



Università degli Studi di Padova

Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino
Direttore: Prof. Giovanni Franco Zanon

SCUOLA DI DOTTORATO DI RICERCA
MEDICINA DELLO SVILUPPO E SCIENZE DELLA PROGRAMMAZIONE
INDIRIZZO
SCIENZE CHIRURGICHE PEDIATRICHE SPERIMENTALI
CICLO XXV

TRAPIANTO DI RENE IN ETÀ PEDIATRICA. EFFETTO DELLA RIANIMAZIONE DEL DONATORE IN MORTE CEREBRALE SULL'OUTCOME DELL'ORGANO TRAPIANTATO

Direttore della Scuola: Ch.mo Prof. Giuseppe Basso
Coordinatore d'indirizzo: Ch.mo Prof. Giovanni Franco Zanon
Supervisore: Ch.mo Prof. Giovanni Franco Zanon

Dottorando: Dott. Paolo Gasparella

SOMMARIO

RIASSUNTO	5
INTRODUZIONE	9
SCOPO	23
PAZIENTI E METODI	25
RISULTATI	35
DISCUSSIONE	41
CONCLUSIONI	49
BIBLIOGRAFIA	51

RIASSUNTO

INTRODUZIONE ED OBIETTIVI

Da quando è stato introdotto 40 anni fa, il trapianto di rene si è progressivamente affermato come la terapia di scelta dell'insufficienza renale terminale, grazie al miglioramento delle tecniche chirurgiche, alla più accurata selezione dei donatori e allocazione degli organi, alla maggior prevenzione, identificazione e trattamento del rigetto acuto, alla più sicura gestione delle complicanze post-operatorie ed infine ad una più approfondita conoscenza della farmacodinamica dei farmaci immunosoppressori.

La progressiva perdita di funzione dell'organo trapiantato rimane, tuttavia, la principale causa di fallimento del trapianto. L'outcome del graft è influenzato da molteplici parametri: uno di questi è la "delayed graft function" (DGF), ovvero la ritardata ripresa funzionale dell'organo trapiantato. C'è crescente evidenza che il grado di danno dell'organo da trapiantare possa essere influenzato da eventi intercorsi in terapia intensiva o intorno all'epoca della morte cerebrale. Un punto chiave, quindi, per capire la qualità dell'organo da trapiantare, sembrerebbe essere la gestione rianimatoria del donatore in morte cerebrale. Gli studi disponibili in letteratura sull'argomento sono quasi esclusivamente basati su una popolazione adulta oppure prendono in considerazione un numero ristretto di parametri. Non ci risulta che esistano attualmente studi simili condotti su pazienti pediatrici. Partendo quindi dall'ipotesi, dimostrata nell'adulto, che alcune variabili riguardanti la rianimazione del donatore possano influenzare la DGF e quindi l'outcome del

trapianto, scopo principale del presente progetto di ricerca è stato capire se esista questa correlazione anche nell'ambito del trapianto renale pediatrico.

SCOPI

Analisi della prevalenza di DGF e i suoi fattori di rischio in una popolazione selezionata. Valutazione dell'impatto della DGF sulla funzionalità del trapianto e sulla sopravvivenza del paziente e del graft a 24 mesi dopo il trapianto.

MATERIALI E METODI

Sono stati presi in considerazione i dati di tutti i pazienti con età inferiore ai 15 anni sottoposti a trapianto di rene presso il nostro Dipartimento di Pediatria (Chirurgia Pediatrica e Nefrologia Pediatrica- Azienda Ospedaliera e Università degli Studi di Padova) ed è quindi stato condotto uno studio retrospettivo su tutti i casi di trapianto di rene da donatore non vivente eseguiti dal 26/12/2003 al 18/04/2011. E' stato escluso il periodo antecedente per la sostanziale differenza nella terapia immunosoppressiva, fatto che avrebbe costituito una notevole fonte di errore nell'analisi dei dati. Nel periodo di tempo considerato sono stati eseguiti un totale di 141 trapianti di rene, 126 da donatore cadavere, dei quali in 116 bambini i dati relativi alla donazione erano completi.

I dati dei donatori sono stati estratti dalle osservazioni delle unità di terapia intensiva dalla diagnosi di morte cerebrale al prelievo dell'organo. Sono state considerate: tipo e volume di Plasma Expander, trasfusioni, utilizzo di inotropi, episodi di shock ipotensivo, episodi di arresto cardiocircolatorio, permanenza in terapia intensiva, creatininemia, uremia e diuresi.

I dati dei riceventi sono stati ottenuti attraverso la revisione sistematica delle cartelle cliniche dei reparti di Chirurgia Pediatrica e Nefrologia Pediatrica del nostro centro. I criteri di inclusione sono stati:

età inferiore ai 18 anni, donatore cadavere in morte cerebrale, follow-up di almeno un anno. I pazienti sono stati divisi in gruppo 1 (11 pz.) con Delayed Graft Function (DGF) e gruppo 2 (105 pz.) senza DGF.

Gli endpoints dello studio sono stati: DGF, funzione dell'organo trapiantato a 6-12-24 mesi dal trapianto e sopravvivenza del paziente a 6-12-24 mesi.

AVANZAMENTO DEL PROGETTO E RISULTATI

L'analisi univariata dei parametri del donatore in morte cerebrale ha mostrato che l'età e la morte da accidente cerebrovascolare sono fattori di rischio per lo sviluppo di DGF. Il modello di regressione logistica multivariata ha confermato come fattore di rischio indipendente per DGF l'età del donatore. A 6 mesi di follow-up, il gruppo con DGF ha mostrato una funzionalità renale e un quadro istologico bioptico peggiori rispetto al gruppo senza DGF, ma non abbastanza da raggiungere la significatività.

CONSIDERAZIONI CONCLUSIVE

Ad eccezione della causa di morte non traumatica, ovvero causata da accidenti vascolari cerebrali, nessuna variabile ha influenzato la DGF nei bambini trapiantati. L'età del donatore (variabile continua) è stata rivelata come importante fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di DGF, a sottolineare quanto già presente in letteratura di come reni provenienti da donatori più "anziani" siano più suscettibili ad esaurire prima la loro funzionalità. Per la bassa incidenza di DGF e la

perdita al follow-up dei pazienti, non è stato possibile stabilire correlazioni significative tra i due gruppi per quel che riguarda l'outcome a lungo termine.

PROSPETTIVE

Il campione di pazienti considerato è sicuramente uno dei più cospicui in ambito pediatrico e la creazione di un database dal quale estrapolare i dati relativi alle variabili prese in considerazione nel presente progetto ha consentito la raccolta di ulteriori dati, la cui analisi sicuramente potrà portare ad ulteriori sviluppi delle conoscenze relative alla congruità della donazione in relazione al ricevente.

La relativa significatività dei risultati tuttavia lascia presumere che solo un ampliamento del campione in senso prospettico e con variabili il più possibile omogenee, alla luce dell'esperienza sul paziente adulto, consentirà di ottenere dei risultati più significativi anche in ambito pediatrico.

INTRODUZIONE

La End Stage Renal Disease (ESRD) costituisce lo stadio finale dell'Insufficienza renale Cronica (IRC) ed è caratterizzata dall'incapacità del rene di svolgere in modo sufficiente la sua funzione omeostatica anche se supportato farmacologicamente in modo massimale, a scapito della sopravvivenza stessa del paziente. In genere la funzionalità renale è in questi casi inferiore al 10% e la Velocità di Filtrazione Glomerulare (VFG) scende a 15 mL/min/1.73m².

Nella popolazione pediatrica l'ESRD è molto rara e la sua incidenza ammonta a 1-2 bambini per milione di abitanti. Le cause in ambito pediatrico sono molteplici e soprattutto estremamente differenti da quelle che ne sono responsabili nell'adulto, per il quale ipertensione e diabete costituiscono i 2/3.

Tabella 1: Cause di insufficienza renale cronica del bambino in Italia (Ardissimo, 2003)

	All Registered Patients		Patients Reaching ESRD	
	No.	%	No.	%
Hypodysplasia				
With identified uropathy	522	43.6	71	27.1
Without urinary tract malformations	167	13.9	33	12.5
Neurogenic bladder	44	3.7	8	3.0
Chronic glomerulonephritis†	31	2.6	16	6.1
Focal glomerulosclerosis	21	1.8	12	4.6
Congenital nephrotic syndrome	13	1.1	5	1.9
Membranous nephropathy	3	0.3	2	0.8
Systemic lupus erythematosus	13	1.1	5	1.9
Hemolytic uremic syndrome	43	3.6	9	3.4
Polycystic kidney disease	60	5.0	9	3.4
Nephronophthisis	41	3.4	21	8.0
Alport's syndrome	18	1.5	9	3.4
Cystinosis	22	1.8	9	3.4
Hereditary nephropathies‡	45	3.8	13	4.9
Cortical necrosis (perinatal)	49	4.1	8	3.0
Medications	14	1.2	2	0.8
Idiopathic interstitial nephritis	24	2.0	9	3.4
Wilms' tumour	4	0.3	3	1.1
Miscellaneous non-hereditary diseases	23	1.9	8	3.0
Unknown	40	3.3	11	4.3

* Including monolateral renal agenesis (65), nephrectomy (30), and multicystic kidney (25).

† Including unlisted systemic immunological diseases.

‡ Other than those individually listed.

Ardissimo e colleghi nel 2003 hanno pubblicato i dati italiani relativi alle cause di insufficienza renale nel paziente pediatrico, che sono riportate nella tabella 1. [1,3]

Sempre per quel che riguarda l'ambito pediatrico, secondo i dati dell'USRDS (United States Renal Data System), in un anno negli Stati Uniti circa un bambino ogni 65000 sviluppa una ESRD.

Prima degli anni '60 non vi era nessuna possibilità terapeutica per questa condizione. Nel 1940 infatti Kolff in Olanda sviluppò per primo un apparecchio per la dialisi. Il suo utilizzo era tuttavia limitato dalle scarse possibilità di avere accessi venosi stabili. Dopo l'introduzione degli shunt artero-venosi esterni (Scribner-Quinton 1960) e la codifica dell'intervento di confezionamento della fistola a scopo emodialitico (Cimino-Brescia 1960) lo sviluppo di una ESRD non comportava inesorabilmente il decesso.

La fisiopatologia della ESRD nel bambino comporta una complessa alterazione dei normali fluidi e dell'omeostasi chimica, che arriva a compromettere ogni aspetto dello sviluppo fisico, psichico ed emozionale del bambino. Questi pazienti, soprattutto i più piccoli, spesso sviluppano un ritardo di crescita e di sviluppo, sia come conseguenza della patologia, che per la continua necessità di farmaci, assunzione di diete restrittive, esposizione a procedure chirurgiche più o meno invasive e frequente ospedalizzazione.

