44° CONVEGNO NAZIONALE
di Studi di Medicina Trasfusionale
Rimini | Palacongressi, 3-5 maggio 2022
SIMTI

Immunogenetica e medicina trasfusionale

Dr. Roberto Crocchiolo

Servizio di Immunoematologia e Medicina Trasfusionale

ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda - Milano –

5 maggio 2022

Il sottoscritto, in qualità di Relatore
dichiara che

nell'esercizio della Sua funzione e per l'evento in oggetto, NON È in alcun modo portatore di interessi commerciali propri o di terzi; e che gli eventuali rapporti avuti negli ultimi due anni con soggetti portatori di interessi commerciali non sono tali da permettere a tali soggetti di influenzare le sue funzioni al fine di trarne vantaggio.

Dr. Roberto Crocchiolo

- *Dirigente Medico specialista in Ematologia*
- *Ruolo di referente medico per il laboratorio di Immunogenetica*
- *PI e co-PI di progetti di ricerca mono- e multicentrici in ambito HLA*
- *Membro del Consiglio Direttivo dell´AIBT*

*Dall´***HLA nella pratica trasfusionale**
all´**Immunogenetica nella medicina trasfusionale**

andando oltre il match HLA

attraverso competenze specifiche

ed adeguamento tecnologico

Immunogenetica: definizione

- *"Immunogenetics is a field of biology that incorporates immunology, molecular biology, and genetics to examine inherited factors that influence immunity, intraspecific heterogeneity, tissue receptor inheritance, genetic, and population dimensions of host-microbe interactions, and tissue incompatibility".*

