



A experiência brasileira na perfusão pulmonar ex vivo

Luis Gustavo Abdalla¹, Karina Andrighetti de Oliveira Braga¹,
Natalia Aparecida Nepomuceno¹, Lucas Matos Fernandes¹,
Marcos Naoyuki Samano¹, Paulo Manuel Pêgo-Fernandes¹

1. Departamento de Cirurgia Torácica, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – InCor/HC-FMUSP – São Paulo (SP) Brasil.

Recebido: 29 abril 2015.
Aprovado: 4 agosto 2015.

Trabalho realizado no Departamento de Cirurgia Torácica, Instituto do Coração, Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo – InCor/HC-FMUSP – São Paulo (SP) Brasil.

RESUMO

Objetivo: Avaliar o emprego da técnica de perfusão pulmonar ex vivo (PPEV) clinicamente com a finalidade de transplante. **Métodos:** Estudo prospectivo envolvendo o recondicionamento de pulmões limitrofes, definidos por critérios específicos, tais como relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$ mmHg, com um sistema de PPEV. Entre fevereiro de 2013 e fevereiro de 2014, os pulmões de cinco doadores foram submetidos à PPEV por até 4 h. Durante a PPEV, a mecânica pulmonar foi avaliada continuamente. Amostras do perfusato foram colhidas a cada hora, assim como foi realizada a avaliação funcional dos órgãos. **Resultados:** A média de PaO_2 dos pulmões captados foi de $262,9 \pm 119,7$ mmHg, sendo que, ao final da terceira hora de perfusão, essa foi de $357,0 \pm 108,5$ mmHg. A capacidade de oxigenação dos pulmões apresentou discreta melhora durante a PPEV nas primeiras 3 h ($246,1 \pm 35,1$; $257,9 \pm 48,9$; e $288,8 \pm 120,5$ mmHg, respectivamente), sem diferenças significativas entre os momentos ($p = 0,508$). As médias de complacência estática foram de, respectivamente, $63,0 \pm 18,7$; $75,6 \pm 25,4$; e $70,4 \pm 28,0$ mmHg após 1, 2 e 3 h, com melhora significativa entre a hora 1 e 2 ($p = 0,029$), mas não entre a hora 2 e 3 ($p = 0,059$). A resistência vascular pulmonar permaneceu estável durante a PPEV, sem diferenças entre os momentos ($p = 0,284$). **Conclusões:** Os pulmões avaliados permaneceram em condições fisiológicas de preservação; no entanto, o protocolo não foi efetivo para promover a melhora na função pulmonar, inviabilizando o transplante.

Descritores: Transplante de pulmão; Preservação de órgãos; Morte encefálica, Seleção de doador.

INTRODUÇÃO

A técnica de perfusão pulmonar ex vivo (PPEV) representa uma nova estratégia de recondicionamento de órgãos, com a perspectiva de aumentar o número de órgãos viáveis para transplante e diminuir a mortalidade de pacientes em espera pelo órgão.⁽¹⁻³⁾ O princípio da técnica consiste em recriar o ambiente fisiológico capaz de fornecer substratos necessários para a manutenção do metabolismo celular.

Inicialmente, a técnica de PPEV foi descrita por Steen et al.⁽³⁾ para a avaliação de doadores com parada circulatória e, em seguida, foi modificada e aplicada com a finalidade de recondicionamento de pulmões limitrofes pelo grupo de transplante pulmonar de Toronto no Canadá.⁽⁴⁾ A técnica de recondicionamento pulmonar seguida do transplante vem sendo aplicada por diversos grupos transplantadores, com resultados positivos. Cypel et al.⁽²⁾ mostraram uma série de 20 pulmões limitrofes recondicionados, nos quais a relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ aumentou significativamente ao final do recondicionamento (em 2-4 h). Esses autores relataram que os índices de disfunção primária do enxerto após 72 h do transplante são comparáveis aos de receptores de pulmões ideais e sem efeitos adversos diretamente relacionados à PPEV. Em outros centros, como em Viena (Áustria), Paris (França) e Turim (Itália), os resultados foram similares aos obtidos pelo grupo de Toronto.⁽⁵⁾ Apesar dos resultados positivos, no Reino Unido, um

estudo mostrou que, de 13 pulmões recondicionados, apenas 6 foram transplantados, o que reflete uma taxa de rendimento de 46%.⁽⁶⁾

O presente artigo mostra a experiência brasileira no emprego da técnica de PPEV com a finalidade de transplante clínico.

