

La “Next Generation Sequencing” (NGS), tecnica per leggere le sequenze di DNA, a servizio dei trapianti di cellule staminali emopoietiche
20 gennaio 2020



il trapianto di cellule staminali emopoietiche (CSE) rappresenta una valida terapia per patologie del sistema emopoietico, tuttavia per il 70% circa dei pazienti non è disponibile il donatore familiare HLA compatibile (di solito un fratello od una sorella) e quindi l’ematologo del Centro Trapianti (CT) valuta la possibilità di eseguire un trapianto da non familiare (donatore volontario oppure unità di sangue cordonale) attivando la ricerca presso il Registro Nazionale IBMDR (Registro Italiano Donatori Midollo Osseo presso l’Ospedale Galliera di Genova).

E’ stato dimostrato che il fattore tempo che trascorre dal momento della diagnosi di malattia al momento del trapianto **influenza negativamente l’esito di quest’ultimo** („*Beating the odds: factors implicated in the speed and availability of unrelated haematopoietic cell donor provision*“ – Bone Marrow Transplantation, 2013): si rende quindi necessario eseguire lo studio del profilo allelico HLA per la compatibilità nel minor tempo possibile.

E’ stato dimostrato che la mortalità dei pazienti trapianto-relata, la ricaduta, la malattia del trapianto verso l’ospite (GVHD) sono negativamente associate ad un progressivo aumento delle differenze HLA tra paziente e donatore („*High resolution HLA matching in hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective collaborative analysis*“ – Blood, 2013), soprattutto tra paziente e donatore non familiare, tra i quali non sussiste condivisione per ereditarietà del Sistema HLA.

La tipizzazione HLA eseguita con tecnica di sequenziamento (NGS) rappresenta il metodo elettivo di tipizzazione molecolare in alta risoluzione perchè consente di tipizzare in un’unica seduta di lavoro più campioni con il massimo livello di risoluzione (risoluzione allelica), permettendo inoltre l’identificazione di nuovi alleli.

A conferma della validità di quanto sopra, riportiamo l’abstract di uno studio effettuato su 891 donatori/riceventi, pubblicato su Biol. Blood Marrow Transplant, 25 (2019) 443-450

Questo studio dimostra che una migliore compatibilità HLA trovata con la tipizzazione fatta ad una ultra alta risoluzione (UHR) in NGS, che include gli esoni al di fuori dell’ARD, gli introni e le regioni non tradotte, può migliorare significativamente i risultati per i riceventi di un HCT da VUD per una emopatia maligna, e dovrebbe essere eseguita prospettivamente nella selezione dei donatori.

Recipients receiving better HLA-matched hematopoietic cell transplantation grafts, uncovered by a novel HLA typing method, have superior survival: a retrospective study

by Neema P.Mayor, et al.:

Biol. Blood Marrow Transplant, 25 (2019) 443-450

Abstract: La compatibilità HLA, a una risoluzione a livello allelico, nel trapianto di cellule ematopoietiche (HCT) con donatore volontario non familiare (VUD) dà luogo ad una migliore sopravvivenza e a minori complicazioni post-trapianto. Le limitazioni delle tecnologie di tipizzazione finora usate per i geni HLA iperpolimorfici hanno comportato che le variazioni al di fuori del dominio di riconoscimento dell'antigene (ARD) non siano state in precedenza caratterizzate negli HCT.

Il nostro scopo era di esplorare l'estensione delle diversità al di fuori dell'ARD e di determinare l'impatto di queste diversità sull'esito dei trapianti. Ottocento novantuno (891) donatori volontari per HCT e i loro riceventi trapiantati per una emopatia maligna nel Regno Unito erano tipizzati retrospettivamente a una risoluzione ultra-alta (UHR) per i loci HLA-A,-B,-C,-DRB1,-DQB1 e -DPB1 usando la tecnologia di Next-Generation-Sequencing.

La compatibilità era determinata a livello dell'intero gene per i geni HLA di classe I e a livello di sequenza di DNA codificante per i geni HLA di classe II.

Lo stato di compatibilità HLA non era confermato nel 29,1% di coppie (donatore/ricevente) dopo la tipizzazione HLA in NGS a UHR.

I pazienti UHR-HLA compatibili 12/12 (n.= 76) avevano una sopravvivenza totale a 5 anni significativamente maggiore in confronto a quelli ritenuti 12/12 HLA compatibili in base alla loro originale tipizzazione HLA (n.=23), ma che erano stati trovati incompatibili dopo la tipizzazione HLA UHR (54,8% contro 30,1%, P=0.022).

La sopravvivenza era significativamente migliore in pazienti HLA compatibili 12/12 in UHR (n.=81) quando erano confrontati con quelli (n=810) con qualche incompatibilità a questo livello di risoluzione (55,1% contro 40,1%, P=0.005).

Questo studio dimostra che una migliore compatibilità HLA trovata con la tipizzazione fatta ad una ultra alta risoluzione (UHR) in NGS, che include gli esoni al di fuori dell'ARD, gli introni e le regioni non tradotte, può migliorare significativamente i risultati per i riceventi di un HCT da VUD per una emopatia maligna, e dovrebbe essere eseguita prospettivamente nella selezione dei donatori.