

EBV su 105 PBMC è risultato protettivo nei confronti delle riattivazioni virali ($p=0.002$). In accordo con i risultati immunologici, rispetto ai controlli storici, abbiamo osservato una riduzione significativa delle complicanze infettive e della mortalità tardiva da trapianto (ultimo evento al giorno +166 dopo HSCT) ed un miglioramento delle sopravvivenza globale.

LA COOPERAZIONE INTERNAZIONALE DELLA FONDAZIONE IME: RICADUTE IN CAMPO SANITARIO E NEGLI STUDI DI GENETICA DI POPOLAZIONE

M. Testi, M. Andreani, G. Federici, G. Lucarelli

Laboratorio di Immunogenetica e Biologia dei Trapianti, Fondazione IME c/o Policlinico Tor Vergata, Roma

Con lo scopo di valorizzare il know-how italiano maturato in campo ematologico e parallelamente per creare le condizioni organizzative tecniche ed economiche che rispondano al bisogno di trattamenti di alta specializzazione come il trapianto di midollo osseo (TMO) ai pazienti affetti da talassemia, il 28 marzo 2003 nasce l'Istituto Mediterraneo di Ematologia (IME). Dal punto di vista istituzionale l'IME è una fondazione che ha come soci fondatori il Ministero della Salute, degli Affari Esteri, dell'Economia e delle Finanze e la Regione Lazio, con i seguenti scopi:

a) attivare un centro di eccellenza e di alta specializzazione con sede a Roma per la cura e la ricerca sulle malattie ematiche e per il trattamento e lo studio della talassemia e delle emoglobinopatie;

b) realizzare un progetto a rete che promuova le relazioni e l'integrazione di strutture italiane e estere, in particolare del bacino del Mediterraneo, specializzate nella ricerca, trattamento e formazione in campo sanitario con particolare riferimento all'ematologia, inclusa la talassemia.

La talassemia è una malattia ereditaria caratterizzata da un difetto nella sintesi dell'emoglobina; i pazienti affetti da beta talassemia major per sopravvivere devono sottoporsi a specifici trattamenti sanitari. Il trattamento tradizionale consiste in trasfusioni di sangue, con cadenza di norma quindicinale. Da circa 25 anni, oltre al trattamento tradizionale, i pazienti talassemici possono essere sottoposti al trapianto di midollo osseo. Dall'analisi dei dati risulta che nel 68% dei pazienti talassemici complessivamente trattati il trapianto ha avuto esito positivo. Ciò significa che anche a distanza di 10 o 20 anni dal trapianto, il 68% dei pazienti è stato curato e può condurre una vita normale. Le stime sulla diffusione delle emoglobinopatie rivelano che nel mondo esistono più di 300 milioni di persone portatrici di tali disordini e che ogni anno 300.000-400.000 nati si presentano affetti dalle forme più gravi di tali disordini. I paesi più interessati da questo problema sono quelli del Medio Oriente, del Nord Africa, subcontinente Indiano ed il Sud-Est asiatico. Alcuni paesi come Egitto, Palestina, Libano, Siria, Iraq, Maldive hanno siglato con la fondazione IME un *Memorandum of Understanding* per realizzare un progetto di cura, ricerca e formazione sul trapianto di midollo osseo nella talassemia. Pertanto al laboratorio di tipizzazione tissutale della fondazione IME, situato presso il Policlinico Universitario di Tor Vergata di Roma, pervengono, mediante spedizioni opportunamente organizzate, campioni di sangue di nuclei familiari per l'esecuzione della tipizzazione tissutale HLA. In questo scenario è possibile valutare la distribuzione dei diversi alleli e aplotipi HLA nelle diverse popolazioni. Dal giugno 2005 ad oggi sono stati inviati al laboratorio dell'IME circa 2000 campioni per la ricerca di un donatore compatibile per pazienti talassemici all'interno dei nuclei familiari. Di ogni nucleo familiare è stata eseguita la tipizzazione HLA e lo studio della segregazione aplotipica. I dati ottenuti sono stati elaborati al fine di valutare le frequenze alleliche e aplotipiche nelle diverse popolazioni.