Indipendentemente dalla causa che ha provocato l'ESRD esistono due possibili approcci terapeutici sostitutivi della funzionalità renale: la dialisi cronica (emodialisi o dialisi peritoneale) ed il trapianto di rene (da donatore cadavere o da donatore vivente). [4]

Il trattamento dialitico prevede l'utilizzo di una membrana semipermeabile che permette di estrarre dal torrente circolatorio i cataboliti che il rene non è più in grado di eliminare. Le due principali tipologie esistenti sono la dialisi peritoneale e

l'emodialisi. Entrambe hanno vantaggi e svantaggi ma nel bambino sotto i 5 anni di età, nei quali è difficile mantenere un accesso vascolare stabile, se possibile viene generalmente preferito l'utilizzo della dialisi peritoneale, mentre nei pazienti adolescenti l'emodialisi è la prima scelta. [5,6]

La scelta del trattamento dialitico dipende (1) dalla causa della ESDR, (2) dalle dimensioni del paziente, (3) dalla disponibilità del patrimonio venoso o del peritoneo e (4) dalla compliance del paziente e della famiglia.

Nel 2011 il report del North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study (NAPRTCS) riporta che dei bambini affetti da ESRD, il 55,7% è trattato con dialisi peritoneale, il 44,3% con emodialisi. Nella Tabella 2 è riportata la distribuzione per età delle due modalità di dialisi riportata nello stesso report.

Tabella 2: Distribuzione per fasce d'età della tipologia di dialisi

Modalità di dialisi	Tot di pazienti	Età di inizio della dialisi			
		0 – 1 anni	2 – 5 anni	6 – 12 anni	>12 anni
DIALISI PERITONEALE	4430	857 (19,3%)	552 (12,5%)	1373 (31,0%)	1648 (37,2%)
EMODIALISI	2599	70 (2,7%)	175 (6,7%)	752 (28,9%)	1602 (61,6%)

Nonostante gli enormi progressi compiuti, la dialisi ancora oggi è una procedura che espone il paziente a complicanze gravi oltre che a numerosi effetti collaterali in modo particolare nel paziente pediatrico (diminuzione della velocità di crescita, carenza nell'apporto di nutrienti, diminuzione del rendimento scolastico, scarsa possibilità di relazioni familiari e sociali, necessità di accessi vascolari o peritoneali, aumento del rischio di osteodistrofia, difetti metabolici). [EBPG Expert Group on Renal Transplantation, 2002]. In particolare essa tende

ad esacerbare nel bambino i problemi ortopedici ed a causare il prematuro consolidamento delle metafisi con conseguente arresto della crescita. I pazienti in trattamento dialitico presentano una maggior mortalità dovuta a complicanze cardiologiche se confrontati con quei pazienti che vengono sottoposti a trapianto renale. Bisogna aggiungere che c'è sempre maggiore evidenza da parte della dialisi di una compromissione del successivo trapianto, che risulta direttamente proporzionale alla durata della dialisi stessa. [7]

Figura 1: Tappe storiche fondamentali nell'evoluzione del trapianto renale

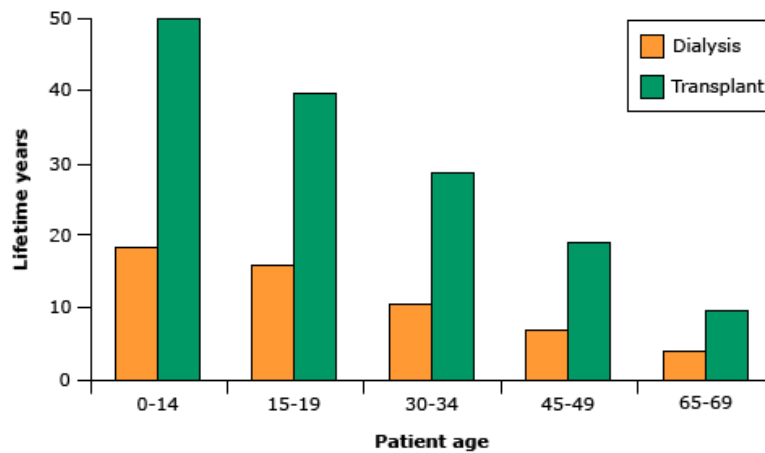
1902	Ullman tenta un'anastomosi tra un rene e i vasi di un paziente uremico. L'anastomosi non riesce per motivi tecnici
1903	Jaboulay anastomizza arteria e vena del rene di una capra ai vasi del braccio di un paziente e quelli di un maiale ad un secondo paziente. Produzione di urina per un ora. "Espianto" dopo pochi giorni
1904	Unger impianta 2 reni di scimmia alla coscia di un paziente uremico. Non ripresa funzionale del rene
1936	Vorony riporta l'utilizzo di reni da donatore cadavere in un paziente uremico. Breve comparsa di diuresi ma decesso del paziente dopo 3 giorni
1945	Landsteiner e Hunfnagel riportano l'impianto di un rene da donatore cadavere con nessuna ripresa di diuresi ed espianto dopo 3 giorni, ma con ripresa funzionale del rene nativo
1950	Lawler impianta un rene da donatore cadavere in fossa iliaca destra in paziente affetto da rene policistico. Documentata funzione renale per 2 mesi e stop a 7 mesi.
1951/53	Oltre 35 tentativi documentati di impianto di rene da cadavere con insuccessi dovuti a problemi tecnici e rigetto. La serie più importante eseguita a Boston ha Hume.
1953	Michon riporta il primo trapianto da vivente (madre). Funzionalità renale per 3 settimane e successiva perdita di funzione e decesso del paziente.
1954	Murray esegue un trapianto in gemelli omozigoti. Il graft funziona per 7 anni.
Anni '50	Murray sperimenta l'immunosoppressione mediante radioterapia con scarsi risultati e importante mortalità.
1959	Calne: utilizzo della Mercaptopurina come immunosoppressore.
1961	Murray: utilizzo dell'Azatioprina come immunosoppressore.
1963	Starzl: immunosoppressione con Prednisolone ed Azatioprina.
1964	Terasaki sviluppa un test per la determinazione degli antigeni di istocompatibilità umani.
1983	La Ciclosporina viene approvata dalla FDA per l'immunosoppressione in pazienti riceventi trapianto renale.

Negli ultimi 40 anni il trapianto di rene si è affermato come la miglior opzione terapeutica in ambito pediatrico per il trattamento della ESRD, perché consente una maggior sopravvivenza del paziente ed una miglior qualità della vita rispetto al trattamento dialitico [8,9]. In uno studio australiano e neozelandese del 2004 è stato dimostrato come il rischio di decesso del paziente in trattamento dialitico sia 4 volte superiore a quello del paziente trapiantato [10]. Da quando eseguito con successo per la prima volta, la sopravvivenza dei pazienti e del graft è notevolmente aumentata, sia per i miglioramenti da un punto di vista chirurgico che per la maggior conoscenza ed il miglioramento delle modalità immunosoppressive. Attualmente negli Stati Uniti vengono eseguiti una media di 800 trapianti di rene l'anno in pazienti con un'età inferiore ai 18 anni [11].

Molti bambini vengono attualmente sottoposti a trapianto “preemptive”, ovvero il trapianto come prima forma di dialisi. Questo approccio è più frequente nel paziente pediatrico appunto per evitare le complicanze relative alla dialisi. Nonostante i vantaggi dimostrati, il report della NAPRTCS del 2011 riporta che il trapianto preemptive è prevalentemente da vivente (34%) piuttosto che da cadavere (13%), ma che la percentuale aumenta costantemente negli anni ed attualmente ammonta al 25%.

Ad oggi il trapianto di rene offre una aspettativa di vita molto elevata e una qualità di vita superiore agli altri trattamenti, come si evince dal grafico qui sotto. Nel paziente pediatrico il dato “qualità della vita”, decisamente superiore nel trapianto, va considerato tenendo in considerazione che il paziente vive una fase di sviluppo fisico e psicologico, con ripercussioni sulla vita futura.

Figura 2: aspettativa di vita per pazienti con ESRD in rapporto a terapia dialitica (dialisi/trapianto) ed età (NAPRTCS del 2011)



Il miglioramento delle terapie immunosoppressive con farmaci quali il micofenolato mofetile e il tacrolimus, hanno consentito una riduzione degli episodi di rigetto acuto, e ulteriormente ridotto le cause immunomediate della perdita del graft. [12,13]

Nonostante questi importanti successi, non sono ancora completamente chiari tutti i fattori che portano alla perdita del graft. Il numero di pazienti in lista d'attesa per un trapianto di rene è in continua crescita e la domanda di organi è superiore al numero di organi disponibili. Per questo la necessità di un miglioramento dell'allocazione degli organi disponibili al fine di evitarne al massimo la dispersione impone l'identificazione dei fattori che aumentano o diminuiscono la possibilità di sopravvivenza del paziente e del graft. [14,15]

La patogenesi del progressivo calo della funzionalità del graft non può essere imputata solamente a fenomeni immunologici. Molte variabili sono state analizzate e messe in relazione con tale fenomeno [16].

Tra esse importanza fondamentale riveste la comparsa post-trapianto della Delayed Graft Function.

