

## Modelo experimental ex vivo com bloco pulmonar dividido\*

Ex vivo experimental model: split lung block technique

Alessandro Wasum Mariani, Israel Lopes de Medeiros,  
Paulo Manuel Pêgo-Fernandes, Flávio Guimarães Fernandes,  
Fernando do Valle Unterpertinger, Lucas Matos Fernandes,  
Mauro Canzian, Fábio Biscegli Jatene

### Resumo

Modelos de recondicionamento pulmonar ex vivo têm sido avaliados desde sua proposição. Quando são utilizados pulmões humanos descartados para transplante, a grande variabilidade entre os casos pode limitar o desenvolvimento de alguns estudos. No intuito de reduzir esse problema, desenvolvemos uma técnica de separação do bloco pulmonar em direito e esquerdo com posterior reconexão, permitindo que um lado sirva de caso e o outro de controle.

**Descritores:** Transplante de pulmão; Condicionamento pré-transplante; Preservação de órgãos; Soluções para preservação de órgãos.

### Abstract

Since they were first established, ex vivo models of lung reconditioning have been evaluated extensively. When rejected donor lungs are used, the great variability among the cases can hinder the progress of such studies. In order to avoid this problem, we developed a technique that consists of separating the lung block into right and left blocks and subsequently reconnecting those two blocks. This technique allows us to have one study lung and one control lung.

**Keywords:** Lung transplantation; Transplantation conditioning; Organ preservation; Organ preservation solutions.

O transplante pulmonar representa hoje um tratamento bem estabelecido para pacientes com pneumopatias em estágio terminal refratárias a tratamento clínico, trazendo melhora em sobrevida e em qualidade de vida. Segundo dados atualizados do registro da *International Society for Heart and Lung Transplantation*, a curva com o número de total de transplantes de pulmão por ano permanece em ascensão, atingindo um total de 2.769 transplantes em todo o mundo em 2008.<sup>(1)</sup> Todavia, o número de órgãos aceitos para transplante pulmonar continua inferior ao número de candidatos em fila, o que ocasiona um longo tempo de espera e repercute com expressiva mortalidade em fila. Mesmo em centros mais desenvolvidos, como os norte-americanos, apenas 15–20% dos pulmões

disponibilizados são realmente utilizados para transplante.<sup>(2,3)</sup> Dados nacionais demonstram uma taxa de aproveitamento ainda mais baixa, a exemplo do que foi concluído em um estudo realizado com dados do estado de São Paulo em 2006, no qual somente 4,9% dos pulmões doados foram efetivamente transplantados.<sup>(4)</sup>

O baixo índice de aproveitamento de pulmões doados para transplante pulmonar estimulou diversos grupos a pesquisar formas de aumentar o número de órgãos viáveis para transplante com o intuito de expandir o número total de transplantes e de diminuir o tempo de espera em fila, sem comprometer o resultado pós-transplante. A estratégia mais amplamente empregada tem sido a expansão e a maior liberalidade dos critérios usados para

\* Trabalho realizado no Laboratório de Investigação Médica 61, Disciplina de Cirurgia Torácica, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP – e no Centro Cirúrgico Experimental, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – InCor/HCFMUSP – São Paulo (SP) Brasil.

Endereço para correspondência: Alessandro Wasum Mariani. Avenida Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44, 2º andar, bloco 2, sala 9, Cerqueira César, CEP 05403-900, São Paulo, SP, Brasil.

Tel. 55 11 3069-5248. E-mail: awmariani@gmail.com

Apoio financeiro: Este estudo recebeu apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP).

Recebido para publicação em 30/5/2011. Aprovado, após revisão, em 25/7/2011.

a seleção dos doadores, estabelecendo, assim, o chamado doador com critério estendido (anteriormente chamado de doador marginal). Doadores que não preenchiam os critérios em sua totalidade passaram a ser utilizados, como aqueles com idade acima de 55 anos, tabagistas (> 20 maços-ano) e aqueles com alguma alteração radiológica. Embora muitos estudos tenham mostrado uma sobrevida em curto prazo semelhante, o uso desses pulmões em receptores de alto risco, como aqueles com hipertensão pulmonar severa, está associado a uma maior mortalidade em 30 dias.<sup>(5)</sup> No cômputo geral, a adoção de doadores com critério estendido não foi suficiente para reduzir de forma mais significativa o número de pacientes em lista de espera.