HLA

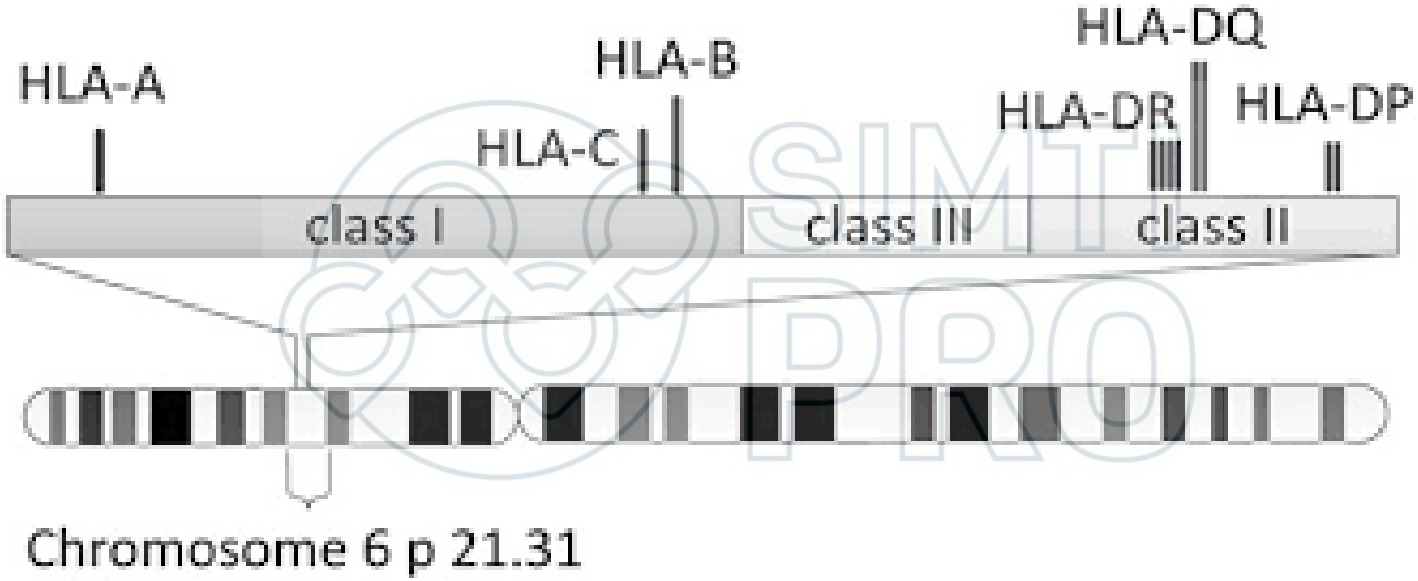
KIR MIC-A

non-classical

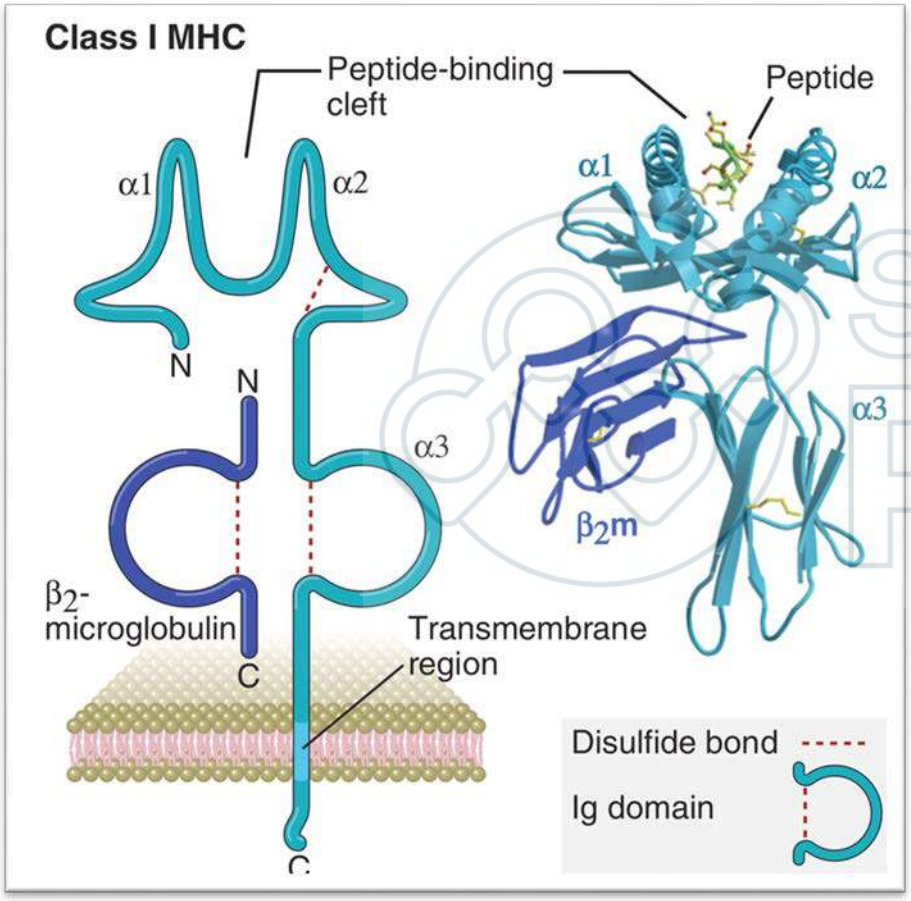
MIC-B

"Immunogenetics: a molecular and clinical overview" Academic Press 2021. ISBN 978-0-323-90053-9

HLA: classe I e II



HLA: classe I e II



Espressione:
HLA classe I: tutte le cellule
HLA classe II: APCs

Geni polimorfici:
HLA-A: 7.452 alleli
HLA-B: 8.849
HLA-C: 7.393
HLA-DRB1: 4.018
HLA-DQB1: 2.230
HLA-DPB1: 1.958

http://hla.alleles.org/alleles/index.html

HLA ed emocomponenti

- Globuli rossi → 90 molecole/cellula
- Piastrine → 50-120 x 10^3 molecole/piastrina
- Linfociti → 250 x 10^3 molecole/cellula

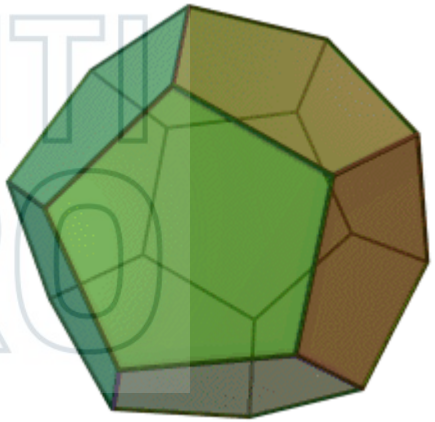
- PFC → 0.25-4.1 x 10^13 molecole/mL
- Albumina → 9.6 x 10^10 molecole/mL
- Ig → 2.09 x 10^11 molecole/mL

Weinstock C et al., Transf Med Hemother 2019

Medicina trasfusionale: il SIMT visto dall´immunogenetista

- Pratica trasfusionale

- Trapianto d´organo solido
- Trapianto di CSE e terapie cellulari
- HLA e malattie
- Ginecologia/ostetricia
- Immuno-oncologia



