

Avaliação e recondicionamento pulmonar *ex vivo*

Ex vivo lung evaluation and reconditioning

Paulo Manuel PÊGO-FERNANDES¹, Alessandro Wasum MARIANI², Israel Lopes de MEDEIROS², Artur Eugenio de Azevedo PEREIRA², Flávio Guimarães FERNANDES³, Fernando do Valle UNTERPERTINGER³, Mauro CANZIAN⁴, Fabio Biscegli JATENE⁵

RBCCV 44205-1213

Resumo

Objetivo: Apenas 15% dos pulmões doados são aproveitados para transplante. Um novo método de Perfusão Pulmonar *Ex Vivo* (PPEV) foi desenvolvido e pode ser usado para avaliação e recondicionamento de pulmões “marginais” e rejeitados para o transplante. Esse trabalho relata nossa experiência com a avaliação funcional da PPEV.

Métodos: Foram estudados pulmões de 12 doadores considerados inapropriados para transplante pulmonar. Após a captação, os pulmões são perfundidos *ex vivo* com Steen Solution, uma solução de composição eletrolítica extracelular com alta pressão coloidosmótica. Um oxigenador de membrana ligado ao circuito recebe uma mistura gasosa (nitrogênio e dióxido de carbono) e “desoxigena” o perfusato, mantendo uma concentração de gases semelhante a do sangue venoso. Os pulmões são gradualmente aquecidos, perfundidos e ventilados. A avaliação dos órgãos é feita por gasometrias e medidas como a resistência vascular pulmonar (RVP) e complacência pulmonar (CP).

Resultados: A PaO₂ (FiO₂ 100%) passou de um valor médio de 193,3 mmHg no doador para 495,3 mmHg durante a PPEV. Após uma hora de PPEV, a RVP média era de 737,3 dinas/seg/cm⁵ e a CP era de 42,2 ml/cmH₂O.

Conclusões: O modelo de avaliação pulmonar *ex vivo* pode

melhorar a capacidade de oxigenação de pulmões “marginais” inicialmente rejeitados para transplante. Isso denota um grande potencial do método para aumentar a disponibilidade de pulmões para transplante e, possivelmente, reduzir o tempo de espera nas filas.

Descritores: Transplante de pulmão. Preservação de órgãos. Lesão pulmonar.

Abstract

Objective: Only about 15% of the potential candidates for lung donation are considered suitable for transplantation. A new method for *ex vivo* lung perfusion (EVLP) has been developed and can be used for evaluation and reconditioning of “marginal” and unacceptable lungs. This is a report of functional evaluation experience with *ex vivo* perfusion of twelve donor lungs deemed unacceptable in São Paulo, Brazil.

Methods: After harvesting, the lungs are perfused *ex vivo* with Steen Solution, an extra-cellular solution with high colloid osmotic pressure. A membrane oxygenator connected to the circuit receives gas from a mixture of nitrogen and carbon dioxide and maintains a normal mixed venous blood gas level in the perfusate. The lungs are gradually rewarmed, reperfused and ventilated. They are evaluated through

1. MD, PhD; Associate Professor, Department of Thoracic Surgery, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - FMUSP, University of São Paulo School of Medicine - São Paulo, Brazil.
2. MD; Doctoral Student. Postgraduate Program in Thoracic and Cardiovascular Surgery, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - FMUSP, University of São Paulo School of Medicine - São Paulo, Brazil.
3. Medical Student of the Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - FMUSP, University of São Paulo School of Medicine - São Paulo, Brazil.
4. MD, PhD, Medical Assistant. Department of Pathology, Heart Institute - InCor, University of São Paulo School of Medicine - São Paulo, Brazil.
5. MD, PhD, Full Professor. Department of Thoracic Surgery, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo - FMUSP, University of São Paulo School of Medicine - São Paulo, Brazil.

