

TRAPIANTO DI RENE DA DONATORE A CUORE NON BATTENTE: LA PRIMA ESPERIENZA IN ITALIA

Teresa Rampino¹, Massimo Abelli², Elena Ticozzelli², Marilena Gregorini¹, Francesca Bosio¹, Giovanni Piotti¹, Giulia Bedino¹, Pasquale Esposito¹, Chiara Teresa Balenzano¹, Paolo Geraci³, Antonio Dal Canton¹

¹Unità di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo e Università degli Studi, Pavia

²Unità di Trapianto, Fondazione IRCCS, Policlinico San Matteo e Università degli Studi, Pavia

³Centro Coordinamento per le Donazioni e Trapianti, Fondazione IRCCS, Policlinico San Matteo e Università degli Studi, Pavia

Non-heart-beating-donor transplant: the first experience in Italy

A promising way to increase the number of kidneys for transplantation is to expand the donor pool by including non-heart-beating donors (NHBDs). The centers involved in NHBD transplantation programs have reported a 16-40% increase in kidney transplants. A key issue with NHBD is the significantly higher rate of delayed graft function (DGF) and primary non-function (PNF) compared with that associated with heart-beating donor (HBD) transplants. However, although transplants from NHBD are associated with a greater incidence of early adverse events, long-term graft survival appears to be similar to that observed after transplants from HBDs. In addition, the use of extracorporeal membrane oxygenation and mechanical perfusion, the careful selection of recipients and donors, and an adequate therapeutic strategy may at least partially reduce the risk of PNF and DGF and improve transplant outcome. (G Ital Nefrol 2010; 27: 56-68)

Conflict of interest: None

KEY WORDS:

Non-heart-beating donors, Kidney transplantation

PAROLE CHIAVE:

Donazione a cuore non battente, Trapianto renale

✉ Indirizzo degli Autori:

Dr.ssa Teresa Rampino
Unità di Nefrologia, Dialisi e Trapianto
Fondazione IRCCS
Policlinico San Matteo e
Università degli Studi
27100 Pavia
e-mail: t.rampino@smatteo.pv.it

INTRODUZIONE

Il trapianto di rene è il trattamento di scelta nel paziente affetto da insufficienza renale cronica terminale (1). La sua praticabilità però rimane limitata dalla disponibilità di organi. Negli ultimi anni il divario crescente tra il numero delle donazioni e quello dei pazienti in lista d'attesa ha portato alla ricerca di nuove soluzioni per incrementare il *pool* di organi disponibili, come l'allargamento dei criteri di reclutamento dei donatori, l'accettazione di reni con anomalie anatomiche, il doppio trapianto, la donazione da vivente anche in modalità *crossover*, il trapianto ABO incompatibile, campagne di sensibilizzazione dell'opinione pubblica ed infine la rivalutazione dei donatori definiti a cuore non battente (NHBD) (2).

La donazione da soggetti a cuore non battente consiste nel prelevare organi destinati al trapianto da persone che muoiono per arresto cardiaco. Questo tipo di donazione non è nuovo, infatti, tutti i reni trapiantati

prima del 1968, anno in cui vennero stabiliti i criteri di *Harvard* per la diagnosi di morte cerebrale, provenivano da NHBD e da donatori viventi consanguinei. Dopo il 1968 ai NHBD si affiancarono quelli a cuore battente (HBD), che grazie ai migliori risultati ottenuti in termini di sopravvivenza d'organo, rapidamente prevalsero fino a sostituire i primi (3). Si assistette così in quasi tutti i Paesi del mondo, tranne che in Giappone, all'interruzione dell'utilizzo di NHBD per il trapianto (4). Solo nei primi anni '80 per ampliare il *pool* dei donatori, gli Olandesi di Maastricht iniziarono il primo programma Europeo per la donazione a cuore non battente, a cui parteciparono Spagna ed Inghilterra. Circa 15 anni più tardi, si svolse a Maastricht il primo *Workshop* Internazionale (5, 6) e furono elaborate "la classificazione dei donatori a cuore non battente" ed un elenco di "raccomandazioni" per istituire il programma nei Centri interessati (Tab. I).

Nonostante la spinta impressa dal *Workshop* di Maastricht la donazione da NHBD non ha avuto una dif-

TABELLA I - "RACCOMANDAZIONI" PER I CENTRI TRAPIANTO INTERESSATI AL PROGRAMMA NHBD ELABORATE DURANTE IL WORKSHOP INTERNAZIONALE TENUTOSI A MAASTRICHT NELL'ANNO 1995

Le raccomandazioni di Maastricht	
1.	Il fatto che vengano considerati gli organi di donatori a cuore fermo per il trapianto è il risultato diretto della diminuita disponibilità di organi per il continuo aumento delle liste di attesa. L'uso di donatori a cuore fermo può essere un modo per aumentare il numero degli organi disponibili.
2.	Ci sono pochi dati sul potenziale numero di donatori e sul costo della procedura. Dovranno essere raccolte più informazioni per valutare l'efficacia della procedura.
3.	È importante dimostrare che i risultati finali giustifichino lo sforzo e la spesa, per cui è necessario includere i trapianti da donatore a cuore fermo in un registro di dati.
4.	Per la preservazione degli organi, utilizzare metodi che sono allo stato dell'arte e considerare la macchina per la perfusione dei reni.
5.	Nessun programma dovrebbe iniziare senza un protocollo scritto approvato dai locali comitati etici.
6.	Per meglio comprendere l'analisi dei dati futuri ci si dovrà riferire alle "Categorie di Maastricht".
7.	Le procedure per le categorie II e III devono iniziare solamente dopo 10 minuti dalla cessazione del massaggio cardiaco e della ventilazione per assicurarsi del principio del "dead donor rule".
8.	Il periodo di ischemia calda inizia dal momento dell'arresto cardiaco fino all'avvio della perfusione ipotermica, escludendo la durata delle manovre rianimatorie.
9.	Devono essere messi a punto metodi migliori per stabilire la "vitalità" degli organi prelevati.
10.	Come nel trapianto da HBD, la diagnosi di morte deve essere effettuata da medici indipendenti del team di prelievo.
11.	L'educazione della popolazione sul donatore a cuore fermo è necessaria per mantenere la fiducia pubblica.

fusione estesa ed è rimasta limitata a pochi Paesi (7). Il Giappone è l'unico Paese in cui il trapianto da NHBD è consolidato da anni, Olanda, Spagna ed Inghilterra hanno le esperienze più numerose in Europa.

Quali sono i motivi per cui ancora oggi sono pochi i Centri con un programma di trapianto renale che applicano una politica di donazione in tal senso?

Indubbiamente la complessità del programma di donazione a cuore non battente è enorme: i tempi d'azione sono rigorosamente limitati e le manovre mediche altamente specializzate. Inoltre si aggiungono numerosi problemi di varia natura: etici, legislativi, culturali, religiosi, organizzativi ed infine logistici (8).

Tuttavia i Centri Trapianto che adottano il programma NHBD hanno riportato un incremento della percentuale di trapianto di rene che varia dal 16 al 40% (9), ed i dati riportati in letteratura sulla sopravvivenza di organi da NHBD sono una valida ragione per iniziare ad utilizzare reni provenienti da donatori in asistolia anche in Italia (10).

CLASSIFICAZIONE DI MAASTRICHT

Il pool di donatori in asistolia costituisce un gruppo notevolmente eterogeneo e le differenze tra i Centri Trapianto nell'esecuzione del programma di donazio-

ne a cuore non battente in passato hanno reso difficoltoso il confronto dei risultati, per cui è stata elaborata una classificazione dei potenziali donatori nota come classificazione di Maastricht (5).