HLA e pratica trasfusionale

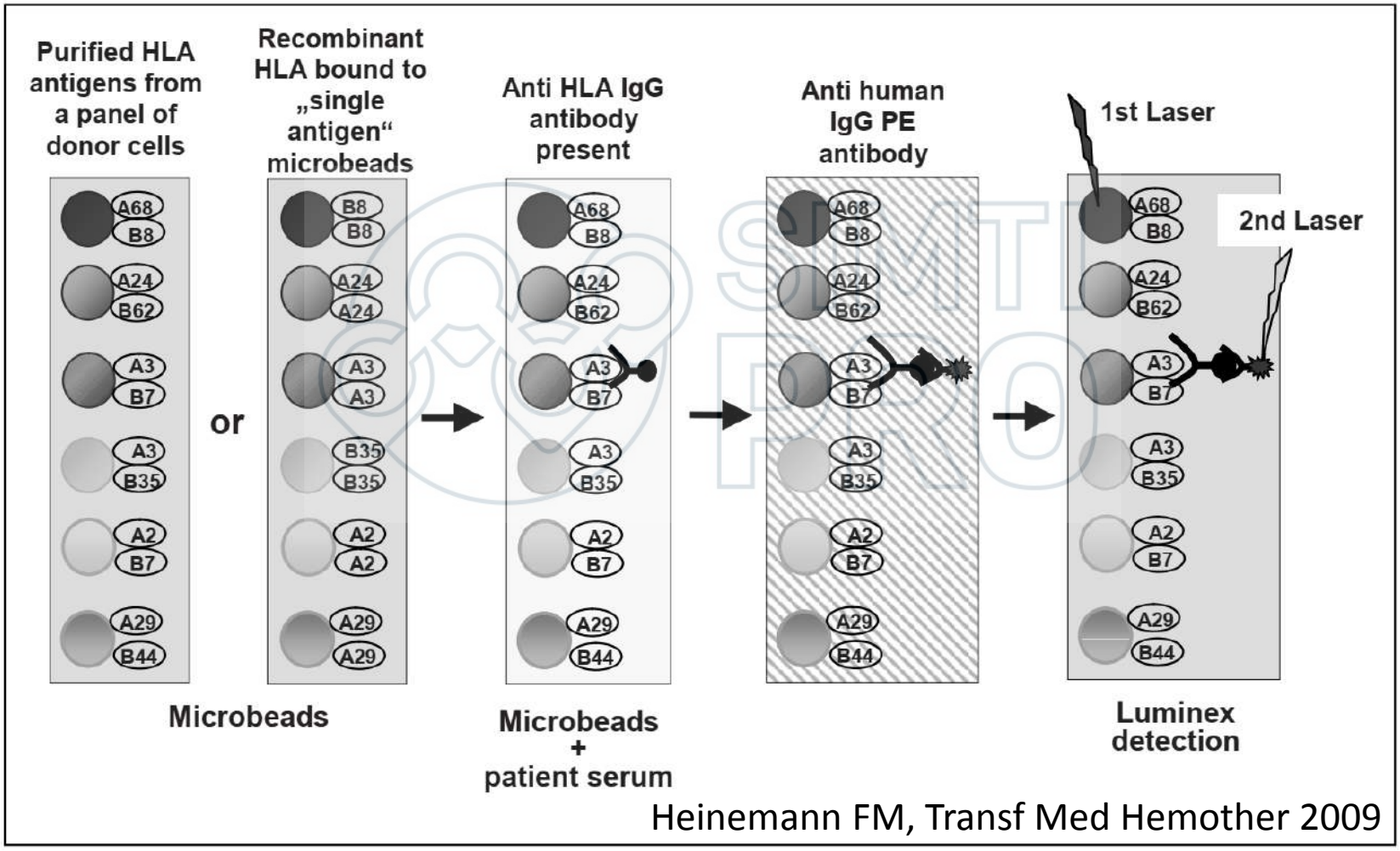
- TRALI ↓
- Refrattarieta´ piastrinica ↓
- Reazione febbrile non emolitica ↓
- TA-GvHD ↓
- NNA, PNA

«The role of HLA in transfusion practice», Mascaretti & Riva, 2004

(trasfusioni, gravidanze, trapianti) ↑ Ab anti-HLA

(esclusione rischio TRALI, leucodeplezione, irradiazione)

Ab anti-HLA e refrattarieta´ piastrinica



Heinemann FM, Transf Med Hemother 2009

Ab anti-HLA e refrattarieta´ piastrinica

ANT.ANTI HLA ident. (Single Antigen classe I)

POSITIVO

Metodica citofluorimetrica

Identificazione: A29, B67, B45, B76, B44, B81, B13, B46, B7, B42, B82, A33, B18, B48, B54, B55, B72, B56, B60, B65, A31, B27, B59, B61, B64, A43, A1, B73, A66, B57, A34, A68, B75, A25, A11, Cw1, A69, B38, B39, A36, A3, B58, A23, A24, Cw12, B47, B53, B51, Cw14, A32, B8, A80

ANT. ANTI HLA ident. (Single Antigen classe II)

POSITIVO

Metodica citofluorimetrica

*Identificazione: DR16, DR10, DR1, DR103, DR17, DR51, DR18, DR8, DR15, DQA1*02:01, DQ9, DR14, DR12, DQ8, DR13, DQ4, DP18, DQA1*03:03, DR52, DQA1*03:02, DR9, DP19, DP13, DQA1*01:02, DP11, DQ6, DQA1*06:01, DP5, DP1, DR11, DQA1*05:05, DQA1*05:01, DP3, DP6*

Gli anticorpi anti-HLA di classe I identificati (con valore MFI fino a 14.660) non sono diretti verso antigeni del candidato donatore

