

La donazione del cordone ombelicale: l'esperienza della clinica ostetrico-ginecologica di Udine dal 2002 al 2006

G. CACCIAGUERRA, V. CAPODICASA, V. PICCOLI, E. PERIN, S. CONTARDO, D. RINUNCINI, A. CITOSI, L. DRIUL, D. MARCHESONI

RIASSUNTO: La donazione del cordone ombelicale: l'esperienza della clinica ostetrico-ginecologica di Udine dal 2002 al 2006.

G. CACCIAGUERRA, V. CAPODICASA, V. PICCOLI, E. PERIN, S. CONTARDO, D. RINUNCINI, A. CITOSI, L. DRIUL, D. MARCHESONI

Il sangue del cordone ombelicale costituisce una ricca fonte di cellule staminali emopoietiche e mesenchimali multipotenti e viene impiegato nel trattamento di numerose patologie.

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare il lavoro svolto nella nostra Clinica nel reclutamento e nella selezione delle madri donatrici, nel periodo compreso tra gennaio 2002 e dicembre 2006 e analizzare l'esito delle donazioni di sangue cordonale.

Sulla base di criteri forniti dalla Banca del Sangue di Cordone di Padova, alla quale il nostro centro fa riferimento, sono state escluse dalla donazione pazienti e coppie con familiarità per alcune patologie di rilievo. Dal 2002 al 2006 sono stati condotti 1.851 colloqui ed il numero totale di sacche idonee ed attualmente depositate presso la Banca del Sangue di Cordone di Padova con il sangue del cordone ombelicale di mamme che hanno partorito presso la nostra clinica sono 96 (6.1%).

SUMMARY: The donation of blood cord at the department of obstetrics University of Udine from 2002 to 2006.

G. CACCIAGUERRA, V. CAPODICASA, V. PICCOLI, E. PERIN, S. CONTARDO, D. RINUNCINI, A. CITOSI, L. DRIUL, D. MARCHESONI

The blood of the umbilical cord represents an important origin of staminal emopoietic cells and mesenchimal multipotent cells; it can be used in treatment of many ematological diseases.

The aim of our study is the evaluation of our work in recruitment and selection of donar mothers in a period between January 2002 and December 2006.

We excluded women with a familiarity for some important pathologies in according with the criteria of the Padova Cord Blood Bank.

In this period we evaluated 1851 women and obtained 96 donations of blood cord which now are preserved in Padova.

KEY WORDS: Sangue cordonale - Cellule staminali - Malattie ematologiche.
Blood cord - Staminal cells - Ematological disease.

Introduzione

La ricerca, negli ultimi anni, si è focalizzata sull'identificazione e l'utilizzo delle cellule staminali, che potrebbero apportare profonde rivoluzioni nella pratica medica (1).

Le cellule staminali sono dotate della capacità di automantenersi e differenziare; ogni cellula è infatti in grado di dividersi dando luogo a due cellule figlie, di cui una rimpiazza la cellula madre e l'altra va incontro

a differenziazione e maturazione (2). Esistono quattro tipi di cellule staminali:

- Totipotenti: possono dare origine ad un intero organismo e persino a tessuti extra-embriionali. I blastomeri possiedono queste proprietà;
- Pluripotenti: possono specializzarsi in tutti i tipi di cellule di un adulto ma non in cellule dei tessuti extra-embriionali;
- Multipotenti: possono specializzarsi solamente in alcuni tipi di cellule;
- Unipotenti: possono generare solo un tipo di cellula specializzata.

Sulla base della provenienza, possiamo inoltre classificare le cellule staminali in adulte (o somatiche), fetali ed embrionali (3).

- Cellule staminali adulte: cellule non specializza-

te reperibili tra cellule specializzate di un tessuto specifico; sono prevalentemente multipotenti. Fonti di cellule staminali adulte sono alcuni organi e tessuti adulti (midollo osseo, sangue periferico, fegato, pancreas, cervello, muscoli, epitelio olfattivo, tessuto adiposo e cute) ed il sangue del cordone ombelicale.

- Cellule staminali fetali: reperibili a livello placentare e nel liquido amniotico.
- Cellule staminali embrionali: ottenute mediante coltura, ricavate dalla massa cellulare interna dell'embrione in fase di blastocisti.