Categoria I - DEAD ON ARRIVAL

Questa categoria comprende le vittime di incidenti e i casi di suicidio che sulla scena d'intervento sono trovati già deceduti e la cui rianimazione è giudicata inutile.

Categoria II - UNSUCCESSFUL RESUSCITATION

Comprende soggetti in cui l'arresto cardiaco si verifica in maniera improvvisa fuori o dentro l'Ospedale e per i quali le manovre rianimatorie risultano inefficaci.

Categoria III - AWAITING CARDIAC ARREST

Comprende pazienti terminali, degenti soprattutto nei reparti di Terapia Intensiva, per cui si aspetta l'arresto cardiaco dopo la sospensione delle terapie invasive o rianimatorie rifiutate dal paziente stesso o dai suoi familiari. In Italia questa categoria non può esistere per le vigenti normative.

Categoria IV - CARDIAC ARREST WHILE BRAIN DEATH

Comprende pazienti che hanno un arresto cardiaco durante o subito dopo il periodo di accertamento della morte encefalica.

Nell'ambito delle 4 categorie di Maastricht si possono ulteriormente identificare due gruppi di donatori in base alla modalità di insorgenza dell'arresto cardiaco: NHBD controllati ed NHBD non controllati (11). NHBD controllati sono i soggetti nei quali l'arresto cardiaco è atteso dall'equipe trapiantologia (per es. categoria III di Maastricht). In questi casi il tempo di ischemia calda è talmente breve da consentire il prelievo non solo dei reni, ma anche di fegato, pancreas e polmoni (5). NHBD non controllati (per es. categoria I e II di Maastricht) sono soggetti nei quali la morte cardiaca è improvvisa, quindi inattesa ed i tempi di ischemia calda sono necessariamente più lunghi.

ORGANI E TESSUTI PRELEVABILI DA NHBD

Da un soggetto deceduto per cause cardiache possono in teoria essere prelevati tutti gli organi e i tessuti con la sola eccezione del cuore.

Gli organi più resistenti all'insulto ischemico sono naturalmente quelli privilegiati in questo tipo di donatori. I reni e il fegato sono i più utilizzati (7, 12); seguono i polmoni e il pancreas (13, 14).

Non va mai dimenticato che il soggetto deceduto per cause cardiache è una potenziale fonte di tessuti, anche nel caso in cui non si possa procedere al prelievo degli organi: cornee, segmenti osteo-cartilaginei, segmenti vascolari e valvole cardiache (utilizzabili anche in caso di morte cardiaca ischemica) sono i tessuti più frequentemente utilizzati.

ASPETTI LEGALI

La definizione di morte

La morte si identifica con la cessazione irreversibile di tutte le funzioni dell'encefalo (legge 29 dicembre 1993, n. 578; D.M. 22 agosto 1994, n. 582).

Tale cessazione è determinata da:

- 1) arresto cardio-circolatorio, cosiddetta "morte cardiaca";
- 2) danno encefalico primitivo o secondario (traumatico, emorragico, anossico), cosiddetta "morte encefalica".

La morte per arresto cardiaco

La morte per arresto cardiaco si intende avvenuta quando la circolazione è cessata per un intervallo di tempo tale da comportare la perdita irreversibile di tutte le funzioni dell'encefalo e può essere accertata con le modalità definite con decreto n. 582 del 22.08.94 emanato dal Ministro della Sanità (art. 2, comma 1, legge 29 dicembre 1993, n. 578).

Accertamento della morte per arresto cardiaco

La morte per arresto cardiaco deve essere accertata da un medico con il rilievo grafico continuo dell'elettrocardiogramma protratto per non meno di 20 minuti primi (art. 1, comma 1, decreto legge 22 agosto 1994, n.582).

Criteri per la morte cardiaca in corso di rianimazione cardio-polmonare

Le Linee Guida sono carenti riguardo alla decisione di sospendere le manovre di rianimazione cardio-polmonare (RCP) e non ci sono parametri rigidi di riferimento, per cui la decisione di interrompere le manovre rianimatorie spetta al medico.

C'è unanimità nel sostenere che si possa parlare di morte cardiaca dopo 30 minuti di RCP avanzata inefficace (15), oppure quando la natura dei danni che hanno indotto l'arresto cardiaco è tale da non essere compatibile con il mantenimento delle funzioni vitali.

Si intende inefficace quella RCP che non induce una ripresa di contrazione cardiaca spontanea e non evoca nessun segno neurologico di vita (es. riflessi del tronco encefalico). Ad avvenuto arresto cardiaco, quando il medico ha stabilito che ogni altra manovra rianimatoria è superflua, i criteri per la diagnosi di morte sono i seguenti: areflessia completa, assenza di battito, evidenza di asistolia all'ECG.

ASPETTI ETICI

La determinazione della morte e il conflitto di interessi

Sono problemi comuni ai HBD e NHBD. I medici che dichiarano e accertano la morte non possono essere gli stessi che si occupano del prelievo di organi e della preservazione degli stessi per la donazione. In questo modo si esclude ogni interferenza o conflitto tra l'interesse del paziente (potenziale donatore, PD), che deve essere curato fino alla fine di ogni speranza di recupero, e quello del prelevatore o trapiantatore, che è rivolto ad altri pazienti (potenziali riceventi) (16, 17).

Per ridurre al minimo il danno ischemico degli organi da trapiantare il mantenimento del PD dovrebbe ini-

ziare il più presto possibile dopo l'accertamento della morte, in attesa di conoscere l'eventuale espressione di volontà del PD o la non opposizione alla donazione da parte degli aventi diritto. Il quesito fondamentale è fino a che punto ci si possa spingere nelle azioni finalizzate al mantenimento del PD in attesa della manifestazione di volontà esplicita o della non opposizione alla donazione da parte del soggetto deceduto o dei suoi familiari. Questo tema è stato affrontato da medici e giuristi e sviluppato nella stesura del protocollo di prelievo di organi da NHBD elaborato dal Centro di Coordinamento per le Donazioni e i Trapianti della Fondazione Policlinico San Matteo di Pavia e recepito come protocollo Nazionale da parte del Centro Nazionale Trapianti.

Le legislazioni vigenti nel mondo prevedono sia il consenso esplicito (*opting-in*) registrato nel Registro Centrale Donazioni, che il consenso presunto (*opting-out*) (18).

In Italia il "consenso" al prelievo di organi da cadavere è regolato dalla legge n. 91 del 1 aprile 1999 che prevede la soluzione del silenzio-assenso, quale modalità di dichiarazione di volontà per la donazione di organi e tessuti. La Legge non ha ancora avuto applicazione ed a oggi sono in vigore le norme transitorie. I cittadini sono tenuti a dichiarare la propria libera volontà in merito alla donazione di organi e di tessuti del proprio corpo. La dichiarazione, secondo i termini di legge, viene ricevuta dalla ASL, che provvede alla sua registrazione nella banca dati nazionale e la annota nei documenti personali e nella tessera sanitaria del soggetto. La mancata dichiarazione di volontà da parte del cittadino, tuttavia, secondo queste norme transitorie, rende necessaria la non opposizione al prelievo da parte degli aventi diritto (familiari o rappresentante legale).

ASPETTI CULTURALI

Uno dei principali ostacoli alla diffusione del programma di donazione a cuore non battente rimane il forte pregiudizio che molti medici hanno nei confronti degli organi provenienti da questo tipo di donatori, considerandoli di seconda scelta o marginali (19).

ASPETTI MEDICI

L'arresto cardiaco costituisce la peculiarità e nello stesso tempo la criticità della donazione a cuore non battente (20).