*l'anticorpo DR11, potenzialmente diretto contro un antigene presente nel candidato donatore, ma anche nella ricevente (tipizzati entrambi come DRB1*11:03), è stato identificato come DRB1*11:01 e DRB1*11:04 (valore medio MFI = 2.600), quindi molecolarmente diverso. Va detto che non è possibile, in questi casi, escludere la crossreattivà e che la specie molecolare*

*Si fa presente che l'antigene DPB1*104:01, presente nel donatore e non nella ricevente, non è coniugato alle biglie utilizzate per il test di identificazione.*

Ab anti-HLA e refrattarieta´ piastrinica

Platelet transfusion refractoriness in highly immunized beta thalassemia children undergoing stem cell transplantation

© 2010 John Wiley & Sons A/S.

Pediatric Transplantation
DOI: 10.1111/j.1399-3046.2009.01282.x

Sarah Marktel[1,2,*], Sara Napolitano[1,*], Elisabetta Zino[3,*], Barbara Cappelli[1,2], Robert Chiesa[1,2], Francesca Poli[4], Roberto Crocchiolo[5], Paola Ronchi[3], Silvano Rossini[3], Fabio Ciceri[6], Maria G. Roncarolo[1,2,7] and Katharina Fleischhauer[2,3]

ence of spleen and the number of anti-HLA antibodies. We adopted a policy to select platelet donors by avoiding HLA antigens against which the patient had specific antibodies. Transfusion of dedicated units resulted in 26% refractoriness compared to 74% to random units ($p < 0.0001$). When dedicated transfusions were used, the presence of spleen did not influence transfusion outcome. Analyzing transfusion outcome depending on the degree of HLA match and ABO compatibility, 76% successful transfusions were obtained with HLA-matched- ABO compatible followed by 67% in HLA-1mismatch- ABO compatible or HLA-matched- ABO incompatible and by 46% in HLA-1mismatch- ABO incompatible. In conclusion, we provide evidence

Trapianto d´organo solido

Linee-Guida AIBT per la Valutazione dell'Istocompatibilità nel Trapianto d'Organo

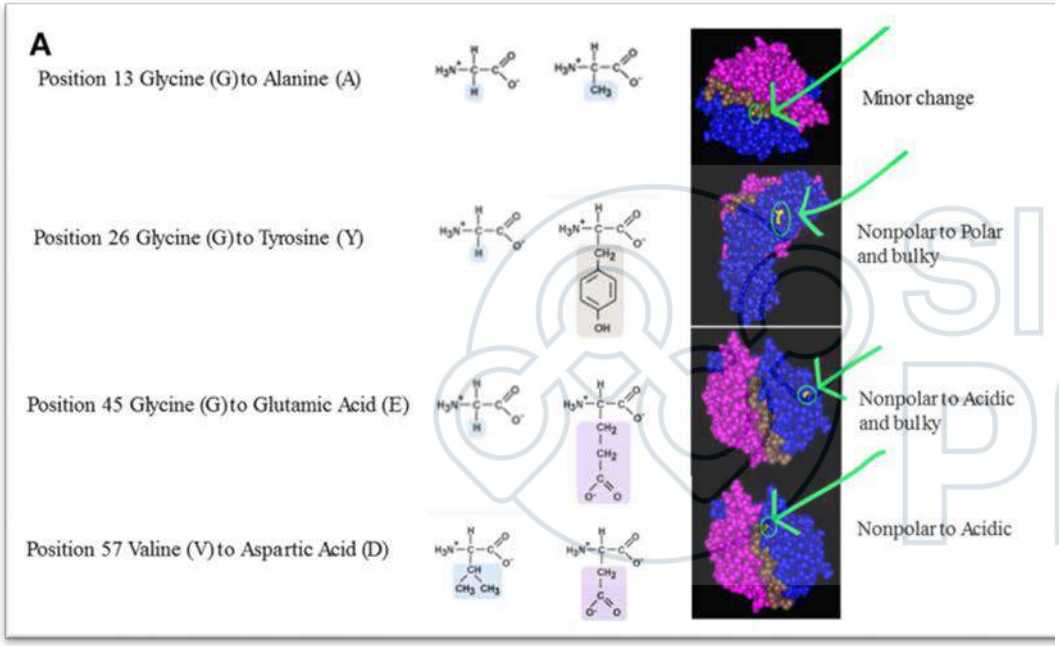
In sinergia con la Società Italiana Trapianti d'Organo (SITO)