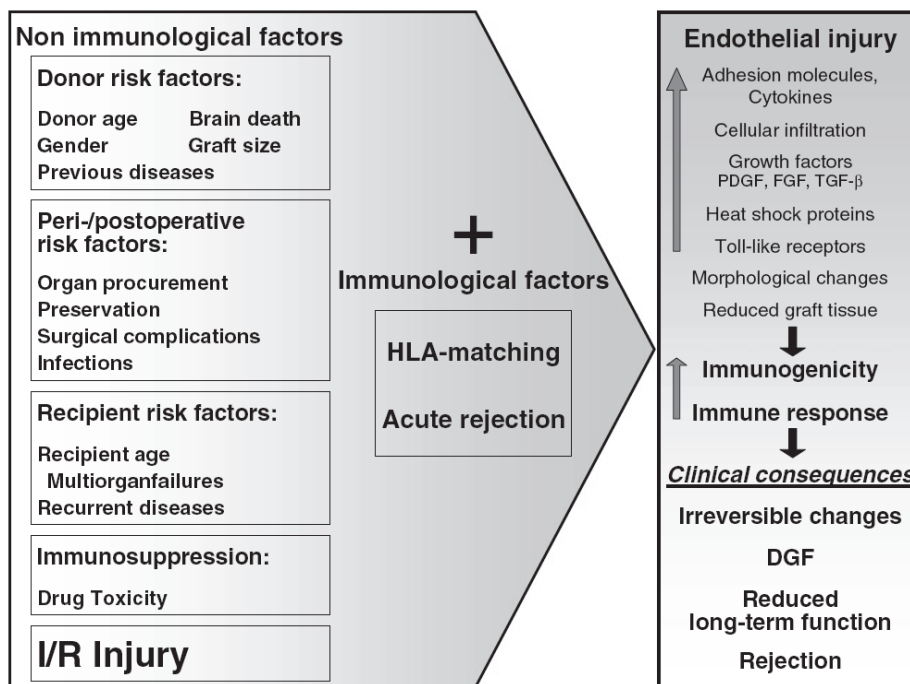


Figura 3: Fattori che influenzano la sopravvivenza del graft. (Pratschke 2008)

DELAYED GRAFT FUNCTION (DGF)

La maggior parte dei trapianti manifesta nel periodo immediatamente successivo all'intervento una latenza nella ripresa funzionale del graft che in alcuni casi diventa clinicamente sintomatica e si manifesta sotto forma d'insufficienza renale transitoria che viene identificata come DGF. La definizione di questo fenomeno rimane ad oggi motivo di discussione tanto che in letteratura sono state identificate ben 18 definizioni del problema. Nella maggior parte dei lavori (69%) la DGF viene definita come la necessità di ricorrere alla dialisi nei 7 giorni successivi al trapianto. Questo tipo di definizione ha il limite di non oggettivare un effettivo danno renale ma rende comunque uniforme l'approccio al problema, consentendo il confronto tra diversi gruppi di lavoro. Limite di questa definizione è che la necessità

di dializzare il paziente durante la prima settimana dopo il trapianto può essere tuttavia dovuta ad altri fattori quali per esempio l'iperkaliemia o l'ipervolemia.

Le cause della DGF sono da ricercare nell'insulto ischemico subito dal graft, aggravato dalla sindrome da riperfusione.[17,18]

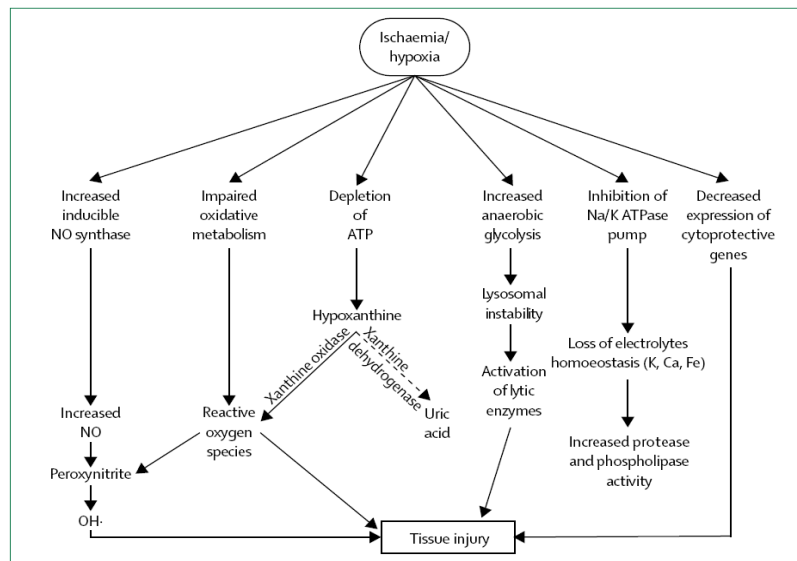


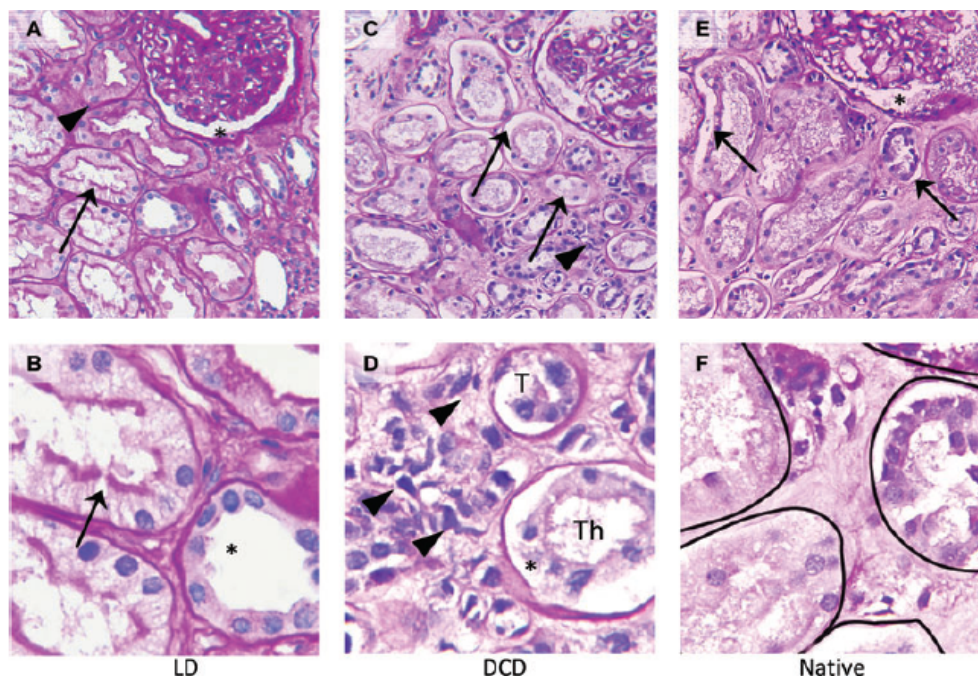
Figura 4: Ipotesi dei meccanismi biochimici e molecolari scatenati a livello renale dall'insulto ischemico

Questo fenomeno è in grado di causare una necrosi e/o apoptosi delle cellule epiteliali ed endoteliali del rene. A seguito di questa prima fase si instaura una fase successiva di mantenimento e di stabilizzazione alla quale fa seguito una successiva fase di riparazione, durante la quale la funzione epiteliale ed endoteliale migliorano portando alla riattivazione della funzione renale.

Il reperto istopatologico in caso di DGF è del tutto sovrapponibile a quello riscontrato nel caso di necrosi tubulare acuta (NTA) del rene nativo. Si differenzia tuttavia da esso per la minor rappresentazione di elementi tubulari, una minor

rigenerazione tubulare, una maggior quantità di cristalli di ossalato di calcio e di micro calcificazioni ed una vacuolizzazione isomerica (verosimilmente attribuibile agli inibitori della calcineurina).

Figura 5: Gradazione del diverso danno renale dopo insulto tipo di ischemia da riperfusione a 48-72 ore post impianto : (A, B) *graft di donatore vivente* (LD). (A) La membrana apicale del tubulo prossimale è sbrecciato in alcune sezioni (freccia nera), mentre la membrana basale resta aderente. L' infiltrato interstiziale è moderato con alcune cellule infiammatorie (triangolo nero). Lo spazio di Bowman è presente con una piccola compressione del glomerulo (asterisco). (C,D) *graft da donatore cadavere* (DCD) (C) è presente un danno del tubulo prossimale e distale con separazione della membrana basale (freccia nera) (D) importante infiltrato linfocitario interstiziale con invasione della membrana basale tubulare (triangolo). E' presente edema cellulare (asterisco) . (E,F) *rene nativo con necrosi tubulare acuta* (E) i segmenti i prossimali e distali del tubulo sono danneggiati con esteso slaminamento della membrana basale (freccia nera).



La frequenza con la quale la DGF viene riportata in letteratura è estremamente variabile e oscilla dal 2% al 50% [19,20]. Questa differenza così marcata è in parte imputabile all'ambiguità con la quale la DGF viene definita.

La DGF è una complicazione nota del trapianto renale ed che è legata in modo non ancora del tutto chiaro alla sopravvivenza dell'organo a lungo termine. Inoltre può essere aggravata dalla comparsa di un rigetto acuto, associazione per la

quale è stata dimostrata una sopravvivenza a 5 anni del 34%. In alcuni lavori è stato sottolineato come la DGF aumenti di per sé la comparsa di un rigetto acuto. Le complesse interazioni che legano i fattori di sviluppo della DGF ed il suo rapporto con la sopravvivenza del graft rimangono tuttora poco chiari, soprattutto a causa del lasso di tempo che intercorre tra l'evento iniziale e l'outcome. [21, 22]

Vista l'importanza che la DGF riveste in funzione dell'outcome del graft, molti autori hanno cercato di capire quali siano le variabili in grado di influenzare la comparsa di questo fenomeno. Le cause individuate possono essere precedenti al momento del trapianto e quindi legate al donatore o ad eventi intercorsi dal momento dell'espianto, oppure successive al trapianto o intrinseche al soggetto ricevente.

In generale sono state identificate cinque categorie di fattori di rischio:

- (a) la "qualità" del tessuto del donatore, legata in modo direttamente proporzionale all'età);
- (b) la morte cerebrale e le altre componenti della donazione da cadavere;
- (c) le variabili legate alla conservazione dell'organo, e in modo particolare il tempo di ischemia fredda;
- (d) le variabili immunologiche, (HLA mismatch, pregressi trapianti);
- (e) le variabili legate al ricevente (condizioni generali, patologia di base, caratteristiche fisiche, razza/etnia).

Queste stesse variabili, oltre ad essere implicate nello sviluppo della DGF, influenzano in modo indipendente la sopravvivenza del graft.

Tra i fattori legati al donatore risulta sempre più evidente l'influenza dei danni legati allo stato di morte cerebrale e alle manovre rianimatorie. In particolare

l'utilizzo di alcuni farmaci adrenergici, alcune tipologie di espansori di volume o la desmopressina sembrano aumentare lo sviluppo della DGF [22,23,24].

Questo dato viene avvalorato dal fatto che diversi autori hanno dimostrato che reni originanti dallo stesso donatore hanno un comportamento simile per quel che riguarda la loro funzionalità a lungo termine [26].

EFFETTO DELLA DGF

E' da tempo assodato che la DGF è associata alla sopravvivenza del graft. Nei trapianti renali da cadavere eseguiti negli Stati Uniti tra il 1994 e il 1998, l'emivita dei reni trapiantati che non avevano sviluppato DGF è stata di 11,5 anni a fronte dei 7,2 anni di quelli che avevano sviluppato una DGF.

In un'analisi multivariata dei fattori che influenzano la sopravvivenza del graft Hunsicker ha confermato che la DGF è significativamente associata alla perdita del rene, indipendentemente da altri fattori.