Il sangue del cordone ombelicale costituisce una ricca fonte di cellule staminali emopoietiche e mesenchimali multipotenti; il sangue del cordone ombelicale, infatti, viene impiegato nel trattamento di numerose patologie (4, 5).

La recente identificazione di cellule multipotenti di origine cordonale ha permesso di ipotizzare il loro utilizzo nell'ambito della terapia cellulare e della medicina rigenerativa (6).

Il trapianto di cellule staminali ematopoietiche cordonali presenta vantaggi e svantaggi rispetto a quello di cellule staminali da midollo osseo o sangue periferico (7).

I vantaggi sono:

- maggior numero di cellule staminali emopoietiche per volume di sangue;
- effetto immunologico positivo (minor incidenza di "graft versus host disease" -GVHD-);
- alta capacità proliferativa cellulare;
- raccolta indolore per il donatore;
- velocità di accesso ai database e quindi pronta disponibilità.

Tra gli svantaggi vanno ricordati:

- scarso volume di sangue ottenibile al momento del prelievo e quindi basso numero di progenitori emopoietici;
- maggior rischio di ritardo di attecchimento.

Il sangue del cordone ombelicale, solitamente, viene eliminato insieme alla placenta non appena avvenuto il secondamento; in alternativa può essere raccolto e conservato per diverse finalità.

Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare quante donazioni di sangue cordonale sono andate a buon fine in relazione al numero di pazienti in gravidanza che si sono sottoposte a un colloquio informativo presso la Clinica di Ostetricia e Ginecologia dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Udine, nel periodo compreso tra gennaio 2002 e dicembre 2006.

Materiali e metodi

Presso la Clinica Ostetrica-Ginecologica di Udine la selezione anamnestica delle possibili donatrici di

sangue cordonale e poi la raccolta pratica vengono effettuate da parte di n° 7 medici abilitati secondo i criteri forniti dalla Banca del Sangue di Cordone di Padova, che è inserita all'interno di un circuito internazionale per la donazione delle cellule staminali, con la collaborazione del personale ostetrico accreditato.

La compilazione del questionario anamnestico costituisce il primo livello di selezione. Sulla base di criteri forniti dalla Banca del Sangue di Cordone di Padova, alla quale il nostro centro fa riferimento, vengono escluse dalla donazione le coppie con familiarità per patologie autoimmuni e metaboliche, trombofilie omozigoti, patologie a trasmissione genetica, del sistema ematopoietico e neoplasie. Vengono escluse inoltre le gravide con malattie infettive in atto o malattie veneree.

Fattori di esclusione che riguardano lo stile di vita della coppia comprendono l'effettuazione di tatuaggi o piercing, la profilassi antimalarica o i viaggi in zone di endemia nei 6 mesi precedenti, i comportamenti sessuali a rischio e l'uso di stupefacenti, il soggiorno in Gran Bretagna per più di 6 mesi tra il 1986 ed il 1996.

Per quanto riguarda l'andamento della gravidanza, risultano fattori escludenti la comparsa di malattie infettive durante la gravidanza (toxoplasmosi, citomegalovirus, rosolia, epatiti, varicella, morbillo...), l'esecuzione dell'immunoprofilassi per la malattia emolitica del neonato (MEN) entro un anno, il riscontro ecografico di anomalie strutturali del feto, il tampone vaginale positivo se non trattato con terapia antibiotica (eccetto la positività per lo Streptococco B-emolitico) e l'assunzione di farmaci particolari (talidomide, antineoplastici, isotetrionina, anticonvulsivanti, antitiroidei, anticoagulanti, ormoni androgeni, cloramfenicolo, nitrofurantoina, metronidazolo).

Dopo la compilazione della scheda anamnestica, la paziente incontra il medico, con il quale discute dei quesiti posti e delle risposte fornite; durante il colloquio vengono chiariti eventuali dubbi e vengono controllati gli esiti degli accertamenti eseguiti durante la gestazione. Alle gravide considerate idonee alla donazione, viene consegnato un bollino di identificazione che verrà apposto sulla cartella clinica al momento del ricovero.

Durante il travaglio ed il parto esistono variabili di tipo ostetrico che possono escludere la paziente dalla donazione del sangue cordonale; il parto, infatti, deve avvenire senza complicazioni, oltre la 35^a settimana di gestazione, entro 12 ore dalla rottura delle membrane amniocoriali e senza segni di alterazione del tracciato cardiocotografico.