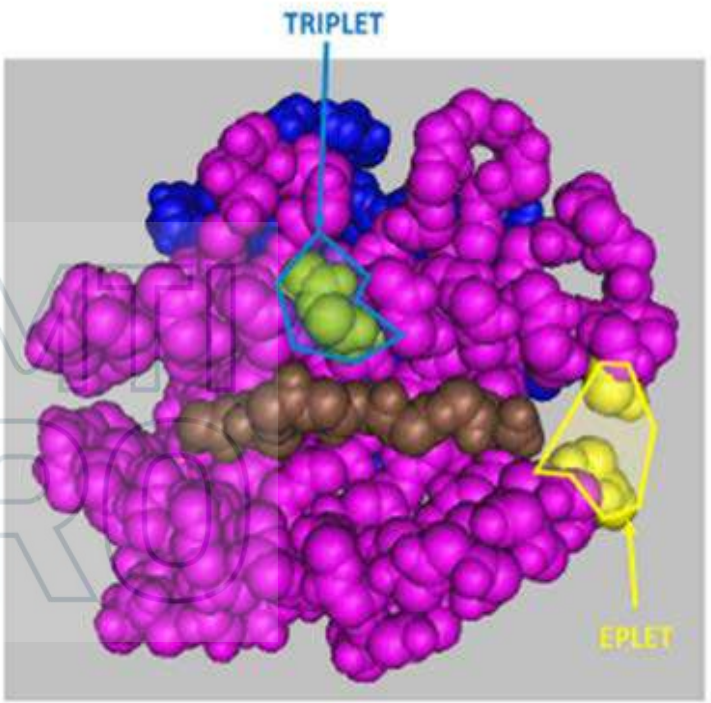
(Versione 06/07/2016)

AIBT

- Matching epitopico (eplets) vs. HLA
- Crossmatch (XM)
- Ab anti-HLA e donor-specific antibodies (DSA)
- Chimerismo (incluso «cell-free» DNA)

Match epitopico nel trapianto d´organo





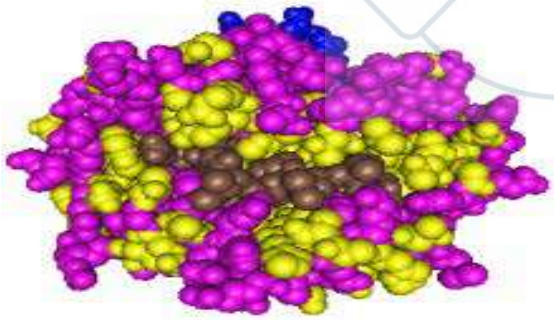
Tambur AR, Front Immunol 2018

Match epitopico nel trapianto d´organo

A Structurally Based Approach to Determine HLA Compatibility at the Humoral Immune Level

Rene J. Duquesnoy, Ph.D.
Division of Transplantation Pathology, Thomas E. Starzl, Transplantation Institute, University of Pittsburgh Medical Center

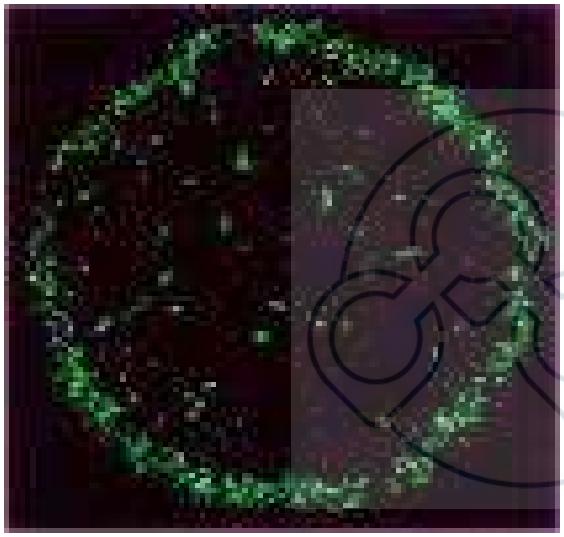
Hum Immunol. 2006 November ; 67(11): 847–862.



HLAMatchmaker
An Algorithm for Epitopes

PIRCHE

XM nel trapianto d´organo



REAZIONE NEGATIVA

REAZIONE POSITIVA

cortesia della Dr.ssa P. Zanelli

Anti-HLA (DSA) nel trapianto d´organo

- Allocazione organo (Panel Reactive Antibody)
- Ri-trapianto (iperimmunizati)
- Rigetto umorale (diagnosi, monitoraggio terapia)

SIMTI PRO

Chimerismo nel trapianto d´organo

- Attecchimento organo
- GvHD post-trapianto
- Rigetto (diagnosi, monitoraggio terapia)