Il paziente pediatrico che riceve il primo trapianto di rene presenta una sopravvivenza significativamente migliore rispetto al paziente in lista d'attesa. Il trapianto è quindi la modalità terapeutica migliore anche nel paziente pediatrico e c'è accordo unanime nel garantire al bambino priorità nella lista d'attesa. L'atteggiamento di allocazione degli organi provenienti da donatori con età inferiore ai 35 anni in modo preferenziale ai pazienti al di sotto dei 18 anni ha determinato un aumento del numero dei trapianti renali pediatrici e diminuito sensibilmente la lista d'attesa. Attualmente l'età è un parametro nella valutazione del paziente nella lista d'attesa.

Tuttavia, a fronte di un costante aumento dei pazienti in lista d'attesa, dovuto anche alla tendenza sempre più marcata di proporre il trapianto preemptive, il numero dei donatori rimane costante.

Per questo motivo gli sforzi della ricerca in questo settore devono essere mirati alla conoscenza e al conseguente abbattimento di tutti quei fattori immunologici e non che condizionano negativamente l'outcome del trapianto, in modo da razionalizzare il più efficacemente possibile l'allocazione dell'organo e da poter così riuscire ad ottenere il massimo numero di trapianti "efficaci" con gli organi a disposizione.

SCOPO

Scopi del presente progetto di ricerca sono stati:

La creazione di un archivio di dati di pazienti sottoposti a trapianto renale presso il nostro centro, contenente informazioni riguardo al candidato durante l'attesa di trapianto, alla donazione, al trapianto e al follow up.

La revisione della letteratura riguardante la Delayed Graft Function, il trapianto di rene e l'outcome relativi a pazienti adulti e pediatrici.

L'analisi della prevalenza della DGF all'interno di un gruppo di pazienti pediatrici trattati presso il nostro centro e l'analisi dei fattori di rischio ad essa correlati.

In particolare l'analisi si è concentrata su quelle variabili relative alla rianimazione del donatore con lo scopo di valutare quali fossero quelle con influenza sulla DGF.

Identificare l'impatto della DGF a 6, 12 e 24 mesi dal trapianto.

PAZIENTI E METODI

DONATORI

Parte limitante del lavoro è stato principalmente il reperimento dei dati relativi al donatore, per i quali ci si è avvalsi principalmente delle schede tipo “Necro-Kidney” le quali accompagnano il graft dal momento dell’espianto dal donatore e che forniscono informazioni quali i dati anagrafici del donatore, la causa del decesso, l’inizio dell’ischemia fredda, l’eventuale presenza di anomalie del graft o danni verificatisi al momento dell’espianto.

I dati relativi ai parametri rianimatori sono invece stati ricavati dalle osservazioni riportate nelle Unità di Terapia Intensiva dalla diagnosi di morte cerebrale fino al prelievo dell’organo, dati messi a disposizione dal NITp (Nord Italia Transplant program). In particolare, per l’elaborazione statistica dei dati, sono stati presi in considerazione:

- (a) l’impiego di farmaci vasopressori (Dopamina, Dobutamina, Adrenalina e Noradrenalina),
- (b) il numero di episodi di shock ipovolemico (considerato come almeno un episodio di pressione arteriosa sistolica inferiore a 80 mmHg durante il ricovero in Terapia Intensiva),
- (c) il numero di arresti cardiocircolatori e di rianimazione cardiopolmonare, la durata della permanenza in terapia intensiva.
- (d) i valori di creatininemia, uremia e la diuresi al momento del prelievo dell’organo,
- (e) età e sesso e dati antropometrici del donatore,
- (f) la causa della morte (vascolare o traumatica).

Durante il periodo dello studio la tecnica di prelievo e la tipologia di conservazione del graft sono rimasti invariati.

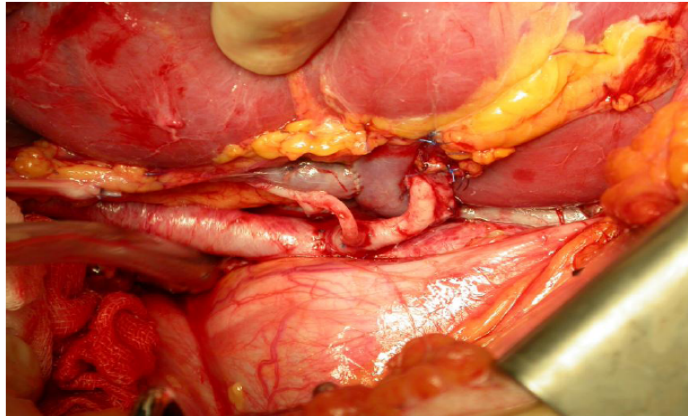
RICEVENTI

I dati relativi ai riceventi sono stati ottenuti mediante la sistematica revisione delle cartelle cliniche dei reparti di Chirurgia Pediatrica e Nefrologia Pediatrica e sono stati considerati i pazienti che avessero un'età inferiore a 16 anni al momento dell'inizio della dialisi, il cui graft fosse stato ottenuto da un donatore in morte cerebrale e che avesse un follow-up completo di almeno 12 mesi dopo il trapianto.

Sono stati analizzati in modo retrospettivo tutti i dati dei pazienti sottoposti presso il nostro centro da dicembre 2003 ad aprile 2011 a trapianto di rene da donatore cadavere. Dei 141 trapianti di rene eseguiti nel lasso di tempo preso in esame, in 15 il donatore era vivente, mentre nei restanti 126 il donatore era cadavere. Tra questi ultimi 126 casi, in 10 la documentazione relativa ai dati oggetto dello studio sono risultati incompleti e pertanto i pazienti esclusi dall'analisi dei dati. Sono pertanto risultati valutabili 126 pazienti.

Tutti i graft sono stati impiantati in fossa iliaca destra mediante un accesso extraperitoneale. In tutti i casi è stata eseguita un'anastomosi termino-laterale dei vasi renali e l'uretere è stato reimpiantato alla vescica nativa con tecnica di Lich-Gregoire.

Figura 6: Anastomosi arteriosa



Durante i primi 10-15 giorni postoperatori è stata somministrata a tutti i bambini una terapia anticoagulante con eparina a basso peso molecolare e in tutti i casi è stato eseguito un Eco-Doppler per escludere eventuali complicazioni vascolari.

La terapia immunosoppressiva è stata uguale per tutti i pazienti ed è stata introdotta grazie all'impiego di Basiliximab, Anticorpo anti-CD25 e Steroidi. Il mantenimento dell'immunosoppressione è stato ottenuto mediante una duplice o triplice combinazione di farmaci (Inibitore della Calcineurina, Micofenolato Mofetile o Everolimus/Sirolimus, Steroidi) in relazione al regime terapeutico utilizzato al momento del trapianto.

Una volta ottenuta una normalizzazione della funzione del graft dopo il trapianto, i pazienti sono stati dimessi e sono stati seguiti ambulatorialmente secondo un rigoroso schema di controlli seriatati che prevedeva 3 controlli settimanali nel primo mese, scalati gradualmente fino a 1 controllo ogni mese e mezzo nel secondo anno post trapianto.

Obiettivo primario dello studio è stata l'analisi della prevalenza della DGF nella popolazione pediatrica di trapiantati renali presa in considerazione e di analizzare quindi i fattori di rischio per lo sviluppo della DGF legati al donatore. Obiettivi secondari sono stati l'analisi della funzione del graft (clearance della creatinina e istologia del graft) e della sopravvivenza di paziente e graft a 6, 12 e 24 mesi dal trapianto.

Dopo una prima analisi dei dati, i riceventi sono stati suddivisi in due gruppi sulla scorta dello sviluppo o meno di DGF. Un primo gruppo (Gruppo 1) è risultato essere composto di 11 (9.5%) pazienti che hanno sviluppato una DGF, il secondo (Gruppo 2) di 105 (90.5%) pazienti i quali non hanno manifestato DGF.

ENDPOINT PRIMARIO

La Delayed Graft Function è stata definita come la necessità di ricorrere alla dialisi del paziente durante la prima settimana nel post-trapianto. Per i pazienti sottoposti a trapianto preemptive, ovvero prima di necessitare della dialisi, un calo del valore della creatinina mia inferiore al 10% dalla prima giornata e per la prima settimana postoperatorie è stato considerato come significativo della presenza di DGF.

ENDPOINT SECONDARI

Per la valutazione della funzionalità del graft sono state utilizzate:

– la stima della filtrazione glomerulare (GFR) mediante il calcolo della Clearance della Creatinina(CrCl), ottenuta utilizzando la formula di Schwartz¹, che prende in

considerazione l'età e l'altezza del paziente, calcolate a 6, 12 e 24 mesi dal trapianto.

¹*Equazione di Schwartz:*

Clearance della Creatinina* (ml/min/1.73m²)=[altezza(cm) x k**]/Serum Cr(umol/L)

**per pazienti con età da 1 settimana e a 18 anni*

***k = 0.45 per bambini da 1 a 52 settimane*

***k = 0.55 per ragazzi da 1 a 13 anni*

***k = 0.55 per ragazze (F) adolescenti da 13 a 18 anni*

***k = 0.7 per ragazzi (M) adolescenti da 13 a 18 anni*

(Schwartz 1976)[27]

– La biopsia del graft a 6, 12 e 24 mesi dal trapianto.

La biopsia del graft è stata eseguita in tutti i pazienti secondo protocollo del nostro centro a 6, 12 e 24 mesi dopo il trapianto, indipendentemente dalla funzionalità del graft. Inoltre sono state eseguite biopsie diagnostiche quando clinicamente indicato.

Tutti i prelievi sono stati analizzati dopo preparazione con ematossilina eosina, Tricromica, colorazione con acido-periodico reattivo di Schiff (PAS), e con siero policlonale anti C4d (Biomedica Gruppe, Austria). Tutte le biopsie sono state valutate al nefrologo pediatra della nostra equipe e classificate secondo la Classificazione di Banff modificata nel 2009. Le biopsie inadeguate (meno di 7 glomeruli valutabili) non sono state prese in considerazione.

