



SAPIENZA
UNIVERSITÀ DI ROMA

Dipartimento di Scienze Neurologiche

Dottorato di Ricerca in
Neuroscienze Sperimentali e Cliniche

**Accertamento di morte con standard neurologico
ed utilizzo di test neurofisiologici**

Relatore
Prof. Oriano Mecarelli

Candidato
Dr. Stefano Pro

Anno Accademico 2011/2012

INTRODUZIONE

Per centinaia di anni la morte di un individuo è stata identificata con l'arresto permanente del respiro e dell'attività cardiaca.

Nel 1952, il danese Bjorn Ibsen rese possibile la permanenza di un'attività cardiaca efficiente in individui in coma con lesioni cerebrali irreversibili, mediante l'invenzione del primo respiratore artificiale.

La prima definizione clinica di morte cerebrale, descritta come *coma dépassé*, risale al 1959, quando Mollaret e Goulon riportarono una personale esperienza di 23 pazienti in coma profondo, areattivi, senza funzionalità tronco encefalica e sottoposti a ventilazione artificiale (1).

Dopo il primo trapianto cardiaco eseguito da Christian Barnard nel 1967, a livello sociale si cominciò a favorire la cultura della donazione degli organi, e proprio a questo scopo nel 1968, negli USA, furono pubblicate a cura della Harvard Medical School le prime linee guida per decidere se un paziente in coma rispondesse ai criteri della morte cerebrale.

Sebbene i principi contenuti nei criteri di Harvard siano tuttora universalmente riconosciuti come il fondamento della identificazione del quadro clinico di morte cerebrale (2-4), non vi è tuttavia completa

uniformità di vedute sulle procedure da attuare per l'esecuzione di un accertamento di morte cerebrale (5-7).

Ancora oggi nella quasi totalità dei paesi prevale il concetto di “*whole brain death*”, cioè di morte dell'encefalo nel suo complesso. Ciò paradossalmente ha dato adito ad alcune critiche in quanto è difficile escludere con certezza la presenza di residue isole di funzionalità di piccole aree cerebrali in soggetti con pre-requisiti clinici di morte cerebrale. A tal riguardo, il Regno Unito ha adottato una definizione di morte cerebrale che si discosta formalmente da quella universalmente riconosciuta e che contempla la *perdita irreversibile della capacità di coscienza e di respiro*. A tal fine è sufficiente dal punto di vista neurofisiopatologico la perdita di funzionalità del tronco encefalico, dimostrabile con l'esecuzione di un accurato esame neurologico con studio dettagliato dei riflessi tronco-encefalici.

Tali discussioni hanno portato negli anni alla creazione di numerose linee guida, i cui principi risentono anche talvolta di aspetti antropologici, psicologici, culturali e religiosi.

Le maggiori differenze tra le varie linee guida riguardano: il numero di osservazioni che devono essere effettuate (in Italia vanno eseguite due valutazioni da parte del Collegio Medico in un periodo di osservazione non inferiore alle 6 ore, all'inizio e alla fine); il tipo di

valutazione clinica e la necessità o meno di effettuare test strumentali (considerati a volte obbligatori, a volte facoltativi); le figure professionali sia del tecnico che del medico di branca neurologica che deve partecipare all'accertamento (in Italia l'EEG deve essere eseguito da tecnici di Neurofisiopatologia sotto supervisione medica, ed è stata inoltre riconosciuta all'interno del collegio medico la figura dello specialista in Neurofisiopatologia, solo in mancanza sostituibile con un neurologo o un neurochirurgo esperti in EEG).

Negli Stati Uniti la diagnosi di morte cerebrale è essenzialmente clinica ed eventuali test di laboratorio (flussimetrici e neurofisiologici) sono considerati opzionali, da eseguire soprattutto in quelle situazioni in cui la valutazione clinica è difficoltosa o non affidabile, con conseguenti ritardi tra la determinazione di morte cerebrale e l'inizio dell'espianto degli organi (5,8-11).

Mentre sulla valutazione clinica esiste una sostanziale uniformità di vedute nel mondo, se si eccettuano le perplessità che nel Regno Unito suscita l'affidabilità del riflesso oculo-cefalico, per quanto riguarda le indagini strumentali esiste tuttavia una sostanziale eterogeneità in particolare per quel che riguarda le indagini neurofisiologiche (12-15). Ad esempio, se negli Stati Uniti l'EEG viene ritenuta una indagine inferiore per sensibilità alla sola angiografia

convenzionale, le linee guida Canadesi, invece, mettono in dubbio l'utilità dell'EEG, "*raccomandandone*" l'uso soltanto in età pediatrica (16-18).

Per quello che riguarda l'Europa, i test strumentali risultano *mandatory* in Italia, Francia, Olanda e Lussemburgo, così come le indagini di flusso (Angiografia e Doppler Transcranico), mentre tali indagini sono facoltative in altri paesi (Austria, Belgio, Danimarca, Germania e Svizzera) e non richieste in Inghilterra e Polonia (7,19,20).

Per quel che riguarda le indagini Neurofisiologiche è di particolare interesse notare come in alcuni Paesi oltre l'EEG vi sia la possibilità di effettuare anchei Potenziali Evocati (tra questi riportiamo il Belgio, la Germania, il Lussemburgo, la Svizzera e l'Italia). Va tuttavia tenuto presente che la P13 (potenziale questo generato a livello del tronco encefalico può essere presente nel 50% di soggetti definiti neurologicamente morti e che l'onda I del Potenziali Evocati Acustici è presente nel 20-25% dei casi, a conferma dell'esistenza di isole di cellule nervose "funzionanti" in soggetti ritenuti morti secondo le varie linee guida esistenti (21).

In Italia i potenziali evocati somatosensoriali e acustici a breve latenza possono essere di complemento alle altre indagini (EEG ed indagini flussimetriche), secondo le raccomandazioni della

Federazione Internazionale di Neurofisiopatologia Clinica (1999), tradotte e pubblicate dalla Società Italiana di Neurofisiopatologia Clinica (2002). Essi possono essere eseguiti nella fase di diagnosi di morte, quale complemento all'indagine elettroencefalografica; sebbene i potenziali evocati somatosensoriali a breve latenza non risentono, rispetto all'EEG, dell'effetto depressivo dei farmaci sedativi, essi non costituiscono tuttavia legalmente una alternativa al rilievo del flusso ematico cerebrale.

Vi è infine sufficiente evidenza sul significato prognostico dei PES. L'assenza della componente N20 bilateralmente è indicativa di prognosi infausta qualora l'esame venga eseguito a 24 ore di distanza dall'arresto cardiaco o 48 ore di distanza dal trauma cranico, con osservazioni che devono essere ripetute dopo ulteriori 24 ore. Una prognosi infausta concorre alle decisioni su quanto deve essere protratta l'intensità terapeutica in pazienti emodinamicamente instabili e sottoposti a tecniche di supporto cardio-polmonare, consente di informare correttamente i familiari sull'outcome e di ottimizzare i percorsi riabilitativi in funzione di una corretta riabilitazione (21,22).

Durante una attenta valutazione clinica, non è infrequente il riscontro di assenza temporanea di riflessi del tronco encefalico, in particolare del riflesso fotomotore, che possono rappresentare un falso

positivo agli occhi dell'esaminatore. Quadri patologici che possono mimare uno stato di morte cerebrale clinica sono: una lesione "alta" del midollo cervicale, la Guillain-Barrè fulminante, una intossicazione da organofosfati, da baclofen o da lidocaina, ed una clearance del vecuronium alterata.