Dentre as pesquisas direcionadas para o aumento efetivo no número de órgãos aptos ao transplante, nenhuma ganhou tanto interesse da comunidade científica quanto o modelo de avaliação e condicionamento pulmonar ex vivo proposto por Steen et al.<sup>(6)</sup> Após seus primeiros resultados serem publicados, houve uma verdadeira corrida de diversos grupos para aprender e aprimorar essa técnica. Esses pesquisadores conduziam sua linha de pesquisa para desenvolver um sistema que permitisse uma melhor avaliação de pulmões de doadores com coração parado,<sup>(7)</sup> a qual, por limitações técnicas e éticas, era muito limitada. Para isso, desenvolveram um sistema de ventilação e perfusão no qual o pulmão pudesse ser testado em sua capacidade de oxigenação após a retirada. Após os primeiros experimentos em suínos, esses pesquisadores verificaram que o sistema também seria útil na avaliação de doadores que não preenchessem todos os critérios de doação, mas que pudessem ser viáveis, principalmente pacientes cujo único critério não preenchido fosse um resultado de gasometria arterial inferior a 300 mmHg, como preconizado no protocolo de avaliação.<sup>(8)</sup> Prosseguindo nessa linha, a maior descoberta foi a capacidade de recuperação do poder de oxigenação do pulmão quando trabalhado nesse sistema, iniciando o que hoje é conhecido pelos grupos de transplante como condicionamento pulmonar ex vivo.

O grupo de transplante pulmonar do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São

Paulo (InCor/HCFMUSP), localizado na cidade de São Paulo (SP), iniciou a trabalhar com essa técnica para o estudo de pulmões humanos não aceitos para transplante em 2009.<sup>(9)</sup> Dentre inúmeras dificuldades, uma certamente chamou a atenção: a variabilidade entre os casos, limitando o desenvolvimento de alguns estudos devido à dificuldade de comparação entre esses órgãos captados. Essa variabilidade pode ser explicada por diversos fatores, como aqueles inerentes ao doador (peso, altura, idade, história tabágica ou presença de doença pulmonar prévia), bem como fatores ligados à morte encefálica e aos cuidados de UTI (causa da morte encefálica, presença de broncoaspiração, presença de lesão induzida por ventilação, presença de pneumonia associada à ventilação mecânica, presença de barotrauma, presença de trauma torácico, tempo de intubação traqueal e tempo de ventilação mecânica, entre outros).

No intuito de reduzir esse problema, desenvolvemos uma técnica de separação do bloco pulmonar em direito e esquerdo, com posterior reconexão do mesmo, permitindo que um lado sirva de caso e o outro de controle.

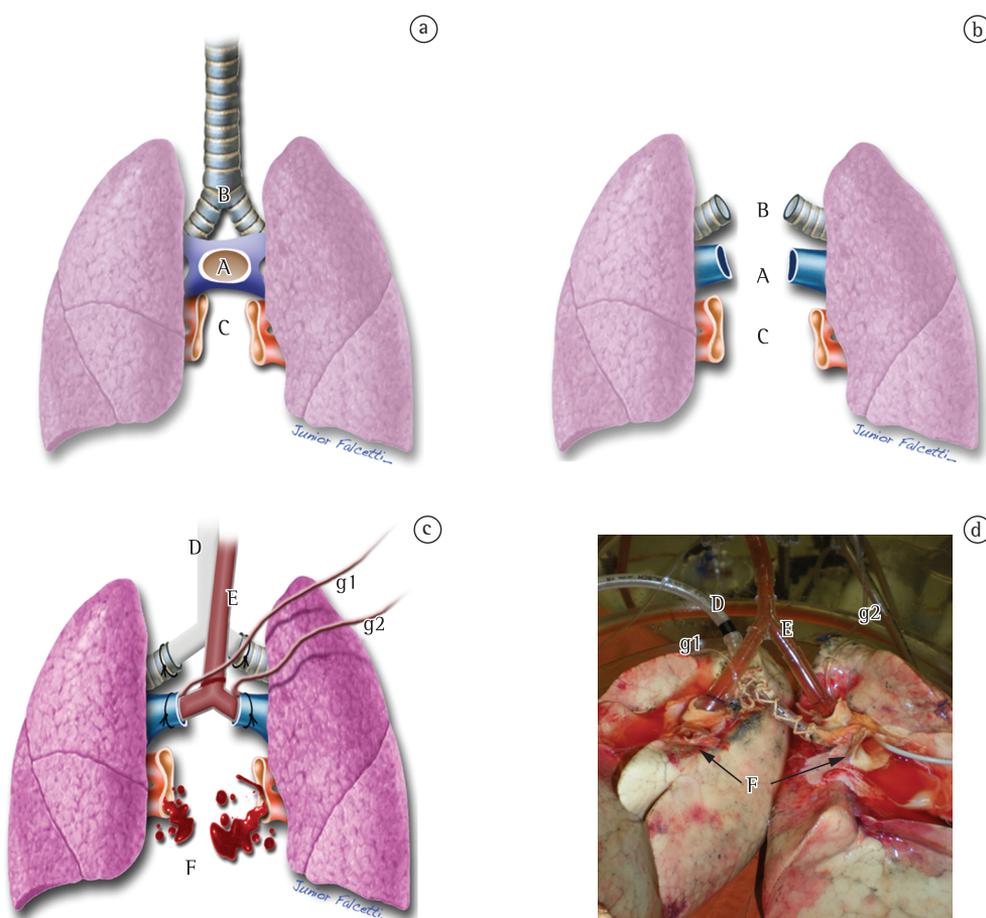
O objetivo da presente comunicação foi descrever essa metodologia desenvolvida para a avaliação individual simultânea entre o pulmão esquerdo e o direito no sistema de reperfusão pulmonar ex vivo.