Trabalho realizado no Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

Endereço para correspondência:

Paulo Manuel Pêgo Fernandes. Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar, 44, 2º andar, Bloco II, Sala 9 - São Paulo, SP, Brasil - CEP 05403-900. E-mail: paulopego@incor.usp.br

Este estudo recebeu apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) e empresas Farmoterápica e Braille Biomédica.

Artigo recebido em 20 de agosto de 2010
Artigo aprovado em 22 de outubro de 2010

analyses of oxygenation capacity, pulmonary vascular resistance (PVR), lung compliance (LC).

Results: The arterial oxygen pressure (with inspired oxygen fractions of 100%) increased from a mean of 193.3 mmHg in the organ donor at the referring hospital to a mean of 495.3 mmHg during the *ex vivo* evaluation. After 1 hour of EVLP, mean PVR was 737.3 dynes/sec/cm⁵, and mean LC was 42.2 ml/cmH₂O.

INTRODUÇÃO

Desde que foi realizado o primeiro transplante de pulmão em humano, na década de 60, houve grande aprimoramento nas técnicas cirúrgicas e anestésicas, além do desenvolvimento de novos métodos de preservação pulmonar e drogas imunossupressoras. Tais mudanças fizeram do transplante uma terapia efetiva e bem estabelecida para várias pneumopatias em estágio terminal. Infelizmente, o aumento do número de transplantes não acompanhou o grande aumento do número de pacientes incluídos nas listas de espera. Essa desproporção, causada principalmente pela escassez de doadores, resulta em aumento da mortalidade em lista [1].

Atualmente, apenas 15 a 20% dos pulmões disponibilizados para transplante (doadores em morte encefálica) são realmente utilizados [2]. Dados nacionais mostram uma realidade ainda pior. No estado de São Paulo, em 2006, somente 4% dos pulmões doados para transplante foram usados. No mesmo período, a taxa de aproveitamento de fígado e rins foi superior a 90%, segundo dados da Secretaria de Saúde do Estado [3]. Os motivos de recusa mais frequentes foram a gasometria insatisfatória (30,1%) e a presença de infecção (23,7%). Isso se deve à maior suscetibilidade dos pulmões aos efeitos deletérios da morte cerebral (insuficiência endócrina, instabilidade hemodinâmica, hipotermia, resposta inflamatória) e às complicações da internação em UTI (ventilação mecânica prolongada, pneumonia nosocomial, barotrauma, infusão excessiva de cristaloides).

Nos últimos anos, várias estratégias foram propostas para tentar aumentar o número de pulmões transplantados, incluindo transplante intervivos, uso de doadores com coração parado e doadores “marginais”. Essas estratégias, entretanto, ficaram limitadas a um pequeno número de pacientes, em decorrência de limitações técnicas e éticas, não tendo o impacto esperado sobre o número de transplantes [4].

A perfusão pulmonar *ex vivo* (PPEV) é um novo método que possibilita a inspeção cuidadosa dos pulmões removidos, além de medidas hemodinâmicas e ventilatórias, e avaliação da troca gasosa. Essa técnica foi usada pela

Conclusions: The *ex vivo* evaluation model can improve oxygenation capacity of “marginal” lungs rejected for transplantation. It has a great potential to increase lung donor availability and, possibly, to reduce the waiting time on the list.

Descriptors: Lung transplantation. Organ preservation. Lung injury.

primeira vez em humanos, quando um pulmão de um doador com coração parado foi transplantado por Steen et al. [4], na Suécia, em 2000. A PPEV começou, então, a ser aplicada para recondicionamento de pulmões rejeitados para o transplante. Esses pesquisadores publicaram no início de 2009 [5] os seis primeiros transplantes de pulmões inicialmente rejeitados (PaO₂ média nos doadores = 158,25 mmHg) e recondicionados através da PPEV (PaO₂ média após PPEV = 515,25 mmHg).