Durante l'asistolia il rene non viene perfuso e l'interruzione della circolazione, la refrigerazione dell'organo e la successiva riperfusione dopo il trapianto, causano

un danno definito "sindrome da ischemia riperfusione", caratterizzata da specifiche alterazioni cellulari e biomolecolari. L'ipossia cellulare, infatti, porta ad una attivazione dell'endotelio, un incremento della sua permeabilità ed all'espressione di differenti molecole di adesione. Con la riperfusione dell'organo i leucociti e le piastrine aderiscono all'endotelio e rilasciano numerose citochine infiammatorie, specie reattive dell'ossigeno (ROS) ed enzimi litici che comportano un danno delle cellule tubulari tanto severo da portare alla necrosi tubulare acuta (NTA) (21-23).

Lo spettro di quadri clinici che ne deriva varia a seconda della gravità della NTA. L'insufficienza renale acuta può essere irreversibile, *Primary Non-Function* (PNF) oppure reversibile, *Delayed Graft Function* (DGF), definita come "richiesta di dialisi nella prima settimana dopo il trapianto" (24). Indubbiamente misurare in grado di limitare al minimo i tempi di ischemia, sopperendo artificialmente alla mancanza di circolo, riducono l'incidenza di queste complicazioni.

TEMPI DI ISCHEMIA

I tempi di ischemia a cui è sottoposto il rene da NHBD (Fig. 1) sono così distinti:

Tempo di ischemia calda pura: tempo in cui la circolazione è ferma e gli organi, in sede, non sono perfusi dal flusso ematico né fisiologico, né sostenuto artificialmente. Corrisponde al tempo che intercorre tra asistolia e l'inizio delle manovre rianimatorie ed il tempo dedicato alla registrazione di ECG piatto, la cui durata deve essere di 20 minuti (accertamento di morte). Il tempo di ischemia calda pura non dovrebbe superare i 30-40 minuti (25).

Tempo di ischemia calda totale: comprende il tempo di ischemia calda pura ed il tempo durante il quale il donatore è sottoposto a manovre di rianimazione. Non comprende il tempo della circolazione extracorporea normotermica, durante il quale gli organi sono artificialmente, ma "normalmente" perfusi e ossigenati. Il tempo dedicato alle manovre rianimatorie non dovrebbe superare i 120 minuti (25). Il tempo di ischemia calda totale non dovrebbe superare i 150 minuti (19).

Tempo di ischemia fredda: è il tempo intercorso dall'inizio della perfusione con liquido refrigerato e la fine della refrigerazione del rene.

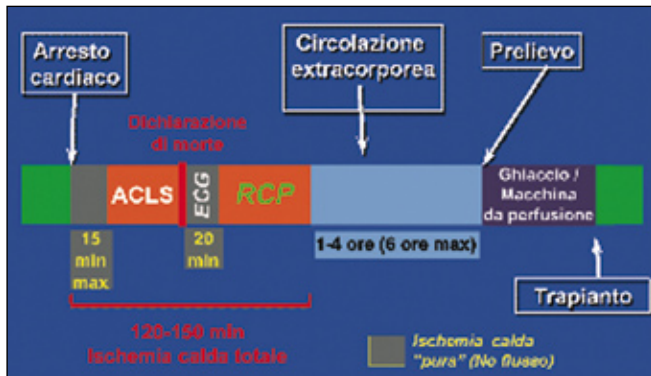


Fig. 1 - Tempi di ischemia nel trapianto da NHB. RCP: rianimazione cardiopolmonare; ACLS: advanced cardiac life support

TECNICHE DI PRESERVAZIONE DEGLI ORGANI NEL CADAVERE

Le manovre e i dispositivi medici che vengono utilizzati allo scopo di ridurre i tempi di ischemia e di preservare al massimo gli organi si differenziano nelle diverse fasi del processo di donazione.

Nel periodo immediatamente successivo all'arresto cardiaco i medici del servizio di emergenze-urgenze praticano manovre di rianimazione cardio-polmonare avanzata (ACLS) ossia massaggio cardiaco esterno con massaggiatore automatico e ventilazione meccanica, allo scopo di salvare la vita al paziente. Se tali manovre risultano inefficaci, il paziente diventa PD ed il decesso viene accertato mediante registrazione elettrocardiografica continua di almeno 20 minuti. Quando il soggetto, verificatone il consenso o la non opposizione dei familiari, diventa donatore, segue la fase di perfusione e/o refrigerazione *in situ* degli organi.

Esistono due tipi di perfusione degli organi:

1. Perfusione *in situ* con soluzioni fredde

Questa tecnica consiste nel sostituire il sangue nel territorio degli organi da prelevare con un liquido di perfusione refrigerato a 4 °C (26).

Per la sua applicazione è necessario inserire un catetere a triplo lume e doppio pallone in arteria femorale ed un catetere di *Foley* nella vena femorale tramite incisione cutanea inguinale (a cielo aperto). I due palloni servono a limitare il territorio di perfusione agli organi addominali; pertanto un pallone è posizionato sopra al tronco celiaco ed uno al *carrefour* aortico. Il catetere di *Foley* nella vena femorale consente il drenaggio dei liquidi infusi (27) (Fig. 2). È una tecnica semplice e non è necessario un tecnico perfusionista per la sua applicazione. La durata della perfusione *in situ* però non dovrebbe superare i 120 minuti, un tempo non sempre sufficiente per affrontare le difficol-

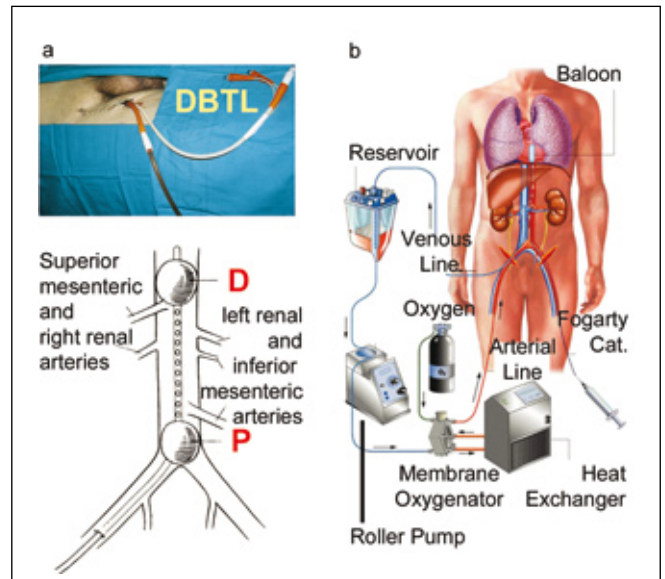


Fig. 2 - Pannello a: DBTL: Catetere a doppio pallone e triplo lume, D: Pallone craniale o distale, P: Pallone caudale o prossimale. Pannello b: Circuito extracorporeo per donatore NHB (ECMO: Extra Corporeal Membran Oxygenation).

tà legate alla verifica del consenso ed all'allestimento della camera operatoria.

2. Circolazione extracorporea

Extra Corporeal Membran Oxygenation (ECMO) è una tecnica di circolazione assistita, largamente usata durante gli interventi di chirurgia a cuore aperto, quando la funzione cardiaca e quella polmonare sono temporaneamente sospese. Il sangue venoso viene prelevato attraverso un catetere dalla vena femorale e passa in un ossigenatore, detto anche polmone artificiale, che consiste in un dispositivo (a bolle, a dischi o membrane) nel quale viene insufflata un'opportuna miscela gassosa (aria + ossigeno). Il sangue così ossigenato viene raccolto da una pompa e inviato nel sistema arterioso attraverso l'arteria femorale, passando prima da uno scambiatore di calore, poi in una camera di calma per eliminare eventuali bolle gassose (Fig. 2).