Una volta verificati tutti i criteri, la paziente viene giudicata idonea alla donazione.

Il prelievo di sangue da cordone ombelicale si ese-

gue dopo aver clampato e reciso il cordone stesso; entro 60 secondi, tramite un ago apposito, si punge il cordone e si lascia defluire il sangue all'interno di una sacca sterile. A raccolta completata, si aggiunge l'anticoagulante in dotazione con il kit di raccolta.

Il sangue del cordone ombelicale può essere usato per i trapianti di midollo solo se è privo di agenti infettivi; sono necessari, quindi, controlli sia sul sangue cordonale che sulla madre del donatore.

Perché le caratteristiche del sangue cordonale siano le più adatte possibili all'effettuazione di un trapianto, la selezione delle donatrici deve essere estremamente accurata.

Le pazienti, durante il ciclo di monitoraggi cardiocografici che si effettuano a partire dalla 38^a settimana di gestazione, vengono informate della possibilità di effettuare la donazione del sangue cordonale; viene quindi consegnata loro una scheda informativa, che contiene spiegazioni circa le finalità e le procedure di raccolta, un questionario anamnestico ed il modulo per il consenso alla donazione.

Non appena avvenuto il parto, si procede alla raccolta del sangue cordonale come descritto in precedenza. Si verifica quindi che il peso della sacca sia superiore a 160 g; questo limite di peso, imposto dalla banca di riferimento, serve a garantire buone possibilità che la donazione contenga un numero di cellule staminali adeguato. Se il peso target non viene raggiunto, il sangue viene eliminato insieme alla placenta, come di consueto. Se la sacca della donazione è idonea, viene inviata entro 36 ore, tramite corriere o volontario, alla Banca del Sangue di Cordone di Padova (Centro di raccolta in vigore dal 2002), insieme ad un prelievo di sangue materno, alla scheda di selezione anamnestica, al modulo per il consenso informato compilato e firmato dalla paziente e alla modulistica di invio del campione. Giunta alla Banca, la sacca viene analizzata e, in base alle caratteristiche del sangue in essa contenuto, destinata alla ricerca o al

trapianto. In quest'ultimo caso, la Banca ci contatta circa 6 mesi dopo il parto e noi provvediamo all'invio di un certificato di buona salute del bambino donatore e di un ulteriore prelievo ematico materno per i controlli sierologici.

Superata anche questa seconda fase di controllo, il sangue viene conservato per 10 anni o finché non vi sia compatibilità con un soggetto ricevente nel mondo.

Risultati

Nel periodo compreso tra gennaio 2002 e dicembre 2006 presso la Clinica di Ostetricia e Ginecologia dell'Azienda Ospedaliera Universitaria di Udine sono stati condotti 1.851 colloqui.

Tra le future mamme 300 (16.2 %) non presentavano criteri di inclusione previsti dall'anamnesi ed in particolare per la maggioranza dei casi (47%) le pazienti non sono state reclutate per criteri di esclusione anamnestici, il 35% per patologie materne o paterne e il 18% per altre motivazioni (Fig. 1).

Dei rimanenti 1.551 colloqui con future donatrici, sono state inviate in totale 96 sacche pari al 6.1%. Il 40% delle donazioni effettuate non è risultato idoneo perché la quantità di sangue raccolto era insufficiente (<160 ml), nel 39% dei casi non è stata effettuata la donazione per cause legate al travaglio (quali: liquido tinto, rottura prematura delle membrane amniocoriali superiore a 12 ore, pazienti che al momento del parto si trovavano ad una epoca gestazionale <35 settimane, per febbre maggiore di 38°C o alterazioni cardiocografiche), il 15 % delle pazienti ha partorito in giornate incompatibili per il raggiungimento in tempo utile (36 ore) della Banca del Cordone (dalle 08:00 del venerdì della settimana alle 23:00 del sabato) e in una piccola parte delle donazioni da noi effettuate il corriere non è giunto in tem-