Foram utilizados pulmões de doadores em morte cerebral notificados pela Central de Transplantes do Estado de São Paulo que fossem rejeitados por todas as equipes de transplante pulmonar devido à falta de adequação em relação aos critérios de transplante. A permissão para a utilização do órgão para o presente estudo foi realizada mediante a assinatura de um termo de consentimento esclarecido, apresentado às famílias pela própria equipe das duas organizações de procura de órgãos engajadas no estudo (Organização de Procura de Órgãos do HCFMUSP e Organização de Procura de Órgãos da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo). Este cuidado foi tomado para garantir que um profissional treinado no processo de doação fosse o responsável pela abordagem das famílias dos doadores, evitando algum transtorno no processo habitual de doação. Todos os casos incluídos na presente comunicação também foram utilizados para a retirada de pelo menos algum outro órgão sólido, como rins e fígado,

para doação com finalidade clínica. A presença de uma diferença identificável entre os pulmões direito e esquerdo por inspeção, palpação ou na radiografia de tórax foi considerada como critério para exclusão. A captação seguiu a técnica rotineiramente empregada pela equipe de transplante pulmonar em conjunto com as outras equipes de captação. A solução utilizada na preservação do órgão desde a retirada até sua chegada no laboratório do InCor/HCFMUSP foi Perfadex® (Vitrolife, Kungsbacka, Suécia).

Assim que a equipe responsável pela captação chegava ao laboratório do InCor (Figura 1a), o bloco pulmonar era então separado em direito e esquerdo por seção do átrio esquerdo, do tronco da artéria pulmonar e da carina traqueal

(Figura 1b). Essa separação permite, por exemplo, que cada lado possa ser submetido isoladamente a modos de preservação diferentes, entre outros procedimentos. Após o término do período de estudo, conforme determinado, os pulmões esquerdo e direito eram reconectados, por uso de cânulas em Y, na traqueia e na artéria pulmonar, permanecendo as veias pulmonares separadas (Figuras 1c e 1d). Isso permite a reperfusão e a ventilação no sistema ex vivo dos dois lados (caso e controle), ao mesmo tempo, com a mesma solução de reperfusão e com exatos mesmos parâmetros ventilatórios. Além disso, isso permite a coleta de amostras para gasometria e monitorização das pressões de artérias pulmonares de forma independente



**Figura 1** – Esquemas e foto demonstrando a separação e a reconexão pulmonar para perfusão e ventilação no sistema ex vivo. Em 1a, bloco pulmonar antes da separação. Em 1b, bloco pulmonar após a separação. Em 1c, bloco reconectado por meio de cânulas em Y. Em 1d, foto do bloco reconectado. Legenda: A: brônquios; B: artérias pulmonares; C: veias pulmonares; D: cânula em Y conectada aos cotos brônquicos e ao ventilador; E: cânula em Y conectada às artérias pulmonares; F: veias pulmonares separadas, drenando o perfusado livremente para o recipiente de contenção; e g1 e g2: sondas para a medição pressórica de cada artéria pulmonar.

para cada lado, tornando possível a obtenção de dados funcionais de forma isolada.