Este trabalho demonstra um estudo com avaliação funcional da PPEV, e tem por objetivo avaliar a sua aplicação em pulmões humanos rejeitados para transplante e a sua capacidade de recondicioná-los, ou seja, de melhorar a troca gasosa.

MÉTODOS

Para a pesquisa foram utilizados pulmões de doadores em morte cerebral notificados pela Central de Transplante do Estado de São Paulo, no período de abril a julho de 2009, sendo incluídos aqueles que estivessem em hospitais da área de cobertura das Organizações de Procura de Órgãos (OPO) do Hospital das Clínicas da FMUSP e da Santa Casa de Misericórdia, e que fossem rejeitados pelas equipes de transplante pulmonar com base nos critérios de seleção padronizados pela *International Society of Heart and Lung Transplantation* (ISHLT). Foram excluídos os casos em que os familiares ou responsáveis recusaram participação na pesquisa. Todo o protocolo, incluindo o termo de consentimento livre e esclarecido, foi aprovado pela Comissão de Ética da nossa instituição.

A captação segue a técnica rotineiramente empregada pela equipe de transplante pulmonar, descrita brevemente a seguir.

O doador é posicionado em decúbito dorsal horizontal, com coxim sob as escápulas. Realiza-se a esternotomia mediana com abertura do pericárdio e das pleuras mediastinais. Na presença de aderências pleuro-pulmonares, estas são desfeitas neste momento. Realiza-se dissecação e reparo das veias cavas superior (VCS) e inferior (VCI). Dissecta-se a janela aorto-pulmonar, liberando-se o plano posterior entre a aorta e a artéria pulmonar direita,

para permitir a colocação de pinça hemostática na aorta. Uma sutura em bolsa é realizada com fio de polipropileno 4-0 no tronco pulmonar e introduz-se a cânula de perfusão. Após a heparinização do doador com 250 a 300 U/kg, aplica-se 0,5 mg de alprostadil (prostaglandina E1) no tronco da artéria pulmonar. A VCS é ligada e a VCI é seccionada acima do diafragma. Após pinçamento da aorta ascendente, inicia-se a perfusão pulmonar com 50 a 60 ml/kg de Perfadex (Vitrolife, Gothenburg, Suécia) a 4°C. A aurícula esquerda deve ser aberta para que ocorra drenagem da solução dos pulmões. Como alternativa à secção da aurícula esquerda, o átrio esquerdo pode ser aberto junto às veias pulmonares, sem, no entanto, comprometê-las. Solução salina gelada deve ser colocada nas cavidades pleurais para o resfriamento dos órgãos, enquanto todo o sangue do doador é aspirado.

Durante todo o processo de perfusão, a ventilação é mantida, a fim de permitir perfeita distribuição da solução de preservação e evitar atelectasias. Terminadas as perfusões, as cânulas são retiradas e inicia-se a extração dos órgãos. As veias pulmonares de cada lado devem estar unidas através de um *cuff* atrial, com a presença de tênue camada de musculatura do átrio esquerdo. A VCS é seccionada logo abaixo da ligadura, liberando-a da artéria pulmonar direita. A aorta é seccionada próximo ao local de pinçamento, o tronco pulmonar seccionado antes da sua bifurcação e o coração é retirado definitivamente. Inicia-se a liberação dos pulmões através dos ligamentos pulmonares. Gentilmente, libera-se todo o tecido mediastinal anterior ao esôfago, até 2 ou 3 anéis acima da carina. Procedemos à retirada em bloco das estruturas torácicas, incluindo todo o pericárdio e estruturas adjacentes, a fim de evitar lesões à traqueia, artéria e veias pulmonares. Liberados os pulmões e dissecada a traqueia distal, esta é pinçada, com os pulmões insuflados, seccionada neste nível, sendo o bloco, então, retirado do campo operatório. Os pulmões são imersos em soro fisiológico gelado e transportados em gelo.