Non infrequenti risultano, inoltre, i movimenti involontari del paziente durante l'esame clinico, soprattutto nelle prime 24 ore. E' perizia dell'esaminatore saper riconoscere ed interpretare tali movimenti come riflessi spinali (spontanei o provocati), compatibili con la condizione di cessazione irreversibile di tutte le funzioni encefaliche associata ad ipereccitabilità midollare (Fig. 1a – 1b).

Fig. 1a

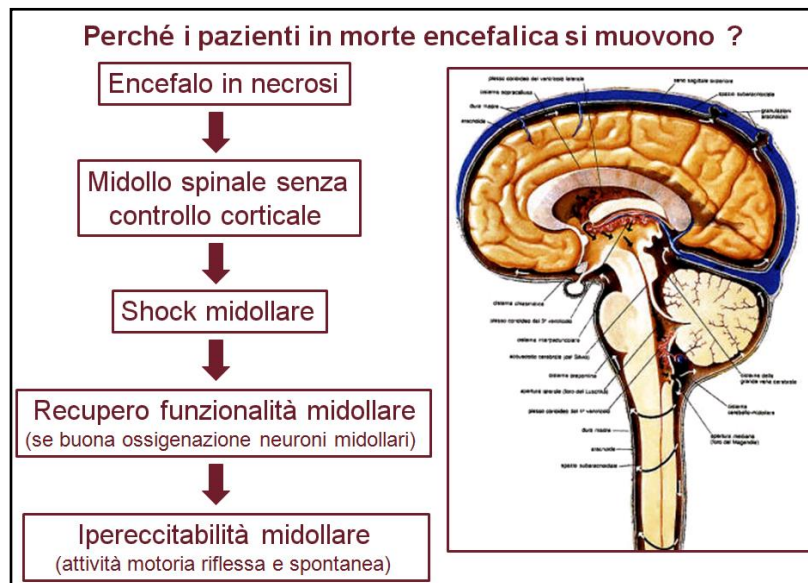


Fig. 1b

Attività Motoria di origine midollare	
ATTIVITA' MOTORIA RIFLESSA	ATTIVITA' MOTORIA SPONTANEA
<ul style="list-style-type: none">• Riflessi plantari• Rifl. cutaneo-addominali• Riflesso cremasterico• Rifl. di flessione-retrazione• Rifl. estensione-pronazione• Riflessi osteotendinei	<ul style="list-style-type: none">• Movimenti flessione ed estensione estremità• Movimenti elevazione delle braccia• Segno di Lazzaro• Movimento sequenziale delle dita del piede

Legislazione Italiana

La prima legge che in Italia si occupa dei criteri per la valutazione della morte cerebrale è stata la n. 644 del 2/12/1975. In essa si riteneva indispensabile una valutazione clinica (stato di coma profondo e assenza di respiro spontaneo) ed una strumentale (assenza di attività elettrica cerebrale spontanea ed evocata, valutata mediante EEG).

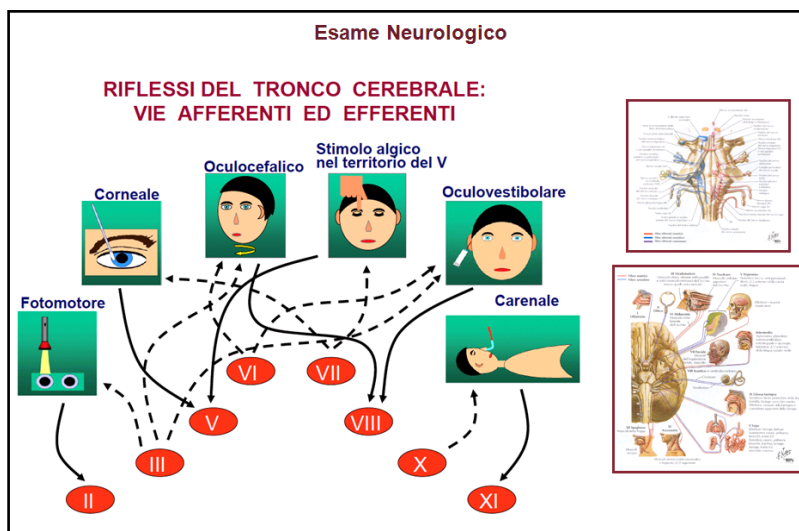
Il periodo di valutazione era stabilito in minimo 12 ore con un'osservazione ogni 4 ore. Successivamente le norme per l'accertamento e la certificazione di morte sono state ridefinite nella Legge n. 578 del 29/12/1993 (pubblicata nella GU n 5 del 8/1/1994) (23). Recentemente, un ulteriore Decreto del Ministero della Salute, emesso l'11/4/2008 e pubblicato nella GU n. 136 del 12/6/2008, ha aggiornato il DM del 22/8/1994, tenendo conto delle linee guida derivanti dal Gruppo di lavoro della Consulta Nazionale per i Trapianti, emanate nel 2004 dall'Istituto Superiore di Sanità.

La diagnosi clinica di morte cerebrale si basa sui consolidati criteri di assenza dello stato di vigilanza e di coscienza, dei riflessi del tronco encefalico e del respiro spontaneo. Tale quadro deve essere avvalorato dalla assenza di attività bioelettrica cerebrale all'EEG (che

può essere eseguito sia in analogico che in digitale) e dalla assenza di flusso ematico cerebrale in particolari condizioni (23-25). Il decreto ribadisce la necessità di definire con certezza la diagnosi eziopatogenetica e di escludere la presenza di situazioni che possono mimare lo stato clinico di morte cerebrale.

I riflessi del tronco che devono essere assenti nella condizione di morte cerebrale, secondo il DM n 582 del 22/08/1994, sono: il *riflesso corneale* (afferenza n. trigemino – V nc ed efferenza n. facciale – VII nc); il *riflesso fotomotore* (afferenza n. ottico – II nc ed efferenza n. oculomotore III nc); *risposte dolorifiche elicitate con punture a livello del distretto facciale* (afferenza branca sensitiva n. trigemino – V nc ed efferenza – VII nc); *riflesso oculocefalico* (afferenza n. acustico – VIII nc ed efferenza III, IV e VI nccc); *riflesso oculo vestibolare* (afferenza n. acustico – VIII nc ed efferenza – III e VI nccc); *riflesso carenale e riflesso faringeo* (afferenza – IX e X nccc ed efferenza X nc) (Fig. 2).

Fig. 2



Il test dell'apnea viene considerato in tutto il mondo il più valido e sicuro per obiettivare l'assenza di respiro spontaneo. La presenza dei riflessi spinali è da ritenersi come irrilevante. L'apnea va documentata con un'emogasanalisi (EGA) che evidenzii un PH ematico $< 7,40$ ed una $pCO_2 \geq 60\text{mmHg}$.