Di questa metodica esistono 4 varianti.

A. Circolazione extracorporea selettiva ipotermica

Il sistema di circolazione extracorporea è connesso ad un refrigeratore che mantiene la temperatura del sangue ossigenato a 4 °C. Prima di iniziare la circolazione extracorporea viene posizionato un palloncino occlusivo in aorta toracica, affinché il sangue che ricircola, perfonda solo gli organi addominali (28).

B. Circolazione extracorporea selettiva normotermica

Il sistema è identico al precedente, ma la temperatura della circolazione extracorporea è mantenuta a 37 °C (2).

C. Circolazione extracorporea ipotermica non selettiva

Questa tecnica consiste in una circolazione extracorporea non selettiva quindi senza il posizionamento di palloncino in aorta toracica (20).

D. Circolazione extracorporea normotermica non selettiva

Questa tecnica è uguale alla precedente, eccezione fatta per la temperatura che è mantenuta a 37 °C per 60 minuti, prima di essere abbassata a 15-20 °C (29, 30).

Il vantaggio dell'ECMO rispetto alla perfusione in situ consiste nella possibilità di prolungare il trattamento fino a 6 ore qualora i parametri biochimici, gascometrici ed ematologici lo permettano (25).

Numerosi studi mostrano che l'uso di ECMO rispetto alle tecniche di perfusione in situ è associato a minore incidenza di DGF, probabilmente perché l'ipotermia si raggiunge con più gradualità e perché la soluzione di perfusione è rappresentata dallo stesso sangue del donatore che garantisce una migliore vitalità del tessuto (31). Lo svantaggio principale è la complessità della tecnica che richiede un'organizzazione molto impegnativa e la disponibilità immediata di un sistema di circolazione extracorporea e di un tecnico perfusionista.

LA CONSERVAZIONE DEGLI ORGANI DOPO IL PRELIEVO

Le metodiche per la conservazione dei reni dopo il prelievo sono due: 1) conservazione statica ipotermica; 2) perfusione meccanica.

1) Conservazione statica ipotermica

La conservazione statica alla temperatura di 4 °C ha avuto un'ampia diffusione ed è oggi la tecnica più applicata nella pratica clinica. Durante la fase ischemica il meccanismo responsabile della sofferenza cellulare è costituito principalmente dalla diminuzione dei substrati energetici (ATP), dalla perdita della fosforilazione ossidativa e dalla conversione della xantina deidrogenasi in xantina ossidasi che a sua volta è in grado di mediare la formazione di radicali liberi. Radicali liberi ed altri composti, quali fosfolipasi e prostanoidi, inducono alterazioni a carico della membrana cellulare con aumento del calcio intracellulare e attivazione della cascata del complemento. L'idrolisi dell'ATP e la glicolisi cellulare anaerobia riducono il pH tissutale. La riperfusione aggrava il danno tissutale richiamando i leucociti che rilasciano potenti mediatori dell'infiammazione. Pertanto l'ipotermia che si ottiene con la conservazione in ghiaccio serve a ridurre il fabbisogno di substrati energetici ed il consumo di ossigeno.

Inoltre sono state elaborate soluzioni di perfusione che hanno particolari caratteristiche: elevato contenuto in glucosio per sostenere il metabolismo cellulare residuo, soluzioni tamponi per neutralizzare l'acidosi metabolica secondaria alla glicolisi anaerobia, macromolecole per contrastare l'edema cellulare, composizione elettrolitica simile a quella del compartimento extracellulare (*Euro-Collins*, *Celsior*) o intracellulare (*University of Wisconsin*). La soluzione più diffusa negli anni '60 è stata la soluzione di *Collins*, ricca di potassio e povera di sodio, usata per contrastare l'edema cellulare. Verso la fine degli anni '80 si è diffusa la soluzione dell'Università del Wisconsin (UW) che ha migliorato notevolmente la tolleranza degli organi all'ischemia fredda. Studi clinici randomizzati e controllati hanno dimostrato che nella donazione a cuore non battente l'uso della soluzione UW riduce l'incidenza di DGF e prolunga la sopravvivenza del trapianto. Gli effetti positivi della soluzione UW sono attribuiti al glutatione e allopurinolo in essa contenuti, che servono a prevenire la formazione di ROS durante la riperfusione (32).

2) Perfusione meccanica

La perfusione meccanica è un metodo di conservazione introdotto recentemente: i reni vengono perfusi con un liquido che ricircola in una macchina pulsatile o a flusso continuo, normotermica o ipotermica. Numerosi studi hanno dimostrato che l'uso della macchina di perfusione riduce significativamente il rischio e la durata di DGF e migliora la sopravvivenza dell'organo trapiantato nel primo anno post-trapianto.

L'effetto benefico della perfusione meccanica è dovuto a numerosi fattori: migliore lavaggio dell'organo ed esposizione al liquido di preservazione, rigenerazione dei substrati metabolici, come adenina e glutatione, adeguato controllo del pH e diminuzione dell'edema tissutale (33-35).

Rispetto alla conservazione in ghiaccio la perfusione meccanica si è dimostrata utile anche nella valutazione dell'idoneità del rene al trapianto. I parametri che vengono analizzati sono i seguenti: flusso, pressione e resistenze intraparenchimali al flusso. Inoltre è possibile effettuare sul liquido refluo analisi sierate per determinare le concentrazioni di *markers* di danno renale. A tal proposito gli enzimi più indicativi sembrano essere Lattato Deidrogenasi (LDH) e α GlutationeS-transferasi (α GST). LDH non è un *marker* specifico per il tessuto renale, ma è rilasciato in risposta ad un danno eritrocitario, sembra pertanto che la sua concentrazione si correli al grado di metabolismo anaerobico delle cellule. La α GST è una proteina lisosomiale delle cellule del tubulo prossimale; la sua concentrazione nel liquido refluo si correla con il tempo di ischemia calda

ed è più alta nei reni con PNF. Altre proteine studiate sono la *Fatty Acid Binding Protein* (FABP), proteina localizzata nei tubuli prossimali e distali coinvolta nel trasporto degli acidi grassi liberi, e la alanina-amino-peptidasi (Ala-AP), esopeptidasi escreta nelle urine. La determinazione di questi markers comunque non ha valore predittivo assoluto (36).

INDICATORI DI ATTUABILITÀ DEL TRAPIANTO

Una delle maggiori difficoltà nel trapianto da NHBD è stabilire l'idoneità del rene al trapianto per ridurre i casi di PNF (36). Gli elementi che aiutano a predire una PNF sono i seguenti:

1) Caratteristiche del donatore:

- Età >60 anni.
- Creatinina sierica >3 mg/dL.
- Tempo di ischemia calda pura >40 minuti.
- Tempo di ischemia fredda >20 ore.

2) Caratteristiche del ricevente: PRA elevato o secondo trapianto.

3) Metodo di perfusione degli organi: ECMO è considerato il miglior metodo.

4) Soluzione di preservazione: UW è considerata la migliore soluzione.

5) Conservazione degli organi: se l'organo è conservato nella macchina di perfusione sono predittivi di PNF e DGF flussi inferiori a 70 mL/min, resistenze maggiori di 0.4 mmHg/mL/min.

BIOPSIA PRE-TRAPIANTO

L'utilità dell'analisi istologica di un campione biotico pre-trapianto per la valutazione della idoneità del rene è molto discussa e dipende dalle esperienze dei singoli Centri. Comunque tutti sono concordi che nei NHBD con età superiore a 65 anni, abbia un valore predittivo, in quanto una severa arteriosclerosi sembra essere un fattore condizionante sia la funzione che la sopravvivenza dell'organo (37).