IL TRAPIANTO DI RENE IN CONDIZIONI PROBLEMATICHE

TRAPIANTO RENALE 2006: STRATEGIE IMMUNOGENETICHE

M. Savi, A. Zanetti, S. Giuliodori, P. Zanelli

Sezione e UO di Genetica Medica, Azienda Ospedaliera, Università di Parma

L'esito di un trapianto renale è oggi una funzione di molteplici fattori tra i quali spiccano ancora quelli di natura immunogenetica nonostante le moderne terapie immunosoppressive abbiano mutato radicalmente le prospettive di sopravvivenza sia del paziente che dell'organo trapiantato. Ciò, se da una parte ha indotto alcune organizzazioni a non tenere più conto, almeno nei primi trapianti, della compatibilità HLA dall'altra ha contribuito a far emergere la sua fondamentale valenza in caso di ritrapianti o di riceventi immuni/iperimmuni. Non solo, in questi pazienti accanto alla compatibilità HLA, un ruolo importante riveste lo studio approfondito dei sieri con più metodiche, a sensibilità e specificità diversificate: linfocitotossicità complemento dipendente (CDC), ELISA, Citofluorimetria. In tutte le liste di attesa, inclusa quella della regione Emilia-Romagna, ambito AIRT, a cui la nostra esperienza si riferisce, si è assistito con il passare degli anni e forse proprio come conseguenza delle migliorate possibilità terapeutiche oggi disponibili, ad un aumento dei pazienti con ritrapianto e/o iperimmunizzati (PRA $\geq 80\%$) o comunque con alti livelli di anticorpi anti HLA (PRA 50-70%). Si è quindi posto il problema della loro gestione e delle strategie da adottare per assicurarne comunque la trapiantabilità. La via maestra, anche sulla scorta dei dati della letteratura, è sembrata quella della ottimale caratterizzazione del profilo immunogenetico di ogni ricevente. A questo proposito è stata introdotta nella pratica routinaria, la determinazione molecolare degli antigeni HLA dei pazienti in lista di attesa, e di tutti i possibili donatori, al fine di disporre di typing allelici su cui valutare la compatibilità nelle coppie D-R. Inoltre è stato attuato uno studio approfondito dei sieri dei candidati al trapianto basato sull'utilizzo accanto alla metodica base (CDC), della citometria a flusso con tecnologia Luminex. Questo approccio ha consentito una analisi dettagliata degli anticorpi preformati e la costruzione di un profilo individuale nei pazienti immuni/iperimmuni, permettendo sia la valutazione prospettica della classe immunoglobulinica (IgG o IgM) degli anticorpi sia una più precisa reattività contro pannello (PRA) sia una determinazione delle specificità anticorpali verso antigeni HLA di Classe I e di Classe II. La classe immunoglobulinica risulta infatti determinante per valutare il significato funzionale degli anticorpi anti HLA: solo le IgG sono dannose e mediano il rigetto mentre le IgM sono prevalentemente autoanticorpi privi di effetto sul trapianto. Il valore del PRA esprime l'ampiezza della risposta anticorpale verso gli antigeni di trapianto e la determinazione del tipo e della specificità degli anticorpi rivolti contro antigeni HLA di Classe I e II riveste un ruolo cruciale nei pazienti immunizzati e nei ritrapianti. La conoscenza delle specifiche caratteristiche della sensibilizzazione nei soggetti immunizzati ha consentito l'adozione di strategie di selezione mirate su ogni singolo paziente che ne hanno aumentato la probabilità di trapianto. Le informazioni così raccolte hanno poi permesso di costruire una lista interregionale di iperimmuni con lo scopo di offrire a questi pazienti un più vasto pool di donatori e quindi di favorirne la trapiantabilità.