MÉTODOS

O estudo foi aprovado pelo Conselho Nacional de Saúde – Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Registro CONEP 16026; Processo nº 25000.113350/2010-46). Utilizamos pulmões humanos de doadores com morte encefálica que foram rejeitados para o transplante convencional por apresentar relação $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 300$ mmHg. Entre fevereiro de 2013 e fevereiro de 2014, foram realizadas cinco captações para o protocolo de recondicionamento pulmonar. Imediatamente antes da captação, foi realizada a inspeção broncoscópica seguida de LBA. A LBA consistiu na injeção de 40 ml de solução fisiológica estéril (cloreto de sódio a 0,9%) no lobo inferior direito em subsegmentos da pirâmide basal pulmonar, seguida da aspiração do mesmo até o retorno de cerca de 50% do total infundido, coletado em um frasco apropriado. A captação foi realizada de forma habitual para o transplante convencional. Os pulmões foram perfundidos com solução de preservação pulmonar Perfadex® (Vitrolife, Gotemburgo, Suécia), armazenados

Endereço para correspondência:

Paulo Manuel Pêgo-Fernandes. Avenida Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44, 5º andar, sala 04, CEP 05403-000, São Paulo (SP) Brasil.
Tel.: 55 11 2661-5297. Fax: 55 11 2661-5297. E-mail: paulo.fernandes@incor.usp.br

em um saco específico a 4°C e encaminhados para o Centro Cirúrgico do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, na cidade de São Paulo, para a realização do procedimento.

A artéria pulmonar e as veias pulmonares foram suturadas às cânulas plásticas específicas, e o bloco pulmonar foi colocado em uma câmara de perfusão (XVIVO Perfusion, Gotemburgo, Suécia). O sistema de perfusão consiste de cânulas, um desoxigenador de membranas, um trocador de calor, um filtro de leucócitos e uma bomba centrífuga (Maquet, Toronto, Canadá). O sistema é preenchido com 1,5 l de solução de perfusão Steen Solution® (Vitrolife), adicionada de 500 mg de metilprednisolona, 500/500 mg de cilastatina sódica + imipenen e heparina (3.000 UI). O fluxo estabelecido correspondeu a 40% do débito cardíaco com ventilação com padrões fisiológicos: volume corrente (V_T) de 6 ml/kg, frequência respiratória de 7 ciclos/min, pressão expiratória final positiva de 5 cmH₂O e FiO₂ de 21%. O aumento de fluxo, o reaquecimento e a ventilação seguiram o protocolo descrito por Cypel et al.⁽⁷⁾

O tempo programado de perfusão foi de 4 h, com avaliação de parâmetros ventilatórios e gasométricos ao final de cada hora. Ao final da terceira hora, a perfusão foi interrompida nos órgãos em que não havia perspectiva de melhora na função pulmonar ou na mecânica ventilatória visando o transplante do órgão. No momento da avaliação, o ventilador foi ajustado para V_T de 10 ml/kg de peso, frequência respiratória de 10 ciclos/min, pressão expiratória final positiva de 5 cm cmH₂O e FiO₂ de 100%. Uma amostra do perfusato foi coletada da saída da veia pulmonar e da artéria pulmonar para a realização de gasometria, com a coleta dos valores de PaCO₂, pressão venosa mista de dióxido de carbono, PaO₂, pressão venosa mista de oxigênio e concentração dos níveis de lactato e glicose. Os parâmetros ventilatórios coletados foram pressão de pico, pressão de platô, pressão média de via aérea, complacência estática e V_T . Foram coletados também dados de pressão média de artéria pulmonar e fluxo de perfusão.