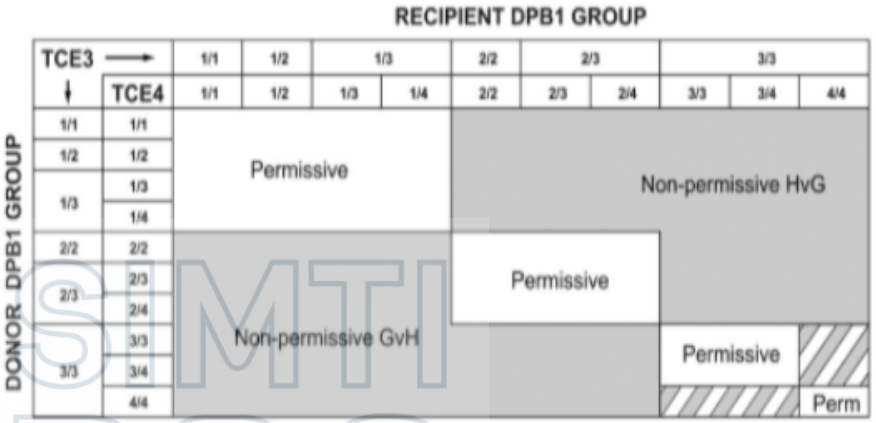
«cell-free» DNA = marcatore di danno d´organo

HLA e trapianto di CSE

- Permissivita´ vs. match HLA
- «HLA evolutionary divergence»,immunopeptidoma, affinita´
- Significato oltre i 2 campi, 4-digit (NGS)
- DSA e desensibilizzazione
- Chimerismo

Permissivita´

DPB1* alleles	TCE3 group	TCE4 group	Immunogenicity
0901 1001 1701	1	1	
0301 1401 4501	2	2	
0201 0202 0203	3	3	
Others		4	



Crocchiolo R., Blood 2009

Regular Article

TRANSPLANTATION

Identification of a permissible HLA mismatch in hematopoietic stem cell transplantation

Marcelo A. Fernandez-Viña,[1] Tao Wang,[2] Stephanie J. Lee,[3] Michael Haagenson,[4] Mahmoud Aljurf,[5] Medhat Askar,[6] Minoo Battiwalla,[7] Lee-Ann Baxter-Lowe,[8] James Gajewski,[9] Ann A. Jakubowski,[10] Susana Marino,[11] Machteld Oudshoorn,[12] Steven G. E. Marsh,[13] Effie W. Petersdorf,[3] Kirk Schultz,[14] E. Victoria Turner,[15] Edmund K. Waller,[16] Ann Woolfrey,[3] John Umejiego,[4] Stephen R. Spellman,[4] and Michelle Setterholm[17]

Key Points

- Mismatches in alleles C*03:03/C*03:04 were most frequent (68.7%) among the transplants with a single allele level mismatch in HLA-C.
- The 7/8 C*03:03/C*03:04 mismatch group was not significantly different from the 8/8 HLA matched transplants in any transplant outcome.