O sistema *ex vivo* empregado foi aquele desenvolvido por nosso grupo e previamente utilizado.<sup>(10)</sup> É constituído de uma caixa de contenção (Vitrolife), uma bomba centrífuga (Braile Biomédica, São José do Rio Preto, Brasil), um trocador de calor (Fisics Biofísica, São Paulo, Brasil), um oxigenador de membrana (Braile Biomédica) e um reservatório venoso.<sup>(10)</sup> A cânula em Y para as artérias pulmonares já possuía uma pequena sonda para a conexão no transdutor de pressão, permitindo a monitorização contínua da pressão de artéria pulmonar. O retorno da solução pelas veias pulmonares é livre, fluindo diretamente para a caixa de contenção, onde os fluxos da direita e da esquerda se misturam e são drenados para o reservatório venoso por gravidade. Optamos por manter o átrio aberto por facilitar a montagem do sistema, dispensando o uso de cânulas especiais (Vitrolife) para o átrio. Isso é possível para perfusões de curta duração, não superiores a duas horas; para perfusões de maior duração, é necessário trabalhar com o sistema fechado para evitar edema pulmonar, conforme descrito em um estudo.<sup>(11)</sup> O sistema é preenchido com 1.500 mL de Steen Solution® (Vitrolife), e optamos pelo uso da solução acelular. No intuito de reduzir o volume necessário de perfusato, utilizamos oxigenadores, reservatórios e tubos infantis (Braile Biomédica). O pH foi ajustado entre 7,35 e 7,45 pela adição de trometamol (Addex-THAM®; Fresenius-Kabi AB, Uppsala, Suécia). O fluxo máximo que usamos para a perfusão de ambos os pulmões foi de 40% do débito cardíaco estimado (calculado por fórmula com base no

tamanho do doador). Esse fluxo é, ao mesmo tempo, suficiente para a avaliação do bloco no sistema e é baixo para evitar a formação de edema pulmonar.

Os pulmões de três doadores foram utilizados para assegurar a viabilidade da técnica, e seus dados estão descritos na Tabela 1. A causa da morte encefálica foi traumatismo cranioencefálico em dois casos e acidente vascular cerebral hemorrágico em um caso. O motivo da falta de preenchimento de critérios para transplante para todos os casos foi a baixa relação  $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$  (menor que 300) encontrada na gasometria arterial colhida, segundo o protocolo habitual de avaliação de doadores de pulmão. A idade dos doadores estudados era de 18, 25 e 52 anos (média de 32 anos). O tempo médio entre a infusão da solução de preservação até o início do experimento variou entre 157 e 201 min (média de 184 min). A média dos resultados de  $\text{PaO}_2$  nas gasometrias *in vivo* foi de 233,33 mmHg. A gasometria arterial coletada ao final da reperfusão mostrou  $\text{PaO}_2$  média de 390,33 mmHg e de 387,66 mmHg nos pulmões direito e esquerdo, respectivamente. Esse modelo permitiu a reperfusão dos pulmões de forma estável e com medida confiável das pressões de artérias pulmonares durante toda a reperfusão. A média das pressões arteriais pulmonares encontradas foi de 146,66 mmHg, tanto para a artéria pulmonar direita, quanto para a esquerda. A ventilação mecânica foi realizada através de um aparelho de anestesia convencional (Samurai Fuji Maximus SAT 500; K. Takaoka, São Paulo, Brasil). Não houve problemas com a ventilação mecânica, e essa foi uniforme aos dois pulmões quando esses foram conectados ao sistema.

**Tabela 1** - Dados gerais e resultados de gasometria e de pressão de artéria pulmonar.

Variáveis	Caso 1	Caso 2	Caso 3	Médias
Causa da morte encefálica do doador	TCE	TCE	AVCH	
Idade do doador, anos	18	25	52	32
Sexo do doador	Masculino	Masculino	Feminino	
Dias de intubação orotraqueal	4,00	2,00	2,00	2,66
Lado submetido a ECMO	Esquerdo	Direito	Direito	
$\text{PaO}_2$ pré-captção, mmHg	216	278	206	233
$\text{PvO}_2$ sistema, mmHg	91	80	97	89
$\text{PaO}_2$ direita, mmHg	344	471	356	390
$\text{PaO}_2$ esquerda, mmHg	340	459	364	388
Pressão da artéria pulmonar direita, mmHg	170	130	140	147
Pressão da artéria pulmonar esquerda, mmHg	170	120	150	147

TCE: trauma cranioencefálico; AVCH: acidente vascular cerebral hemorrágico; ECMO: *extracorporeal membrane oxygenation* (oxigenação extracorpórea por membrana); e  $\text{PvO}_2$ : pressão venosa de oxigênio.