Le modalità di esecuzione del test variano, tuttavia, nei vari Paesi e per quanto è dato sapere esistono sostanziali differenze sia sui tempi tecnici di esecuzione (da 1 minuto fino a 60 minuti), sia sui parametri da prendere in considerazione ($pCO_2 \geq 60\text{mmHg}$ e $PH \leq 7,28$ in Canada, $pCO_2 \geq 60\text{mmHg}$ o 20 mmHg inferiore alla norma negli Stati Uniti, $pCO_2 > 50\text{mmHg}$ negli adulti e $\geq 60\text{mmHg}$ nei bambini nel Regno Unito). Da notare come vi sia sostanziale differenza anche per quel che riguarda i prerequisiti necessari per l'esecuzione dell'accertamento che sono per l'Italia la correzione di eventuali situazioni quali ipoglicemia, ipotermia ed ipotensione. In paesi quali Australia e Nuova Zelanda tali parametri non vengono pressoché menzionati.

Particolare rilevanza ha assunto negli ultimi anni il concetto di assenza di flusso ematico encefalico, che secondo il nuovo Decreto del Ministero della Salute, emesso l'11/4/2008, ha assunto valore *mandatory* in poche ben definite situazioni: bambini < 1 anno,

presenza di farmaci depressori del SNC e situazioni cliniche “particolari” che non consentono una diagnosi eziopatogenetica certa o che impediscono l’esecuzione del test dell’apnea o dell’EEG (23-25). Viene inoltre ribadito il concetto che in caso di lesione encefalica da insulto anossico, l’osservazione deve iniziare dopo 24 ore, a meno che non si verifichi l’assenza di flusso.

Sostanziali modifiche sono state apportate anche per quel che riguarda i parametri tecnico-strumentali dell’EEG, tra questi in particolare la possibilità di utilizzo di elettroencefalografi digitali con scomparsa dell’obbligatorietà del tracciato in scorrimento continuo su carta (24).

Accertamento di morte secondo la legislazione italiana vigente (DM dell’11/4/2008, GU n. 136 del 12/6/2008, che aggiorna il DM n. 582 del 22/8/1994)

Definizione di morte cerebrale:

- assenza dello stato di vigilanza e di coscienza
- assenza dei riflessi del tronco encefalico (fotomotore; corneale; reazioni da stimoli dolorifici nel territorio del n. trigemino e del n. facciale; oculo-vestibolare; faringeo e carenale)
- assenza di respiro spontaneo dopo distacco momentaneo della ventilazione artificiale (documentata da $pCO_2 \geq 60$ mmHg e $pH < 7,40$)
- silenzio elettrico cerebrale (documentato da registrazione EEG obbligatoria eseguita per 30 minuti, con apparecchi analogici o digitali, secondo parametri stabiliti per legge)

Certezza eziopatogenetica della lesione encefalica ed esclusione di:

- alterazioni dell’omeostasi termica, cardiocircolatoria, respiratoria ed endocrino-metabolica di grado tale da interferire sul quadro clinico-strumentale complessivo

Dimostrazione dell’assenza del flusso ematico cerebrale in caso di:

- bambini di età < 1 anno
- presenza di farmaci depressori del SNC di grado tale da interferire sul quadro clinico-strumentale complessivo
- situazioni che non consentono una diagnosi eziopatogenetica certa o che impediscono l’esecuzione dei riflessi del tronco o dell’EEG

Durata del periodo di osservazione:

- non inferiore a 6 ore

Note:

- nel neonato l’accertamento di morte può essere eseguito solo se la nascita è avvenuta dopo la 38ª settimana gestazionale e comunque dopo 1 settimana di vita extrauterina
- in caso di lesione encefalica da insulto anossico l’osservazione deve iniziare dopo le 24 ore, a meno che non si verifichi l’assenza di flusso

Numero di osservazioni:

- 2 osservazioni, all’inizio e alla fine del periodo (la verifica dell’assenza di flusso non va ripetuta)

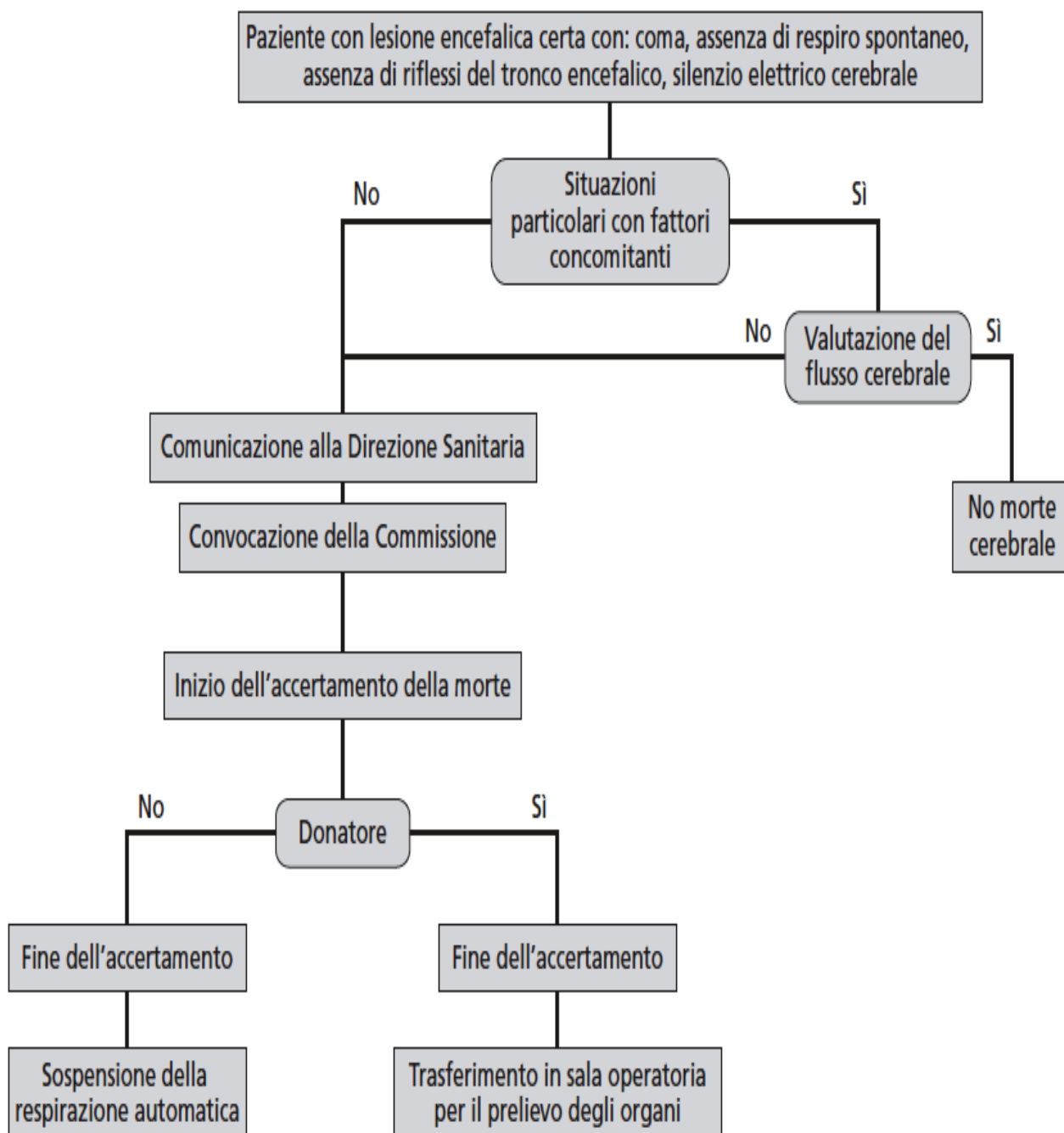
Collegio medico:

- medico legale (o medico di Direzione Sanitaria o anatomo-patologo)
- anestesista-rianimatore
- neurofisiopatologo (o in mancanza neurologo o neurochirurgo esperto in EEG)

Personale tecnico:

- l’EEG deve essere eseguito da tecnici di neurofisiopatologia, sotto supervisione medica

Flow-chart - sintesi dell'iter che, partendo dalla constatazione della morte cerebrale, conduce o all'espianto degli organi, in caso di soggetto donatore, o comunque al distacco del respiratore.