ASPETTI LOGISTICO-ORGANIZZATIVI

I problemi logistici costituiscono uno degli ostacoli principali del programma di trapianto da NHBD, soprattutto perché la loro risoluzione dipende dalla collaborazione di molte figure professionali, che devono essere motivate, addestrate e reperibili in tempi brevissimi (38):

- medici rianimatori del Servizio Sanitario Urgenza Emergenza (*vulgo* 118);
- personale sanitario di Pronto Soccorso;

- medici rianimatori dei reparti di Rianimazione e medici delle Unità di Cure Intensive Coronariche e Cardiochirurgia;
- chirurghi vascolari;
- medici radiologi;
- medici del Centro Coordinamento Donazione e Trapianti;
- medici legali;
- chirurghi del Centro Trapianti di rene;
- nefrologi del Centro Trapianti di rene;
- medici anatomo-patologi;
- tecnici perfusionista;
- Servizio Infermieristico Terapeutico Riabilitativo Aziendale (SITRA);
- Sacerdote (o altro ministro di culto, se richiesto dal soggetto donatore o dai familiari).

Condizioni essenziali sono la sinergia tra equipe trapiantologia ed il Servizio Sanitario Urgenza Emergenza (*vulgo* 118), la creazione di codice allerta NHBD, la reperibilità 24 h medico-infermieristica, la disponibilità di spazi idonei ad eseguire le procedure, la disponibilità e la rapidità di allestimento della sala operatoria e risorse economiche dedicate.

FOLLOW-UP DEL PAZIENTE CON TRAPIANTO DI RENE DA NHBD

Numerosi studi hanno confrontato il decorso post-trapianto dei pazienti che hanno ricevuto il rene da NHBD rispetto ai riceventi da HBD. I risultati sono spesso differenti tra i diversi Centri, perché diverse sono le categorie di NHBD confrontate, i tempi di ischemia osservati e le tecniche di conservazione utilizzate.

La PNF è la complicanza più temibile del trapianto da NHBD e varia dall'1 al 18%. Gli studi controllati che hanno confrontato trapianti da NHBD di categoria III e IV di Maastricht vs HBD dimostrano che l'incidenza di PNF non è significativamente superiore nei trapianti da NHBD rispetto a quelli da HBD (9, 21). Shiroki et al. (39) dimostrano che l'incidenza di PNF è più alta per i reni da NHBD che hanno avuto un tempo di ischemia calda superiore a 30 minuti. In disaccordo sono Tanabe et al. (40) che non confermano tale correlazione, anche se i tempi di ischemia descritti nel loro studio erano inferiori a 30 minuti. Brook et al. (9) non riportano PNF in reni da NHBD categoria III e IV di Maastricht, mentre riscontrano il 20% di PNF in reni da NHBD categoria I e II di Maastricht, confermando l'associazione tra PNF e tempi di ischemia. Wijnen et al. (41) confrontano 57 reni prelevati da NHBD (categoria II e III di Maastricht) con 114 reni da HBD e mostrano che la PNF non differiva nei due gruppi (14% vs 8%). Al contrario la percentuale di DGF era significativamente più alta nel gruppo che riceveva reni

da NHBD rispetto a quelli che ricevevano reni da HBD (60% vs 35%). Brook et al. (9) confrontano il decorso del trapianto di reni da HBD e da NHBD per un periodo di 10 anni e mostrano DGF nel 93% di reni da NHBD e nel 17% dei reni da HBD, una percentuale di rigetto acuto simile nei due gruppi, una sopravvivenza dell'organo trapiantato migliore in riceventi di reni da NHBD rispetto a quella in riceventi da HBD a 3 e 6 anni dopo il trapianto (84% vs 73% e 84% vs 62% rispettivamente). La fibrosi nel rene trapiantato non era differente nei 2 gruppi a dispetto di una alta incidenza di DGF nei reni da NHBD. Weber et al. (42) confrontano 122 reni di NHBD (categoria II e III di Maastricht) vs 122 reni di HBD appaiati per età, sesso, numero di trapianti con *follow-up* di 15 anni: DGF compare più frequentemente nei reni di NHBD che nei reni da HBD (48.8% vs 23.8%), ma a 10 anni la sopravvivenza dell'organo non differisce. Un recentissimo lavoro di Akoh et al. (43) confronta 57 reni da NHBD e 58 da HBD: PNF non si verifica in reni da NHBD; l'incidenza di DGF è più alta nei reni da NHBD che in quella da HBD (44% vs 14%); nonostante la peggiore compatibilità HLA dei riceventi di reni da NHBD l'incidenza del rigetto acuto è simile nei 2 gruppi, non è diversa la sopravvivenza dell'organo a 1 anno e 3 anni e la creatininemia è simile nei 2 gruppi a 3, 6 e 12 mesi.

In conclusione i trapianti di rene da NHBD sono associati ad una più alta incidenza di PNF e DGF a causa del tempo di ischemia calda più lungo. Il tempo di ischemia calda risulta più deleterio nei donatori di categoria I e II che di categoria III e IV. I dati disponibili attualmente suggeriscono che comunque la più alta incidenza di DGF non influenza la sopravvivenza dell'organo trapiantato a lungo termine.

TRATTAMENTO DEL RICEVENTE DI RENE DA NHBD

Nel trapianto di rene da donatore NHB la scelta del ricevente e del donatore deve essere attenta.

Non solo la compatibilità HLA, ma anche l'età del donatore è particolarmente rilevante in un trapianto da NHBD. Il nostro Centro Trapianti a Pavia prevede come criterio di ammissione nel programma di trapianto da NHBD una età per il donatore compresa tra 15 e 65 anni. In un'analisi multivariata condotta da Koning et al. (44) il rischio relativo di DGF in reni che derivano da NHBD con età superiore a 50 anni è 7.12 volte superiore a quella riscontrata in reni che provengono da NHBD più giovani. Snoeijs et al. (37) riportano che la sopravvivenza a 5 anni del rene trapiantato proveniente da NHBD con età inferiore a 50 anni è del 68%, mentre quando l'organo proviene da NHBD con età superiore a 50 anni è del 52%.

Inoltre alcuni Autori hanno suggerito che il trapianto

to *pre-emptive* con reni da NHBD potrebbe portare a buoni risultati sia a breve che a lungo termine, ma ancora molti studi devono essere condotti per determinare se il trapianto da NHBD abbia un decorso migliore quando i riceventi hanno una storia di dialisi breve (45).

Senza dubbio un'ottimizzazione della terapia immunosoppressiva può servire a migliorare la ripresa funzionale dei reni da NHBD. Gli inibitori delle calcineurine sono immunosoppressori noti per la loro nefrotossicità acuta: questi farmaci favoriscono la DGF sia riducendo il flusso plasmatico glomerulare sia inducendo un effetto tossico tubulare diretto. Uno studio randomizzato su 51 pazienti con trapianto di reni da NHBD ha confrontato l'uso nella terapia di induzione di un anticorpo monoclonale anti-IL-2R (daclizumab) con il tacrolimus e ha dimostrato che l'induzione con daclizumab ed il ritardo nell'introduzione di tacrolimus riduceva significativamente l'incidenza di DGF solo in un sottogruppo di reni per cui era stata utilizzata la macchina di perfusione come tecnica di conservazione (46). In un altro studio Grinyó (47) ha dimostrato che l'uso di timoglobuline associato a steroide e micofenolato nella terapia di induzione, permette di ritardare l'introduzione della ciclosporina con migliori effetti in termini di prevenzione di rigetto e ripresa della funzione renale. In conclusione nella terapia immunosoppressiva ritardare l'introduzione di inibitori della calcineurina può essere una ottima strategia, anche se un gruppo di ricercatori Giapponesi riporta risultati soddisfacenti con l'uso nella terapia di induzione di tacrolimus e ciclosporina in riceventi di reni da NHBD: PNF nel 3.6% di pazienti che ricevevano tacrolimus e 4.4% in quelli che ricevevano ciclosporina, DGF nel 69% di pazienti trattati con tacrolimus e 79% con ciclosporina, ripresa immediata della funzione renale nel 27% di pazienti trattati con tacrolimus e 19% in quelli trattati con ciclosporina (48).