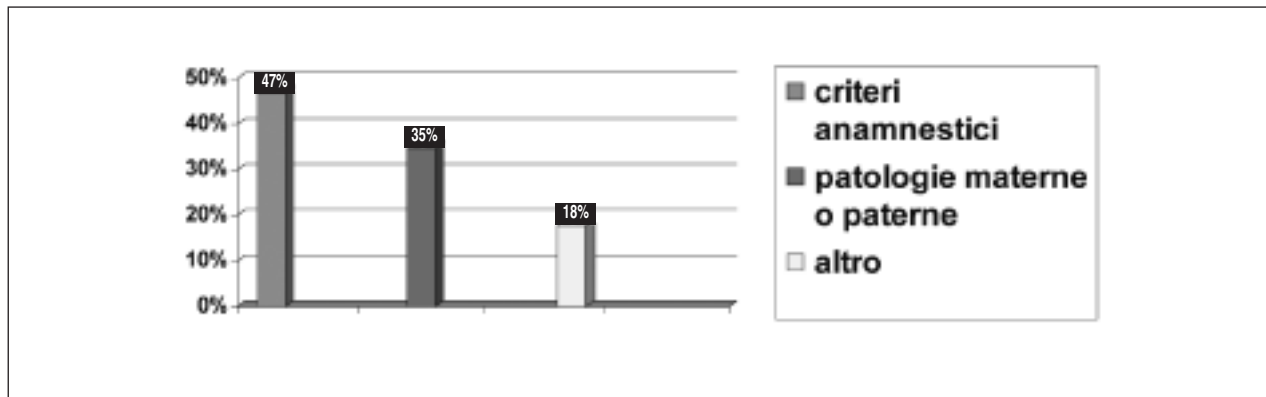


Fig. 1 - Pazienti escluse dalla donazione del sangue cordonale.

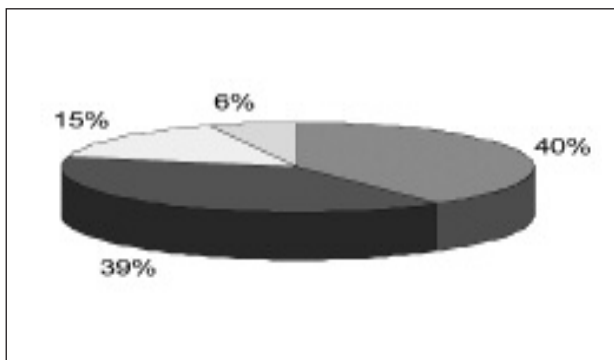


Fig. 2 - Esito delle donazioni effettuate.

più utili o ci sono stati inconvenienti tecnici nel trasporto (Fig. 2).

In conclusione, dal 2002 al 2006 sono stati condotti 1.851 colloqui ed il numero totale di sacche idonee ed attualmente depositate presso la Banca del Sangue di Cordone di Padova con il sangue del cordone ombelicale di mamme che hanno partorito presso la nostra clinica è 96; il numero di sacche depositate a Padova di donne che hanno partorito in tutti i punti nascita abilitati del Friuli Venezia Giulia è 220.

Discussione

Le sorgenti di cellule staminali emopoietiche possono essere non solo il midollo osseo e il sangue periferico, ma anche il sangue di cordone ombelicale. Le cellule staminali sono in grado di colonizzare il midollo osseo e di riprodursi, dando origine ai diversi elementi del sangue. Per questo è importante donare il sangue del cordone ombelicale. Circa il 40-50% dei pazienti che necessitano di un trapianto di midollo osseo, non dispone sfortunatamente di un donatore compatibile nell'ambito familiare o nei registri internazionali dei donatori volontari di midollo osseo: in questi casi il sangue del cordone ombelicale può sostituire il midollo per il trapianto (8).

Le principali indicazioni del trapianto di sangue del cordone sono malattie oncoematologiche, emoglobinopatie, sindromi da insufficienza midollare, immunodeficienze ed errori congeniti del metabolismo.

L'importanza della donazione di cellule staminali dal cordone per la cura delle patologie emopoietiche è una problematica sempre più attuale, data la divulgazione di tale argomento attraverso i mass media e la nascita di banche di raccolta private all'estero ed in Italia.