STUDIO SPERIMENTALE

Scopo dello studio

In questo studio, sono stati esaminati consecutivamente pazienti con diagnosi di morte cerebrale osservati in un periodo di un anno. Per ciascun paziente sono stati valutati: dati anagrafici, eziologia della morte cerebrale ed il tempo necessario per l'inizio della procedura di accertamento di morte cerebrale in relazione alla necessità di eseguire test confirmatori, il tempo di attesa tra la diagnosi clinica di morte cerebrale e l'accertamento di morte cerebrale, la totalità dei pazienti eleggibili alla donazione d'organo ed i donatori effettivi.

Nei pazienti in coma anossico-ischemico è stata eseguita una valutazione neurofisiologica con EEG seriati e Potenziali Evocati Somatosensoriali per definire rapidamente pazienti in morte cerebrale e per correlare, se possibile, i test neurofisiologici con l'outcome.

Metodo

Abbiamo reclutato consecutivamente 66 pazienti ricoverati presso l'Ospedale Policlinico Umberto I di Roma, dal 1 gennaio al 31

dicembre 2009, con diagnosi di morte cerebrale. Il nostro servizio di Neurofisiologia, esegue esami EEG in Urgenza 24 ore/24 7 giorni/7, eseguiti da un tecnico neurofisiologo e refertati da un medico neurofisiopatologo o neurologo presenti o reperibili durante la notte o durante le vacanze.

Diagnosi e accertamento di morte cerebrale

I pazienti sono stati arruolati quando la diagnosi di morte cerebrale è stata posta in accordo con i criteri della legge Italiana (23,24): 1) assenza dello stato di vigilanza e di coscienza e dei riflessi del tronco encefalico valutati mediante esame neurologico; 2) assenza di respiro spontaneo e test dell'apnea con $PCO_2 \geq 60$ mmHg and $pH < 7.40$; 3) assenza di attività elettrica di origine cerebrale spontanea e provocata, di ampiezza superiore a $2 \mu V$, per una durata continuativa di 30 minuti.

Prima dell'arruolamento è stata determinata con certezza la diagnosi eziopatogenetica della lesione encefalica e sono stati esclusi fattori confondenti quali: farmaci depressori del sistema nervoso centrale e bloccanti neuromuscolari, ipotermia ($< 32^\circ C$), alterazioni endocrino-dismetaboliche (ipoglicemia severa) e ipotensione sistemica progressiva.

L'assenza di flusso ematico encefalico, mediante angiografia cerebrale e doppler transcranico, è stata documentata in alcuni casi peculiari (25): bambini <1 anno; presenza di farmaci depressori del sistema nervoso di grado tale da interferire sul quadro clinico strumentale complessivo; situazioni cliniche che non consentono una diagnosi eziopatogenetica certa o che impediscono l'esecuzione dei riflessi del tronco, del test dell'apnea o dell'EEG.

Nei pazienti in coma post-anossico e silenzio elettrico cerebrale, un secondo EEG è stato eseguito dopo 24 ore dall'arresto cardiaco a meno che non sia stata dimostrata assenza di flusso ematico cerebrale. Dopo la diagnosi di morte cerebrale e successive comunicazione alla Direzione Sanitaria, è stato convocato il collegio medico ed è stato eseguito l'accertamento di morte cerebrale secondo la legge italiana. Il collegio medico è composto da un medico legale (o in sua mancanza da un medico nominato dalla Direzione Sanitaria o da un anatomo-patologo), da un medico specialista in anestesia e rianimazione e da un medico neurofisiopatologo o in sua mancanza da un neurologo o da un neurochirurgo esperti in elettroencefalografia.

La durata dell'osservazione ai fini dell'accertamento di morte è stato non inferiore alle 6 ore ed è sempre stato preceduto e seguito da: un esame neurologico, test dell'apnea, EEG della durata di 30

minuti. Al termine delle sei ore previste, se il paziente era un abile alla donazione d'organo e vi era il nulla osta da parte dei parenti, una equipe chirurgica appropriata veniva allertata. In mancanza del consenso dei parenti al termine dell'accertamento il paziente veniva scollegato dal respiratore artificiale. Il momento in cui viene dichiarata la morte del paziente coincide con il momento in cui la commissione inizia la prima osservazione.

Valutazione strumentale

a) Test di apnea

Il test di apnea è stato eseguito staccando il paziente dal respiratore e mantenendolo in tale condizione per 5-10 minuti, immettendo ossigeno puro a 6 l/min. L'apnea è stata documentata con un'emogasanalisi (EGA), eseguito 5-8 minuti dopo la disconnessione dal respiratore, che evidenziasse un pH < 7.40 e una pCO₂ ≥ 60 mmHg (5, 12, 24).

b) Elettroencefalogramma

L'EEG è stato eseguito utilizzando un minimo di 8 elettrodi posti simmetricamente sullo scalpo, secondo il Sistema Internazionale 10-20 (Fp2, C4, T4, O2, Fp1, C3, T3, O1). Il segnale EEG viene registrato con derivazione monopolare e visualizzato con derivazione bipolare. L'elettrodo di riferimento può essere biauricolare oppure intermedio fra Fz e Cz. In accordo con la legge Italiana (24,26), la condizione di silenzio elettrico deve essere accertata con la seguente metodologia: a) impedenze elettrodiche comprese tra 0.1 e 10 k Ω ; b) frequenza di campionamento non inferiore a 128 Hz; conversione analogico/digitale ad almeno 12 bit; c) segnale massimo in ingresso di 200 μ V e utilizzo di filtro anti-aliasing; d) visualizzazione del segnale su monitor (scheda grafica 1024 x 768 punti di definizione) con HHFa 70 Hz e LFF a 0,5 Hz.

La registrazione EEGrafica deve durare almeno 30 min, con valutazione della reattività agli stimoli acustici e nocicettivi. Poiché artefatti provenienti dall'ambiente di registrazione possono essere responsabili di attività ritmica, pseudoritmica o sporadica, che si riflette su ogni elettrodo registrante posto sullo scalpo, occorre, su un totale di non meno di 8 canali di registrazione, dedicare: a) un canale di registrazione all'elettrocardiogramma, registrato con i seguenti parametri:

filtri LFF a 0,1 Hz e HFF a 10-20 Hz e segnale massimo in ingresso di 3200 μV ; b) un canale di registrazione dell'attività bioelettrica derivata da regioni extracefaliche (es. dorso della mano), registrato con i seguenti parametri strumentali: filtri LFF a 0,5 Hz e HFF 70 Hz e segnale massimo in ingresso di 400 μV . Le indagini elettroencefalografiche devono essere eseguite da tecnici di neurofisiopatologia sotto supervisione medica.