Amostras do lobo inferior esquerdo pulmonar foram coletadas antes e imediatamente após a PPEV. As amostras foram fixadas em formol a 10% por 24 h, embebidas em parafina, seccionadas em micrótomo com a espessura de 5 µm e coradas em H&E. A presença/ausência de alterações patológicas foi investigada em microscópio de luz por um médico patologista.

Análise estatística descritiva

Os dados quantitativos foram descritos em médias acompanhadas dos respectivos desvios-padrão. O pressuposto da distribuição normal de cada variável foi avaliado com o teste de Shapiro-Wilk. As variáveis categóricas foram expressas através de suas frequências.

Análise estatística inferencial

Para a comparação de médias, foram utilizados ANOVA para medidas repetidas e o teste t de Student

pareado. Foi considerada uma probabilidade de erro tipo I (α) de 0,05 em todas as análises inferenciais.

As análises estatísticas descritivas e inferenciais foram executadas com o programa SPSS Statistics, versão 21 (IBM Corporation, Armonk, NY, EUA).

RESULTADOS

Os pulmões de cinco doadores foram submetidos a PPEV no Centro Cirúrgico do Instituto do Coração. No entanto, nenhum transplante foi concretizado, pois nenhum pulmão atingiu os critérios funcionais necessários para o transplante.

Foram utilizados quatro doadores do sexo masculino e um doador do sexo feminino, com média de tempo de intubação de 5,6 dias. Todos os órgãos foram provenientes de doadores em morte encefálica, pois a legislação vigente em nosso país não permite a utilização de doadores em parada cardiocirculatória. A causa morte mais frequente foi traumatismo cranioencefálico, seguida de hemorragia subaracnoidea. O motivo de recusa para o transplante convencional foi o resultado baixo na gasometria (relação PaO₂/FiO₂ = 100%), sendo que, em três casos, a recusa esteve associada a alterações radiológicas e, em dois casos nos quais a relação PaO₂/FiO₂ se mostrou satisfatória, os pulmões foram descartados devido a indefinição histológica de neoplasia cerebral em um caso (sendo essa a causa da morte encefálica) e por falta de condições clínicas do receptor para o transplante em um caso (Tabela 1).

A capacidade de oxigenação (ΔPO_2) medida durante a PPEV apresentou pouca variação, sem diferenças estatisticamente significativas (Figura 1). Comparando os resultados de ΔPO_2 coletados no momento da captação do órgão com ΔPO_2 ao final da PPEV, observamos que, apesar de a média final ser maior, não houve diferenças estatisticamente significativas. A média de PaO₂ dos pulmões captados foi de 262,9 ± 119,7 mmHg, sendo que, ao final da terceira hora de perfusão, essa foi de 357,0 36 ± 108,5 mmHg. As médias de complacência estática observadas na primeira, segunda e terceira hora foram, respectivamente, de 63,0 ± 18,7 mmHg, 75,6 ± 25,4 mmHg e 70,4 ± 28,0 mmHg, com diferença significativa entre os resultados da primeira e da segunda hora ($p = 0,029$).

Na maioria das perfusões, o tempo de procedimento foi de 180 minutos; em apenas um caso o tempo de perfusão foi de 240 minutos.

A avaliação comparativa das biópsias pulmonares coletadas antes e depois da PPEV mostrou que, em três casos, houve agravamento do edema e formação de áreas visíveis de trombo. Através dos resultados de LBA, foi identificada a colonização por bactérias virulentas com alto potencial de desenvolvimento de infecção pulmonar em três casos.

DISCUSSÃO

A técnica de PPEV tem sido difundida mundialmente, com resultados positivos em diversos centros. Em

Tabela 1. Características dos doadores selecionados.