ESPERIENZA IN ITALIA

Dopo circa due anni di studi e simulazione nel Settembre 2008 è stato portato a termine in Italia presso il Centro Trapianti della Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo di Pavia il primo trapianto di rene proveniente da donatore a cuore non battente.

Fino ad oggi sono stati reclutati 5 NHBD e trapiantati 5 reni provenienti da 3 donatori in asistolia. Le caratteristiche dei NHBD sono mostrate nella Tabella II. Come accade per il trapianto da HBD, ancora più spesso in quello da NHBD non tutti gli organi prelevati sono idonei al trapianto. Infatti, nella nostra breve esperienza 5 sono stati i reni non utilizzati. I reni del primo donatore non sono risultati idonei, perché la

TABELLA II - CARATTERISTICHE DEI DONATORI A CUORE NON BATTENTE (NHBD) E DEI RELATIVI RENI RECLUTATI PRESSO IL CENTRO TRAPIANTI DELLA FONDAZIONE IRCCS POLICLINICO SAN MATTEO DI PAVIA

Caratteristiche dei donatori e dei reni					
Donatore	1	2	3	4	5
Classe di Maastricht	II*	II*	II	II	II*
Età (anni)	44	47	57	62	52
Preservazione	ECMO	ECMO	ECMO	MCE+VAM	ECMO
Conservazione	ghiaccio	ghiaccio	ghiaccio	macchina di perfusione	macchina di perfusione
Biopsia pre-trapianto	NTA, microtrombi, endotelite	NTA	NTA	NTA	NTA
Indici di RR-RM3	/	/	/	0,35	0,25

*ECMO: total body secondo il protocollo di assistenza ventricolare sinistra e successivo arruolamento come NHBD; MCE: Massaggio cardiaco esterno; VAM: ventilazione assistita meccanica; NTA: necrosi tubulare acuta; RR-RM3: resistenze intraparenchimali

TABELLA III - CARATTERISTICHE DEI RICEVENTI DI RENE DA NHBD DEL CENTRO TRAPIANTI DELLA FONDAZIONE IRCCS POLICLINICO SAN MATTEO DI PAVIA

Ricevente	Età (anni)	Donatore	Età dialitica (mesi)	Terapia induzione	Terapia mantenimento	Emodialisi
A	57	2 (rene sx)	48	Bas/ster	CyA/MMF/ster	cronica
B	57	3 (rene sx)	72	Bas/ster	CyA/MMF/ster	9 sedute
C	48	4 (rene dx)	24	Thymo/ster	CyA/MMF/ster	4 sedute
D	66	5 (rene sx)	22	Thymo/ster	Tac/MMF/ster	2 sedute
E	42	5 (rene dx)	8	Thymo/ster	Tac/MMF/ster	0 sedute

biopsia eseguita prima del trapianto mostrava microtrombi nei capillari glomerulari, endotelite, glomerulite, oltre alla attesa massiva necrosi tubulare. Del secondo donatore solo un rene è stato utilizzato, in quanto il secondo rene aveva subito un tempo di ischemia fredda superiore a 22 ore. Entrambi i reni del terzo donatore sono stati trapiantati. I reni del quarto donatore non sono stati trapiantati perché gli indici di flusso e le resistenze misurate dalla macchina di perfusione erano predittivi di PNF (0.7 mmHg/mL/min).

Cinque sono stati i riceventi arruolati nel programma trapianto NHBD. La Tabella III mostra le caratteristiche dei riceventi.

Il primo trapianto (donatore 2, ricevente A) è stato un insuccesso per PNF. La Figura 3 mostra il rene subito dopo la riperfusione.

Il secondo trapianto (donatore 3, ricevente B) è stato complicato da DGF, la ripresa funzionale dell'organo è avvenuta dopo 20 giorni. La Figura 4 mostra una sezione istologica rappresentativa del rene del donatore



Fig. 3 - Il rene del donatore 2 dopo la riperfusione.

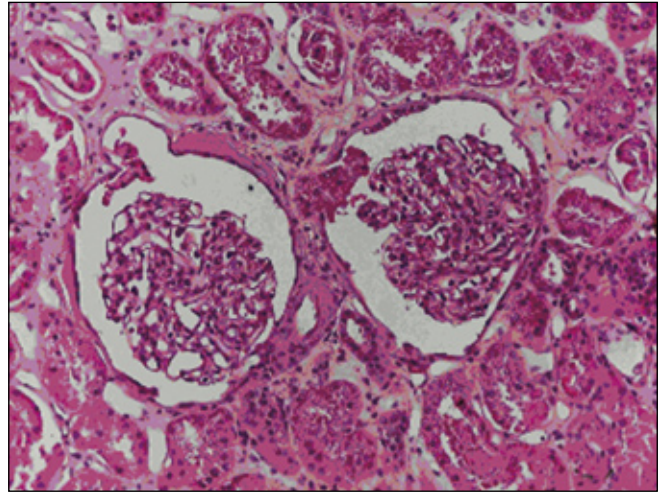


Fig. 4 - Sezione istologica rappresentativa del rene del donatore 3 prima del trapianto. Colorazione ematossilina eosina (X400).

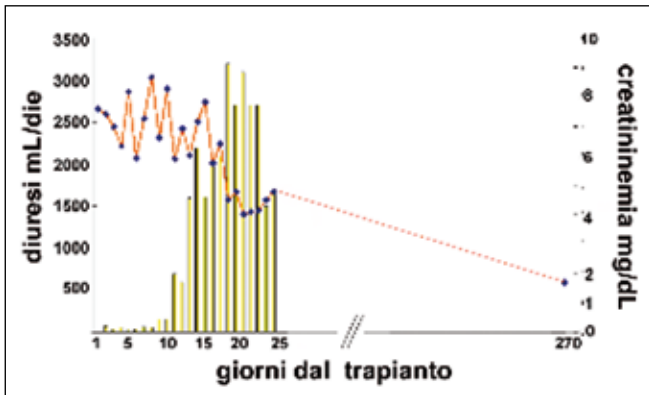


Fig. 5 - La creatininemia e la diuresi del ricevente B nel post-trapianto.

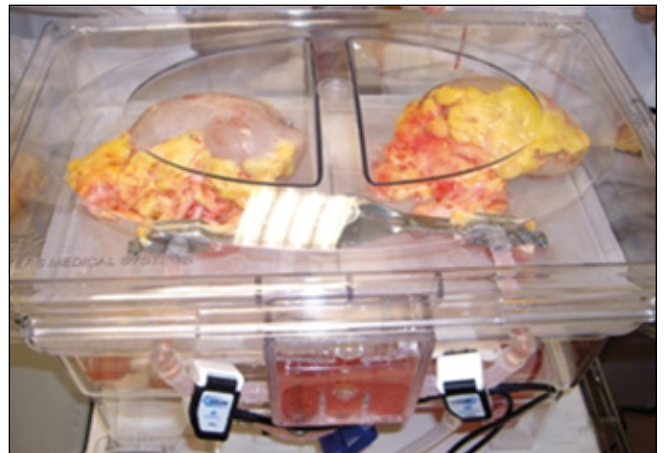


Fig. 6 - Reni del donatore 5 nella macchina di perfusione.

prima del trapianto. La Figura 5 mostra la diuresi e la creatininemia nel periodo post-trapianto. Attualmente il rene è funzionante (creatininemia 1.7 mg/dL).