Parametri tecnico-strumentali dell'EEG (effettuabile con apparecchi sia analogici sia digitali) per accertamento di morte

Elettrodi, derivazioni e montaggi

- 8 elettrodi posti simmetricamente sullo scalpo secondo il SI 10-20 (Fp2, C4, T4, O2, Fp1, C3, T3, O1)
- in *analogico* derivazioni bipolari, con distanza interelettrodica non inferiore a 10 cm, e/o monopolari (con riferimento biauricolare)
- in *digitale* registrazione in monopolare e visualizzazione in bipolare o referenziale; elettrodo di riferimento biauricolare oppure in FCz (tra Fz e Cz)

Impedenze

- impedenze interelettrodiche comprese tra 0,1 e 10 k Ω

Caratteristiche del segnale

- in *analogico*
 - amplificazione del segnale di 2 $\mu\text{V}/\text{mm}$ (con calibrazione di 5 mm = 10 μV)
 - utilizzo di almeno due costanti di tempo (0,1 e 0,3 s)
- in *digitale*
 - frequenza di campionamento non inferiore a 128 Hz
 - conversione analogico/digitale ad almeno 12 bit
 - segnale max ingresso 200 μV
 - uso di filtro antialiasing

Visualizzazione del tracciato EEG

- registrato per almeno 30 minuti, con test della reattività a stimolazioni acustiche e nocicettive:
- in *analogico* registrazione continua su carta per almeno 30 minuti
- in *digitale* visualizzazione del segnale su monitor (scheda grafica 1024 \times 768 punti di definizione) con HFF a 70 Hz e LFF a 0,5 Hz

Archiviazione dei tracciati registrati in digitale

- su supporto inalterabile, magnetico o ottico, in duplice copia (i file registrati debbono poter essere visualizzati su ogni sistema EEG o PC)

Stampa delle registrazioni in digitale

- non richiesta (è raccomandata la possibilità di stampa su carta, anche a fogli singoli, con una risoluzione di almeno 300 punti/inch)

Canali extracefalici (su un totale di almeno 8 canali)

- 1 canale per ECG (LFF 0,1 Hz, HFF 10-20 Hz; segnale max in ingresso 3200 μV)
- 1 canale per EMG e movimenti (es. registrazione dal dorso della mano): LFF 0,5 Hz, HFF 70 Hz; segnale max in ingresso 400 μV

c) Potenziali Evocati Somatosensoriali

I potenziali evocati somatosensoriali sono stati eseguiti mediante stimolazione elettrica transcutanea del nervo mediano, utilizzando i seguenti parametri: impulsi elettrici di breve durata 0,1-0,3 msec; frequenza di stimolazione 3-5 Hz, tempo di analisi 50-100 ms, filtri LFF 2-5 Hz, filtri HFF 1.5-3.0 Hz. L'intensità di stimolo deve essere quella minima indispensabile per ottenere la risposta clinica (attività muscolare dell'opponente del pollice). Per i PES da nervo mediano è indicata la derivazione punto di Erb ipsilaterale riferita al punto di Erb controlaterale (N9), derivazione corticale controlaterale allo stimolo (C3', C4'), riferita alla corteccia controlaterale (N20).

In accordo con i dati di letteratura (21), classificando il pattern di alterazione dei PES su entrambi gli emisferi, è possibile distinguere le alterazioni in due categorie: N20 presente bilateralmente e N20 assente bilateralmente.

L'EEG è stato invece classificato come : a) pattern "maligno" quando caratterizzato da attività di basso voltaggio ($< 20 \mu\text{V}$), Burst-Suppression, scariche epilettiformi periodiche generalizzate e alpha-theta coma; b) pattern "non specifici/incerti" quando caratterizzati da attività dominante delta-theta (21,22,27-30).

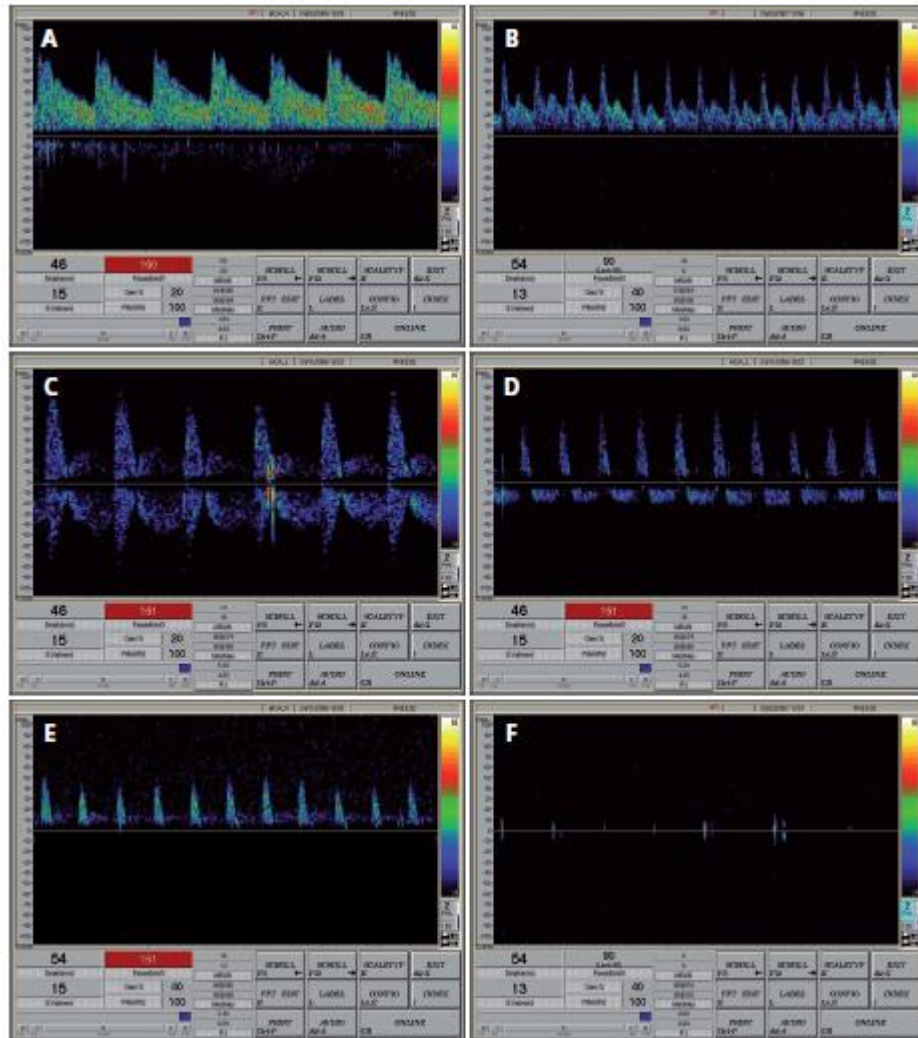
d) Doppler Transcranico

L'esame Doppler Transcranico è stato condotto tanto in sede sovratentoriale bilateralmente (utilizzando la finestra ossea temporale), quanto in sede infratentoriale (utilizzando la finestra occipitale). L'esecuzione del test è stata eseguita nel soggetto non ipoteso al fine di escludere transitori arresti del circolo cerebrale dovuti ad ipotensione.