Figura 7: Categorie diagnostiche per la biopsia del rene trapiantato (Banff'07)

<p>1. Normal</p> <p>2. Antibody-mediated changes (may coincide with categories 3, 4 and 5 and 6) Due to documentation of circulating antidonor antibody, and C4d³ or allograft pathology <u>C4d deposition without morphologic evidence of active rejection</u> C4d+, presence of circulating antidonor antibodies, no signs of acute or chronic TCMR or ABMR (i.e. g0, cg0, ptc0, no ptc lamination). Cases with simultaneous borderline changes or ATN are considered as indeterminate <u>Acute antibody-mediated rejection⁴</u> C4d+, presence of circulating antidonor antibodies, morphologic evidence of acute tissue injury, such as (Type/Grade): I. ATN-like minimal inflammation II. Capillary and/or glomerular inflammation (ptc/g >0) and/or thromboses III. Arterial—v3 <u>Chronic active antibody-mediated rejection⁴</u> C4d+, presence of circulating antidonor antibodies, morphologic evidence of chronic tissue injury, such as glomerular double contours and/or peritubular capillary basement membrane multilayering and/or interstitial fibrosis/tubular atrophy and/or fibrous intimal thickening in arteries</p> <p>3. Borderline changes: 'Suspicious' for acute T-cell-mediated rejection (may coincide with categories 2 and 5 and 6) This category is used when no intimal arteritis is present, but there are foci of tubulitis (t1, t2 or t3) with minor interstitial infiltration (i0 or i1) or interstitial infiltration (i2, i3) with mild (t1) tubulitis</p> <p>4. T-cell-mediated rejection (TCMR, may coincide with categories 2 and 5 and 6) <u>Acute T-cell-mediated rejection (Type/Grade):</u> IA. Cases with significant interstitial infiltration (>25% of parenchyma affected, i2 or i3) and foci of moderate tubulitis (t2) IB. Cases with significant interstitial infiltration (>25% of parenchyma affected, i2 or i3) and foci of severe tubulitis (t3) IIA. Cases with mild-to-moderate intimal arteritis (v1) IIB. Cases with severe intimal arteritis comprising >25% of the luminal area (v2) III. Cases with 'transmural' arteritis and/or arterial fibrinoid change and necrosis of medial smooth muscle cells with accompanying lymphocytic inflammation (v3) <u>Chronic active T-cell-mediated rejection</u> 'chronic allograft arteriopathy' (arterial intimal fibrosis with mononuclear cell infiltration in fibrosis, formation of neo-intima)</p> <p>5. Interstitial fibrosis and tubular atrophy, no evidence of any specific etiology (may include nonspecific vascular and glomerular sclerosis, but severity graded by tubulointerstitial features) Grade I. Mild interstitial fibrosis and tubular atrophy (<25% of cortical area) II. Moderate interstitial fibrosis and tubular atrophy (26–50% of cortical area) III. Severe interstitial fibrosis and tubular atrophy/ loss (>50% of cortical area)</p> <p>6. Other: Changes not considered to be due to rejection—acute and/or chronic (for diagnoses see Table 14 in (42); may include isolated g, cg or cv lesions and coincide with categories 2, 3, 4 and 5)</p> <hr/> <p>¹The 2007 updates are underlined. ²All existing scoring categories (g, t, v, i, cg, ct, ci, cv, ah, mm) remain unchanged (42) ³Please refer to Table 2 and Figure 1. ⁴Suspicious for antibody-mediated rejection if C4d (in the presence of antibody) or alloantibody (C4d+) not demonstrated in the presence of morphologic evidence of tissue injury.</p>

Figura 8: Danno acuto tubulare con importante infiltrato neutrofilo nei capillari intertubulari

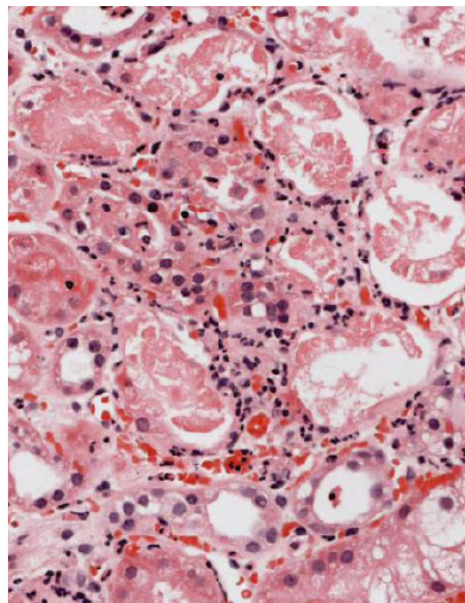


Figura 9: Rigetto immunomediato. Colorazione con immunoperossidasi per C4d

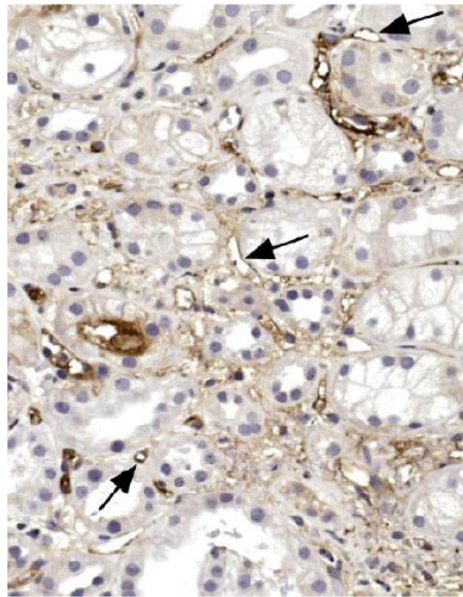


Figura 10: Ispessimento intimale arterioso con aspetto di rigetto cronico vascolare

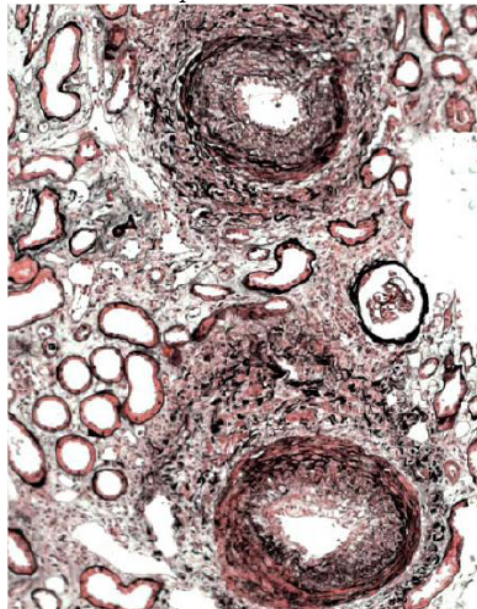
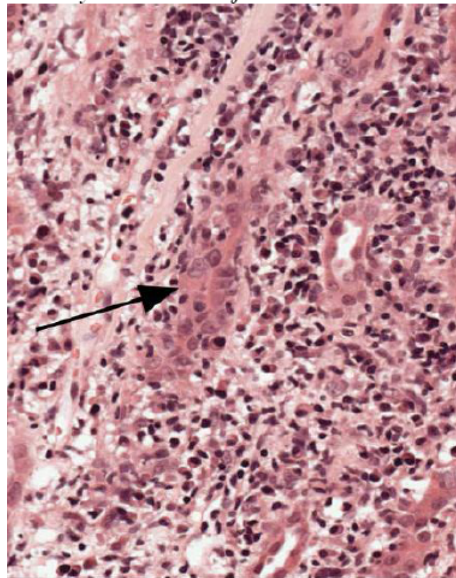


Figura 11: Infiltrato infiammatorio cronico con nuclei anormali nei tubuli (freccia)



L'espanto del rene trapiantato, il ritorno stabile alla dialisi ed il re-trapianto sono stati considerati come perdita del graft o fallimento del trapianto

Analisi statistica

Le variabili continue con una distribuzione normale (accertata con il Test di normalità di Shapiro-Wilk) sono presentate con $\text{media} \pm \text{deviazione standard}$. Le variabili categoriche sono espresse come percentuale. Le variabili continue con distribuzione normale sono state confrontate utilizzando il Test t di Student, quelle che non assumevano una distribuzione normale sono state confrontate utilizzando il test dei segni per ranghi di Wilcoxon.

Le variabili categoriche sono state confrontate a seconda dell'opportunità con il Test χ^2

O con il test esatto di Fisher. Solo le variabili risultate significative ($p < 0,05$) all'analisi univariata sono state utilizzate per l'analisi multivariata, che è stata eseguita mediante regressione logistica. L'elaborazione statistica è stata ottenuta utilizzando il software Stata MP 10.0 (StataCorp).

RISULTATI

Nella coorte dei 116 donatori, l'età media è risultata essere di 15,6 anni ($\pm 13,02$). La distribuzione in base al sesso è risultata a favore dei maschi (maschi/femmine : 79/37). Il Body Mass Index (BMI) medio è risultato di 19,9 ($\pm 4,3$).

L'età media nella coorte dei 116 riceventi è risultata essere di 14,64 anni con una distribuzione in base al sesso (maschi/femmine) di 76/40. Il peso medio dei pazienti riceventi è risultato di 35,5 kg.

Il rapporto tra dimensioni del ricevente e del donatore, calcolato utilizzando il peso dei due soggetti, è risultato in media di 0.87.

La comparsa di Delayed graft Function (DGF) si è verificata in 11 casi su 116 (9,4%), sulla base della quale la coorte di pazienti è stata suddivisa in due gruppi: il Gruppo 1 costituito dagli 11 pazienti che hanno sviluppato la DGF, il Gruppo 2 dai 105 pazienti che non hanno sviluppato la DGF. Il confronto delle variabili nei due gruppi è riassunta nella Tabella 3.

L'analisi univariata ha evidenziato come alcuni parametri relativi al donatore correlino con un minor rischio di sviluppare una DGF. *L'età del donatore*, sia come variabile continua, che suddivisa in due fasce, ovvero in maggiore o minore di 15 anni, è risultato un fattore di rischio per lo sviluppo di una DGF, se il donatore apparteneva al gruppo con età maggiore ($p < 0,05$). Altro parametro correlato è risultato essere il *sesso del donatore*, in particolare il sesso femminile del donatore è

risultata una variabile predisponente lo sviluppo di una DGF ($p < 0,05$). Allo stesso modo la *causa del decesso* del donatore.