Gênero	Idade, anos	Causa da morte	VM, dias	PaO ₂ , mmHg ^a	Doadores
M	18	TCE	3	264,0	1
F	50	HSA	7	283,0	2
M	19	TCE	3	62,5	3
M	41	TCE	6	334,6	4
M	29	HSA	9	370,6	5

VM: ventilação mecânica; M: masculino; F feminino; TCE: traumatismo cranioencefálico; e HSA: hemorragia subaracnoide; ^aGasometria arterial colhida com pressão expiratória final positiva de 5 cmH₂O e FIO₂ de 100%

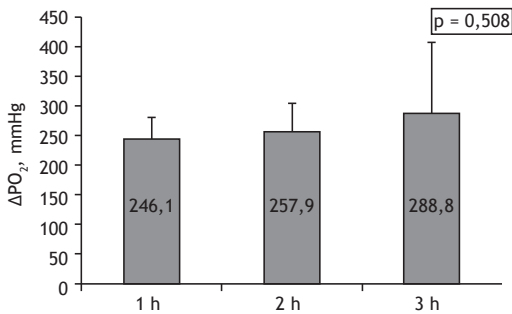


Figura 1. Evolução da ΔPO_2 ($PaO_2 - PvO_2$) ao longo da perfusão ex vivo. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os três momentos avaliados (1 h, 2 h e 3 h após o início da perfusão ex vivo).

2013, grupos de pesquisadores de Toronto, Viena e Paris apresentaram seus resultados clínicos com a PPEV durante o encontro da *International Society of Heart and Lung Transplantation*.⁽⁵⁾ Os resultados mostraram uma elevada taxa de aproveitamento de pulmões reconicionados e baixos índices de disfunção primária do enxerto nas primeiras 72 h. Nos EUA, foi realizado um estudo clínico multicêntrico que validou a técnica junto ao *Food and Drug Administration*.⁽⁸⁾

Apesar dos avanços notadamente demonstrados, verificamos discrepâncias entre os centros em relação à taxa de aproveitamento de pulmões para o transplante após a PPEV. No presente estudo, relatamos a experiência com o emprego da técnica de PPEV em nosso centro. Realizamos cinco perfusões; no entanto, a PPEV não foi capaz de melhorar a função dos pulmões captados, em geral, porque os pulmões chegavam ao centro cirúrgico com alterações fisiológicas pronunciadas.

Diversos aspectos podem estar relacionados ao número limitado de captações para a realização da PPEV em nosso meio. Os órgãos ofertados em nosso país são provenientes exclusivamente de doadores com morte encefálica. Esta limitação implica uma menor oferta de órgãos para a PPEV quando comparada a taxas médias de outros centros que também dispõem de doadores com parada circulatória. Cypel et al. relataram o aproveitamento de 44% dos pulmões provenientes dos primeiros 50 doadores após parada circulatória para o emprego da técnica de PPEV em Toronto.⁽¹⁾

A utilização de órgãos de doadores com parada circulatória já é bem estabelecida na literatura, e seus dados já foram compilados pelo registro da *International Society of Heart and Lung Transplantation*, mostrando

que o uso desses pulmões reflete em um aumento do número de transplantes. Além disso, um estudo multicêntrico demonstrou que transplantes realizados com órgãos de doadores após parada circulatória tiveram resultados semelhantes aos realizados com os órgãos de doadores após morte encefálica, sugerindo que esforços devem ser feitos continuamente pelas equipes transplantadoras para aumentar o número de transplantes com esse tipo de doador.⁽⁹⁾

Em nossa casuística, os baixos valores na gasometria de forma isolada não foi o principal fator de recusa de doadores. O motivo mais frequente de recusa no ano de 2013 foi a presença de infecção (em 35%), seguido por antecedentes mórbidos (em 16,7%), entre eles tabagismo e uso de drogas inalatórias, e alterações na gasometria (em 15,6%).

A conversão de pulmões submetidos a PPEV em pulmões transplantados varia entre os centros transplantadores que utilizam a técnica. Os grupos de pesquisadores em Lund, na Suécia, e em Toronto são os grupos de maior sucesso nessa conversão, com taxas de 67% e 87%, respectivamente. No entanto, o grupo de Newcastle, no Reino Unido, demonstrou taxas de conversão de 46% e atribuiu esse índice a complicações relacionadas à qualidade dos órgãos captados. Assim como o grupo de Newcastle abrimos o leque de captação de pulmões, incluindo aqueles com alterações gasométricas associadas a edema e contusões.⁽⁶⁾ Certamente o número limitado de perfusões realizadas pelo nosso grupo e a inclusão de pulmões com baixos valores de gasometria associados a outras alterações tiveram um impacto importante na nossa taxa de conversão. Com isso, os pulmões captados para o reconicionamento apresentaram maior probabilidade de disfunções, como infecção, infiltrado alveolar, excesso de secreção e embolia pulmonar, comprometendo o processo de reconicionamento através da PPEV.