Sono stati considerati probatori di arresto di circolo i seguenti pattern:

- a) inversione del senso del segnale in diastole rispetto alla sistole “segnale riverberante o oscillante”;
- b) presenza di “punte sistoliche” caratterizzate da velocimetria e durata molto ridotte, senza alcun segnale diastolico;
- c) assenza di segnale sia durante la sistole che durante la diastole in due casi specifici: c1) quando attraverso ognuna delle tre finestre ossee esplorate venga evidenziato il segnale di almeno un vaso, con uno dei quadri descritti ai punti a e b, in modo che sia dimostrata la pervietà delle tre finestre stesse; c2) quando attraverso un precedente esame eseguito dallo stesso operatore sullo stesso paziente sia stata dimostrata la pervietà delle finestre ossee, evidenziando la presenza di segnale doppler nelle arterie intracraniche usualmente valutate con il Doppler Transcranico. I tre pattern descritti devono

essere rilevati in almeno due esami eseguiti a non meno di 30' l'uno dall'altro (31-34).



Reperto flussimetrico dell'arteria cerebrale media in condizioni normali e progressione verso l'arresto circolatorio di flusso. A. Reperto normale. B. Aumento degli indici di resistenza. C,D. Reflusso diastolico. E. Spikes sistoliche. F. Assenza di flusso.

e) Angiografia Cerebrale

L'Angiografia Cerebrale è stata eseguita mediante catetere tipo "pig tail" di calibro 4-5 french con m.d.c. organo iodato idrosolubile non ionico iniettato a livello dell'arco aortico. Ai fini dell'accertamento di morte tale esame deve essere effettuato su soggetto non ipoteso e deve documentare l'assenza di riempimento delle arterie intracraniche a livello del loro ingresso intracranico. Il criterio di correttezza dell'esame deve essere costituito dalla normale opacizzazione delle arterie carotid esterne (3, 35).



Esempio di angiografia cerebrale in caso di morte encefalica: arresto del flusso a livello delle carotidi interne subito dopo l'origine e visualizzazione delle carotidi esterne e dei loro rami terminali.

RISULTATI

Sono stati inclusi in questo studio 66 pazienti (38 maschi e 28 femmine, età media 54.75 ± 19.77 anni, range 3 mesi – 88 anni (Tabella).

L'accertamento di morte cerebrale è stato eseguito nei seguenti reparti: 27 (41%) DEA-SR, 16 (24%) Rianimazione; 14 (21%) Terapia Intensiva Neurochirurgia; 5 (8%) Terapia Intensiva Cardiovascolare; 4(6%) Terapia Intensiva Pediatrica. Le cause di morte cerebrale sono state: 45 (68%) emorragia cerebrale (intraparenchimale e subaracnoidea), 10 (15%) coma anossico post-arresto cardiaco, 8 (12%) trauma cranico, 3 (5%) ictus ischemico.

L'EEG piatto è stato documentato, libero da artefatti, in tutti i pazienti entro 35 ± 19 minuti dalla richiesta. In accordo con le linee guida Italiane, la determinazione di arresto di flusso cerebrale è stato richiesto in 15/66 pazienti (23%): Doppler Transcranico 12 (80%) e angiografia 3 (20%). Dopo l'acquisizione di un EEG piatto, il tempo necessario all'inizio della procedura di accertamento variava in funzione della necessità o meno di effettuare una indagine flussimetrica. Nei pazienti che non necessitavano di indagini flussimetriche (51 pazienti), il tempo necessario per l'inizio dell'accertamento era di 40 ± 17 minuti. Nei pazienti che invece necessitavano di indagini flussimetriche (15 pazienti), il

tempo necessario per l'inizio della procedura era maggiore (175 ± 95 minuti): angiografia (165 ± 20 minutes) e Doppler Transcranico (83 ± 32 min).

Nessuno dei pazienti che soddisfacevano i criteri di morte cerebrale alla prima valutazione clinica e di laboratorio, e che avevano iniziato la procedura di accertamento di morte cerebrale, hanno presentato alla seconda osservazione riflessi troncoencefalici, respiri spontanei, o attività EEGrafica.

Trentanove pazienti (59%) sono risultati elegibili per la donazione d'organi, con consenso per l'espianto presente in 28/39 (71%) pazienti. La procedura di dichiarazione di morte cerebrale è stata interrotta in 3 pazienti/66 (4.5%) in seguito ad arresto cardiaco.

Durante il test dell'apnea non sono state osservate ipotensione o alterazioni emodinamiche cardiovascolari.

Tabella riassuntiva

Popolazione	66 pt (F: 38; M: 28. Et� media: 54.7 \pm 19 anni; range: 3 mesi – 88 anni)
Eziologia	n= 45/66 (68%) emorragia cerebrale n= 10/66 (15%) coma post-anossico n= 8/66 (12%) trauma cranico n= 3/66 (5%) ictus ischemico
Valutazione flusso ematico cerebrale (CBF)	n= 15/66 (23%) Doppler Transcranico: n= 12/15 (80%) Angiografia Cerebrale: n= 3/15 (20%)
Tempo intercorso tra la diagnosi di morte cerebrale e l'inizio dell'accertamento.	EEG: 40 \pm 17 min EEG + CBF: 175 \pm 95 min EEG + Angiografia Cerebrale: 165 \pm 20 min EEG + Doppler Transcranico: 83 \pm 32 min
Durata del periodo di osservazione	6 ore (360 min)
Tempo necessario per il termine dell'Accertamento.	EEG: 400 \pm 17 min EEG + CBF: 535 \pm 95 min EEG + Angiografia Cerebrale: 525 \pm 20 min EEG +Doppler Transcranico: 443 \pm 32 min
Donazione di organi	39/66 (59%) elegibile + consenso 28/39 (71%) 24/66 (36%) non elegibile 3/66 (5%) arresto cardiaco prima del termine dell'accertamento

Valutazione neurofisiologica nel coma post-anossico.

Sono stati eseguiti SEP ed EEG seriati (ogni 24 ore) prima di porre la diagnosi di morte cerebrale in un sottogruppo di 10 pazienti che presentavano coma post-anossico. I SEP eseguiti dopo almeno 24 ore dall'arresto cardiaco mostravano l'assenza bilaterale della N20 in tutti i pazienti del gruppo in esame.

L'EEG metteva in evidenza un pattern "maligno" in 4 pazienti (2 con GPEDs, 1 con Burst-Suppression, 1 con alfa coma areagente), mentre i restanti pazienti erano classificati come non specifici. Tuttavia, sebbene fosse presente un'attività bioelettrica cerebrale in questi pazienti, sia maligna che non specifica, l'accertamento di morte cerebrale è stato eseguito in tutti i pazienti. Sette pazienti hanno donato organi, mentre i restanti tre sono risultati non idonei.

DISCUSSIONE

Le continue innovazioni tecnicospicientifiche nella ventilazione meccanica e nella rianimazione cardiopolmonare hanno radicalmente incrementato la possibilità del riscontro di un quadro di morte cerebrale con normale perfusione degli altri organi in reparti di Rianimazione. Di conseguenza si sono rese necessarie la formulazione di linee guida e di protocolli diagnostici con l'obiettivo primario di identificare tali condizioni, riducendone il tempo di esecuzione tecnica, per l'identificazione di potenziali donatori di organi prima che questi si possano deteriorare, nel rispetto di valutazioni sociali, antropologiche e religiose.

Nel mondo, tutte le linee guida enfatizzano il concetto che la diagnosi di morte cerebrale è principalmente clinica, in funzione di specifici prerequisiti eziologici ed in presenza di segni clinici neurologici appropriati (2-7). Ciononostante, l'incremento in Rianimazione di pazienti sedati e ventilati meccanicamente, ha rappresentato una grande problematica nel contesto di una corretta valutazione clinica, mentre ha dato sempre più rilievo allo studio neurofisiologico nell'intento di valutare l'assenza di attività bioelettrica o di flusso cerebrale.