Il terzo trapianto (donatore 4, ricevente C) è stato complicato da trombosi venosa in decima giornata.

Per il quarto e quinto trapianto (donatore 5, riceventi D ed E), il decorso è stato molto più breve e non complicato. Il ricevente D ha necessitato di solo due trattamenti dialitici nel post-trapianto, dopo 39 giorni la creatininemia era 2.5 mg/dL. Il ricevente E non ha necessitato di trattamento emodialitico ed è stato dimesso dopo 20 giorni, attualmente la creatininemia è 2 mg/dL. Il migliore decorso post-trapianto degli ultimi 2 casi è attribuibile all'uso della macchina di perfusione (non disponibile per i trapianti precedenti).

La perfusione meccanica è stata utilissima per la valutazione dell'idoneità dei reni ed ha permesso di ridurre in parte i danni indotti dalla ischemia calda. La Figura

6 mostra i reni del donatore 5 nella macchina di perfusione.

Anche se minima la nostra esperienza conferma i dati della letteratura, infatti, nell'unico caso in cui non abbiamo assistito né a PNF né a DGF (ricevente E) le resistenze del rene misurate dalla macchina di perfusione erano basse e quindi predittive di una migliore ripresa funzionale, l'età dialitica ed anagrafica del ricevente e del donatore erano basse. Inoltre l'uso delle timoglobuline e l'introduzione tardiva di inibitori delle calcineurine hanno sicuramente favorito il recupero funzionale dell'organo.

In conclusione il programma del trapianto da NHBD è sicuramente molto impegnativo, ma rappresenta una valida soluzione alla sempre maggiore richiesta di organi.

TEST DI VERIFICA

1) Appartengono alla II categoria di Maastricht pazienti:

- a. Deceduti all'arrivo in ospedale
- b. Rianimati senza successo
- c. Pazienti in cui si verifica un arresto cardiaco in corso di accertamento di morte encefalica
- d. Tutte le precedenti
- e. Nessuna delle precedenti.

2) In Italia l'accertamento di morte per arresto cardiaco deve essere effettuato da un medico con il rilievo grafico dell'elettrocardiogramma protratto per:

- a. 5 minuti
- b. 20 minuti
- c. 15 minuti
- d. 18 minuti
- e. 25 minuti.

3) Il tempo di ischemia calda pura corrisponde al:

- a. Tempo che intercorre tra asistolia e inizio manovre rianimatorie + tempo di registrazione di ECG della durata di 20 minuti
- b. Tempo che intercorre tra asistolia e inizio manovre rianimatorie
- c. Tempo di registrazione di ECG della durata di 20 minuti
- d. Tempo che intercorre tra asistolia e inizio perfusione con soluzioni fredde
- e. Nessuna delle precedenti.

4) Nel programma di trapianto a cuore non battente la durata massima raccomandata per la circolazione extracorporea ECMO (Extra Corporeal Membran Oxygenation) è di:

- a. 45 minuti
- b. 6 ore
- c. 12 ore
- d. 24 ore
- e. Nessuna delle precedenti.

5) Qual è la tecnica di conservazione dell'organo che riduce il rischio di DGF?

- a. Conservazione in ghiaccio
- b. Macchina di perfusione
- c. Raffreddamento intraperitoneale
- d. Tutte le precedenti
- e. Nessuna delle precedenti.

6) La perfusione meccanica rispetto alla conservazione in ghiaccio permette:

- a. Migliore esposizione al liquido di preservazione
- b. Rigenerazione dei substrati metabolici, come adenina e glutatione

- c. Adeguato controllo del pH
- d. Tutte le precedenti
- e. Nessuna delle precedenti.

7) Tra gli indicatori di attuabilità del trapianto da NHBD sono elementi che aiutano a predire una PNF:

- a. Tempo di ischemia calda pura >40 minuti
- b. Età donatore >60 anni
- c. Creatinina sierica >3 mg/dL
- d. Tutte le precedenti
- e. Nessuna delle precedenti.

8) Qual è la complicanza più frequente nel trapianto da donatore NHB?

- a. PNF
- b. DGF
- c. Rigetto acuto
- d. Trombosi dell'anastomosi artero-venosa
- e. Tutte le precedenti.

9) Qual è la migliore strategia terapeutica nel ricevente di rene da NHBD?

- a. Terapia di induzione con timoglobuline
- b. Terapia di induzione con inibitori delle calcineurine
- c. Terapia di induzione con steroide
- d. Tutte le precedenti
- e. Nessuna delle precedenti.

La risposta corretta alle domande sarà disponibile sul sito internet www.sin-italy.org/gin e in questo numero del giornale cartaceo dopo il Notiziario SIN

RIASSUNTO

Negli ultimi anni l'aumento progressivo del numero di pazienti in lista di attesa per trapianto di rene, a fronte della riduzione del numero di donatori, ha spinto alla ricerca di nuove soluzioni per incrementare il pool di organi. In molti Paesi e recentemente anche in Italia una soluzione è stata il trapianto di rene da donatori a cuore non battente NHBD. I Centri coinvolti nel programma di trapianto da NHBD hanno riportato un incremento nel trapianto di rene del 16-40%. Il problema principale nei trapianti da NHBD è la percentuale di Delayed Graft Function (DGF) e di Primary Non Function (PNF) significativamente più alta che nei trapianti da donatori a cuore battente (HBD). Numerosi studi però dimostrano che nonostante la maggior incidenza di tali eventi avversi, la sopravvivenza a lungo termine dell'organo trapiantato è sovrapponibile nei due tipi di trapianto. Inoltre l'uso di nuove tecniche di conservazione dell'organo (Extra

Corporeal Membran Oxygenation e macchina di perfusione), una attenta scelta del donatore e ricevente ed una adeguata strategia terapeutica possono parzialmente ridurre PNF e DGF e migliorare i risultati.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