Os principais achados radiológicos observados foram infiltrado pulmonar (contusão ou congestão) e infecção, confirmados ao final da PPEV através da histologia em H&E e cultura de LBA. As comorbidades associadas a três pulmões, identificadas antes da PPEV através de imagens radiológicas e análises histopatológicas, podem ter impactado de maneira negativa no reconicionamento, dado que a atividade funcional desses pulmões não evoluiu de maneira satisfatória. Além disso, observando a análise histológica do tecido pulmonar ao final da perfusão, identificamos nesses casos o aumento do edema, a formação de trombos e outras alterações vasculares. No quarto caso, cujas

alterações radiológicas e histopatológicas eram discretas, a PPEV ocorreu de maneira satisfatória, melhorando os índices funcionais dos pulmões até valores próximos ao limiar de aceite para o transplante. Com relação ao crescimento das culturas no LBA, identificamos colonização por bactérias virulentas em três doadores, com alto potencial de desenvolvimento de pneumonias em receptores portadores de doenças supurativas. Em nosso centro, estudos anteriores demonstraram elevados índices de cultura positiva a partir do LBA em doadores de pulmões. Um estudo retrospectivo demonstrou que, de 49 pulmões captados para transplante pulmonar convencional, 31 apresentavam culturas positivas, principalmente *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*.⁽¹⁰⁾ Nosso banco de dados reforça a permanência desse quadro na atualidade, visto que, em 2013, dos 27 pulmões captados para transplante convencional, 26 apresentaram culturas positivas. Isso reforça a importância de estudos prévios sobre as características específicas dos doadores em cada centro para possíveis adaptações antes do emprego da técnica de PPEV. Complicações pós-operatórias relacionadas ao desenvolvimento de pneumonia podem ser evitadas associando a PPEV a um regime profilático com antibióticos específicos. Em um dos casos aqui relatados, observamos, através da avaliação histopatológica, que o doador era portador de bronquiectasia. Em outro, um achado relevante na microscopia foi a presença de microtrombos. Ambos os achados não haviam sido identificados previamente em exames de imagem. Nesses dois casos, a PPEV não foi satisfatória para o processo de condicionamento; porém, foi importante no diagnóstico dessas comorbidades. Julgamos necessária a utilização de exames adicionais de imagem, como TC, além da realização mais precoce de fibrobroncoscopia, a fim de minimizar a presença de pulmões patologicamente comprometidos em nossos doadores.

Machuca et al., em um relato de caso, mostraram a aplicação da técnica para o tratamento de pulmões

com tromboembolismo pulmonar, com a associação de um trombolítico no perfusado, demonstrando melhora do órgão e sua indicação para o transplante.⁽¹¹⁾ Em um estudo experimental realizado pela nossa equipe, verificamos uma melhora significativa na gasometria arterial após 1 h de PPEV.^(12,13) No entanto, podemos destacar algumas diferenças metodológicas em relação ao presente estudo, como a utilização de FiO_2 de 100% durante toda a perfusão e a utilização do átrio esquerdo aberto.

Ao longo dos últimos anos, a PPEV demonstrou ser muito importante no resgate de órgãos limitrofes, aumentando o número de transplantes realizados. Muitas vezes a gravidade das comorbidades relacionadas ao órgão tem grande impacto na obtenção de resultados positivos com o emprego da técnica. Os diversos centros captadores possuem diferenças relacionadas ao protocolo de cuidado ao doador, como, por exemplo, reposição ou não de hormônios tireoidianos, uso de desmopressina (um análogo do hormônio antidiurético com pequena ação vasopressora) e de sonda de alimentação. Durante o desenvolvimento de nosso protocolo, percebemos que os pulmões doados em nosso país apresentam um maior índice de complicações após a morte encefálica do que os disponibilizados para o condicionamento em outros centros. A não conversão para o transplante após a PPEV, descrita em nossa experiência, sugere a necessidade de estudos sobre características específicas dos doadores em nosso centro. Estas informações podem ter grande relevância para a realização de ajustes na técnica de condicionamento, visando aproximar as necessidades específicas e aumentando assim a probabilidade de sucesso com a técnica de PPEV.