IL TRAPIANTO DI RENE IN CONDIZIONI PROBLEMATICHE RICEVENTI IPERIMMUNIZZATI

A. Buscaroli, D. Conte, M.L. Cappuccilli, S. Stefoni

U.O. Nefrologia Dialisi e Trapianto, Policlinico S.Orsola-Malpighi, Bologna

Uno dei problemi più scottanti nel campo del trapianto renale è rappresentato dai pazienti immunizzati la cui presenza nelle liste d'attesa può arrivare a rappresentare fino al 30-40% dei can-

didati al trapianto; infatti la presenza di immunizzazione ritarda considerevolmente la possibilità di ricevere un trapianto, ma è altresì causa di minore sopravvivenza del trapianto stesso, rispetto ai pazienti non immunizzati. La probabilità di sopravvivenza del trapianto decresce progressivamente ad ogni aumento percentuale del PRA, con un decremento particolarmente rapido quando la percentuale di PRA supera il 50 %. Viene definito immunizzato un paziente che presenta anticorpi sierici (IgG e IgM) reagenti contro gli antigeni HLA di classe I e II in una percentuale variabile dal 30 al 70 %, mentre si definisce iperimmunizzato un paziente che reagisce contro una percentuale maggiore, variabile, a seconda delle casistiche, dal 50 al 100 %. Il grado di immunizzazione dei pazienti in lista d'attesa per trapianto renale viene determinato mediante uno screening anticorpale contro un panel di linfociti separati prelevati da donatori di sangue (Panel Reactive Antibody, PRA), mediante test di linfocitossicità complemento-dipendente. La comparsa di immunizzazione o sensibilizzazione avviene attraverso tre modalità: le gravidanze, i precedenti trapianti e le emotrasfusioni. L'impatto di questo problema, comune all'Europa e al Nord America, richiede trattamenti e sistemi di allocazione specifici sia per permettere il trapianto in un arco di tempo ragionevole sia per godere di un trapianto di successo. Tali strategie cercano di ottenere o la riduzione del grado di immunizzazione mediante trattamenti pre-trapianto oppure l'ottimizzazione della scelta del donatore ricercando la massima compatibilità possibile. Per rimuovere gli anticorpi citotossici, sono attualmente utilizzati protocolli terapeutici che prevedono la somministrazione di gamma-globuline da sole o in associazione a cicli di plasmaferesi; l'uso degli immunosoppressori pre-trapianto è oggi praticamente abbandonato per i rischi che comportano questi farmaci nei pazienti in dialisi cronica (tossicità midollare, infezioni severe); in ogni caso questo metodo, pur permettendo di rimuovere gli anticorpi e trapiantare i pazienti, ha dato risultati variabili riguardo alla sopravvivenza del trapianto, in quanto non è in grado di interferire con la memoria immunologica. Migliori risultati sono ottenibili con un'accurata analisi pre-trapianto delle specificità anticorpali, allo scopo di determinare le cosiddette *incompatibilità* accettabili (teoria di Claas). I sieri dei pazienti vengono testati contro panel di donatori di sangue tipizzati HLA determinando i singoli antigeni HLA contro cui il paziente non ha formato anticorpi. La conoscenza di questi antigeni accettabili (o epitopi condivisi tra differenti antigeni), può essere usata per la selezione dei potenziali donatori d'organo. Un coordinamento centrale per l'allocazione degli organi, con un pool di donatori più largo possibile è in grado quindi di selezionare tutti i donatori di reni HLA compatibili che presumibilmente daranno un cross-match negativo con tutti i sieri di un dato paziente immunizzato. Un sistema allocativo così congegnato, basato sulla ricerca delle incompatibilità accettabili, (secondo l'esperienza dell'area Eurotransplant), ha dimostrato, tra le altre cose, che in caso di cross-match negativo con entrambi i sieri, lo storico e quello attuale, le incompatibilità per i loci HLA A e B sono meno importanti per la sopravvivenza a distanza del trapianto dei pazienti immunizzati rispetto a quella per il locus DR che ha un'influen-