Após 10 horas de isquemia fria, inicia-se a PPEV. O sistema de perfusão é formado por conjunto de tubos, reservatório venoso, oxigenador de membrana todos do modelo infantil (Figura 1). Completam o sistema um trocador de calor e uma bomba centrífuga (Braille Biomédica, São José do Rio Preto, SP, Brasil). Durante nossa experiência inicial, duas modificações técnicas foram importantes para a melhora do protocolo: a utilização do sistema de circulação extracorpórea infantil, que possibilitou considerável redução no volume do perfusato, e o uso da bomba centrífuga para um controle mais preciso do fluxo de artéria pulmonar [6].

O bloco pulmonar é colocado em uma caixa rígida transparente (Vitrolife, Gothenburg, Suécia). Uma sonda orotraqueal é introduzida e fixada na traqueia. Uma cânula

de perfusão (Vitrolife, Gothenburg, Suécia) é introduzida no tronco da artéria pulmonar (Figura 2). Esta cânula possui uma sonda embutida para acoplamento em um transdutor de pressão, possibilitando monitorização contínua da pressão de artéria pulmonar (PAP). O retorno da solução pelas veias pulmonares é realizado diretamente para a caixa de contenção, sendo drenado para o reservatório venoso por gravidade. O sistema é preenchido com 1500 ml de Steen Solution (Vitrolife, Gothenburg, Suécia). Esta é uma solução de composição eletrolítica extracelular, que contém albumina e dextran. Optamos por não usar sangue na circulação, a exemplo do que faz o grupo de Toronto, as hemácias circulantes sofrem danos mecânicos durante a perfusão, o que pode agravar a injúria de isquemia-reperfusão.



Fig. 1 – Circuito completo com caixa de contenção pulmonar, bomba centrífuga, reservatório e oxigenador de membrana preenchidos com a solução de perfusão (Steen Solution)

Usamos como fluxo de perfusão, 40% do débito cardíaco (DC) estimado ($DC = 3 \times \text{área de superfície corpórea}$). Iniciamos a PPEV com a solução na temperatura de 20°C e um fluxo inicial de 10% do calculado. A temperatura é gradualmente elevada até 37°C nos primeiros 30 minutos. O fluxo também sobe lentamente, atingindo 30% do calculado em 30 minutos, e alcançando o fluxo máximo por volta de 60

minutos. Se a PAP atinge 20 mmHg antes do fluxo máximo calculado, este é mantido em um valor mais baixo. É imprescindível que a PAP seja mantida abaixo de 20 mmHg para minimizar a formação de edema. Quando a temperatura chega a 32°C (geralmente após 20 minutos do início da PPEV), a ventilação é iniciada. Nesse momento, um fluxo de gás (CO₂ 7% + N₂ 93%) é administrado ao sistema através do oxigenador de membrana para “desoxigenar” o perfusato, de forma que o mesmo, ao entrar na artéria pulmonar, tenha uma composição gasosa semelhante ao sangue venoso. Manobras de recrutamento até uma pressão máxima de 25 cmH₂O podem ser realizadas para desfazer eventuais atelectasias.

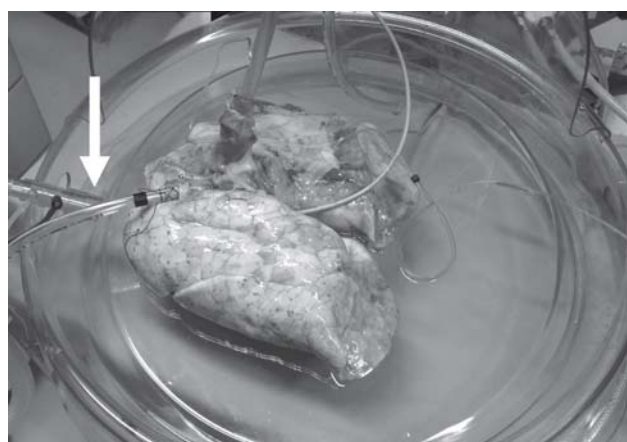


Fig. 2 – Detalhe dos pulmões na caixa de contenção durante a PPEV: cânula traqueal para ventilação (seta branca) e cânula arterial (seta preta) para perfusão e monitorização da pressão de artéria pulmonar