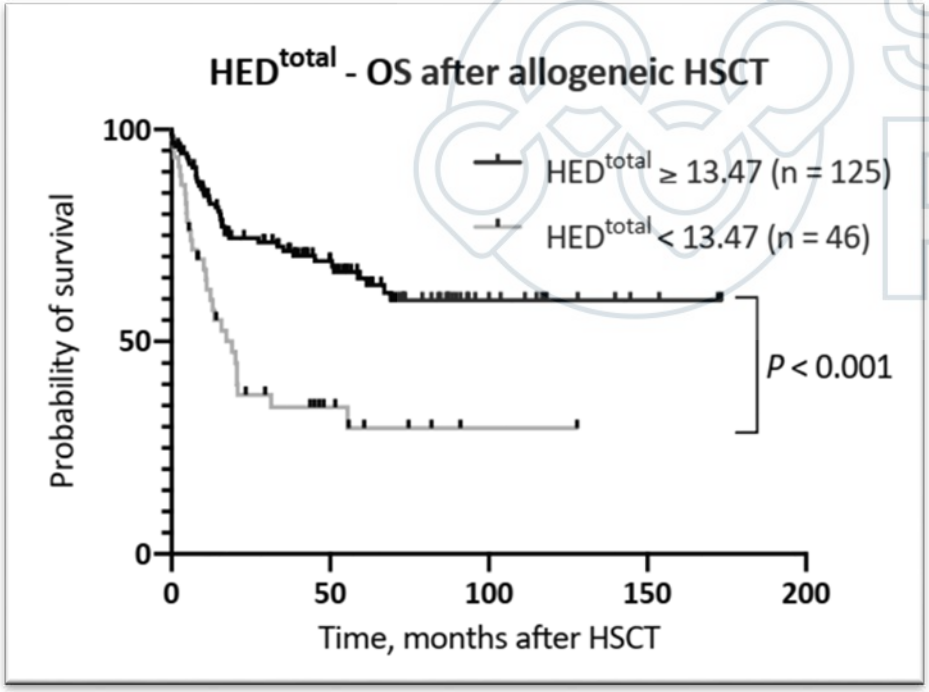
Fernandez-Vina, Blood 2014

HED & immunopeptidoma

Amino Acid Difference Formula to Help Explain Protein Evolution

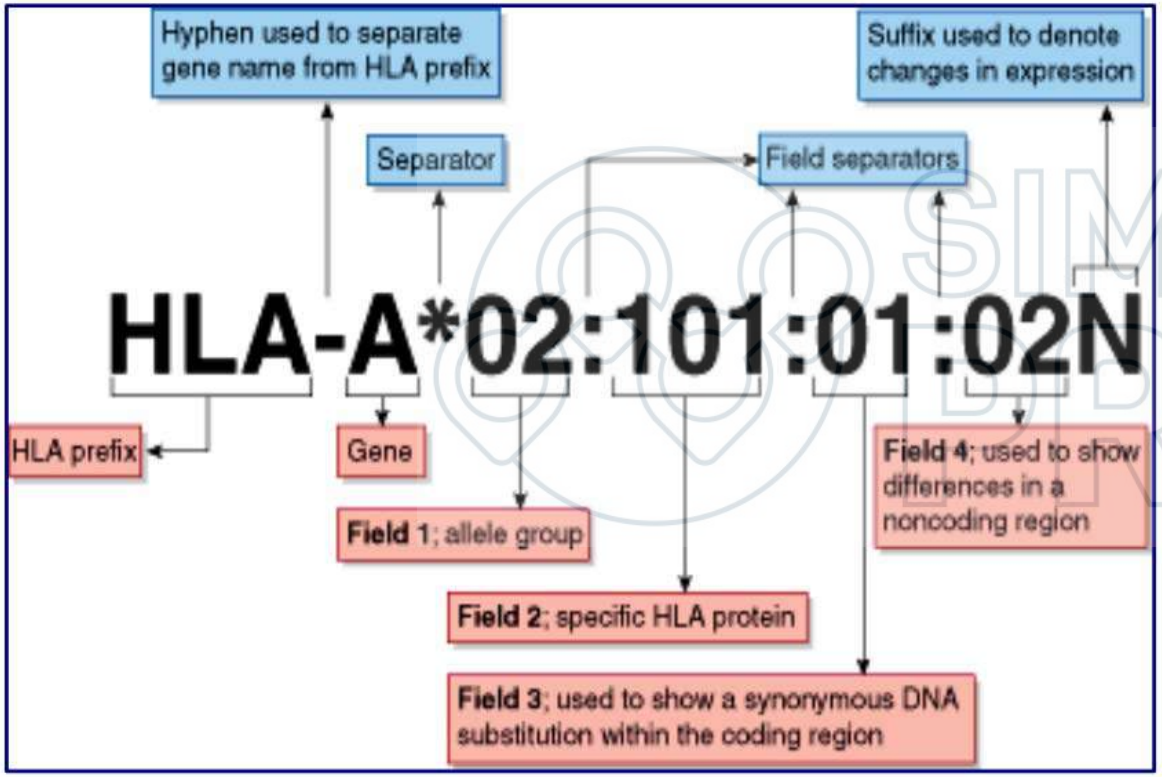
19 October 1973; revised 12 June 1974

R. GRANTHAM



Roerden M et al., Cancers 2020

Oltre i 2 campi - Next Generation Sequencing



Riduzione drastica delle ambiguita´ rispetto ad SSO/SSP

Definizione aplotipo

Accorciamento dei tempi

Scoperta di nuovi alleli

Ginecologia/ostetricia

Immunogenetics (2017) 69:557–565
DOI 10.1007/s00251-017-1003-9

REVIEW

The role of KIR and HLA interactions in pregnancy complications

Francesco Colucci[1,2]

Research Article

The Immunosignature of Mother/Fetus Couples in Gestational Diabetes Mellitus: Role of HLA-G 14bp ins/del and PAPP-A A/C Polymorphisms in the Uterine Inflammatory Milieu

Miryam Martinetti,[1] Fausta Beneventi,[2] Cristina Capittini,[3] Elena Locatelli,[2] Margherita Simonetta,[2] Chiara Cavagnoli,[2] Irene De Maggio,[2] Annalisa De Silvestri,[3] Annamaria Pasi,[1] and Arsenio Spinillo[2]

Immuno-oncologia

- «HLA evolutionary divergence» ed immunoterapia
- KIR e trastuzumab
- **«Off-the-shelf» CAR-T e CAR-NK**

SIMTI PRO

HLA-COVID-ITALIA e HLA&Vaccino

Protocollo N.: ***HLACOVID-ITALIA***

Titolo: *"Studio nazionale di valutazione del ruolo della variabilita' nei geni hla, kir e mic nell' infezione da sars-cov-2 e nelle sue manifestazioni cliniche" (HLACOVID-ITALIA)*;

ORIGINAL ARTICLE

HLA Immune Response Genetics WILEY

Polymorphism of the HLA system and weak antibody response to BNT162b2 mRNA vaccine

Roberto Crocchiolo[1] | Anna Maria Gallina[2] | Arianna Pani[3,4] | Daniela Campisi[4] | Valeria Cento[3,4] | Nicoletta Sacchi[2] | Valeria Miotti[5] | Oscar Matteo Gagliardi[6] | Federico D'Amico[7] | Chiara Vismara[4] | Giorgia Cornacchini[1] | Giuliana Lando[1] | Irene Cuppari[1] | Francesco Scaglione[3,4] | Silvano Rossini[1]