O modelo experimental ex vivo com bloco pulmonar dividido permitiu a realização de experimentos com pulmões humanos não aceitos para transplante, possibilitando que um lado fosse o controle do outro, diminuindo a variabilidade encontrada entre os doadores.

## Agradecimentos

Agradecemos a Farmoterápica, Braille Biomédica, Vitrolife, Organização de Procura de Órgãos do HCFMUSP, Organização de Procura de Órgãos da Santa Casa de Misericórdia de São Paulo e Central de Transplantes da Secretaria de Saúde do Estado de São Paulo. Os desenhos foram realizados por Argemiro Falcetti Jr.

## Referências

- Christie JD, Edwards LB, Kucheryavaya AY, Aurora P, Dobbels F, Kirk R, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-seventh official adult lung and heart-lung transplant report--2010. *J Heart Lung Transplant.* 2010;29(10):1104-18.
- Hornby K, Ross H, Keshavjee S, Rao V, Shemie SD. Non-utilization of hearts and lungs after consent for donation: a Canadian multicentre study. *Can J Anaesth.* 2006;53(8):831-7.
- Punch JD, Hayes DH, LaPorte FB, McBride V, Seely MS. Organ donation and utilization in the United States, 1996-2005. *Am J Transplant.* 2007;7(5 Pt 2):1327-38.
- Fernandes PM, Samano MN, Junqueira JJ, Waisberg DR, Noleto GS, Jatene FB. Lung donor profile in the State of São Paulo, Brazil, in 2006. *J Bras Pneumol.* 2008;34(7):497-505.
- de Perrot M, Snell GI, Babcock WD, Meyers BF, Patterson G, Hodges TN, et al. Strategies to optimize the use of currently available lung donors. *J Heart Lung Transplant.* 2004;23(10):1127-34.
- Wierup P, Haraldsson A, Nilsson F, Pierre L, Scherstén H, Silverborn M, et al. Ex vivo evaluation of nonacceptable donor lungs. *Ann Thorac Surg.* 2006;81(2):460-6.
- Steen S, Liao Q, Wierup PN, Bolys R, Pierre L, Sjöberg T. Transplantation of lungs from non-heart-beating donors after functional assessment ex vivo. *Ann Thorac Surg.* 2003;76(1):244-52; discussion 252.
- Ingemansson R, Eyjolfsson A, Mared L, Pierre L, Algotsson L, Ekmehag B, et al. Clinical transplantation of initially rejected donor lungs after reconditioning ex vivo. *Ann Thorac Surg.* 2009;87(1):255-60.
- Pêgo-Fernandes PM, Medeiros IL, Mariani AW, Fernandes FG, Unterpertinger Fdo V, Samano MN, et al. Ex vivo lung perfusion: initial Brazilian experience. *J Bras Pneumol.* 2009;35(11):1107-11.
- Pêgo-Fernandes PM, de Medeiros IL, Mariani AW, Fernandes FG, Unterpertinger FD, Samano MN, et al. Ex vivo lung perfusion: early report of Brazilian experience. *Transplant Proc.* 2010;42(2):440-3.
- Cypel M, Yeung JC, Hirayama S, Rubacha M, Fischer S, Anraku M, et al. Technique for prolonged normothermic ex vivo lung perfusion. *J Heart Lung Transplant.* 2008;27(12):1319-25.

## Sobre os autores

### *Alessandro Wasum Mariani*

Médico Assistente. Departamento de Cirurgia, Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, São Paulo (SP) Brasil.

### *Israel Lopes de Medeiros*

Aluno do Programa de Pós-Graduação em Cirurgia Torácica e Cardiovascular, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP – São Paulo (SP) Brasil.

### *Paulo Manuel Pêgo-Fernandes*

Professor Associado. Disciplina de Cirurgia Torácica, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP – São Paulo (SP) Brasil.

### *Flávio Guimarães Fernandes*

Acadêmico de Medicina. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP – São Paulo (SP) Brasil.

### *Fernando do Valle Unterpertinger*

Acadêmico de Medicina. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP – São Paulo (SP) Brasil.

### *Lucas Matos Fernandes*

Médico Residente. Programa de Transplante Pulmonar, Disciplina de Cirurgia Torácica, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP – São Paulo (SP) Brasil.

### *Mauro Canzian*

Médico Assistente. Laboratório de Anatomia Patológica, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – InCor/HCFMUSP – São Paulo (SP) Brasil.

### *Fábio Biscegli Jatene*

Professor Titular. Disciplina de Cirurgia Torácica, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – FMUSP – São Paulo (SP) Brasil.