L'utilizzo di test neurofisiologici è tuttavia estremamente eterogeneo nel mondo e in molti paesi non è neanche richiesto,

essendo descritti in letteratura casi “falsi positivi” o “falsi negativi” che possono confondere e ritardare una corretta diagnosi (8,9,15). Numerosi autori hanno evidenziato che l’EEG non rappresenta un valido strumento confirmatorio, per la sua incapacità nel valutare l’attività delle strutture cerebrali profonde e per la presenza di possibili attività artefattuali confondenti, o per la possibile presenza di concomitanti disturbi metabolici o l’utilizzo di farmaci sedativi che possono rappresentare dei falsi positivi (16-18).

In Italia, l’assenza di attività bioelettrica cerebrale in pazienti privi di sedazione è “mandatory” di diagnosi di morte cerebrale. Nella nostra esperienza non abbiamo osservato risultati falsi positivi o falsi negativi: tutti i pazienti con EEG piatto, quando sospettato, terminavano correttamente l’accertamento di morte cerebrale. Inoltre durante le sei ore di osservazione, nessun paziente presentava modificazioni del quadro elettroclinico rispetto alle condizioni basali. Provocatoriamente si potrebbe dire che le sei ore di osservazione rappresenta un tempo di “soglia psicologica”. Lusbander e coll (11) riportano che nello Stato di New York il periodo totale di osservazione è di 3 volte maggiore del tempo minimo previsto nelle linee guida (19,2 ore medie vs le sei previste) con un rischio elevato di perdere potenziali donatori di organi e di occupare un posto letto in Rianimazione potenzialmente disponibile

per altri pazienti in attesa. Per questo motivo, è nostra opinione che una singola osservazione può essere sufficiente, almeno in pazienti con età maggiore di 1 anno. Infatti un ritardo tra le due osservazioni può essere associato ad un prematuro arresto cardiaco, riportato in letteratura attorno al 12% (11), contro il 4,5% della nostra casistica. Una stretta sorveglianza ed un monitoraggio EEG in continuo in pazienti in coma secondario a grave danno cerebrale, può essere di aiuto per identificare l'assenza di attività bioelettrica corticale e diagnosticare il quadro di morte cerebrale il prima possibile.

Riguardo gli aspetti tecnici, il contributo dell'EEG digitale rappresenta un importante step nella clinica neurofisiologica. L'uso routinario di un apparato digitale, come è ormai ampiamente documentato in Camera Operatoria, si associa ad una riduzione delle dimensioni dell'apparecchio con una più facile trasportabilità e con una possibilità di stoccaggio dei dati su appositi supporti (PC), evitando la necessità di conservare materiale cartaceo ingombrante con una non disprezzabile riduzione dei costi (36).

In questo studio, il tempo necessario per l'esecuzione dell'accertamento di morte ha risentito notevolmente della necessità di effettuare indagini flussimetriche in quei casi previsti dalla legge. L'esecuzione del Doppler Transcranico prolungava del doppio, mentre

l'Angiografia Cerebrale quadruplicava il tempo necessario per l'esecuzione dell'accertamento di morte rispetto all'esecuzione del solo EEG. La disponibilità di un servizio radiologico dedicato, funzionante 7 giorni/7 h24, rappresenta una soluzione parziale a questo problema. Infatti, se da una parte l'Angiografia rappresenta il gold-standard in termini di sensibilità e specificità come un mezzo per confermare la diagnosi di morte cerebrale, esso comporta un impiego di personale dedicato, tempi di esecuzione e costi elevati. Inoltre, la necessità di spostare i pazienti instabili presso le unità radiologiche e l'uso di agenti di contrasto può portare a un deterioramento ulteriore degli organi. Tuttavia, anche se l'ecografia è più facilmente disponibile, la sua corretta interpretazione richiede ecografisti specializzati per ridurre gli errori operatore-dipendenti. Infatti, va tenuto presente come determinate condizioni quali craniectomia decompressiva, presenza di catetere di derivazione e presenza di fontanella non ossificata nei neonati può portare a risultati che possono essere interpretati come falsi positivi.

La persistenza del flusso ematico cerebrale associata ad un EEG piatto in tali casi non deve essere erroneamente interpretato come un segno vitale, ma è semplicemente il risultato della assenza della fisiologica inestensibilità del cranio, che impedisce l'aumento della pressione intracranica e l'arresto della circolazione cerebrale (37-

39). Inoltre, la presenza di fontanelle non ossificate nel neonato, in parte può compensare l'aumento della pressione intracranica provocando un falso positivo (40). Tutti questi casi sottolineano l'importanza dell'esaminatore e il bisogno di specialisti in questo campo. Anche se altre tecniche radiologiche, come la TC e RM angiografiche, sono attualmente in corso di validazione per la valutazione di arresto circolatorio cerebrale, potrebbero non essere disponibili in modo diffuso e nessuna è stata ancora approvata dalle linee guida italiane.

Negli ultimi decenni, diverse variabili cliniche ed elettrofisiologiche sono state prese in considerazione per il riscontro di fattori prognosi sfavorevoli in soggetti in coma in seguito ad arresto cardiaco.

Dati neurofisiologici recenti hanno dimostrato che l'assenza bilaterale della componente N20 ai PES rappresenta un pattern sfavorevole così come alcuni pattern EEG "maligni" (21,22,27-30). Tuttavia, la possibilità di riscontrare pattern EEG aspecifici pur in assenza delle componenti N20 ai PES te suggerisce che l'EEG da solo non può essere sufficiente a predire l'outcome e che solamente un approccio neurofisiologico multimodale può fornire informazioni dirimenti.

CONCLUSIONI

La legislatura Italiana riguardo l'accertamento di morte è estremamente dettagliata e standardizzata sull'intero territorio e prevede l'utilizzo di e di una equipe multidisciplinare formata da personale altamente specializzato.

L'EEG è una metodica obbligatoria ed una rapida identificazione del pattern "isoelettrico" risulta fondamentale per diminuire il lasso di tempo per la conclusione dell'accertamento di morte, che richiede 2 sessioni di registrazione EEG in un periodo di 6 ore. Secondo la nostra esperienza, l'EEG è una metodica affidabile, e rappresenta un efficace strumento per porre diagnosi di morte cerebrale.

Un approccio neurofisiologico multimodale, che preveda anche indagini neurosonologiche appropriate in laboratori dedicati e con personale specializzato e la presenza di apparecchiature digitali nelle terapia intensiva, può ulteriormente ridurre il tempo necessario per porre diagnosi morte cerebrale.

I risultati di questo studio suggeriscono che la procedura dell'accertamento di morte dovrebbe essere ulteriormente semplificata, almeno negli adulti, eliminando la seconda osservazione, in quanto nessuna modifica è mai stata osservata dopo

un periodo di 6 ore di osservazione. Inoltre, una singola osservazione, basata su un approccio multimodale può essere considerato sufficiente, e potrebbe infine ridurre il rischio di deterioramento degli organi e l'arresto cardiaca.