Tabella 3: Caratteristiche dei due gruppi in rapporto alle variabili analizzate

		Gruppo 1 (11 pz)	Gruppo 2 (105 pz)	[N]	p
Età	Media (aa)	23,3 ± 16,3	14,7 ± 12,4	[105]	< 0,05
	> 15 anni (%)	72% (8)	35% (37)	[105]	< 0,05
Sesso D	F	66,6% (6)	29,5% (31)	[105]	< 0,05
	M	45,4 (5)	70,5% (74)		
Sesso R	F	27,3% (3)	35,2% (37)	[105]	ns
	M	72,7% (8)	64,8% (68)		
Rapporto	D/R	0,76 ± 0,21	0,88 ± 0,64	[105]	ns
Peso (kg)	D	53,6 ± 28,4	47,3 ± 24,5	[105]	ns
	R	39,1 ± 19,8	35,1 ± 20,1	[105]	ns
Causa del decesso	Vascolare	45,4% (5)	17,1% (18)	[105]	< 0,05
	Traumatica	27,3% (3)	61,9% (65)		ns
	Altro	27,3% (3)	20,9% (22)		ns
CIT		14,5 ± 5,14	13,5 ± 3,78	[105]	ns
Shock		63,6% (7)	53,1% (43)	[81]	ns
Inotropi	Dopamina	27,3 % (3)	48,6% (51)	[105]	ns
	Dobutamina	18,2% (2)	12,4% (13)		ns
	Epinefrina	9,1% (1)	2,9% (3)		ns
	Norepinefrina	54,5% (6)	43,8% (46)		ns
	Totale	72,7% (8)	79,04% (83)		ns
Numero rianimazioni D		45,5% (5)	26,1% (23)	[99]	ns
Creatininemia D		0,90 ± 0,51	0,76 ± 0,35	[108]	ns

Funzionalità dell'organo trapiantato

A sei mesi dal trapianto è stato possibile valutare la CICr in 107 pazienti su 116, a 12 mesi è stato possibile in 103 pazienti, e a due anni è stato possibile in 74 pazienti.

A sei mesi dal trapianto 9/116 infatti sono stati persi al FU o seguiti presso altri centri. La velocità di filtrazione glomerulare, misurata tramite la CrCl, è

risultata più bassa nel gruppo che ha sperimentato DGF, ma non sufficientemente bassa da raggiungere una significatività statistica (p: ns).

Nel FU a 12 mesi sono stati analizzati 103/116 pazienti. A un anno dal trapianto la velocità di filtrazione glomerulare non ha mostrato differenze statisticamente significative tra i due gruppi (P .399).

A 2 anni dal trapianto, in un'analisi condotta in 74/116 pazienti, la velocità di filtrazione glomerulare non ha rilevato alcuna differenza statisticamente significativa tra i due gruppi.

Biopsia renale

Durante il FU a 6 mesi sono state eseguite 71 biopsie delle quali 64 risultate adeguate. In 45 casi la biopsia non è stata eseguita o perché controindicata, o per espianto precedente ai sei mesi o perché i pazienti sono stati persi al FU. Delle 64 biopsie adeguate, 4 appartenevano al Gruppo 1, 60 al Gruppo 2. L'analisi univariata eseguita in rapporto alle lesioni istologiche, valutate semi-quantitativamente mediante i criteri di Banff, non ha dimostrato differenze statisticamente significative nella distribuzione dei referti (normali/alterati) all'interno dei due gruppi.

A 12 mesi dal trapianto sono state eseguite 69 biopsie delle quali 62 adeguate. Delle 62 biopsie adeguate, 4 appartenevano al Gruppo 1, 58 al Gruppo 2. L'analisi della distribuzione di alterazioni tra i due gruppi analizzati non ha evidenziato differenze statisticamente significative.

A 24 mesi dal trapianto sono state eseguite 44 biopsie, delle quali 43 risultate adeguate. Delle 43 biopsie adeguate, 1 apparteneva al Gruppo 1, 42 al Gruppo 2. Per

quanto il campione nel Gruppo 2 sia composto da un solo elemento, anche in questo caso non è emersa alcuna correlazione significativa tra DGF e lesioni istologiche nel rene trapiantato.

Sopravvivenza di graft e paziente

Nella coorte di pazienti presi in esame nello studio la sopravvivenza del graft a breve e lungo termine è risultata migliore nel Gruppo 2, cioè nei pazienti che non hanno manifestato DGF. Al confronto statistico è risultata significativa la miglior sopravvivenza del graft nel Gruppo 2 sia a 6 che a 12 che a 24 mesi, mentre non è risultata statisticamente significativa la differenza tra i due gruppi in rapporto alla sopravvivenza del paziente.

In particolare la sopravvivenza del graft a 6 mesi è risultata significativamente migliore nel Gruppo 2 (100%) rispetto a quella nel Gruppo 1 (63,6%). Per quanto riguarda la sopravvivenza del paziente a 12 mesi, il Gruppo 2 (100%) sembra essere migliore rispetto al Gruppo 1 (90,9%) ma non in modo statisticamente significativo.

La sopravvivenza del graft a 12 mesi è risultata significativamente migliore nel Gruppo 2 (100%) rispetto al Gruppo 1 (63,3%). Per quanto riguarda la sopravvivenza del paziente a 12 mesi, il Gruppo 2 (90,1%) sembra essere in questo caso peggiore rispetto al Gruppo 1 (90,9%) senza tuttavia dimostrare una significatività statistica. (Tabelle 4 e 5)

Lo stesso risultato si è ottenuto per la sopravvivenza del graft a 24 mesi risultata significativamente migliore nel Gruppo 2 (95,2%) rispetto al Gruppo 1 (54,5%). Anche per quanto riguarda la sopravvivenza del paziente a 24 mesi, il Gruppo 2 (90.1%) sembra essere migliore rispetto al Gruppo 1 (81,8%) ma non in modo statisticamente significativo. (Tabelle 4 e 5)

Tabella 4: Sopravvivenza del graft nei due gruppi a 6, 12 e 24 mesi

SOPRAVVIVENZA GRAFT	GRUPPO 1 (11)	GRUPPO 2 (105)	p
6 mesi	63,6% (7/11)	100% (105/105)	< 0,05
12 mesi	63,3% (7/11)	100% (105/105)	< 0,05
24 mesi	54,5% (6/10)	95,2%% (100/105)	< 0,05

Tabella 5: Sopravvivenza dei pazienti nei due gruppi a 6, 12 e 24 mesi

SOPRAVVIVENZA PAZIENTE	GRUPPO 1 (11)	GRUPPO 2 (105)	p
6 mesi	90,9% (10/11)	100% (105/105)	ns
12 mesi	90,9% (10/11)	90,1% (103/105)	ns
24 mesi	81,8% (9/11)	90,1% (103/105)	ns

All'analisi multivariata l'unico parametro che si è dimostrato essere un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo della DGF è stata l'età del donatore considerata come variabile bimodale.

Non sono risultate significative all'analisi multivariata le variabili sesso del donatore e causa del decesso del donatore.

DISCUSSIONE

E' ampiamente riconosciuto in ambito internazionale e dimostrato da ampie casistiche sia americane che europee, che la sopravvivenza del paziente e del graft dopo trapianto di rene è aumentata negli ultimi anni in modo importante, sia per il trapianto da donatore cadavere che per quel che riguarda il trapianto da vivente. [28,29,30,31]

Su queste basi attualmente il trapianto viene pertanto riconosciuto come la migliore modalità di trattamento per i pazienti che presentano ESRD. In modo particolare questo è vero per il paziente pediatrico, nel quale le possibilità di raggiungere l'età adulta e di poter godere di una qualità della vita soddisfacente sono aumentate drasticamente negli ultimi anni.

La necessità di evitare le possibili quanto gravi e potenzialmente letali complicazioni di una dialisi prolungata, sia essa peritoneale che emodialisi, hanno aumentato la tendenza in molti gruppi a proporre come gold standard terapeutico il trapianto preemptive, ovvero eseguito come prima forma di dialisi. [32-34]

I vantaggi di questo approccio sono quindi a maggior ragione presenti nella popolazione pediatrica per la quale l'aspettativa di vita è molto più lunga. E' stato dimostrato che a trarre beneficio di un simile atteggiamento terapeutico sono anche i pazienti con un'età superiore ai 65 anni. [35]

Il vantaggio del trapianto preemptive o precoce (poco dopo l'inizio della dialisi) è inoltre indipendente dalla malattia di base. [36,37,38]

Tuttavia rimangono tuttora in sospeso alcune problematiche legate alla perdita progressiva del graft. La migliore conoscenza di quelli che sono i fattori, immunologici e non, che sono causa di questa progressiva perdita della funzione è

strettamente legata all'analisi retrospettiva della popolazione sottoposta a trapianto. L'evidente impossibilità, dettata da motivi etici, di svolgere per tali gruppi studi prospettici, rende fondamentale l'analisi il più possibile dettagliata di questi dati. In questo senso va l'esigenza del nostro centro di creare un modo il più possibile omogeneo di raccolta dei dati tramite un Database (Access®) accessibile a tutte le figure partecipanti al trattamento di questi pazienti. Questo ha permesso già ora di facilitare notevolmente la gestione di questi che sono pazienti complessi. Oltre alla dimensione locale, vista la scarsa numerosità dei pazienti pediatrici che vanno incontro ad insufficienza renale terminale e che quindi necessitano di dialisi, un tale strumento intende standardizzare i dati e renderli omogenei per il confronto con quelli di altri centri a livello nazionale, avvalendosi in futuro sempre più di registri creati ad hoc.

Negli anni sono stati fatti notevoli progressi nella comprensione dei fenomeni immuno-mediati responsabili della progressiva perdita del graft che sembrano tuttavia rivestire un ruolo di secondo piano rispetto ai fattori non-immunologici. [39,40]

Questi rimangono un importante limite alla sopravvivenza dell'organo trapiantato. Nella letteratura dedicata di questi ultimi anni, sono stati fatti enormi sforzi per identificare tali fattori ed in particolare quelli legati al donatore e al trattamento del graft prima dell'impianto. Alcuni studi arrivano addirittura a quantificare in un 40% i fattori di rischio legati al donatore. In particolare viene attribuita una sempre maggiore importanza alla comparsa di DGF post impianto. Nonostante non sia ancora chiara la definizione di questa insufficienza renale transitoria del graft, il suo effetto negativo sull'outcome a lungo termine è

unanimemente accettato. In una meta analisi presentata nel 2009, Yarlagadda e coll. sottolineano come la DGF sia un importante fattore prognostico per la sopravvivenza del graft sia a breve che a lungo termine, ma che possa essere considerato anche come outcome primario del buon esito del trapianto di rene [41].

Si può affermare pertanto che fattori responsabili della comparsa di DGF sono quindi legati in modo diretto alla sopravvivenza del graft. Anche nella nostra casistica pediatrica è presente questa significatività ed ha quindi senso la ricerca di quei fattori che hanno inciso sulla comparsa della DGF. Rispetto ad altri autori, alcuni dei quali riportano un'incidenza fino al 50%, questo fenomeno nella nostra esperienza è stato molto più limitato [42,43].

In molti lavori è stato recentemente sottolineato, in relazione a casistiche di pazienti adulti, come alcuni parametri relativi alla rianimazione del donatore abbiano un effetto sullo sviluppo della DGF [44].

In particolare sembrano avere un'importanza preponderante il tempo di ischemia fredda (CIT), l'età del donatore, la creatininemia al momento dell'espianto, la causa di morte distinta in traumatica e vascolare e l'utilizzo di determinati tipi di plasma expanders o di farmaci inotropi durante la rianimazione del donatore.