BIBLIOGRAFIA

1. Sanni AO, Wilson CH, Wyrley-Birch H, et al. Non-heart-beating kidney transplantation: 6-years outcomes. *Transplant Proc* 2006; 38: 3396-7.
2. Magliocca JF, Magee JC, Rowe SA, et al. Extracorporeal support for organ donation after cardiac death effectively expands the donor pool. *J Trauma* 2005; 58: 1095-101. Discussion 1101-2.
3. Kootstra G, van Heurn E. Non-heart-beating donation of kidneys for transplantation. *Nat Clin Pract Nephrol* 2007; 3: 154-63.
4. Bos MA. Ethical and legal issues in non-heart-beating organ donation. *Transplantation* 2005; 79 (9): 1143-7.
5. Kootstra G, Daemen JH, Oomen AP. Categories of non-heart-beating donors. *Transplant Proc* 1995; 7: 2893-4.
6. Kootstra G. Statement on non-heart-beating donor programs. *Transplant Proc* 1995; 27: 2965.
7. Arias-Diaz J, Alvarez J, del Barrio MR, Balibrea JL. Non-heart-beating donation: current state of the art. *Transplant Proc* 2004; 36: 1891-3.
8. Daar AS. Non-heart-beating donation: ten evidence-based ethical recommendation. *Transplant Proc* 2004; 36: 1885-7.
9. Brook NR, Waller JR, Nicholson ML. Non-heart-beating kidney donation: current practice and future developments. *Kidney Int* 2003; 63 (4): 1516-29.
10. Nicholson ML, Metcalfe MS, White SA, et al. A comparison of the results of renal transplantation from non-heart-beating, conventional cadaveric, and living donors. *Kidney Int* 2000; 58: 2585-91.
11. Orloff MS, Reed AI, Erturk E, et al. Non-heart-beating cadaveric organ donation. *Ann Surg* 1994; 220: 578-83. Discussion 583-5.
12. Fondevila C, Hessheimer AJ, Ruiz A, et al. Liver transplant using donors after unexpected cardiac death: novel preservation protocol and acceptance criteria. *Am J Transplant* 2007; 7: 1849-55.
13. Gámez P, Córdoba M, Ussetti P, et al. Lung transplantation from out-of-hospital non-heart-beating lung donors. One-year experience and results. *J Heart Lung Transplant* 2005; 24: 1098-102.
14. Zhao M, Muiesan P, Amiel SA, et al. Human islets derived from donors after cardiac death are fully biofunctional. *Am J Transplant* 2007; 7 (10): 2318-25.
15. Nuñez JR, Del Rio F, Lopez E, Moreno MA, Soria A, Parra D. Non-heart-beating donors: an excellent choice to increase the donor pool. *Transplant Proc* 2005; 37: 3651-4.
16. Ethics Committee, American College of Critical Care Medicine; Society of Critical Care Medicine. Recommendations for non-heart-beating organ donation. A position paper by the Ethics Committee, American College of Critical Care Medicine, Society of Critical Care Medicine. *Crit Care Med* 2001; 29 (9): 1826-31.
17. Snell GI, Lewey BJ, Williams TJ. Non-heart-beating organ donation. *Intern Med J* 2004; 34: 501-3.
18. Vanrenterghem Y. Cautious approach to use of non-heart-beating donors. *Lancet* 2000; 356: 528.
19. Alvarez J, del Barrio R, Arias J, et al. Non-heart-beating donors: estimated actual potential. *Transplant Proc* 2001; 33: 1101-3.
20. Kootstra G, Kievit J, Nederstigt A. Organ donors: heartbeating and non-heartbeating. *World J Surg* 2002; 26: 181-4. Epub 2001 Dec 17.
21. Moers C, Leuvenik HG, Ploeg RJ. Non-heart-beating organ donation: overview and future perspectives. *Transpl Int* 2007; 20: 567-75. Epub 2007 Jan 30.
22. Bellos JK, et al. Chronic allograft nephropathy: the major problem in long-term survival review of etiology and interpretation. *Transplant Rev* 2005; 138-44.
23. Edelstein CL, Ling H, Schrier RW. The nature of renal cell injury. *Kidney Int* 1997; 51: 1341-51.
24. Daly PJ, Power RE, Healy DA, et al. Delayed graft function: a dilemma in renal transplantation. *BJU Int* 2005; 96: 498-501.
25. Koffman G, Gambaro G. Renal transplantation from non-heart-beating donors: a review of the European experience. *J Nephrol* 2003; 16: 334-41.
26. Booster MH, Wijnen RM, Vroemen JP, van Hooff JP, Kootstra G. In situ preservation of kidneys from non-heart-beating donors—a proposal for a standardized protocol. *Transplantation* 1993; 56 (3): 613-7.
27. Heineman E, Daemen JHC, Kootstra G. Non-heart-beating donors: methods and techniques. *Transplant Proc* 1995; 27 (5): 2895-7.
28. Lee CY, Tsai MK, Ko WJ, et al. Expanding the donor pool: use of renal transplants from non-heart-beating donors supported with extracorporeal membrane oxygenation. *Clin Transplant* 2005; 19: 383-90.
29. Valero R, Sánchez J, Cabrer C, Salvador L, Oppenheimer F, Manyalich M. Organ procurement from non-heart-beating donors through in situ perfusion or total body cooling. *Transplant Proc* 1995; 27: 2899-900.
30. Valero R, Cabrer C, Oppenheimer F, et al. Normothermic recirculation reduces primary graft dysfunction of kidneys obtained from non-heart-beating donors. *Transpl Int* 2000; 13: 303-10.
31. Brook NR, Nicholson ML. Kidney transplantation from non heart-beating donors. *Surg J R Coll Surg Edinb Irel* 2003; 311-22.
32. Maathuis MH, Leuvenink HG, Ploeg RJ. Perspectives in organ preservation. *Transplantation* 2007; 83 (10): 1289-98.
33. Moers C, Smits JM, Maathuis MH, et al. Machine perfusion or cold storage in deceased-donor kidney transplantation. *N Engl J Med* 2009; 360: 7-19.
34. Kozaki K, Sakurai E, Nagao T, Kozaki M. Usefulness of continuous hypothermic perfusion preservation in renal transplantation from non-heart-beating donors. *Transplant Proc* 2002; 34 (7): 2592-7.
35. Brasile L, Stubenitsky B, Haisch CE, Kon M, Kootstra G. Potential of repairing ischemically damaged kidneys ex vivo. *Transplant Proc* 2005; 37: 375-6.
36. Light J. Viability testing in non-heart-beating donor. *Transplant Proc* 2000; 32: 179-81.

37. Snoeijs MG, Schaefer S, Christiaans MH, et al. Kidney transplantation using elderly non-heart-beating donors: a single-center experience. *Am J Transplant* 2006; 6 (5 Pt 1): 1066-71.
38. Nicholson ML, Dunlop P, Doughman TM, et al. Work-load generated by the establishment of a non-heart-beating kidney transplant programme. *Transpl Int* 1996; 9: 603-6.
39. Shiroki R, Hoshinaga K, Higuchi T, et al. Prolonged warm ischemia affects long-term prognosis of kidney transplant allografts from non-heart-beating donors. *Transplant Proc* 1998; 30 (1): 111-3.
40. Tanabe K, Oshima T, Tokumoto T, et al. Long-term renal function in non-heart-beating donor kidney transplantation: a single-center experience. *Transplantation* 1998; 66: 1708-13.
41. Wijnen RM, Booster MH, Stubenitsky BM, de Boer J, Heineman E, Kootstra G. Outcome of transplantation from non-heart-beating donor kidneys. *Lancet* 1995; 345: 1067-70.
42. Weber M, Dindo D, Demartines N, Ambühl PM, Clavin PA. Kidney transplantation from donors without heartbeat. *N Engl J Med* 2002; 347 (4): 248-55.
43. Akoh JA, Denton MD, Bradshaw SB, Rana TA, Walker MB. Early results of a controlled non-heart-beating kidney donor programme. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 1992-6. Epub 2009 Feb 23.
44. Koning OH, Ploeg RJ, van Bochel JH, et al. Risk factors for delayed graft function in cadaveric kidney transplantation: a prospective study of renal function and graft survival after preservation with University of Wisconsin solution in multi-organ donors. *European Multicenter Study Group. Transplantation* 1997; 63: 1620-8.
45. Nishikawa K, Terasaki PI. Outcome of preemptive renal transplantation versus waiting time on dialysis. *Clin Transpl* 2002; 367-77.
46. Wilson CH, Brook NR, Gok MA, Asher JF, Nicholson ML, Talbot D. Randomized clinical trial of daclizumab induction and delayed introduction of tacrolimus for recipients of non-heart-beating kidney transplants. *Br J Surg* 2005; 92: 681-7.
47. Grinyó JM, Gil-Vernet S, Cruzado JM, et al. Calcineurin inhibitor-free immunosuppression based on antithymocyte globulin and mycophenolate mofetil in cadaveric kidney transplantation: results after 5 years. *Transpl Int* 2003; 16: 820-7. Epub 2003 Jul 22.
48. Fukuhara N, Ono Y, Hattori R, et al. The long-term outcome of tacrolimus in cadaveric kidney transplantation from non-heart-beating donors. *Clin Transplant* 2005; 19: 153-7.