Dessa forma, concluímos que a PPEV empregada em nosso centro contribuiu para a manutenção dos pulmões em condições fisiológicas de preservação; no entanto, essa não foi efetiva para promover a melhora na função pulmonar e a consequente indicação do uso dos órgãos para o transplante.

REFERÊNCIAS

1. Cypel M, Yeung JC, Machuca T, Chen M, Singer LG, Yasufuku K, et al. Experience with the first 50 ex vivo lung perfusions in clinical transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2012;144(5):1200-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtcvs.2012.08.009>
2. Cypel M, Yeung JC, Liu M, Anraku M, Chen F, Karolak W, et al. Normothermic ex vivo lung perfusion in clinical lung transplantation. *N Engl J Med.* 2011;364(15):1431-40. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1014597>
3. Steen S, Sjöberg T, Pierre L, Liao Q, Eriksson L, Algotsson L. Transplantation of lungs from a non-heart-beating donor. *Lancet.* 2001;357(9259):825-9. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)04195-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(00)04195-7)
4. Cypel M, Rubacha M, Yeung J, Hirayama S, Torbicki K, Madonik M, et al. Normothermic ex vivo perfusion prevents lung injury compared to extended cold preservation for transplantation. *Am J Transplant.* 2009;9(10):2262-9. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-6143.2009.02775.x>
5. Machuca TN, Cypel M. Ex vivo lung perfusion. *J Thorac Dis.* 2014;6(8):1054-62.
6. Zych B, Popov AF, Stavri G, et al. Early outcomes of bilateral sequential single lung transplantation after ex-vivo lung evaluation and reconditioning. *J Heart Lung Transplant.* 2012;31(3):274-81. <http://dx.doi.org/10.1016/j.healun.2011.10.008>
7. 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. <http://dx.doi.org/10.1016/j.healun.2008.09.003>
8. Sanchez PG, Davis RD, D'Ovidio F, Cantu E, Weyant M, Camp P, et al. The NOVEL lung trial one-year outcomes. *J Heart Lung Transplant.* 2014;33(4):S71-S72. <http://dx.doi.org/10.1016/j.healun.2014.01.226>
9. Cypel M, Lewey B, Van Raemdonck D, Erasmus M, Love R, Mason D, et al. Favorable outcomes of donation after cardiac death in lung transplantation: a multicenter study. *J Heart Lung Transplant.* 2013;32(4):S15. <http://dx.doi.org/10.1016/j.healun.2013.01.017>
10. Campos S, Caramori M, Teixeira R, Afonso J Jr, Carraro R, Strabelli T, et al. Bacterial and fungal pneumonias after lung transplantation. *Transplant Proc.* 2008;40(3):822-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2008.02.049>
11. Machuca TN, Hsin MK, Ott HC, Chen M, Hwang DM, Cypel M, et al. Injury-specific ex vivo treatment of the donor lung: pulmonary thrombolysis followed by successful lung transplantation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;188(7):878-80. <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.201302-0368LE>
12. Pêgo-Fernandes PM, Mariani AW, Medeiros IL, Pereira AE, Fernandes FG, Valle Unterpertinger Fd, et al. Ex vivo lung evaluation and reconditioning. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2010;25(4):441-6. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-76382010000400006>
13. Medeiros IL, Pêgo-Fernandes PM, Mariani AW, Fernandes FG, do Vale Unterpertinger F, Canzian M, et al. Histologic and functional evaluation of lungs reconditioned by ex vivo lung perfusion. *J Heart Lung Transplant.* 2012;31(3):305-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.healun.2011.10.005>