O ventilador é mantido com os seguintes ajustes: volume corrente de 6 a 8 ml/kg, frequência de 7/min, FiO₂ de 100% e PEEP de 5 cmH₂O, esta estratégia de ventilação é protetora para evitar quaisquer traumas adicionais. Após 60 minutos de PPEV, o perfusato que sai pelas veias pulmonares é colhido para análise gasométrica. Os seguintes parâmetros são analisados: PaO₂, PaCO₂, resistência vascular pulmonar (RVP) e complacência pulmonar (CP). A RVP era calculada pela PAP menos a pressão de átrio esquerdo (sempre zero já que não havia átrio e a drenagem das veias pulmonares era livre) multiplicado por 80 e dividido pelo fluxo de perfusão. A CP era calculada pelo volume corrente dividido pela diferença entre a pressão de via aérea (P_{plató}) e a PEEP.

A análise dos dados foi feita com o programa SPSS 17.0. Dados referentes a variáveis contínuas foram expressos como média (± erro padrão da média). Um teste t de medidas pareadas foi usado para comparar as medidas antes e depois da PPEV. Valores de *P* < 0,05 foram aceitos como significantes.

RESULTADOS

Foram incluídos no estudo pulmões de doze doadores com idade média de 50,4 anos (± 6,9), sendo seis homens e seis mulheres. A principal causa de óbito foi o acidente vascular cerebral (AVC) hemorrágico (sete casos). A maioria dos doadores (10 casos) foi recusada para transplante pulmonar por gasometria insatisfatória, ou seja, PaO₂ < 300 mmHg com FiO₂ de 100% e PEEP de 5 cmH₂O. O tempo médio de permanência intubado sob ventilação mecânica foi de 6,1 dias (± 1,2). As características dos doadores estão descritas na Tabela 1.

Tabela 1. Características dos doadores.

Doador	Sexo	Idade (anos)	Causa do óbito	Motivo da recusa	Tempo (dias) de ventilação mecânica
1	F	70	AVCh	Gasometria ruim	6
2	M	48	AVCh	Pneumonia	3
3	F	60	AVCh	Gasometria ruim	8
4	F	22	Encefalopatia anóxica	Incompatibilidade com receptores	6
5	F	41	HSA	Gasometria ruim	1
6	M	74	AVCh	Gasometria ruim	12
7	M	26	TCE	Gasometria ruim	7
8	F	61	AVCh	Gasometria ruim	4
9	M	52	AVCh	Gasometria ruim	11
10	M	68	AVCh	Gasometria ruim	10
11	M	20	TCE	Gasometria ruim	1
12	F	63	HSA	Gasometria ruim	4

AVCh: acidente vascular cerebral hemorrágico; HSA: hemorragia subaracnóide; TCE: traumatismo cranioencefálico

A PaO₂ média (com FiO₂ 100%) colhida do doador logo antes da captação foi de 193,3 mmHg (± 42,16). Após 60 minutos de PPEV, a PaO₂ média (com FiO₂ 100%) era de 495,3 mmHg (± 13,27). A diferença entre as duas amostras (PaO₂ *in situ* vs. PaO₂ *ex vivo*) foi significativa (p < 0,001) (Figura 3). A pressão parcial (média) de O₂ no perfusato que entrava na artéria pulmonar (venoso) durante a PPEV era de 83,3 mmHg (± 12,66), demonstrando que a mistura gasosa aplicada ao sistema realmente “desoxigenava” o perfusato. A Tabela 2 mostra os valores individuais de PaO₂.