BIBLIOGRAFIA

1. Mollaret P, Goulon M (1959) Le coma dépassé. Rev Neurol (Paris) 101:3-15
2. Beecher H (1968) A definition of irreversible coma. Report of the Ad Hoc Committee of the Harvard Medical School to Examine the Definition of Brain Death. JAMA 205: 337-340
3. Wijdicks E (2001) Current concepts: the diagnosis of brain death. New Engl J Med 344: 1215-1221
4. Morenski JD, Oro JD, Tobias JD, Singh AS (2003) Determination of death by neurological criteria. J Int Care Med 18: 211-221
5. Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. Practice parameters for determining brain death in adults (1995) Neurology 45: 1012-1014
6. Wijdicks EFM (1995) Determining brain death in adults. Neurology 45: 1003-1011

7. Wijdicks EFM (2002) Brain death worldwide. *Neurology* 58: 20-25

8. Greer DM, Varelas PN, Haque S, Wijdicks EFM (2008) Variability of brain death determination guidelines in leading US neurologic institutions. *Neurology* 70: 284-289

9. Bust KM, Greer DM (2009) Pitfalls in the diagnosis of brain death. *Neurocrit Care* 11: 276-287

10. Wijdicks EFM, Varelas PN, Gronseth GS, Greer DM (2010) Evidence-based guideline update: determining brain death in adults. Report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 74: 1911-1918

11. Lustbader D, O'Hara D, Wijdicks EFM, MacLean L, Tajik W, Ying A, Berg E, Goldstein M (2011) Second brain death examination affect organ donation. *Neurology* 76: 119-124

12. Lang CJG, Heckmann JC (2005) Apnea testing for the diagnosis of brain death. *Acta Neurol Scand* 112: 358-369

13. Wijdicks EFM (2006) The clinical criteria of brain death throughout the world: why has it come to this? *Can J Anesth* 2006 53: 540-543
14. Wijdicks EFM, Rabinstein AA, Manno EM, Atkinson JD (2008) Pronouncing brain death. Contemporary practice and safety of the apnea test. *Neurology* 71: 1240-1244.
15. Wijdicks EFM (2010) The case against confirmatory tests for determining brain death in adults. *Neurology* 75: 77-83
16. Baron LB, Shemie SD, Teitelbaum J, Doig JD (2006) Brief review: History, concept and controversies in the neurological determination of death. *Can J Anesth* 53: 602-608.
17. Hornby K, Shemie SD, Teitelbaum J, Doig CJ (2006) Variability in hospital-based brain death guidelines in Canada. *Can J Anesth* 53: 613-619
18. Young GB, Shemie SD, Doig CJ, Teitelbaum J (2006) Brief review: the role of ancillary tests in the neurological determination of death. *Can J Anesth* 53: 620-627

19. Fischer C (1997) La pratique de l'EEG dans le diagnostic de mort cerebral en France. *Neurophysiol Clin* 27: 373-382
20. Haupt WF, Rudolf J (1999) European brain death codes: a comparison of national guidelines. *J Neurol* 246: 432-437
21. Guerit JM, Amantini A, Amodio P, Andersen KV, Butler S, de weerd A, Facco E, Fischer C, Hantson P, Jantti V, Lamblin MD, Litscher G, Pereon V (2009) Consensus on the use of neurophysiological tests in the intensive care unit (ICU): Electroencephalogram (EEG), evoked potentials (EP), and electroneuromyography (ENMG). *Neurophysiol Clin* 39: 71-83
22. Amantini A, Amadori A, Fossi S (2008) Evoked potentials in the ICU. *Eur J Anaesthesiol.* 42: 196-202
23. Decreto del Ministero della Sanità del 22 agosto 1994, n. 582. Regolamento recante le modalità per l'accertamento e la certificazione di morte. *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana* n. 245 del 19 ottobre 1994.

24. Decreto del Ministero della Salute dell'11 aprile 2008. Aggiornamento del Decreto del 22 Agosto 1994, n.582 relativo al Regolamento recante le modalità per l'accertamento e la certificazione di morte. Gazzetta Ufficiale n.136 del 12 giugno 2008.

25. Linee Guida per l'Applicazione delle Indagini Strumentali di Flusso Ematico Cerebrale. Centro Nazionale Trapianti. 28 febbraio 2009. www.airt.it

26. American Clinical Neurophysiology Society. Guideline 3: Minimum Technical Standards for EEG Recording in Suspected Cerebral Death. J Clin Neurophysiol 2006; 23: 97-104

27. Facco E, Munari M, Gallo F, Volpin SM, Behr AU, Baratto F, Giron GP (2002) Role of short latency evoked potentials in the diagnosis of brain death. Clin Neurophysiol 113: 1855-1866

28. Machado C (2004). Evoked potentials in brain death. Clin Neurophysiol 115: 238-239

29. Wijdicks EF, Hijdra A, Young GB, Bassetti CL, Wiebe S (2006) Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. Practice parameter: prediction of outcome in comatose survivors after cardiopulmonary resuscitation (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. *Neurology* 67:203-210
30. Cruccu G, Amino MJ, Curio G, Guerit JM, Kakigi R, Mauguiere F, Rossini PM, Treede RD, Garcia-Larrea L (2008) Recommendations for the clinical use of somatosensory-evoked potentials. *Clin Neurophysiol* 119: 1705-1719
31. Aaslid R, Markwalder TM, Nornes H (1982) Noninvasive transcranial Doppler ultrasound recording of flow velocity in basal cerebral arteries. *J Neurosurg* 57:769-774
32. Petty GW, Mohr JP, Pedley TA, Tatemichi TK, Lennihan L, Duterte DI, Sacco RL (1990) The role of transcranial Doppler in confirming brain death: sensitivity, specificity, and suggestions for performance. *Neurology*. 40 (2):300-303

33. Ducrocq X, Hassler W, Moritake K, Newell DW, von Reutern GM, Shiogai T, Smith RR (1998) Consensus opinion on diagnosis of cerebral circulatory arrest using Doppler-sonography: Task Force Group on cerebral death of the Neurosonology Research Group of the World Federation of Neurology. *J Neurol Sci.* 159(2):145-150
34. de Freitas GR, André C (2006) Sensitivity of transcranial Doppler for confirming brain death: a prospective study of 270 cases. *Acta Neurol Scand.* 113: 426-432.
35. Heran MK, Heran NS, Shemie SD (2008) A review of ancillary tests in evaluating brain death. *Can J Neurol Sci* 35: 409-419
36. Swartz BE (1998) The advantages of digital over analog recording techniques. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol.* 106:113-117
- 37 Flowers WM Jr, Patel BR (2000) Persistence of cerebral blood flow after brain death. *South Med J.* 93: 364-370

38. Wilms G, Vancalenbergh F, Demaerel P, Dubois B (2009) Angiographic confirmation of brain death after decompressive craniectomy for posttraumatic brain oedema. *JBR-BTR* 92: 78-79
39. Vicenzini E, Pro S, Randi F, Pulitano P, Spadetta G, Rocco M, Di Piero V, Lenzi GL, Mecarelli O (2010) Transcranial Doppler for brain death after decompressive craniectomy: persistence of cerebral blood flow with flat EEG. *Intensive Care Med* 36: 2163-2164
40. Vicenzini E, Pulitano P, Cicchetti R, Randi F, Papov P, Spadetta G, Sirimarco G, Ricciardi MC, Di Piero V, Lenzi GL, Mecarelli O (2010) Transcranial Doppler for brain death in infants: the role of the fontanelles. *Eur Neurol* 63: 164-169