Nella nostra serie di pazienti l'unica variabile risultata un fattore di rischio indipendente all'analisi multivariata è stata l'età del donatore intesa come variabile bimodale. Per la precisione il gruppo di pazienti che hanno ricevuto un graft proveniente da un donatore più anziano hanno sviluppato con più frequenza una DGF. Questo dato è confermato in letteratura. Dal punto di vista istologico, i reni di pazienti adulti trapiantati in pazienti pediatrici sembrerebbero infatti sviluppare molto precocemente rispetto all'evento contrario microcalcificazioni tubulari, fibrosi interstiziale e atrofia tubulare. Altro dato di sicuro interesse è che il rene dell'adulto

non mostra nel tempo la capacità di adattarsi alla progressiva crescente domanda funzionale del paziente pediatrico. Questo presume una predisposizione del rene adulto ad esaurire le sue capacità funzionali molto prima rispetto al graft ottenuto da un donatore il più giovane possibile, a scapito della sopravvivenza del graft a lungo termine.

Meno chiaro è l'impatto che l'età del donatore ha sulla funzionalità a breve termine che non risulta direttamente correlata con le dimensioni del donatore e che deve quindi essere ricercata in alterazioni che avvengono con l'avanzare dell'età. Se si analizza il problema dal versante opposto a quello pediatrico, attualmente vi è una forte spinta, dettata dalla scarsa disponibilità di graft impiantabili, all'utilizzo di reni provenienti da donatori sempre più anziani. Per un atteggiamento di buon senso questi reni vengono impiantati in riceventi anziani e con una verosimile "breve" aspettativa di vita. Per lo stesso motivo al paziente pediatrico, vista la lunga aspettativa di vita, è ragionevole riservare graft con una aspettativa di sopravvivenza maggiore [45,46].

Nella nostra casistica non vi è stata nessuna significativa alterazione nella predisposizione di sviluppo della DFG in relazione al rapporto dimensionale tra ricevente e donatore. Molti autori sottolineano come l'eccessiva differenza in questo senso tra donatore e ricevente comporti un rischio aumentato di perdita del graft. In particolare, in un precedente lavoro del nostro gruppo, Giuliani ha sottolineato l'importanza di utilizzare nella popolazione pediatrica graft di donatori con un'età superiore a 5 anni e un peso maggiore di 5 kg. L'utilizzo di una coorte di pazienti più limitata, dovuta alla necessità di ottenere i dati completi della donazione è probabilmente la causa della mancata significatività di questa variabile. Inoltre il rapporto dimensionale nel nostro centro è già utilizzato come discriminante nel

giudicare impiantabile o meno un graft, ed è considerato troppo elevato per rapporti superiori di 1 a 4 [47,48,49].

Altra variabile che in molti lavori è considerata importante per l'outcome del graft è la tipologia di morte cerebrale del donatore, identificata come fattore di rischio se di tipo vascolare. Nella nostra serie il dato non è significativo all'analisi multivariata, pur dimostrando un certo grado di significatività all'analisi univariata. E' verosimile che anche in questo caso, l'aumento delle dimensioni del campione esaminato potrebbe dipanare i dubbi riguardo ad una effettiva importanza di questo fattore.

Nel campione da noi considerato il donatore di sesso femminile sembra, all'analisi univariata, essere un fattore di rischio per lo sviluppo della DGF. Questo è in linea con i dati presenti in letteratura, dove viene sottolineato come in particolare graft da donatori femmine impiantati in riceventi di sesso maschile vadano peggio [50,51,52].

Sono state formulate diverse ipotesi a giustificazione di questo dato, la più verosimile delle quali presuppone che la massa nefronica nei soggetti femminili sia più bassa e pertanto la quota di nefroni a disposizione del ricevente sia inferiore e vada incontro ad esaurimento in un lasso di tempo minore. In un lavoro del 1995 Heemann e colleghi hanno dimostrato come la funzionalità del graft a lungo termine fosse migliore qualora fossero trapiantati due graft invece che uno solo, ipotesi confermata anche in studi sperimentali. Importante sembra quindi la quota nefronica di partenza, intesa grossolanamente come numero di unità nefroniche disponibili [53,54,55].

Nel 2012 Tan e colleghi rivalutando i dati dell'United States Renal Data System (USRDS) hanno ipotizzato una possibile influenza immunologica sessualmente determinata, che normalmente non viene testata nel mismatch di compatibilità immunologica, sull'outcome del graft [56].

Schnuelle e coll. nel 2001 hanno rivisto i dati di 2415 trapianti di rene e correlato la funzionalità del graft con la somministrazione al donatore di catecolamine, evidenziando una sopravvivenza del graft maggiore fino a 4 anni per riceventi da donatori ai quali erano state somministrate catecolamine e direttamente proporzionale alla dose somministrata [57]. Lo stesso gruppo di lavoro ha pubblicato nel 2009 i risultati di uno studio prospettico multicentrico che aveva lo scopo di valutare in modo accurato l'effetto della dopamina sulla DGF. Gli autori hanno somministrato dosi di dopamina differenziate a donatori in morte cerebrale e hanno in seguito evidenziato come la comparsa di DGF fosse più rara nei graft prelevati da donatori che avevano ricevuto più dopamina. [58]

Come dimostrato sperimentalmente, il pre-trattamento con dopamina rende il graft più resistente rispetto all'insulto ischemico mitigando gli effetti nocivi dei radicali liberi accumulatisi soprattutto durante il periodo della CIT. Questo consentirebbe un ripristino della funzione di barriera dell'endotelio e dell'integrità vascolare al momento del riscaldamento del graft all'impianto. [59-62]

Nella nostra casistica, nonostante la completezza dei dati relativi alla rianimazione del donatore, non sono emerse all'analisi statistica delle differenze significative tra i due gruppi rispetto all'utilizzo delle catecolamine. La conferma di questo dato è tuttavia vincolata ad un aumento della numerosità del campione.

Un fattore di rischio noto per la DGF è il tempo di ischemia fredda. Dai dati del United States Renal Data system viene sottolineato come ogni 6 ore di CIT in più aumentino fino al 23% l'incidenza di DGF [18].

A tale proposito bisogna considerare che il trapianto da donatore vivente, nel quale il tempo di ischemia è ridotto al minimo nella maggior parte dei casi ha una ripresa funzionale del graft immediata e un esito a breve e a lungo termine significativamente migliore rispetto al trapianto da donatore cadavere [63,64].

Il riconoscere la CIT come fattore di rischio ha massimizzato gli sforzi per abbatterla (miglioramento della rete di comunicazione, migliori e più rapidi test di laboratorio, trasporto più veloce). Rispetto al periodo 1996-2000, nel periodo successivo dal 2001 al 2005 la CIT di è ridotta negli Stati Uniti in media di 4,8 ore, e raramente un graft viene impiantato dopo le 30 ore. [65]

Come precedentemente affermato, una prolungata esposizione all'ischemia è responsabile di alterazioni di entità proporzionale alla durata dell'insulto.

Nel nostro centro i tempi d'impianto dell'organo difficilmente superano le 24 ore dall'espanto e riteniamo sia questa la ragione per la quale la CIT nella nostra esperienza sia risultata una variabile non significativa. Vista inoltre l'importanza che essa riveste nell'ambito della letteratura internazionale, riteniamo che questo nostro atteggiamento d'impianto il più possibile precoce abbia un effetto di notevole diminuzione sullo sviluppo della DGF.

E' stato scelto di valutare questa variabile in modo bimodale (> 24 h/ < 24 h) e non come dato continuo per poter interpretare meglio i risultati dal punto di vista statistico, viste le esigue dimensioni del campione. Potendo disporre di una coorte di pazienti più ampia, sarebbe interessante valutare questo dato suddiviso in classi di 6

h e valutare l'esistenza o meno di un tempo cut-off prima del quale l'influenza del CIT è nulla.

CONCLUSIONI

Dal presente lavoro emerge che la DGF è un importante fattore di rischio per la perdita del graft sia a breve che a lungo termine ma che non ha nessun effetto sulla sopravvivenza del paziente.

Nel nostro gruppo la bassa incidenza del fenomeno lascia presupporre l'efficacia di alcuni sistemi preventivi già attuati nel nostro centro quali la maggior riduzione possibile del tempo d'ischemia fredda e l'attenzione al rapporto dimensionale tra donatore e ricevente.

Nonostante le piccole dimensioni del campione analizzato, l'età del donatore si è rivelato l'unico fattore di rischio indipendente per lo sviluppo della DGF anche all'analisi multivariata. Questo dato deve quindi rivestire un'importanza primaria nell'allocazione degli organi.

La scarsa numerosità del campione non ha consentito di valutare l'effettivo peso di variabili alle quali in letteratura è attribuito un ruolo importante, quali quelle legate alla rianimazione del donatore.

Nonostante il cospicuo numero di trapianti eseguiti nel nostro centro, solo di una piccola parte è stato possibile la raccolta completa dei dati. Per questo motivo è auspicabile la creazione di registri possibilmente multicentrici che consentano l'utilizzo di ampie casistiche per la valutazione di variabili in modo sempre più preciso.

BIBLIOGRAFIA

1. Ardissino G., Dacco V, Sara Testa, Bonaudo R., Epidemiology of Chronic Renal Failure in Children: Data From the ItalKid Project. *Pediatrics* .2003; 111; e38.
2. Fivush BA, Jabs K, Neu AM, et al. Chronic renal insufficiency in children and adolescents: the 1996 annual report of NAPRTCS. *Pediatr Nephrol*. 1998; 12: 328–337.
3. Lagomarsino E, Valenzuela A, Cavagnaro F, Solar E. Chronic renal failure in pediatrics 1996. *Pediatr Nephrol*. 1999; 13: 288–291.
4. European Best Practice Guidelines for Renal Transplantation. Section IV: long term management of the transplant recipients. IV Pediatrics (specific Problems). *Nephrol. Dial. Transplant*. 2008; 17 (suppl 4): 43-44.
5. McEnery P, Stablein D, Arbus G, et al. Renal transplantation in children. A report of the north American pediatric renal transplant cooperative study. *N Engl J Med* 1992; 326: 26. 1992.
6. Parekh RS, Carroll CE, Wolfe RA, et al. Cardiovascular mortality in children and young adults with end-stage kidney disease. *Journal Pediatrics* 2002: 141; 191.
7. Huang v, Samaniego M. Preemptive kidney transplantation: Has it come of age? *Néphrologie & Thérapeutique* 8 (2012) 428–432)
8. Starzl TL, Marchioro TL, Porter KA, et al. The role of organ transplantation in pediatrics. *Clin North Am* 1966: 13; 381.
9. Vu LT, Baxter-Lowe LA, Garcia J, et al. Matching in organ allocation. Balance between waiting time and rejection in pediatric kidney transplantation. *Arch Surg* 2011: 146; 824.