Immunogenetica e fattore «tempo»

- Cruciale in ambito trapiantologico CSE per la selezione del donatore e quindi per la realizzazione del trapianto in tempi congrui

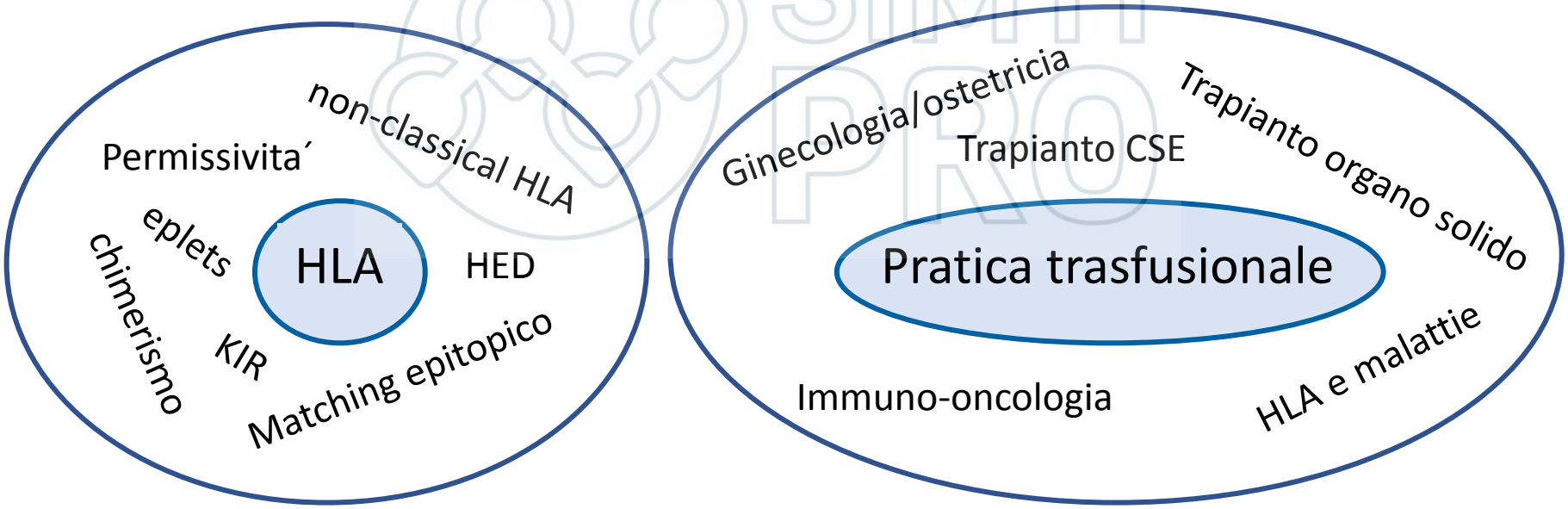
- Servono:

- competenza da parte del lab (conoscenza del percorso terapeutico del paziente)
- capacita´ di interazione e spirito collaborativo
- adeguamento tecnologico (per es. NGS)

Conclusioni

Immunogenetica

Medicina trasfusionale



Conclusioni

- L´immunogenetica e´ una materia in continua evoluzione, con molteplici risvolti ancora da definire ed in cui servono figure di «link» con i clinici per la corretta interpretazione degli esami

- Avanzamento tecnologico necessario

- L´acquisizione ed il mantenimento delle competenze specifiche all´immunogenetica sono una risorsa per il SIMT, da declinare in base alle attivita´ svolte dal SIMT stesso

Ringraziamenti

Laboratorio HLA

Giorgia Cornacchini

Giuliana Lando

Elisabetta Sommaruga

Maria Grazia Pipitone

Cristina Garanzini

Sara Labate

Ambulatorio & Immunoematologia

Laura Bellio

Elisa Boiani

Anna Ciraolo

Irene Cuppari

Debora Girgenti

Chiara Lupo

Anna Maria Mazza

Roberta Monti

Lucio Morabito

Oriana Perini

Mariateresa Pugliano

Lilian Romero

Elisabetta Volpato

Luca Veronese e tutto lo staff dei TLSB

Infermieri aferesi

Giovanna Arcopinto

Matteo Ballisai

Simonetta Belotti

Barbara Cianci

Anna De Iaco

Antonio Marcone

Michele Romiti

Chiara Tumminello

Gabriele Antognoni

Orietta Zurma

Giovanna R. Fiore

Direttore

Silvano Rossini

SIMT

Ospedale Niguarda

Sistema Socio Sanitario Regione Lombardia

AIBT

Franco Papola

Gianni Rombola´

Lia Mele

Benedetta Mazzi