za altamente significativa specialmente nei ritrapianti. Altro aspetto che non va dimenticato è l'importanza dei sieri storici: effettuare un trapianto in presenza di un cross-match storico positivo espone il paziente al rischio di rigetto iperacuto e la sopravvivenza del trapianto, comunque, è nettamente inferiore rispetto a quella dei pazienti con tutti i cross-match negativi. Va quindi tenuta nella massima considerazione l'importanza clinica della memoria immunologica antigene-specifica, anche se gli anticorpi donatore specifici non sono più rilevabili nei sieri più recenti. Partendo da queste premesse, nella Regione Emilia-Romagna, è stato messo a punto un programma integrato che si basa sui seguenti principi: 1) Accurato studio pre-trapianto dei sieri del candidato immunizzato per identificare le specificità anticorpali anti-HLA di classe I e II. 2) Acquisizione dei dati relativi ai trapianti precedenti (tipizzazione HLA del donatore) e gravidanze (tipizzazione HLA del marito). 3) Identificazione dei mis-match proibiti. 4) Trascrizione dei dati su di un programma informatizzato di selezione. 5) Al momento della disponibilità di un donatore, ricerca di un'elevata compatibilità donatore-ricevente (a questo scopo la tipizzazione HLA viene eseguita con tecnica genomica anche sul donatore sia sugli antigeni di classe I che II), in particolare richiedendo l'identità sul locus DR e almeno 2 compatibilità sugli antigeni HLA di classe I ed esclusione dei mis-match proibiti. 6) Il cross-match donatore-ricevente, valutato mediante metodo NIH standard, deve essere negativo su tutti i sieri storici disponibili e su quello più recente. Sulla base di questo programma, attuato con l'istituzione della lista unica regionale per trapianto renale da donatore cadavere, che mette in comune i candidati dei 3 Centri Trapianto di Bologna Modena e Parma, tra il 2001 ed il 2005, sono stati sottoposti a trapianto renale, 22 pazienti iperimmunizzati (più di tre determinazioni del PRA superiori al 50 %) e 90 ritrapianti (di cui 21 iperimmunizzati), incrementando, rispetto al quinquennio precedente, in cui non vi era lista comune e l'allocazione procedeva per singolo Centro, di 3 volte il numero dei candidati immunizzati e di 6 volte quello dei ritrapianti.

I risultati clinici a distanza sono lusinghieri e sovrapponibili a quelli dei pazienti non immunizzati. La funzione renale, valutata come creatinina sierica (mg/dL), a 1 anno dal trapianto è $1,36 \pm 0,44$ per i pazienti iperimmunizzati, $1,61 \pm 0,70$ per i ritrapianti e $1,83 \pm 0,67$ per i ritrapianti immunizzati. Il numero di rigetti nei primi 3 mesi è $0,46 \pm 0,51$ per i pazienti iperimmunizzati, $0,22 \pm 0,42$ per i ritrapianti e $1,1 \pm 0,67$ per i ritrapianti immunizzati. La sopravvivenza attuariale del rene trapiantato è del 85% per gli iperimmuni, del 97 % per i ritrapianti e del 90 % per i ritrapianti immunizzati a 1 anno e rispettivamente del 85%, 90% e 90% a 4 anni di distanza. In conclusione, l'esperienza dell'Emilia-Romagna dimostra che è possibile sottoporre a trapianto con successo i pazienti iperimmunizzati mediante un accurato screening immunologico pre-trapianto e un algoritmo di selezione che, accanto ad un'elevata compatibilità con il donatore escluda i cosiddetti mis-match proibiti; i risultati, sia in termini di sopravvivenza dell'organo che di funzionalità del rene trapiantato non sono inferiori a quelli di pazienti immunologicamente meno vivaci.