10. McDonald SP, Craig JC. Australian and New Zealand Paediatric Nephrology Association Long-term Survival of children with End Stage renal Disease. *N Eng J Med.* 2004; 350; 2654.
11. Organ Procurement and Transplant Network: Policies. Available from: http://optn.transplant.hrsa.gov/PoliciesandBylaws2/policies/pdfs/policy_7.pdf (Accessed on May 27, 2011).
12. Sollinger HW. Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. *Transplantation.* 1995; 60; 225.
13. Pirsch JD, Miller J, Deirerhoi MH, et al: A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 1997; 63; 977.
14. Hariharan S, McBride MA, Bennet LE, et al. Risk factors for renal allograft survival from older cadaveric donors. *Transplantation* 1997; 64: 1748
15. Gjertson, DW, Cecka JM. Determinants of long-term survival of pediatric kidney grafts reported to the United Network for Organ Sharing kidney transplant registry. *Pediatric Transplantation*, 2005; 5; 5–15.
16. Pratschke J, Weiss S, Neuhaus P, et al. Review of nonimmunological causes for deteriorated graft function and graft loss after transplantation. *Transplant International.* 2008; 21; 512–522.
17. Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH, Remuzzi G Delayed graft function in kidney transplantation. *Lancet* 2004; 364: 1814–27.
18. Gavela Martinez E, Pallardò Mateu LM, Sancho Calabuig A, et al. Delayed graft function after renal transplantation: an unsolved problem. *Transpl. Proceed.* 43: 2171-2173.

19. Ojo A.O., Wolfe R.A., Held P., et al. Delayed graft function: risk factors and implications for renal allograft survival. *Transplantation* 1997; 63: 968–74.
20. Jacobs S.C., Cho E., Foster C., et al. Laparoscopic donor nephrectomy: the University of Maryland 6-year experience. *J Urol* 2004; 171: 47–51.
21. Yarlagadda SG, Coca SG, Formica RN, et al. Association between delayed graft function and allograft and patient survival: A systematic review and meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 1039–1047.
22. Hernandez A, Light JA, Barhyte DY, et al. Ablating the ischemia-reperfusion injury in non-heart-beating donor kidneys. *Transplantation* 1999 Jan 27;67(2):200-6.
23. Marshall R, Ahsan N, Dhillon S, et al. Adverse effect of donor vasopressor support on immediate and one-year kidneyallograft function. *Surgery* 1996 Oct;120(4):663-5.
24. Gjertson DW. A multi-factor analysis of kidney graft outcomes at one and five years post-transplantation: 1996 UNOS update. In: Cecka JM, Terasaki PI (eds). *Clinical Transplants* 1996. Los Angeles, CA: UCLA Tissue Typing Laboratory, 1997: 343–360.
25. Kyllonen LE, Salmela KT, Eklund BH et al. Long-term results of 1047 cadaveric kidney transplantations with special emphasis on initial graft function and rejection. *Transplant Int* 2000; 13: 122–128.

26. Cosio FG, Qiu W, Henry ML et al. Factors related to the donor organ are major determinants of renal allograft function and survival. *Transplantation* 1996; 62: 1571–1576.
27. Schwartz GJ, Haycock GB, Edelmann CM, et al. A simple estimate of glomerular filtration rate in children derived from body length and plasma creatinine. *Pediatrics* 1976; 58(2): 259-63.
28. Stablein DM, Tejani A. Five-year patient and graft survival in North American children: A report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study. *Kidney Int* 44(Suppl 43): S16–S21, 1993.
29. Broyer M, Ehrich J, Jones E, et al. Five years survival of kidney transplantation in children: Data from the European (EDTA-ERA) Registry. *Kidney Int* 1993; 44(Suppl 43); S22–S25.
30. Cecka JM. The UNOS Scientific Renal Transplant Registry. *Clin Transplant* 1998; 1–16.
31. Offner G, Latta K, Hoyer PF, et al. Kidney transplanted children come of age. *Kidney Int* 1999; 55; 1509–1517.
32. Abecassis M, et al. Kidney transplantation as primary therapy for end-stage renal disease: a National Kidney Foundation/Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF/KDOQITM) conference. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3(2): 471–80.

33. Knoll G, et al. Canadian Society of transplantation consensus guidelines on eligibility for kidney transplantation. *CMAJ* 2005; 173(10): 1181–4.
34. Tognarelli G, Segoloni G. Preemptive kidney transplantation. *Eur Nephrol* 2010; 4(1): 4.
35. Innocenti GR, et al. Preemptive living donor kidney transplantation: do the benefits extend to all recipients? *Transplantation* 2007; 83(2): 144–9.
36. Bock ME, Cohn RA. Preemptive kidney transplantation – just do it!! *Pediatr Transplant* 2010; 14(5): 561–4.
37. Becker BN, et al. Preemptive transplantation for patients with diabetes – related kidney disease. *Arch Intern Med* 2006; 166(1): 44–8.
38. Meier-Kriesche HU, et al. Effect of waiting time on renal transplant outcome. *Kidney Int* 2000;58(3):1311–7.
39. Opelz G, Wujciak T, Döhler B, et al. HLA compatibility and organ transplant survival. Collaborative Transplant Study. *Rev Immunogenet.* 1999; 1(3): 334-42.
40. Opelz G, Döhler B. Pediatric kidney transplantation: analysis of donor age, HLA match, and posttransplant non-Hodgkin lymphoma: a collaborative transplant study report. *Transplantation.* 2010 Aug 15;90(3):292-7.

41. Sri G. Yarlagadda, Steven G. Coca, Richard N. Formica Jr, et al. Association between delayed graft function and allograft and patient survival: a systematic review and meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 1039–1047.
42. Sellers MT, Gallichio MH, Hudson SL et al. Improved outcomes in cadaveric renal allografts with pulsatile preservation. *Clin Transplant* 2000; 14: 543–549.
43. Koning OH, van Bockel JH, Van Der Woude FJ et al. European Multicenter Study Group on Organ Preservation. Risk factors for delayed graft function in University of Wisconsin solution preserved kidneys from multiorgan donors *Transplant Proc* 1995; 27: 752–753.
44. Giral M, Bertola JP, Foucher Y. Et al. Effect of brain-dead donor resuscitation on delayed graft function: results of a monocentric analysis. *Transplantation* 2007; 83: 1174-81.
45. Laurence JM, Sandroussi C, Lam VW, et al. Utilization of small pediatric donor kidneys: a decision analysis. *Transplantation*. 2011 May 27; 91(10): 1110-3.
46. Shapiro ME. Age should be considered in the allocation of deceased donor kidneys. *Semin Dial*. 2012 Nov-Dec; 25(6): 682-5.
47. Giuliani S, Gamba PG, Chokshi NK, et al. The effect of donor/recipient body surface area ratio on outcomes in paediatric kidney transplantation. *Pediatr Transplantation* 2009; 13; 290-9.

48. Pape L, Hoppe J, Beker T, et al. Superior long term graft function and better growth of grafts in children receiving kidneys from pediatric compared with adult donors. *Nephrol. Dial. Transplant* 2006; 21: 2596-2600.
49. De Vries EE, Hoogland PE, Wind J, et al. Transplantation of kidneys from paediatric DCD donors: a comparison with DBD donors. *Nephrol Dial Transplant*. 2013 Jan;28(1):220-6.
50. Zeier M, Dohler B, Opelz G, Ritz E. The effect of donor gender on graft survival. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13(10): 2570-2576.
51. Neugarten J, Srinivas T, Tellis V, et al. The effect of donor gender on renal allograft survival. *J Am Soc Nephrol* 7: 318–324, 1996.
52. Vereerstraeten P, Wissing M, De Pauw L, et al. Male recipients of kidneys from female donors are at increased risk of graft loss from both rejection and technical failure. *Clin Transplant* 13: 181–186, 1999.
53. Heemann UW, Azuma H, Tullis SG, et al. Influence of renal mass on chronic kidney allograft rejection in rats. *Transplant Proc* 195: 27; 549.
54. MacKenzie HS, Azuma H, Rennke HG, et al. Renal mass as a determinant of late allograft outcome: Insights from experimental studies in rats. *Kidney Int* 1995: 52; S38-S42.
55. Taal MW, Tilney NL, Brenner BM, et al.: An important determinant of late allograft outcome. *Transplant Rev* 1998: 12; 74–84.

56. Tan JC, Kim JP, et al. Donor–Recipient Sex Mismatch in Kidney Transplantation. *Gender Medicine*. 2007 9(5); 335-47.
57. Schnuelle P, Berger S, de Boer J, Persijn G, van der Woude FJ.: Effects of catecholamine application to brain-dead donors on graft survival in solid organ transplantation. *Transplantation* 2001; 72: 455-463.
58. Yard B, Beck G, Schnuelle P, et al. Prevention of cold preservation injury of cultured endothelial cells by catecholamines and related compounds. *Am J Transplant*. 2004;4(1):22-30.
59. Liu Z, Hoeger S, Schnuelle P, et al. Donor dopamine pretreatment inhibits tubulitis in renal allografts subjected to prolonged cold preservation. *Transplantation*. 2007;83(3):297-303.
60. Gottmann U, Notheisen A, Brinkkoetter PT, et al. Influence of donor pretreatment with dopamine on allogeneic kidney transplantation after prolonged cold storage in rats. *Transplantation*. 2005;79(10):1344-1350.
61. Gottmann U, Brinkkoetter PT, Bechtler M, et al. Effect of pre-treatment with catecholamines on cold preservation and ischemia/reperfusion-injury in rats. *Kidney Int*. 2006;70(2):321-328.
62. Brinkkoetter PT, Beck GC, Gottmann U, et al. Hypothermia induced loss of endothelial barrier function is restored after dopamine pre-treatment: role of p42/p44 activation. *Transplantation*. 2006;82(4):534-542.

63. D'Allessandro A, Sollinger H, Knechtle S, et al. Living related and unrelated donors for kidney transplantation. A 28-year experience. *Ann Surg* 1995; 222 (3): 353.
64. Terasaki P, Cecka J, Gjertson D, Takemoto S. High survival rates of kidney transplants from spousal and living unrelated donors. *New Engl J Med* 1995: 333.
65. Salahudeen AK, May W. Reduction in cold ischemia time of renal allografts in the United States over the last decade. *Transplant Proc.* 2008 ;40(5):1285-9.