A resistência vascular pulmonar média durante a PPEV foi de 737,3 dynes/seg/cm⁵ (± 130) e a complacência pulmonar média foi de 42,2 ml/cmH₂O (± 7,42).

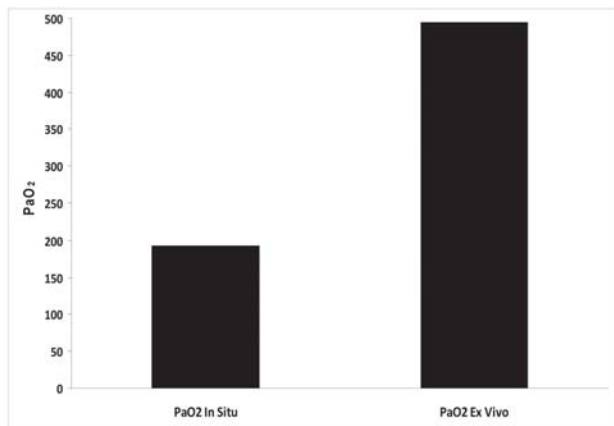


Figura 3 – PaO₂ média antes da captação e após a PPEV

Tabela 2. PaO₂ medido *in situ* no doador imediatamente antes da captação e após a PPEV.

Doador	PaO ₂ (mmHg) <i>in situ</i> FiO ₂ 100%	PaO ₂ (mmHg) <i>ex vivo</i> FiO ₂ 100%
1	92,0	457,0
2	365,6	463,0
3	179,9	515,0
4	350,0	489,0
5	100,0	458,0
6	286,0	548,0
7	216,8	507,0
8	58,0	547,0
9	174,0	416,0
10	254,4	529,0
11	174,3	477,0
12	69,0	538,0
Média ± EPM	193,3 ± 42,16	495,3 ± 13,27

PaO₂: pressão parcial arterial de oxigênio; FiO₂: fração inspirada de oxigênio; EPM: erro padrão da média

DISCUSSÃO

A reduzida taxa de aproveitamento de pulmões doados para transplante é responsável pelo aumento da mortalidade nas filas de espera pelo órgão. Em todo o mundo, somente 15% dos pulmões doados são extraídos e implantados. Várias estratégias, como o uso de doadores “marginais”, foram propostas para tentar aumentar o número de transplantes, mas nenhuma foi realmente efetiva.

A perfusão pulmonar *ex vivo* surge como um método capaz de fazer uma avaliação mais precisa desses órgãos, incluindo medidas hemodinâmicas e ventilatórias, além de recuperá-los, tornando possível o seu uso em pacientes da fila de espera. Isso é particularmente útil no caso de pulmões rejeitados por uma gasometria insatisfatória (PaO₂ < 300 mmHg), reflexo de uma troca gasosa inadequada.

Em nosso estudo, 10 doadores foram rejeitados por uma gasometria ruim. Os outros dois apresentavam gasometria satisfatória: um deles foi rejeitado por pneumonia (presença de secreção purulenta na broncoscopia) e outro pela ausência de um receptor compatível. Após a PPEV, houve melhora significativa do índice de oxigenação (PaO₂/FiO₂) em todos os casos. Os dez casos rejeitados por gasometria ruim passaram a ter uma PaO₂ acima de 400 mmHg, o que possibilitaria seu uso para transplante (na ausência de outras contraindicações). A explicação para o sucesso do método parece estar no fato de que a perfusão é feita em normotermia (a perfusão hipotérmica aumenta a RVP), de forma lenta e gradual (a PAP é mantida sempre abaixo de 20 mmHg), o que evita a formação de edema. Além disso, a alta pressão coloidosmótica da solução de perfusão (Steen Solution) permite a mobilização e remoção de fluido alveolar e intersticial, reduzindo o edema pulmonar. A PPEV também possibilita a inspeção e palpação de todo o pulmão e, por meio de manobras de recrutamento, pode-se desfazer áreas de atelectasia persistente. Sem a interferência das estruturas rígidas da caixa torácica e diafragma, todo o volume fornecido pelo ventilador é distribuído diretamente aos pulmões, melhorando a relação ventilação/perfusão.

