sequencing: An overview*. Hum Immunol. 2015 Dec;76(12):887-90. doi: 10.1016/j.humimm.2015.03.001