Le banche in Italia attualmente attive sono 16: Treviso, Padova, Milano, Torino, Pavia, Bologna, Genova, Firenze, Pisa, Lazio (Roma La Sapienza, Roma

Tor Vergata, Roma Università Cattolica), Pescara, Sciacca, Napoli, Reggio Calabria. Le unità di sangue crioconservate derivate da sangue del cordone ombelicale sono 37.298, dato aggiornato al 31.12.2005.

L'importante numero di colloqui da noi effettuati con le pazienti che si sono rivolte alla nostra struttura evidenzia come la nostra clinica, ma anche le pazienti, siano molto sensibili a questa importante iniziativa. La diffusione dell'importanza di tale raccolta è avvenuta nell'arco di anni, soprattutto grazie ad una Associazione (ADISCO) che ha contribuito alla sensibilizzazione delle future mamme e all'organizzazione pratica del trasporto delle sacche verso la nostra Banca di raccolta di riferimento.

Dall'analisi effettuata, però, è emerso che esistono ancora alcune oggettive difficoltà tecniche che giustificano il numero limitato di sacche da noi raccolte ed inviate alla Banca di Padova, nostro centro di riferimento: la difficoltà nel gestire il trasporto tra la Clinica e la Banca, la difficoltà a raggiungere il quantitativo utile di sangue cordonale (peraltro negli ultimi anni diminuita da 190 g a 160 g) e la rigidità dei criteri anamnestici che hanno portato ad escludere molte possibili donatrici.

Visto che la raccolta del sangue cordonale avviene sia durante i parti spontanei che durante i tagli cesarei elettivi, sarebbe utile potere eseguire il prelievo, previo consenso informato delle pazienti accettate, a tutti i tagli cesarei elettivi. La nostra esperienza ci ha permesso di evidenziare una maggiore quantità di raccolta di sangue da pazienti sottoposte a taglio cesareo programmato rispetto al parto spontaneo.

È importante evidenziare come dato positivo, oltre che la già citata facile esecuzione del prelievo, anche la gestione della paziente dopo il parto: il follow up si basa su un unico prelievo materno e sulla raccolta delle informazioni legate al neonato a 6 mesi dal parto.

In conclusione, in futuro cercheremo di ottimizzare il trasporto delle sacche raccolte verso la banca di riferimento e ci auguriamo che ci possa essere la possibilità di diminuire il quantitativo di sangue necessario per ottenere un numero superiore di sacche idonee e utili per offrire più speranze a malati che necessitano di trapianto nel mondo.

Ringraziamenti: la Dott.ssa Bovo, la Dott.ssa Destro, la Dott.ssa Zoccola, il Prof. Zanardo e la loro équipe della Clinica Oncoematologica Pediatrica, Via Giustiniani 3, 35128 Padova; - la Dott.ssa Bianca Maria Aveni, Presidentessa della Associazione ADISCO, e le socie della sede di Udine; - la Caposala della Clinica Ostetrica-Ginecologica di Udine, Sig.ra Luigina Drigo e le ostetriche della Clinica che si dedicano alla raccolta del sangue del cordone ombelicale.

Bibliografia

1. MOISE KJ JR. *Umbilical cord stem cells*. Obstet Gynecol. 2005 Dec; 106: 1393-1407.
 2. ALLEN K, et al. *Current status of cord blood banking and transplantation in the United States and Europe*. Biology of blood and Marrow Transplantation 2001;7:635-645.
 3. AMIT M, ITS KOVITZ-ELDOR J. *Derivation and spontaneous differentiation of human embryonic stem cells*. Journal of Anatomy 2002;200:41-49.
 4. ROGERS I. *Umbilical cord blood stem cells*. Best Pract Res Clin Obst and Gynecol 2004;18:893-908.
 5. ERICES A, CONGET P, MINGUELL JJ. *Mesenchymal progenitor cells in human umbilical cord blood*. Br J Hematol 2000;109:235-242.
 6. BRUNSTEIN CG, SETUBAL DC, WAGNER JE. *Expanding the role of umbilical cord blood transplantation*. Br J Haematol 2007;137:20-35.
 7. GLUCKMAN E, ROCHA V, CHEVRET S. *Results of unrelated umbilical cord blood hematopoietic stem cells transplant*. Transfusion Clinique et Biologique 2001;8:146-154.
 8. ROCHA V, GLUCKMAN E. *Umbilical cord blood transplantation*. Curr Opin Hematol 2004;11(6):375-385.
-