Em 2006, Wierup et al. [7] publicaram estudo com metodologia semelhante, sendo que dos seis doadores estudados, três atingiram PaO₂ > 400 mmHg após PPEV, dois ficaram com PaO₂ entre 300 e 400 mmHg, e um caso permaneceu com a PaO₂ < 300 mmHg. Nesse estudo, a RVP média durante a PPEV foi de 400 dynes/seg/cm⁵. Nossos casos tiveram uma RVP média mais alta (737 dynes/seg/cm⁵); isso pode ser explicado pelo maior tempo de isquemia fria em nossa amostra (10 horas contra 7 horas no estudo de Wierup et al. [7]), além de uma seleção mais ampla de doadores. Nosso estudo incluiu pacientes com pneumonia e intubação prolongada (tempo médio de ventilação mecânica de 6 dias contra 2 dias de Wierup et al. [7]).

Ingemansson et al. [5], em 2009, publicaram seis casos

de transplante pulmonar, cujos órgãos foram inicialmente rejeitados e condicionados por meio da PPEV. A sobrevivência em 90 dias foi de 100%. Um paciente morreu em decorrência de sepse depois de 95 dias e outro por rejeição após 9 meses. Quatro pacientes estão vivos e bem, sem sinais de bronquiolite obliterante 24 meses depois do transplante [5]. Cypel et al. [8], em Toronto, desenvolveram uma estratégia de perfusão e ventilação pulmonar *ex vivo* que permitiu que a PPEV fosse mantida em normotermia por 12 horas sem formação de edema, com uma RVP, pressão de via aérea e capacidade de oxigenação estáveis em todo o período. Essa nova metodologia possibilita não só a avaliação e preservação pulmonar *ex vivo*, mas também a aplicação de novas terapias farmacológicas ou moleculares, na tentativa de recuperar pulmões doados e rejeitados para transplante. Possíveis aplicações incluem o uso de perfusatos com alta pressão osmótica e beta-adrenérgicos para acelerar a remoção de edema, além da perfusão com antibióticos em altas doses para tratar pneumonias e fibrinolíticos para remover trombos na circulação pulmonar.

A PPEV tem grande potencial para o condicionamento de pulmões doados e rejeitados para transplante. Esse método pode aumentar o número de pulmões aceitos para transplante por recuperar casos recusados devido a PaO₂ insatisfatória. Novos estudos são necessários para determinar possíveis alterações histológicas nos órgãos submetidos à PEV.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Central de Transplantes da Secretaria da Saúde do Estado de São Paulo, à Organização de Procura de Órgãos (OPO) do Hospital das Clínicas da FMUSP, à Organização de Procura de Órgãos (OPO) da Santa Casa de São Paulo, à Braile Biomédica, à Farmoterápica e à Vitrolife.

REFERÊNCIAS

1. 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.
2. Botha P, Trivedi D, Weir CJ, Searl CP, Corris PA, Dark JH, et al. Extended donor criteria in lung transplantation: impact on organ allocation. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2006;131(5):1154-60.
3. 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.
4. 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.
5. Ingemansson R, Eyjolfsson A, Mared L, Pierre L, Algotsson L, Ekmechag B, et al. Clinical transplantation of initially rejected donor lungs after reconditioning *ex vivo*. *Ann Thorac Surg.* 2009;87(1):255-60.
6. Pêgo-Fernandes PM, Medeiros IL, Mariani AW, Fernandes FG, Unterpertinger FD, Samano MN, et al. Perfusão pulmonar *ex vivo*: experiência nacional inicial. *J Bras Pneumol.* 2009;35(11):1107-12.
7. 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.
8. 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.